



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**TESIS**

**“CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIE EN LA  
PRODUCCIÓN DE MEDICAMENTOS”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: CÁRDENAS RAMÍREZ, Edith Vanessa**

**ASESOR: Mg. MALLQUI BRITO, Ethel Vania**

**LIMA- PERÚ**

**2016**

## **DEDICATORIA**

A mi madre por su apoyo incondicional en todo momento, en especial a Dios quien me ha dado la fortaleza de seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios en primer lugar, a mis padres que han sido la base para la realización de este trabajo, a la Blga. MSc. Vania Mallqui Brito, por su valiosa instrucción por guiarme durante el desarrollo de mi trabajo y al Laboratorio CERTILAB por apoyarme en la ejecución de mi trabajo.

## RESUMEN

Los productos farmacéuticos son susceptibles a la contaminación microbiana cuando las superficies donde se elaboran como lo es la cabina de flujo laminar que no cumplen adecuadamente con las Buenas Practicas de Manufactura. La elaboración de encapsulados, reducción de dosis y fraccionamiento de los medicamentos que se realizan en la cabina de flujo laminar, deben estar sujetas a control microbiológico de superficie, tal como lo especifica la Organización Mundial de la Salud sobre especificación de preparaciones farmacéuticas. El objetivo de este estudio fue determinar la contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, agosto 2016. Siendo el método científico, deductivo, inductivo, descriptivo y cuantitativo. Los recuentos de mohos y levaduras se encontraron niveles bajos de contaminación a excepción de aerobios mesófilos, los resultados generados permiten clasificar a la cabina de flujo laminar como grado A. Se concluye que el límite de la contaminación microbiana presente en la superficie analizada, no se encuentran dentro de los límites de la OMS, debido a que se halló contaminación elevada de la carga microbiana por aerobios mesófilos, aumentando el riesgo de contaminación que puede afectar a los medicamentos que se procesan en la cabina de flujo laminar; así mismo se infiere que el proceso limpieza y sanitización no es adecuada, por lo cual se debe de realizar las medidas correctivas.

**Palabras claves:** Cabina de flujo laminar, producción de medicamentos, carga microbiana, aerobios mesófilos, mohos y levaduras, muestreo de superficie.

## ABSTRACT

The Pharmaceuticals are susceptible to microbial contamination when the surfaces where they are made as is the laminar flow cabinet that do not adequately comply with Good Manufacturing Practices. The preparation of capsules, dose reduction and fractionation of the medicaments that are carried out in the laminar flow cabin must be subject to surface microbiological control, as specified by the World Health Organization on the specification of pharmaceutical preparations. The objective of this study was to determine the microbiological contamination of the surface of the laminar flow cabin of the National Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, August 2016. Being the scientific method, deductive, inductive, descriptive and quantitative. The mold and yeast counts were found to be low contamination levels with the exception of aerobic mesophylls. The results allow to classify the laminar flow cabin as grade A. It is concluded that the limit of the microbial contamination present in the surface analyzed is not Within the limits of the WHO, because high contamination of the microbial load was found by mesophilic aerobes, increasing the risk of contamination that can affect the drugs that are processed in the laminar flow cabin; It is also inferred that the cleaning and sanitization process is not adequate, which is why corrective measures must be taken.

**Keywords:** laminar flow, production of medicines, microbial load, aerobic mesophiles, molds and yeasts, sampling of surface.

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICO .....	xi
ÍNDICE DE FIGURA .....	xii
ÍNDICE DE FOTO.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	xiv

### **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1 Descripción de la Realidad Problemática .....	15
1.2 Formulación del Problema.....	16
1.3 Objetivos de la Investigación .....	16
1.3.1 Objetivo General.....	16
1.3.2 Objetivos Específicos .....	16
1.4 Hipótesis de la Investigación .....	16
1.4.1 Hipótesis General .....	16
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	17
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación .....	17
1.5.1 Justificación.....	17

1.5.2	Importancia.....	18
-------	------------------	----

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

2.1	Antecedentes de la Investigación .....	19
2.1.1	Antecedentes Nacionales.....	19
2.1.2	Antecedentes Internacionales.....	20
2.2	Bases Teóricas.....	22
2.2.1	Área de Producción.....	22
2.2.2	Las Buenas Prácticas de Manufactura en Medicamentos.....	24
2.2.3	Cabina de la Flujo Laminar.....	25
a.	Clasificación de Cabina de Flujo Laminar .....	26
a.1	Clase I .....	26
a.2	Clase II .....	27
a.3	Clase III .....	27
b.	Limpieza y Sanitización de la Cabina de Flujo Laminar ....	28
b.1	Limpieza .....	28
b.2	Sanitización .....	29
b.2.1	Clasificación de Desinfectantes.....	29
b.2.2	Factores que afectan la eficacia de los desinfectantes.....	30
2.2.4	Contaminación Microbiana en Productos Farmacéuticos.....	33
2.2.5	Determinación de la carga microbiana .....	35
a.	Hongos Filamentosos y Levaduras .....	36
b.	Aerobios Mesófilos .....	37
2.2.6	Análisis Microbiológico de Superficie Aplicados en Cabina de Flujo Laminar.....	38
2.2.7	Método de Análisis Microbiológico para la Cuantificación de Microorganismos en Superficie.....	40

a. Métodos convencionales .....	40
a.1 Método Recuento en Placa .....	40
b. Métodos Rápidos.....	41
b.1 Placas Petrifilm .....	42
b.1.1 Descripción de las Placas Petrifilm.....	42
b.1.2 Componentes de las Placas Petrifilm .....	42
2.2.8 Normativa para el Control Microbiológico de Superficie .....	44
2.3 Definición de Términos Básicos .....	46
2.3.1. Área aséptica: .....	46
2.3.2. Agente sanitización: .....	46
2.3.3. Agente de limpieza.....	46
2.3.4. Acción correctiva: .....	46
2.3.5. Contaminación Cruzada: .....	46
2.3.6. Control microbiológico: .....	46
2.3.7. Límite de detección: .....	46
2.3.8. Recuento microbiano:.....	46
2.3.9. Unidad formadora de colonias (UFC):.. ..	46

### **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1. Tipo de Investigación.....	47
3.1.1 Método.....	47
3.1.2 Técnica.....	48
3.1.3 Diseño.....	48
3.2 Población y Muestreo de la Investigación.....	48
3.2.1 Población.....	48

3.2.2 Muestra.....	49
3.3 Variables de la Investigación.....	49
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	49
3.4.1 Técnica.....	49
a. Toma de muestra.....	49
b. Análisis Microbiológico.....	51
b.1 Siembra: .....	51
b.2 Incubación: .....	51
b.3 Recuento en Placa .....	52
3.4.2 Instrumentos.....	53

## **CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

4.1 Resultados.....	54
4.1.1 Recuento de aerobios mesófilos .....	54
4.1.2 Recuento de mohos y levaduras .....	54
4.2 Análisis e Interpretación de Resultados.....	55
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES .....	59
RECOMENDACIONES.....	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
ANEXOS.....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> Clasificación general desinfectantes.....	30
<b>TABLA 2.</b> Grupos microbianos según su resistencia .....	32
<b>TABLA 3.</b> Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de productos no estériles para uso farmacéutico.....	35
<b>TABLA 4.</b> Límites Permisibles de Contaminacion Microbiana .....	44

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>GRÁFICO 1:</b> Mecanismo de acción de los desinfectante .....	31
<b>GRÁFICO 2:</b> Comparación de recuento de aerobios mesófilos en la superficie de la cabina de flujo laminar realizados, agosto 2016.....	55
<b>GRÁFICO 3:</b> Comparación de recuento de mohos y levaduras en la superficie de la cabina de flujo laminar realizados, agosto 2016.....	56

## ÍNDICE DE FIGURA

<b>FIGURA 1:</b> Diseño de la placa petrifilm .....	43
---	----

## ÍNDICE DE FOTO

<b>FOTO N° 1:</b> Cabina de flujo laminar .....	26
<b>FOTO N° 2:</b> Hisopado de la superficie.....	50
<b>FOTO N° 3:</b> Muestras de hisopado.....	50
<b>FOTO N° 4:</b> Siembra de la muestra.....	51
<b>FOTO N° 5:</b> Incubación de las muestras .....	52
<b>FOTO N° 6:</b> Lectura de las placas.....	52

## INTRODUCCIÓN

La producción de medicamentos en farmacia de establecimiento hospitalario está regulada por la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID), como una de sus acciones de vigilancia y control sanitario de los productos farmacéuticos a fin de controlar y minimizar los riesgos de contaminación microbiana durante su manufactura. De acuerdo a los protocolos farmacéuticos, los productos deben de obedecer las especificaciones determinadas por la norma sanitaria. <sup>(1)</sup>

Las superficies donde se realizan las preparaciones farmacéuticas como, la cabina de flujo laminar deben de cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura porque pueden ser contaminados por materiales, insumos u otros medicamentos. En muchos casos, la misma cabina de flujo laminar puede ser usado para diferentes procesos subsecuentes; por ello, es esencial realizar un buen procedimiento de limpieza y sanitización antes y después de la preparación de medicamentos como parte integral del sistema de aseguramiento de la calidad. <sup>(2)</sup>

La calidad microbiológica de superficie de la cabina de flujo laminar está comprometida en la elaboración de medicamentos, donde es indispensable realizar controles microbiológicos periódicos para así obtener productos farmacéuticos seguros. La Organización Mundial de la Salud (OMS), establece que los niveles de acción microbiológica en las superficies deben ser tomadas como guías de referencias, que a través de ello se tiene conocimiento de las condiciones microbiológicas presentes y permite tomar las medidas correctivas en la cabina de flujo laminar, evitando contaminaciones futuras. <sup>(2, 3, 4)</sup>

# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

La elaboración de productos farmacéuticos en farmacias de establecimientos de salud, conlleva al compromiso de obtención de productos de calidad, dentro de las normas de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 35), que se basan en la descripción del control microbiológico de las superficies involucradas en la manufactura farmacéutica.

La elaboración de medicamentos pasa por un proceso controlado hasta la administración al paciente. La posibilidad que puedan llegar a ser contaminados por varios elementos en diferentes puntos a largo de la línea de manufactura; la carga microbiana de los productos terminados pueden representar la contaminación de las superficies como la cabina de flujo laminar donde fueron elaborados e incluyendo a las personas que laboran en el proceso preparación de medicamentos. Comprometiendo los requerimientos microbiológicos, farmacológicos y terapéuticos.

Por tal motivo, este estudio, pretende determinar la contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar donde se realiza la elaboración de los procesos de encapsulados, reducción de dosis y fraccionamientos de los medicamentos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. La necesidad de realizar el control microbiológico de superficie adecuadamente sirve para obtener productos seguros y que la superficie cumpla con las condiciones de

esterilidad, de acuerdo con las normativas exigidas por la OMS y USP 35.

## **1.2 Formulación del Problema**

¿Cuál será el límite de la contaminación microbiológica indicados según la OMS, que cumpla la superficie de la cabina de flujo laminar donde se elaboran los medicamentos del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Agosto 2016?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar la contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar de acuerdo a los límites indicados por la OMS, donde se elaboran los medicamentos del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Agosto 2016.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

O.E.1: Determinar el recuento de mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

O.E.2: Determinar el recuento de aerobios mesófilos en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

## **1.4 Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1 Hipótesis General**

La contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara

Irigoyen cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud, Agosto 2016.

#### 1.4.2 Hipótesis Secundarias

H.S.1: El recuento microbiano de mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud.

H.S.2: El recuento microbiano de aerobios mesófilos en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud.

### 1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

#### 1.5.1 Justificación

La cabina de flujo laminar es un cámara que emplea un ventilador para forzar el aire a través de filtros HEPA (High Efficiency Particulate Absorbing) que circulan dentro del área manteniendo la esterilidad durante la elaboración de los medicamentos que se realizan diariamente, como el proceso de encapsulado, reducción de dosis y fraccionamiento, siendo la responsabilidad del Químico Farmacéutico.

Es necesario realizar el control microbiológico de la superficie de la cabina de flujo laminar porque son áreas susceptibles a la contaminación microbiana. Para asegurarnos que los medicamentos, cumplan con los criterios microbiológicos aceptados, evitando la contaminación de los medicamentos durante el proceso de elaboración que serán administrados a los pacientes hospitalizados y ambulatorio en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

Motivo por el cual, es necesario la evaluación microbiológica de superficie de la cabina de flujo laminar permitiendo conocer el límite de la carga microbiana de la contaminación microbiológica presente en el proceso de la elaboración farmacéutica.

Es por este, motivo que existen normativas nacionales e internacionales como son las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), que presentan lineamientos generales que permitan garantizar la calidad de los productos farmacéuticos.

### 1.5.2 Importancia

La evaluación microbiológica de la superficies de la cabina de flujo laminar, es un factor fundamental, porque ayuda a controlar la carga microbiana de mohos, levaduras y aerobios mesófilos. Los procesos elaboración de medicamentos como encapsulados, reducción de dosis y fraccionamiento se llevan a cabo en el área de procesos de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen que debe seguir los criterios establecidos por la normativa internacional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) especificada para preparaciones farmacéuticas.

Los datos que se obtendrán en, este estudio, servirán como indicadores que nos permitirá conocer la carga microbiana de la contaminación microbiológica presente como aerobios mesófilos, mohos y levaduras, y si se encuentran dentro de los límites permitidos, de no ser así, permitirá tomar las medidas correctivas incluyendo el correcto procedimiento de la limpieza y sanitización de la cabina de flujo laminar.

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la Investigación

#### 2.1.1 Antecedentes Nacionales

En la siguiente investigación realizada por García Saucedo S. **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS NO ESTÉRILES Y DIETÉTICOS ELABORADOS POR LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA NACIONAL (2013)**. En la cual se evaluó la calidad microbiológica de los productos no estériles y dietéticos, hallándose recuentos, menores de 10 UFC/mL o 10UFC/g) de aerobios mesófilos y mohos y levaduras que cumplen con la calidad microbiológica dentro de los límites de la USP 35. Esto indica que los productos farmacéuticos cumplen con las Buenas Practicas Manufactura y las Buenas Practicas Laboratorio. El hecho de que exista cierta inocuidad realmente perceptible al realizar, el análisis microbiológico es indicador de los medicamentos, y la calidad son factores decisivos para que los resultados microbiológicos puedan tener credibilidad. <sup>(5)</sup>

En la siguiente investigación realizada por Castillo Alegria M.; Yanyachi Pajuelo M. **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO SANITARIA EN FÓRMULAS NUTRICIONALES ENTERALES Y USADOS EN 2 HOSPITALES DE LA CIUDAD DE LIMA. (2002)**. En la cual se evaluaron los niveles contaminación de las fórmulas nutricionales, hallándose recuentos mayores de  $10^4$ UFC/mL, el 54% del total de las muestras analizadas representadas (el 48% de fórmulas comerciales y 63% de fórmulas artesanales), contaminados por aerobios mesófilos, estas bacterias indicadoras están asociadas a las malas condiciones de higiene, concluyendo

que la contaminación es elevada, por lo cual es urgente asegurar la higiene durante la preparación y manipulación de manera que se controle la contaminación microbiológica en las fórmulas nutricionales. <sup>(6)</sup>

### 2.1.2 Antecedentes Internacionales

En la siguiente investigación realizada por Charry N.; Gómez LS. **DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA PRESENTE EN SUPERFICIES DE UN LABORATORIO DE REFERENCIA DISTRITAL DE MICROBIOLOGÍA FARMACÉUTICA (2016)**. Se llegó a la conclusión que los límites de la contaminación microbiológica de las superficies del laboratorio de microbiología farmacéutica de la cabina de flujo laminar, antes y después de la desinfección, obteniéndose obtuvieron recuentos menores de  $1\text{UFC}/\text{cm}^2$ , lo cual demostró que la carga microbiana en la superficie de trabajo de este equipo fue baja (en el 47,7% y el 81.8% de las muestreos después de la desinfección, no hubo crecimiento para el caso aerobios mesófilos y mohos y levaduras respectivamente), pero en algunos casos se observó crecimiento, luego de la desinfección por lo cual se estableció aumentar la frecuencia del proceso de desinfección, ya que el material que ingresa al equipo puede contener partículas de polvo, además, el alcohol deja de ser efectivo cuando se evapora. Una vez efectuado los cambios, se obtuvieron resultados satisfactorios. <sup>(4)</sup>

En la siguiente investigación realizada por Sousa Carréra J.; Batista do Nascimento D.; da Silva Mascarenhas S.; Vasconcelos de Mendonca L.; Chagas Monteiro M.; do Socorro Ferraz M. et al. **EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL PROCESO DE MANIPULACIÓN DE ANTINEOPLÁSICOS EN UN HOSPITAL DE REFERENCIA EN EL TRATAMIENTO DE CÁNCER EN EL ESTADO DE PARÁ, BRASIL (2010)**. Se llegó a la conclusión que el nivel microbiológico de la superficie de la cabina seguridad biológica (CSB), involucrada en el procesamiento de las drogas antineoplásicas, se hallaron recuentos de 1UFC/cm<sup>2</sup>, de hongos filamentosos. De un total de cuatro (18%) de las 22 UFC<sub>S</sub> aisladas provenientes de la CSB, los resultados mostraron crecimientos de hongos filamentosos del género *curvularia sp* a una frecuencia de 9%. En este estudio el análisis mostró contaminación de las muestras analizadas de la CBS Clase 2BII, donde no debe ocurrir crecimiento. Tal como lo exige la convección de inspección farmacéutica, lo cual se demostró la contaminación durante el proceso de preparación de los medicamentos por hongos filamentosos como biocontaminantes y son potencialmente patógenas para los individuos inmunocomprometidos.<sup>(7)</sup>

En la siguiente investigación realizada por Delgado M.; Escamilla L.; Pérez A.; Arias J.; **DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA PRESENTE EN UN ÁREA DE FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS ESTÉRILES A BASE DE ANTIBIÓTICOS B-LACTÁMICOS (2004)**. Se llegó a la conclusión que los niveles de contaminación microbiológica de las superficies involucradas en la fabricación de

medicamentos, fueron elevadas, donde se hallaron recuentos de hongos filamentosos de 3UFC/25cm<sup>2</sup>, en las superficies del equipo envasadora de polvos esto se debe a las partículas que tienen una característica física de higroscópica que aumenta el nivel de humedad, facilitando el crecimiento de hongos. A través de estos controles microbiológicos permitieron evaluar la limpieza y desinfección para establecer los límites de contaminación de acuerdo a las especificaciones indicada por la norma del comité de experto de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. <sup>(8)</sup>

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 Área de Producción**

El área de producción es importante para la elaboración de medicamentos, debido a que está sujeta a ciertas condiciones especiales para minimizar los riesgos de contaminación microbiana, de partículas y de pirógenos.

Las instalaciones deben ser diseñadas, construidas, ubicadas, adaptadas y mantenidas acordes con las operaciones de producción que se realizan. Deben ser áreas independientes y autónomas para la fabricación de productos farmacéuticos, debido a que no se generen contaminación cruzada. <sup>(9, 10,11)</sup>

De lo descrito las oficinas farmacéuticas (farmacias) y de establecimiento de salud (hospitales), dedicadas a la elaboración de medicamentos deben de adaptarse al cumplimiento de las instalaciones adecuadas que son tomadas como guías de acuerdo a la necesidad y exigencia del medicamento.

Las áreas independientes deben estar ubicadas en orden lógico, concordante y deben estar claramente identificadas, de acuerdo a las operaciones de producción que se desarrollan. Así como, las áreas de trabajo deben de tener un flujo ordenado y secuencial para la ubicación de equipos y materiales, de tal manera que se reduzca el riesgo de confusión errónea durante la fabricación de los medicamentos y evitar la contaminación cruzada. <sup>(9, 10, 11)</sup>

También se deben de considerar las condiciones para asegurar la calidad ambiental, los elementos como flujo de aire, temperatura, humedad, iluminación y limpieza no deben afectar directa o indirectamente la calidad de los productos, durante su manufactura y almacenamiento. Deben ser controlados para mantener sus características físicas, químicas, microbiológicas y farmacológicas. Esto se manifiesta en casos de medicamentos termosensibles, es decir, que afectan con los cambios de temperatura y otros son higroscópicos, es decir que absorben la humedad del ambiente y pueden descomponerse. Además del sistema de flujo de aire mantiene una ventilación libre, suministrando aire limpio que minimiza y ayuda evitar la acumulación de partículas que son generadas por el producto, personal o procesos desarrollados. Por eso, se debe controlar desde la producción hasta el almacenamiento asegurando de esta manera la estabilidad del medicamento. <sup>(1,10, 11)</sup>

La limpieza de la mesa de trabajo y equipos en la elaboración de preparados debe de ser liso e impermeable, de fácil limpieza y desinfección, inerte a colorantes y sustancias agresivas. Incluyendo utensilios debe de realizarse adecuadamente para impedir la contaminación microbiológica del producto farmacéutico. <sup>(1, 9,10)</sup>

## 2.2.2 Las Buenas Prácticas de Manufactura en Medicamentos

Las Buenas Prácticas de Manufactura son conjuntos de normas y procedimientos que son fundamentales para garantizar que los productos farmacéuticos mantengan la identidad, pureza, concentración e inocuidad requeridas desde su elaboración hasta su periodo de vida útil. <sup>(1,9,10)</sup>

Los elementos que intervienen en la elaboración de los medicamentos, el personal, materias primas, materiales, infraestructura, equipos y métodos estandarizados constituyen herramientas básicas para la obtención de productos farmacéuticos seguros para el consumo humano que se centraliza en el cumplimiento de tres objetivos fundamentales de las Buenas Prácticas de manufactura. <sup>(1, 9,11)</sup>

- *Evitar errores:* se debe evitar la ocurrencia o recurrencia de errores. Debido a que pueden causar problemas en el proceso de producción estableciendo una dinámica operacional consistente mediante el uso de procedimientos normalizados de trabajo (PNTs).
- *Evitar contaminación cruzada del proceso fabricado con otros productos:* la presencia de incidencia o situación (de aspecto administrativo), lo que se busca es asegurar que no haya más casos como consecuencia de la propagación de contaminación representa un problema. En esta etapa se habla de los procesos de contención o de aislamiento.
- *Garantizar el monitoreo de los procesos:* en cada proceso se debe de revisar para asegurar que no presente problema, caso contrario se debe identificar. El monitoreo adecuado solo se logra si hay un sistema de registro de información lo suficientemente robusto en el análisis de los sucesos.

El uso de un Programa de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) se puede incluir prácticamente en todas las actividades o áreas operativas:

- Condiciones de la materia prima.
- Procesos de manufactura.
- Proceso de envasado o empaque.
- Programas de limpieza y de higiene personal.
- Procesos Administrativos.

La Calidad Integral de un producto farmacéutico debe diseñarse, construirse, controlarse y conservarse, de acuerdo al cumplimiento de las BPM que consolida la seguridad de la salud del paciente.

### **2.2.3 Cabina de la Flujo Laminar**

Es una cámara de flujo laminar en forma generalmente prismática con una única cara libre (la frontal) que da acceso al interior, donde se localiza la superficie de trabajo. Posee un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro HEPA (High Efficiency Particulate Absorbing), proporcionando aire limpio a la zona de trabajo libre de partículas, capaz de garantizar un área estéril de trabajo, donde el producto no sea contaminado por agentes externos, perfectos para procedimientos que deban llevarse bajo niveles aptos de seguridad tales como la fabricación de medicamentos, análisis de ensayos químicos u otros.

La cabina de flujo laminar son recomendados para la elaboración de medicamentos que puede ser horizontal y vertical según la Farmacopea de los Estados Unidos de América. <sup>(12)</sup>

La cabina de flujo laminar, tal como se muestra en la Foto N°1, poseen ventajas de seguridad debido a que baja el nivel

de contaminación relativa mil veces con respecto a un área limpia convencional (clasificada entonces como clase 100.000 la convencional y clase 100 la de flujo laminar, según ISO-14644-1). Es decir de 100.000 partículas por pie<sup>3</sup> a 100 partículas por pie<sup>3</sup> equivalentes a 3500 por litro en oposición a 3.5 por litro. <sup>(13)</sup>

**FOTO N° 1: CABINA DE FLUJO LAMINAR**



**FUENTE:** Elaboración Propia.

## **a. Clasificación de Cabina de Flujo Laminar**

### **a.1 Clase I**

Son cabinas diseñadas para la protección del manipulador y del ambiente, pero no del producto. Es una cabina parcialmente abierta en la parte delantera y presenta en su diseño un solo filtro HEPA situado en la salida de aire al exterior. El aire entra al interior de la Cabina Seguridad Biológica directamente del recinto donde se encuentra la cabina, a través de la abertura frontal, por lo que no está

filtrado y puede contaminar el producto. No existe por tanto recirculación interior del aire.

### **a.2 Clase II**

Son cabinas diseñadas para la protección del producto, manipulador y ambiente. En este tipo de cabina funciona cuando el flujo de aire vertical se filtra a través de un filtro HEPA y alcanza la superficie de trabajo de la cabina, pasa a través de un filtro HEPA y, mediante un ventilador, es impulsado, parte de nuevo a la zona de trabajo. Esta porción de aire que se elimina al exterior es la responsable de que en la zona de trabajo se crea una presión negativa, que se compensará con la entrada de aire del ambiente. La cortina de aire del exterior, introducido a través del frontal de la mesa de trabajo, mantiene el recinto bajo presión negativa, garantizando la máxima protección del operador. El aire expulsado pasa a través de un filtro HEPA antes de ser expulsado.

### **a.3 Clase III**

Son cabinas diseñadas que están totalmente separados y cerrados herméticamente a gases del área de trabajo para que el manipulador se encuentre totalmente separado del producto por una barrera física. Debido a su diseño son llamados caja de guantes.

La manipulación de los objetos introducidos en la cabina se realiza mediante unos guantes de goma unidos a la cabina. Existen modelos que incorporan trajes herméticos de goma de medio cuerpo que permiten que el manipulador se introduzca en el área de trabajo. La cabina se puede mantener bajo presión negativa o positiva, no obstante, cuando se manipulan

medicamentos citostáticos se recomienda hacerla bajo presión negativa. El aire se introduce a través de filtros HEPA y se extrae generalmente mediante una doble filtración HEPA. No se requiere flujo laminar. Presenta la ventaja respecto a las cabinas clase II, de no requerir un área de trabajo limpia para su ubicación. <sup>(12,13)</sup>

## **b. Limpieza y Sanitización de la Cabina de Flujo Laminar**

El procedimiento de limpieza y sanitización, es un conjunto de actividades que son aplicadas a cada una de las áreas de proceso para eliminar o disminuir a un mínimo aceptable la carga microbiana presente donde se realiza el proceso de elaboración, además de optimizar la calidad sanitaria de los productos.

La importancia de la limpieza para el correcto cumplimiento de las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) tiene como objetivo principal eliminar la suciedad y cualquier residuo indeseable, ya sea físico, químico o microbiológico. <sup>(14, 15, 16)</sup>

Etapas de la Limpieza y la Sanitización:

### **b.1 Limpieza**

- Recoger los residuos del producto, polvo o cualquier suciedad presente en el lugar a limpiar.
- Humedecer con agua estéril la superficie a limpiar.
- Preparar las soluciones detergentes a utilizar.
- Realizar la limpieza de adentro hacia afuera, del área más limpia a la más sucia.
- Dejar que la solución detergente aplicada actúe por un tiempo prudencial.
- Enjuagar con suficiente agua asegurándose que la solución detergente se elimine por completo.
- Verificar la limpieza y registrar.

## **b.2 Sanitización**

- Aplicar la solución sanitizante sobre el lugar o superficie a sanitizar.
- Dejar la solución sanitizante según el tiempo establecido para cada sustancia.
- Verificar y registrar.

La superficie de trabajo de la cabina, los cristales laterales y frontal se limpian con Clorhexidina al 5%. Luego se procede a limpiar con alcohol al 70° la limpieza se efectúa arrastrando, siguiendo el sentido del flujo del aire, se tiene en cuenta primero las áreas de menor a mayor contaminación es decir, en primer lugar las paredes laterales de arriba abajo y a continuación la superficie de trabajo desde adentro hacia fuera. La limpieza se realizará en los siguientes pasos:

- Antes de empezar cualquier trabajo en la cabina flujo laminar.
- Una vez finalizado el trabajo en ella.
- En caso de producirse derrames.
- Antes de realizar test de control microbiológico.

### **b.2.1 Clasificación de Desinfectantes**

Los desinfectantes químicos se clasifican según su composición química. Esto incluye aldehídos, alcoholes, halógenos, peróxidos, compuestos de amonio cuaternario y compuestos fenólicos, tal como lo describe la Tabla N° 1.

(17)

**TABLA 1: CLASIFICACIÓN GENERAL DESINFECTANTES**

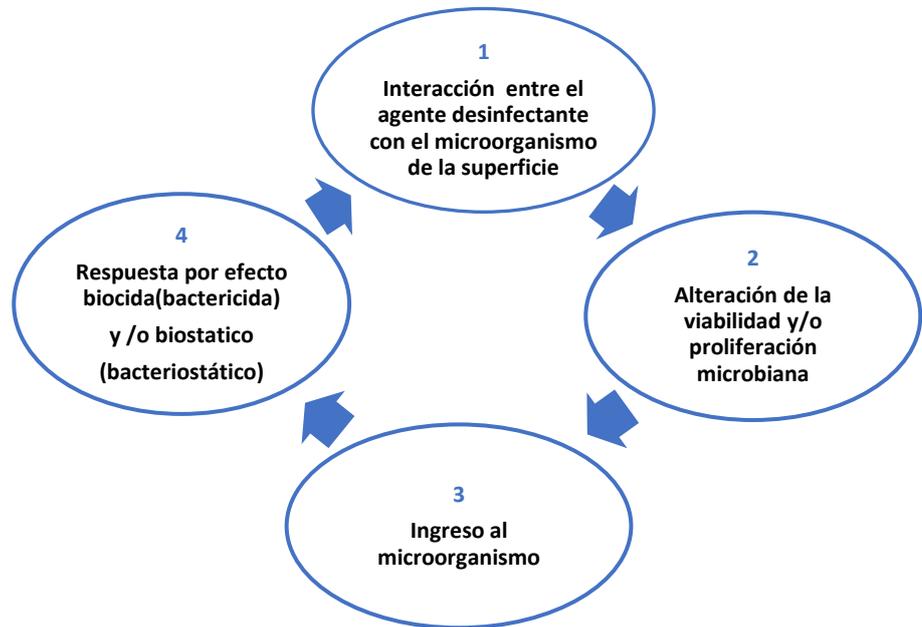
<b>Entidad química</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Ejemplo</b>
<b>Aldehídos</b>	Agente esporicida	Glutaraldehído al 2%
<b>Alcoholes</b>	Desinfectante de uso general, antiséptico y agente antiviral	Alcohol isopropílico al 70%, alcohol al 70%
<b>Cloro e hipoclorito de sodio</b>	Agente esporicida	Hipoclorito de sodio al 0.5%
<b>Fenoles</b>	Desinfectante de uso general	500µg por g de clorocresol, 500µg por g de cloroxilenol
<b>Peróxido de hidrogeno</b>	Esterilizante de fase vapor, agente esporicida líquido, antiséptico.	4 µg por g de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> vapor, solución del 10% al 25%, solución al 3%.
<b>Biguanidas sustituidas</b>	Agentes antisépticos	Gluconato de clorhexidina al 0.5%
<b>Compuestos de amonio cuaternario</b>	Desinfectante de uso general y antiséptico	Concentración depende de la aplicación, cloruro de benzalconio
<b>β -Propiolactona</b>	Agente esporicida	100µg por g de β -propiolactona.

**FUENTE:** Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 35, 2012.

### **b.2.2 Factores que afectan la eficacia de los desinfectantes**

Existen numerosos factores que influyen en la eficacia del desinfectante, unos relacionados con los propios microorganismos y otros relacionados con condiciones físicas o químicas externas. <sup>(13,18)</sup>

## GRÁFICO 1: MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS DESINFECTANTE



**FUENTE:** Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, cosmética y de Productos Médicos, 2013

La eficacia del proceso de desinfección se fundamenta en el mecanismo de acción de los desinfectantes en la secuencia siguiente, tal como se muestra en el Gráfico N°1:

En esta secuencia se muestra, que el primer paso sería la interacción del agente desinfectante con el microorganismo presente en la superficie, con el propósito de penetrar al mismo para alcanzar el blanco de acción (paso 2), causando muerte microbiana o reducir la proliferación microbiana, que tenemos dos tipos de respuesta por efecto biocida (bactericida, fungicida y viricida) y los que causan disminución de su replicación por efecto biostático (bacteriostático y fungistático) (paso 3). Es de notar que la propia interacción puede causar daños suficientes para alterar la viabilidad del microorganismo presente. <sup>(13)</sup>

El mecanismo de acción de los desinfectantes, para que sean eficaces, tienen factores de influencia entre ellos tenemos, el agua, condiciones de crecimiento, tipo de microorganismo, tiempo de contacto, carga microbiana sustancias interferentes, pH (potencial de la concentración de iones de hidrógeno), temperatura y concentración. (10, 13, 17)

▪ **Tipos de microorganismos**

Los microorganismos tienen diferente sensibilidad a un mismo agente desinfectante, debido a que varía según el mecanismo de acción.

Idealmente un desinfectante debe tener un amplio espectro contra bacterias, hongos, virus y esporas. Las formas microbianas más resistentes son las esporas, seguidas por los hongos, tal como muestra la Tabla N°2. (13,18)

**TABLA 2. GRUPOS MICROBIANOS SEGÚN SU RESISTENCIA**

<b>Esporas &gt; Micobacterias &gt; Virus pequeños &gt; Hongos &gt; Bacterias(formas vegetativas)</b>	<b>Bacterianas</b>	<b>no lipídicos</b>	<b>Virus medianos lipídicos</b>
--	--------------------	---------------------	---------------------------------

**FUENTE:** Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, cosmética y de Productos Médicos, 2013.

▪ **Posible presencia de interferencias**

En el proceso de la desinfección casi siempre las superficies y/o equipos que son usados y pueden contener residuos, estos residuos deben eliminarse completamente antes de la etapa de desinfección, ya que generalmente reducen la acción de los agentes desinfectantes. Por ello, siempre debemos tener presente que no se debe desinfectar sobre lo sucio. (13)

#### ▪ **Tiempo de contacto y concentración**

El proceso de desinfección para que sean efectivos en primer lugar debe atravesar la envoltura celular hasta sus sitios diana (blanco), Cuando la carga microbiana es muy alta se requiere una mayor concentración de desinfectante y un mayor tiempo de exposición; de ahí la necesidad y recomendación de limpiar siempre la superficie previa a la aplicación, pues reducirá en parte la carga microbiana facilitará la acción del desinfectante.  
(13,18)

La eficacia de los desinfectantes, se maneja adecuadamente con el control y monitoreo microbiológico permitiendo obtener productos seguros y de calidad desde el punto vista microbiológico, porque un descuido tiene como consecuencia el aumento de la carga microbiana en las áreas de producción tanto en equipos y superficies, contribuyendo a la contaminación de los productos farmacéuticos afectando la salud del usuario.  
(13,17)

Lo anterior hace parte de un sistema de calidad en donde tienen gran influencia las buenas prácticas de manufactura (BPM), siendo estas responsables de involucrar todo lo relacionado con el proceso productivo.

### **2.2.4 Contaminación Microbiana en Productos Farmacéuticos**

La contaminación microbiana de los productos farmacéuticos ha sido extensamente estudiada tanto a nivel nacional como internacional. De lo mencionado se han observado en la mayoría de estudios los efectos de la contaminación microbiana en productos farmacéuticos siendo los siguientes:

- Disminución de los efectos terapéuticos del medicamento.
- Alteración del ingrediente activo.
- Intoxicación por administración de medicamentos contaminados.
- Deterioro del medicamento.
- Menor vida útil del medicamento.

Las preparaciones farmacéuticas están sujetas a requisitos especiales para minimizar riesgos de contaminación microbiana que pueden contaminarse con hongos filamentosos, levaduras y bacterias. La materia prima, el equipamiento, el agua, los operadores, el aire, y el material de empaque pueden ser fuentes de contaminación de los productos farmacéuticos. Muchos microorganismos pueden llegar a producir toxinas constituyendo un riesgo sanitario especialmente en formas farmacéuticas orales (hongos filamentosos) o pueden provocar el deterioro de un producto medicamento como consecuencia de su crecimiento alterando sus características organolépticas. <sup>(13, 17,19)</sup>

Los productos no estériles (oral, rectal, cutáneo, nasal, vaginal, gingival, etc.), son susceptible a la contaminación microbiana durante la elaboración en la cabina de flujo laminar. Es por ello, que se debe de reducir y controlar la carga microbiana presente en las superficies para obtener productos sean seguros y de calidad para el uso al que están destinados. Tal como lo describe la Tabla N° 3. <sup>(5, 6, 17)</sup>

Además los microorganismos contaminantes están en función de:

- *El uso del producto*, el riesgo varía de acuerdo a la vía de la administración (ocular, nasal, respiratoria, etc.).

- *La naturaleza del producto*, si el producto es susceptible a crecimiento microbiano.
- *A que pacientes será dirigido*, varía en función de riesgo si se destina neonatos, infantes y ancianos.

**TABLA 3. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PRODUCTOS NO ESTÉRILES PARA USO FARMACÉUTICO.**

	Recuento total de Microorganismo aerobios (UFC/g) ó (UFC/mL)	Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras(UFC/g) ó (UFC/mL)
<b>Productos Farmacéuticos</b>	$10^3$	$10^2$

FUENTE: Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 35, 2012

La necesidad de garantizar la eficacia, seguridad y la calidad de los medicamentos es evitar la contaminación microbiana, controlándose la carga microbiana que juega un papel fundamental en la conservación de la acción terapéutica asegurando la salud del paciente.

### 2.2.5 Determinación de la carga microbiana

La determinación de la carga microbiana permite identificar y cuantificar el grado de contaminación de la cabina de flujo laminar involucrada en la preparación de los medicamentos desde el punto de vista microbiológico. <sup>(13)</sup>

El método de recuento es una herramienta útil para la estimación del número de bacterias, sea total o viable. Entre ellos tenemos el método de recuento en placa y el método número más probable, es generalmente, el método de recuento microbiano menos exacto; sin embargo, para algunos grupos de productos con carga microbiana muy baja, puede resultar el método más apropiado. <sup>(13, 17)</sup>

La carga microbiana es la estimación cuantitativa del número de microorganismos presente en los productos farmacéuticos no estériles o llamados no obligatoriamente estériles que son elaborados con ingredientes que pueden ser sustratos aprovechados por los microorganismos presentes en las superficies, tal como lo describe la FDA (La U.S. Food and Drugs Administration). La cabina de flujo laminar que es susceptible a la contaminación microbiana debido a ello, se deben de realizar controles microbiológicos de superficies. <sup>(13)</sup>

Los microorganismos contaminantes, son indicadores y sirven para evaluar la calidad microbiológica, que se pueden detectar y cuantificar a los microorganismos presentes. Por ello, se deben de controlar las condiciones favorables de crecimiento y proliferación microbiana, como la temperatura, humedad y limpieza de la superficie de la cabina de flujo laminar. Debido a ello, ciertos microorganismos pueden aprovechar dichas condiciones tal como los mohos, levaduras y aerobios mesófilos. <sup>(10, 13, 17)</sup>

#### **a. Hongos Filamentosos y Levaduras**

Los hongos filamentosos son microorganismos eucariotas aerobios facultativos que se reproducen de manera natural por esporas asexual o sexual, se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso debido a que está constituido por filamentos ramificados y entrecruzados, llamadas hifas.

Las levaduras son células únicas de forma esférica, posee una morfología muy variable, esférica, ovoide y periforme, en forma de micelio falso. Su tamaño supera al de las bacterias. <sup>(13,18)</sup>

Los microorganismos mohos y levaduras se encuentran ligados a contaminaciones de medicamentos. Como pueden encontrarse en equipos, superficies y mesa de trabajo mal sanitizadas, también pueden utilizar a los medicamentos como sustratos (carbohidratos), debido que en la formulación de los medicamentos contienen una variedad excipientes y principios activos. <sup>(8, 20)</sup>

Las materias primas utilizadas en la fabricación de soluciones, suspensiones, emulsiones son excelentes caldos de cultivos para bacterias, pero otras sustancias, como las resinas, los agentes dispersantes, los surfactantes, los azúcares, los aromatizantes pueden ser portadores de bacterias que en última instancia, contaminación del producto. En los equipos farmacéuticos pueden proliferar en las ranuras y resquicios de los equipos farmacéuticos, pues estos equipos deben ser sometidos a una limpieza minuciosa antes de su uso. <sup>(13, 20)</sup>

Estos microorganismos crecen en medios selectivos estandarizados para hacer posible su estudio por el método de recuento en placa que se basa en contar el número de colonias desarrolladas en medios selectivos.

Pueden desarrollarse a condiciones ambientales en presencia de oxígeno a una temperatura con una óptima entre 22°C y 25°C. <sup>(17, 21, 22)</sup>

#### **b. Aerobios Mesófilos**

Los microorganismos aerobios mesófilos son grupos de bacterias aerobias que presentan características térmicas intermedias, han sido considerados indicadores que al estar presentes en cantidades superiores, nos indica la posible contaminación en la materia prima, calidad sanitaria

de la fabricación del producto además indicando deterioro del principio activo y excipientes del producto.<sup>(5, 21)</sup>

Estos microorganismos son capaces de crecer en agar nutritivo y se pueden investigar por el método de recuento en placa que se basa en contar el número de colonias desarrolladas en un medio selectivo.

Pueden desarrollarse a condiciones ambientales en presencia de oxígeno a una temperatura con una óptima entre 30°C y 35°C.<sup>(17, 20, 21)</sup>

#### **2.2.6 Análisis Microbiológico de Superficie Aplicados en Cabina de Flujo Laminar.**

El análisis microbiológico de superficie es un procedimiento que nos permite determinar la cuantificación de la carga microbiana presente. Es un requisito fundamental de las buenas prácticas de manufactura y de las buenas prácticas de fabricación de medicamentos ya que la contaminación microbiológica puede afectar significativamente a los resultados de un estudio o investigación y/o comprometer la calidad de un producto y la seguridad de los pacientes.<sup>(4,7)</sup>

El control microbiológico de superficies de rutina, se suelen realizar finalizado el proceso de la producción de medicamentos. Sin embargo, en situaciones especiales tales como validaciones e investigaciones se amplían estos muestreos y se incluyen controles antes y durante la operación. Se debe disponer de un programa microbiológico de ensayo rutinario y periódico (semanal, mensual, etc.), con todos los resultados documentados y mantenidos para su inspección.<sup>(1, 17,13)</sup>

Para realizar las acciones correctivas de acuerdo a los resultados del control microbiológico es muy importante contar con procedimientos escritos que detallen los pasos a tomar en caso que estos límites sean excedidos, como así también efectuar una investigación adecuada incluyendo la caracterización del microorganismo y contar con una lista de acciones correctivas y de prevención para eliminar el problema de contaminación. <sup>(3, 13, 17)</sup>

Entre las medidas correctoras son las siguientes:

- Revisión del programa de sanitización, incluyendo la selección de agentes antimicrobianos, métodos de aplicación y frecuencias.
- Mayor vigilancia en las prácticas del personal, lo cual podría incluir evaluaciones por escrito de métodos y técnicas asépticas.
- Revisión de métodos y técnicas de muestreo microbiológicos.

En el control microbiológico de superficie incluye un nivel apropiado de identificación de la flora microbiana obtenida mediante el muestreo. Conocer la flora microbiana habitual prevista para la instalación que se está controlando, además de que permite evaluar la eficacia de los procedimientos, métodos y agentes de limpieza y sanitización, así como los métodos de recuperación. <sup>(17)</sup>

La identificación de aislamientos de los puntos críticos de la superficie debe de tener prioridad sobre la identificación de microorganismos de zonas no críticas. <sup>(10,13, 17)</sup>

La estandarización de los métodos de muestreo de superficies para el análisis microbiológico no ha sido tratada tan

ampliamente en la industria farmacéutica como la estandarización de control aire. La toma de muestra de la superficie puede llevarse a cabo mediante placa de contacto o por el método de hisopado. <sup>(17, 13)</sup>

## **2.2.7 Método de Análisis Microbiológico para la Cuantificación de Microorganismos en Superficie.**

### **a. Métodos convencionales**

Los métodos convencionales o también llamados tradicionales, son sistemas destinados a la detección, el recuento, la caracterización y aislamiento. Esto dependerá de la preparación de medios de cultivos óptimos para el análisis microbiológico con significado semejante en cualquier laboratorio que utilice, es fundamental que los medios de cultivos, ingrediente de los mismo y reactivos sean comparables. Las entidades regulatorias cuentan con especificaciones o requisitos que deben de cumplir, durante la preparación de medios de cultivos. <sup>(17, 13, 22)</sup>

Si estas condiciones óptimas (pH, esterilidad, nutrientes y otros), si no se controlan, el medio de cultivo posiblemente se contaminará por otros microorganismos de estudios que no son de interés o no se desarrollará el crecimiento microbiano esperado, debido a ello, el método tradicional se trabaja con control negativo (no debe observarse crecimiento microbiano) para asegurar que los resultados microbiológicos sean óptimos. <sup>(17,22)</sup>

#### **a.1 Método Recuento en Placa**

El recuento en placa es un procedimiento que permite conocer el número de microorganismos que hay en una muestra.

El método de recuento en placas es el más ampliamente usado, abarcando dos métodos por extensión en superficie y vertido en placa, dependerá del estudio del microorganismo. <sup>(17, 22)</sup>

El método convencional requiere de los siguientes pasos:

- Preparación de medios de cultivos.
- Inoculación 1mL de la muestra y esparcir.
- Incubación a la temperatura apropiada.
- Conteo de colonias.

### **b. Métodos Rápidos**

Los métodos rápidos son sistema destinado a la detección, el recuento, la caracterización y la subtipificación de microorganismos (patógenos y del deterioro) mediante el cual se obtienen resultados de manera sencilla, fiable y en menor tiempo que con los métodos convencionales. El desarrollo de métodos rápidos y automatizados constituye un área de la microbiología aplicada muy dinámica y en continua evolución.

Los métodos rápidos se basan en técnicas físico-químicas (películas de medios de cultivos deshidratados generales o selectivos, sistemas para determinar el número más probable, medios cromogénicos y fluorogénicos), bioquímicas (galerías miniaturizadas y automatizadas) entre otros. <sup>(24)</sup>

Puede ser empleado para el test de superficies con muestras provenientes de hisopados o de lavados de superficies. También puede ser empleado para el monitoreo de agua potable y de calidad farmacéutica. <sup>(13,23)</sup>

## **b.1 Placas Petrifilm**

El recuento de microorganismos en Placa Petrifilm 3M, es un método microbiológico para llevar a cabo pruebas rápidas, establecidos que han sido reconocidos por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists), para el recuento de bacterias, la principal ventaja de este método es que no requiere la preparación previa de medios de cultivo, reduciendo el tiempo y costo. <sup>(25,26)</sup>

### **b.1.1 Descripción de las Placas Petrifilm**

Es un ingenioso desarrollo que utiliza medios de cultivos deshidratados sobre películas plásticas que poseen un film superior e inferior debido a que cuentan con una cuadrícula de fondo que facilita el conteo de las colonias, obteniendo resultados rápidos y precisos, tal como se muestra en la Figura N°1.

### **b.1.2 Componentes de las Placas Petrifilm**

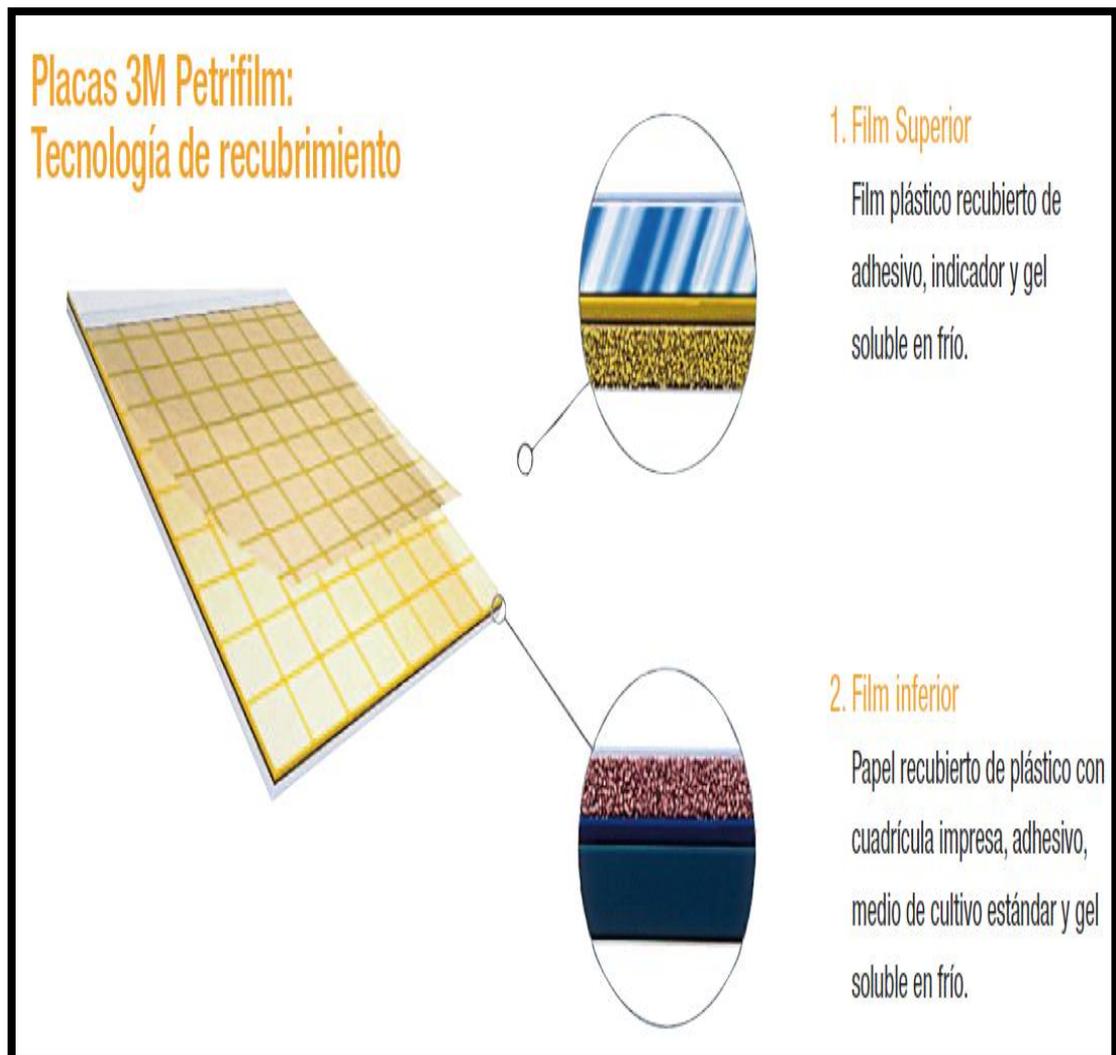
Las Placas Petrifilm tienen incorporado indicadores de pH que colorean las colonias para facilitar su identificación y cuantificación. Al sembrar en placas petrifilm se requiere ajustar el pH de la muestra entre 6.5 y 7.2 debido a que el indicador colorea las colonias y reacciona de forma óptima a pH neutro, facilitando su identificación y recuento. El medio deshidratado contiene además de los compuestos selectivos para adaptar su uso a propósitos concretos, un componente que permite la gelificación en frío. Puede incluir sustratos para detectar microorganismos que presenten una actividad

enzimática concreta. El medio se rehidrata al añadir la dilución de la muestra a analizar. <sup>(25, 27)</sup>

Sólo se requieren tres pasos.

- Inoculación 1mL de la muestra y esparcir.
- Incubación a la temperatura apropiada.
- Conteo de colonias.

**FIGURA 1: DISEÑO DE LA PLACA PETRIFILM**



FUENTE: 3M™ Petrifilm™ 2010

## 2.2.8 Normativa para el Control Microbiológico de Superficie

Las entidades normativas reguladoras internacionales tales como: el Centro de seguridad biológica (CSB), el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED), la Organización Internacional de Estandarización (ISO), la Organización Mundial de la salud (OMS), la Administración de los Alimentos y Drogas (FDA), la Agencia Europea de los Medicamentos (EMA), entre otras. Estas directivas establecen los niveles de acción microbiológica para cada condición de superficie, aire y el personal. Esto depende del tipo de área a monitorear sea aséptica o limpia, así como controles necesarios a realizar bajo condiciones de estado en reposo o en operación. <sup>(28)</sup>

Los límites establecidos por Organización Mundial de la Salud, como guía de referencia para el control microbiológico de superficies en la elaboración de productos farmacéuticos como se muestra en la Tabla N° 4. <sup>(29)</sup>

**TABLA 4. LÍMITES PERMISIBLES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA**

Grado	Límites recomendados de contaminación microbiológica			
	Muestra de aire(UFC/m <sup>3</sup> )	Placa de sedimentación diámetro 90mm (UFC/4 horas)	Placas de contacto diámetro 55mm(UFC/placa)	Impregnación guantes: 5 dedos (UFC/guantes)
<b>A</b>	<b>&lt; 1</b>	<b>&lt; 1</b>	<b>&lt; 1</b>	<b>&lt; 1</b>
<b>B</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>C</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>-</b>
<b>D</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>-</b>

**FUENTE:** Manual de Buenas Prácticas de la Organización Mundial de la Salud, 2011.

Estos grados se basan en el riesgo de la preparación estéril durante el proceso de elaboración que sirven como parámetros fundamentalmente para conocer las condiciones microbiológicas y sanitarias de las superficies.

Según la Buenas Practicas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cabina de flujo laminar, se encuentra clasificada como grado A, que es el área que ofrece condiciones que proporciona un sistema de aire de flujo laminar libre de partículas para habitaciones abiertas y lugares cerrados ofreciendo la alternativa de un flujo de aire unidireccional gracias a los filtros HEPA (High Efficiency Particulate Absorbing) a una velocidad más baja.

Según ISO-14644, la cabina de flujo se encuentra clasificada en áreas limpias como ISO 5 (clase 100), que posee típicamente flujo de aire unidireccional. Los recuentos microbiológicos expresados en UFC, se usan como una medida aproximada de la carga microbiana, los valores recomendados son guías de referencia que permite conocer dichos valores. Sin importar la cantidad de UFC en las superficie de la cabina de flujo laminar, las acciones correctivas futuras se tomaran de acuerdo con la identificación de microorganismos recuperados (al menos el género).<sup>(13,17)</sup>

La finalidad de las medidas correctoras es reducir la carga microbiana o prevenir el crecimiento de microorganismos indeseables, especialmente aquellas de importancia para la salud pública deben ser satisfactorias bajo las condiciones de fabricación y manipulación de los productos farmacéuticos.<sup>(17)</sup>

## 2.3 Definición de Términos Básicos

**2.3.1 Área aséptica:** Área limpia, diseñada y construida para minimizar la contaminación por partículas viables y no viables y mantenerlas dentro de límites preestablecidos

**2.3.2. Agente sanitización:** Agente que reduce, en superficies inanimadas, la cantidad de toda forma de vida microbiana, incluyendo hongos, virus y bacterias.

**2.3.3 Agente de limpieza:** Agente que elimina de la superficie de las instalaciones y equipos residuos de productos que pueden inactivar a los agentes sanitizantes o alberga microorganismos.

**2.3.4 Acción correctiva:** Acción que se emprende cuando los resultados del control indican que se han sobrepasado los niveles de alerta o de acción.

**2.3.5 Contaminación Cruzada:** Contaminación de un material o de un producto terminado con otro material o producto durante el proceso de manipulación.

**2.3.6 Control microbiológico:** Proceso de aseguramiento de la calidad, que tiene en cuenta un riesgo de naturaleza microbiana, cualquiera sea el campo de actividad.

**2.3.7 Límite de detección:** Número más bajo de microorganismos que se pueden detectar, pero en cantidades que no pueden estimarse exactamente.

**2.3.8 Recuento microbiano:** Enumeración por recuento directo de Células o Esporas viables, aisladas, bacterianas, arqueales o fúngicas.

**2.3.9 Unidad formadora de colonias (UFC):** Se denomina a una célula bacteriana viva y aislada que si se encuentra en condiciones de substrato y ambientales adecuadas da lugar a la producción de una colonia en un breve lapso de tiempo.

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Tipo de Investigación

- Aplicada: Se aplicó el método de recuento en placa, donde se determinó, el recuento de mohos, levaduras y aerobios mesófilos en este estudio.
- De campo: se trabajó en el laboratorio de microbiología para evaluar el control microbiológico de las muestras recolectadas de la superficie de la cabina de flujo laminar.

##### 3.1.1 Método

- Científico: Porque mediante el método de recuento en placa se realizó el control microbiológico de superficie y la información de los resultados se llevó a la interpretación por la OMS especificada para preparaciones farmacéuticas.
- Inductivo: Se procesó los ocho puntos de muestras de superficie, que se evaluó a través del control microbiológico para concluir, si la contaminación microbiológica, cumple dentro de los límites indicados por la OMS.
- Deductivo: Porque se interpretó de acuerdo a la especificación establecida por la Organización Mundial de la Salud y se dedujo la aplicación de la misma en representación de los resultados.,
- Descriptivo: Se describió la toma de muestra por el método de hisopado y el método de recuento en placa de acuerdo a la USP 35 establecida, y finalmente se determinó el recuento microbiano (UFC/cm<sup>2</sup>) de la cabina de flujo laminar.

- Cuantitativo: Porque los datos microbiológicos obtenidos se procesaron a través del método de recuento en placa.

### 3.1.2 Técnica

- Cuantitativa para el recuento en placa por el Método Rápido en Placa Petrifilm aprobados por la AOAC, que se realizó el recuento en placa donde se cuantificó las unidades formadoras de colonias (UFC), que fueron recolectadas por la técnica de hisopado en una superficie de 25cm<sup>2</sup> delimitada en cada punto crítico. Para determinar el recuento microbiano (UFC/cm<sup>2</sup>) presente en la cabina de flujo laminar, tal como se muestra en el Anexo N°2:
  - a. Aerobios mesófilos.
  - b. Mohos y levaduras.

### 3.1.2 Diseño

- No experimental: Porque en el estudio del control microbiológico de la superficie de la cabina de flujo no se manipularon las variables dependientes e independientes.
- Transversal: Se realizó el control microbiológico de superficie de la cabina de flujo laminar donde se realizaron dos muestreos por dos días y se analizaron en el laboratorio de microbiología durante el mes de Agosto para determinar la carga microbiana (UFC/cm<sup>2</sup>).

## 3.2 Población y Muestreo de la Investigación

### 3.2.1 Población

Cabina de Flujo Laminar del Área de Laboratorio de Farmacia de Producción.

### 3.2.2 Muestra

Las muestras se colectaron durante dos días, después de realizar la limpieza y sanitización de la superficie de la cabina de flujo laminar y fueron elegidas aleatoriamente, 4 puntos críticos (P1, P2, P3, P4), siendo un total de 8 muestras recolectadas, en este estudio.

### 3.3 Variables de la Investigación

Variable Independiente (X)

VARIABLE INDEPENDIENTE (X)	INDICADORES
Cabina de Flujo Laminar.	Superficie en $\text{cm}^2$

Variable Dependiente (Y)

VARIABLE DEPENDIENTE (Y)	INDICADORES
Evaluación Microbiológica.	Mohos y levaduras ( $\text{UFC}/\text{cm}^2$ ).
	Aerobios mesófilos. ( $\text{UFC}/\text{cm}^2$ ).

### 3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

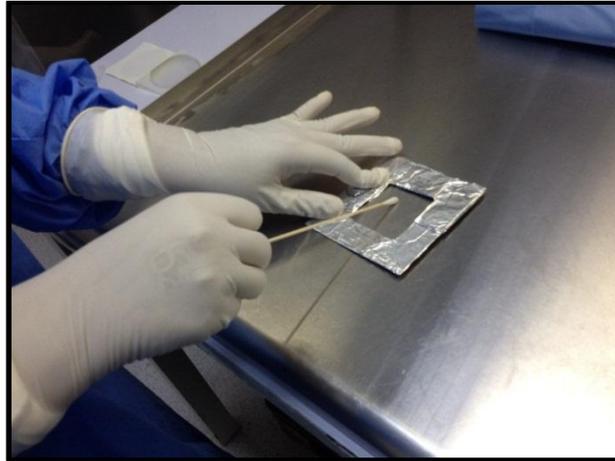
#### 3.4.1 Técnica

a. Toma de muestra

Técnica de Hisopado, es usada para muestrear superficies regulares, tal como se muestra en la Foto N°2. Se tomó un hisopo estéril, el cual fue humedecido con agua peptonada (medio de transporte); con la ayuda de una plantilla estéril de  $25\text{cm}^2$ , se pasó el hisopo sobre la superficie a muestrear, en dirección horizontal y vertical, en cinco

puntos diferentes; finalmente, se llevó el hisopo nuevamente al tubo (se rompió la punta del hisopo que tuvo contacto con los guantes antes de tapan el tubo).

### **FOTO N° 2: HISOPADO DE LA SUPERFICIE**



**FUENTE:** Elaboración Propia

Se agita vigorosamente durante 10 segundos, tal como se muestra en la Foto N°3 y se almacenaron las muestras en la caja termoaislante (2-8°C), para transporte al laboratorio de microbiología para el análisis microbiológico.

### **FOTO N° 3: MUESTRAS DE HISOPADO**



**FUENTE:** Elaboración Propia

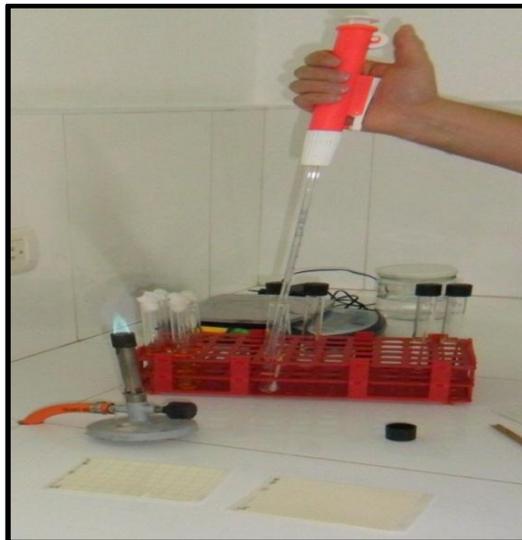
## b. Análisis Microbiológico

### b.1 Siembra:

Se agitó el tubo que contiene el hisopo (vortex) y se inoculó 1ml de muestra recolectada, directamente a la Placa Petrifilm 3M, tal como se muestra en la Foto N°4.

- Mohos y levaduras.
- Aerobios mesófilos.

### FOTO N° 4: SIEMBRA DE LA MUESTRA



**FUENTE:** Elaboración Propia

### b.2 Incubación:

Se llevaron a incubación a estufa a temperatura requerida para el crecimiento microbiano, tal como se muestra en la Foto N°5:

- Mohos y levaduras: se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  x 5 días.
- Aerobios mesófilos: se incubaron a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  x 2 días.

Según la especificación de la AOAC propio del método.

#### **FOTO N° 5: INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS**



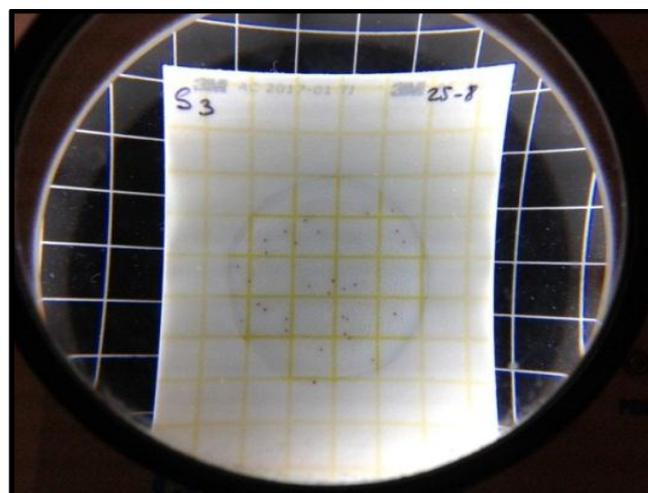
**FUENTE:** Elaboración Propia

#### **b.3 Recuento en Placa:**

Se realizó el conteo de colonias, tal como se muestra en la Foto N°6, y se aplicó la siguiente fórmula según la AOAC:

$$\text{UFC/cm}^2 = 10 \times \text{N}^\circ \text{ colonias} / 25\text{cm}^2$$

#### **FOTO N° 6: LECTURA DE LAS PLACAS**



**FUENTE:** Elaboración Propia.

### 3.4.2 Instrumentos

#### a. Materiales y equipos

- Pipetas volumétricas.
- Mechero bunsen.
- Plantillas 25cm<sup>2</sup>.
- Hisopos estériles.
- Tubos de ensayos con tapa rosca.
- Incubadora.
- Contador de colonia.
- Contenedor isotérmico.
- Alcohol 70°.
- Papel de aluminio.

#### b. Medios de cultivos

- Placas Petrifilm 3M: Mohos y levaduras.
- Placas Petrifilm 3M: Aerobios Mesófilos.
- Agua Peptonada (Merck Millipore).

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados

La cabina de flujo laminar se dividió en cuatro cuadrantes: 1, 2, 3 y 4, que fueron considerados como puntos críticos de muestreo, tal como se muestra en el Anexo N°3.

##### 4.1.1 Recuento de aerobios mesófilos

- En el primer muestreo de la cabina de flujo laminar se obtuvo  $< 0.4\text{UFC}/\text{cm}^2$ , pero en el punto crítico 3, se determinó,  **$14\text{UFC}/\text{cm}^2$** , tal como se muestra en el Anexo N°4.
- En el segundo muestreo de la cabina de flujo laminar se obtuvo  $< 0.4\text{UFC}/\text{cm}^2$ .

Los resultados del primer muestreo demuestran en la superficie de la cabina de flujo laminar, hay mayor contaminación por microorganismos de aerobios mesófilos, tal como se describe en el Anexo N°5.

##### 4.1.2 Recuento de mohos y levaduras

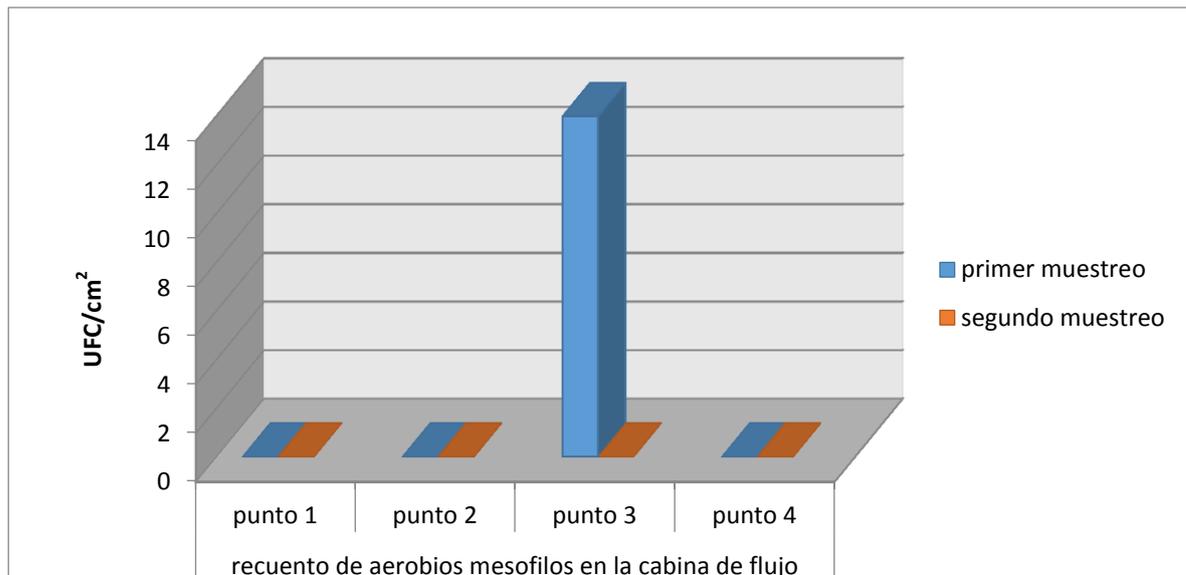
- En el primer muestreo de la cabina de flujo laminar se obtuvo  $< 0.4\text{ UFC}/\text{cm}^2$ .
- En el segundo muestreo de la cabina de flujo laminar se obtuvo  $< 0.4\text{UFC}/\text{cm}^2$ , tal como se muestra en el Anexo N°6.

Los resultados de los muestreos demuestran, en la superficie de la cabina de flujo laminar no está contaminada por microorganismos de mohos y levaduras, tal como se describe en el Anexo N°7.

## 4.2 Análisis e Interpretación de Resultados

### Aerobios mesófilos

**GRÁFICO 2:** COMPARACIÓN DE RECUESTO DE AEROBIOS MESÓFILOS EN LA SUPERFICIE DE LA CABINA DE FLUJO LAMINAR REALIZADOS, AGOSTO 2016.

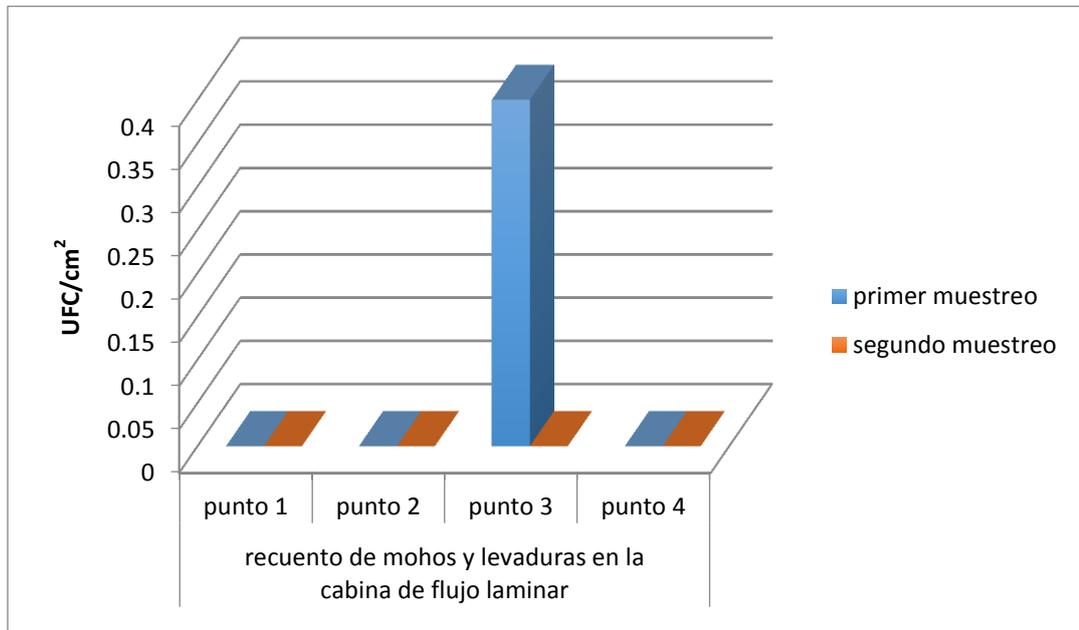


FUENTE: Elaboración Propia

- Según la Organización Mundial de la Salud sobre especificación de preparaciones farmacéuticas, los límites de contaminación microbiana presente en la cabina de flujo laminar, clasificada como grado A, se especifica que debe ser menor de  $1\text{UFC}/\text{cm}^2$ , como límite recomendado.
- En el Gráfico N°2, se muestra una alta contaminación de aerobios mesófilos del punto crítico 3 del primer muestreo, la contaminación probablemente podría deberse a fuentes posibles de contaminación como el ingreso de materiales y/o la inadecuada limpieza y sanitización pudiendo contaminar el proceso de encapsulado, reducción de dosis y fraccionamiento de los medicamentos que se elaboran en la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

## Mohos y levaduras

**GRÁFICO 3:** COMPARACIÓN DE RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS EN LA SUPERFICIE DE LA CABINA DE FLUJO LAMINAR REALIZADOS, AGOSTO 2016.



**FUENTE:** Elaboración Propia

En el Gráfico N°3, se demuestra que no hay contaminación por mohos y levaduras en los dos muestreo aleatorios realizados, lo cual indica que puede deberse a que la superficie de la cabina de flujo laminar, se encuentra limpia y sanitizada.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los cuatro puntos críticos aleatorios seleccionados de la superficie de la cabina de flujo laminar del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen se compararon con los límites de contaminación indicados por la Organización Mundial de la Salud sobre especificación de preparaciones farmacéuticas, luego de la limpieza y sanitización, clasificada como grado A en este estudio.

Los límites de la contaminación microbiológicos recomendados por la OMS se encuentran expresados en UFC/placa de contacto de 55 cm de diámetro, lo cual tiene un área equivalente aproximada de  $25\text{cm}^2$ . Lo anterior se ve demostrado por la USP donde menciona que no presenta diferencia significativa entre ambos métodos de muestreo. Por lo cual se empleó el método de hisopado en el presente trabajo.

En el presente estudio se reportó contaminación microbiológica con un recuento de  $14\text{UFC}/\text{cm}^2$  de aerobios mesófilos, indicando que no cumple dentro de los límites de la OMS, siendo este punto un resultado desfavorable que aumenta el riesgo de que ocurriera contaminación a los medicamentos que se procesan en la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. Lo anterior se ve soportado de los resultados obtenidos, en la investigación realizado por **Charry N. y Gómez L. (2016)**, en un Laboratorio de Microbiología Farmacéutica. Brasil, reportaron, que no hay riesgo de contaminación cruzada en la cabina de flujo laminar por microorganismos mesófilos aerobios, se hallaron recuentos menores  $1\text{UFC}/\text{cm}^2$ , luego limpieza y desinfección, lo cual demostró que la carga microbiana de la superficie fue baja, pero en algunos casos se observó crecimiento microbiológico luego de aplicar el desinfectante, conllevando aumentar la frecuencia del proceso de desinfección en la superficie, por lo cual se ejecutó medidas correctivas donde se obtuvieron resultados efectivos y se controló el nivel

de contaminación microbiológica en la cabina de flujo laminar, durante la realización de las pruebas analíticas, aumento la confiabilidad de los resultados emitidos.

El presente estudio se determinó la contaminación microbiológica con recuentos menores de 1UFC/cm<sup>2</sup> de mohos y levaduras, cumple dentro de los límites de la OMS, siendo estos resultados satisfactorios, disminuyendo el riesgo de contaminación a los medicamentos que se procesan en la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. Concordando con el estudio de **Sousa Carréra J, et col. (2010)**, en un Hospital de referencia en el tratamiento de Cáncer en el Estado de Pará en Brasil, se hallaron recuentos de 1UFC/cm<sup>2</sup> de hongos filamentosos, durante la preparación de los medicamentos que se procesan en la cabina de flujo laminar Clase 2BII, indicando que hay crecimiento microbiano demostrando el riesgo de la contaminación que pueda comprometen durante el proceso de manipulación de los medicamentos estériles, además, el límite de contaminación de los hongos filamentosos, no se encontraron dentro de los límites sugeridos por la Convención de Inspección Farmacéutica (PIC), debido a que son áreas clasificadas como grado A, que deben ser menores de 1UFC/cm<sup>2</sup>, como límite detección.

## CONCLUSIONES

Los resultados del estudio permiten concluir que:

- De forma general se puede concluir que la determinación de la contaminación microbiológica de la cabina flujo laminar del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen no cumplen dentro de los límites de la OMS, luego de haberse realizado el proceso de limpieza y sanitización, de acuerdo a lo establecido por las BPM y la OMS.
- El recuento microbiano de mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina de flujo laminar de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, cumplen dentro de los límites indicados por la OMS porque se determinó, la carga microbiana menores de 1UFC/cm<sup>2</sup>, lo cual indica que el área está clasificada como grado A.
- El recuento microbiano de aerobios mesófilos en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina de flujo laminar de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, no cumplen dentro de los límites indicados por la OMS, debido a los resultados encontrados excedieron la carga microbiana de 14UFC/cm<sup>2</sup>, lo cual indica un aumento del riesgo de contaminación de los medicamentos.  
Finalmente se demuestra que se debe de realizar las medidas correctivas para prevenir la contaminación de los medicamentos, que se procesan en la superficie de la cabina de flujo laminar.

## RECOMENDACIONES

De los resultados obtenidos de la metodología aplicada, en el presente trabajo se recomienda:

- Realizar capacitaciones al personal y a los practicantes de farmacia y bioquímica que pasan por el servicio de las preparaciones de medicamentos, sobre el procedimiento de limpieza y sanitización de la cabina de flujo laminar adecuadamente, antes y después de la preparación de medicamentos.
- Concientizar y hacer cumplir correctamente el procedimiento de limpieza y sanitización antes y después de la elaboración de los medicamentos, los materiales que ingresan a la cabina de flujo laminar, para evitar alguna contaminación futura.
- Incrementar la frecuencia de los procesos de limpieza y sanitización en la superficie de la cabina de flujo laminar para evitar que el área de trabajo donde se realizan las preparaciones farmacéuticas sean reservorios de microorganismos.
- Implementar un programa de vigilancia microbiológica de la cabina de flujo laminar para garantizar, la calidad microbiológica durante la preparación de los procesos de encapsulados, reducción de dosis y fraccionamiento de los medicamentos del Servicios de Laboratorio de Producción de Farmacia del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Perú: MINSA; 1999. Resolución Ministerial N° 055-99.SA/DM.
2. Organización Mundial de Salud. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. Organización Panamericana de la Salud. Washington: OMS; 2013. Red PARF Documento Técnico N° 11.
3. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Guía de Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea. España: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003. Anexo 1 Fabricación de Productos Estériles.
4. Charry N.; Gómez LS. Determinación de los límites de la contaminación microbiana presente en superficies de un laboratorio de referencia distrital de microbiología farmacéutica. Rev. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. 2016; 4 (3): 115-121.
5. García Saucedo M. Análisis Microbiológico de Productos No Estériles y Dietéticos por la Industria Farmacéutica. [Tesis de Investigación]. Trujillo: Biblioteca Digital-Dirección de sistemas de informática y comunicación; 2013.
6. Castillo Alegria M.; Yanyachi Pajuelo M. Evaluación de la Calidad Higiénico Sanitaria en Formulas Nutricionales Enterales y usados en 2 hospitales de la ciudad de Lima. [Tesis Investigación]. Lima: Oficina General de Sistema de Biblioteca de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.
7. Sousa Carréra J.; Batista do Nascimento D.; Da Silva Mascarenhas S.; Vasconcelos de Mendonca L.; Chagas Monteiro M.; do Socorro Ferraz M. et al. Evaluación microbiológica del proceso de manipulación de antineoplásicos en un hospital de referencia en el tratamiento de cáncer en el Estado de Pará, Brasil. Rev. Pan-Amaz Saude (Bra). 2010; 1(4):65-70.

8. Delgado M.; Escamilla L.; Pérez A.; Arias J. Determinación de Parámetros de la Contaminación Microbiana presente en un Área de Fabricación de Medicamentos Estériles a base de Antibióticos B-Lactámicos. *Rev. Universitas Scientiarum (Col)*. 2004; Vol. 9, N° 2: 23-33.
9. Ministerio de Salud Pública Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Anexo N° 04. Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Estériles. Cuba: CECMED; 2011. Resolución N°. 263 del Ministerio de Economía y Planificación.
10. Farmacopea Argentina. Volumen I. 7<sup>ma</sup> ed. Buenos Aires: Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina; 2003.
11. Ministerio de Salud y Deportes. Normas de Buenas Prácticas de Manufactura: Administración de la calidad en la industria farmacéutica. Bolivia: Ministerio de Salud y Deportes; 2003. Resolución secretarial N° 0296.
12. Arana Belloso D.; Blanco Guerra C.; Caldés Casas A.; Gallego Piñol E.; Gómez Pérez F.; Martín Lancharro P. et al. Agentes Químicos en el Ámbito Sanitario. Madrid: Escuela Nacional de Medicina del Trabajo. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación; 2010.
13. Aversa Néstor O.; Carbone N.; Carnevali S.; Héctor Cerra.; Carlos Chiesa.; Degrossi José J. et al. Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, cosmética y de Productos Médicos. Buenos Aires: Subcomisión de Buenas Prácticas de la División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (DAMyC). Asociación Argentina de microbiología; 2013.
14. Ministerio de Salud. Norma Técnica de Salud para la Elaboración de Preparados Farmacéuticos. Perú: DIGEMID; 2016. Nota Informativa N° 382-2014-DG-DIGEMID/MINSA.
15. Fontecha Martín M.; Velásquez Urrego H. Propuesta de un Diseño de Planta para el Envase de Productos Betalactámicos Estériles

- Inyectables. [Trabajo investigación]. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Facultad de Química Farmacéutica; 2013.
16. Borrell Núria, Mesquida Xavier, Alomar Pedro. Normas de seguridad. Rev. Iberoamericana de Micología (España) 2001; 17:1-13.
  17. Farmacopea de los Estados Unidos de América 35– NF30. Formulario Nacional. 30<sup>a</sup> ed. The United State Pharmacopeial Convención: Rockville, MD; 2012.
  18. Herruzo G. Desinfectantes españoles para el siglo XXI. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina; 2000.
  19. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Control Microbiológico de los Alimentos. Mohos y Levaduras Viables. Ecuador: IEC; 1998. Norma Técnica Ecuatoriana.
  20. R. Gennaro A. Remington Farmacia. 20<sup>a</sup> ed. USA: Editorial Médica Panamericana; 2000.
  21. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Análisis Microbiológico de los Alimentos. Córdoba: Red Nacional de Laboratorio Oficiales de análisis de alimentos; 2014.
  22. International Commission on microbiological Specifications Food Foods, of the International Union of Microbiological Societies. Microorganismos de los alimentos. 2<sup>a</sup> ed. España: Editorial Acribia, S.A; 2000.
  23. Instituto de Salud Pública. Procedimiento Recuento de Microorganismos en Suspensión por Método de Torunda en Superficie. Chile: Instituto de Salud Pública; 2008.
  24. Gerardo A. Leotta. Métodos Rápidos: una herramienta útil y práctica para el análisis microbiológico de los alimentos. Rev. Argentina de Microbiología (Argentina) 2009; 41: 63-64.
  25. 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup>. Guía de interpretación. España: 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup>; 2010.
  26. 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup>. 3M Seguridad Alimentaria. [Sitio en Internet]. ; 2002 Disponible en:

[http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?locale=en\\_WW&imd=1307530995000&assetId=1273685360656&assetType=MMM\\_Image&blobAttribute=ImageFile](http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?locale=en_WW&imd=1307530995000&assetId=1273685360656&assetType=MMM_Image&blobAttribute=ImageFile). Consultado: 25 de septiembre del 2016.

27. Martín de Santos R. Métodos rápido y automatizado aplicado al análisis microbiológico de los alimentos. [Monografía en archivo pdf]. versión 1.6. Madrid: Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid; 2005.
28. Pérez Heidy; Sánchez Vicente L. Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procesamiento aséptico. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar 2010; 44: 3.
29. Organización Mundial de la Salud. Buenas prácticas de manufactura establecidas por la OMS para productos farmacéuticos estériles. Estados Unidos: OMS; 2011. Serie de Informes Técnicos de la OMS, N°9

**ANEXOS**  
**ANEXO N°1**

**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

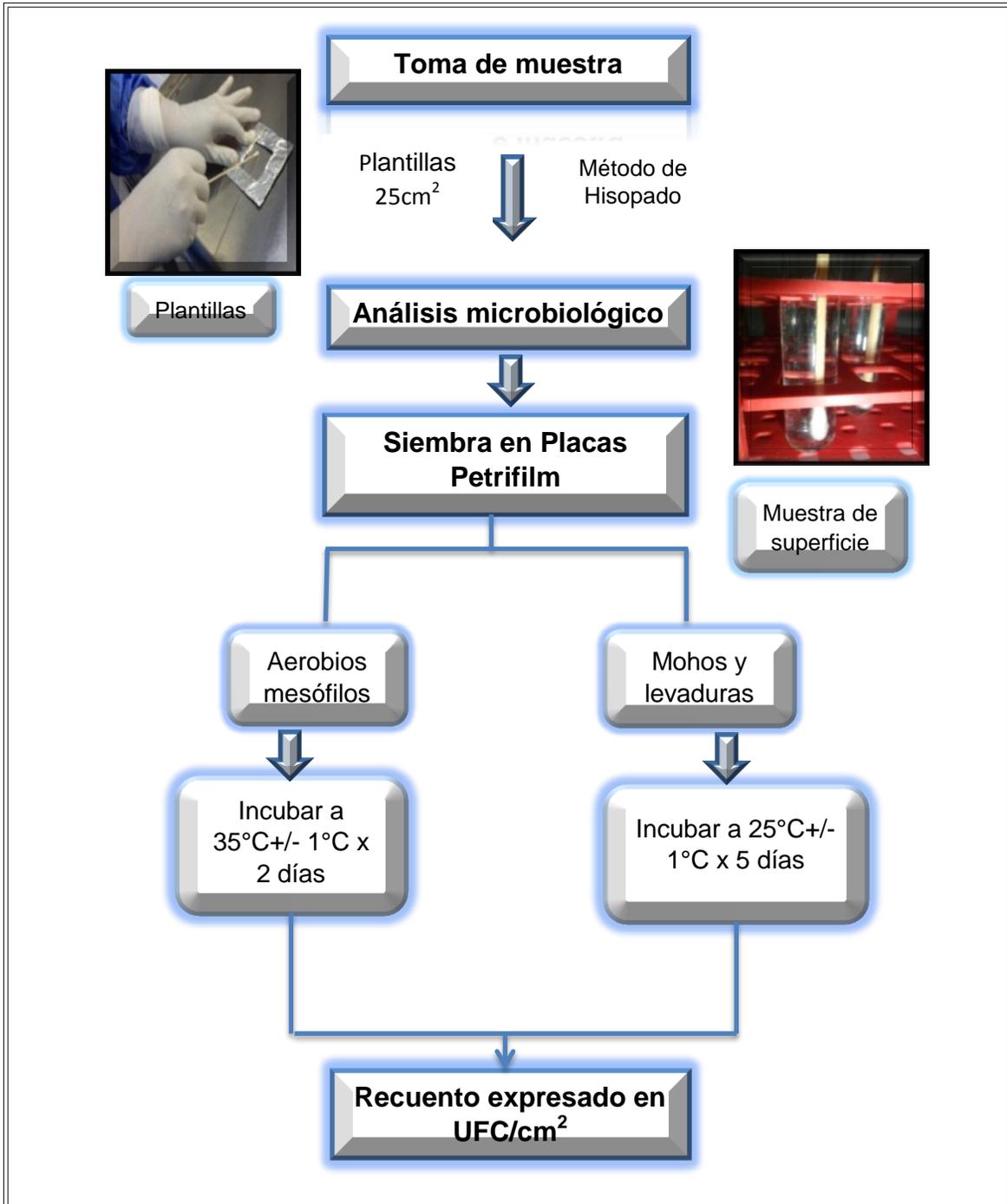
**Título del Proyecto de Tesis:** Control Microbiológico de Superficie en la Producción de Medicamentos.

**Autor:** Edith Vanessa Cárdenas Ramírez.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
¿Cuál será el límite de la contaminación microbiológica indicados según la OMS que cumpla la superficie de la cabina de flujo laminar donde se elaboran los medicamentos del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Agosto 2016?	<p>Determinar la contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar de acuerdo a los límites indicados por la OMS, donde se elaboran los medicamentos del Laboratorio de Farmacia de Producción del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Agosto 2016.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b> O.E.1: Determinar el recuento de mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.</p> <p>O.E.2: Determinar el recuento de aerobios mesófilos en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), en la superficie de la cabina flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.</p>	<p>La contaminación microbiológica de la superficie de la cabina de flujo laminar del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud, Agosto 2016.</p> <p><b>Hipótesis Secundarias</b> H.S.1: El recuento microbiano de mohos y levaduras en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud.</p> <p>H.S.2: El recuento microbiano de aerobios mesófilos en unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>2</sup>), cumplirán dentro de los límites indicados por la Organización Mundial de la Salud.</p>	<p>Tipo de Investigación: Aplicada De Campo</p> <p>Nivel de Investigación: Descriptiva</p>	<p>Método de Investigación: Científico Inductivo Deductivo Descriptivo Cuantitativo</p> <p>Diseño de Investigación: No experimental Transversal</p>	<p>Variable Independiente (X) X: Cabina de flujo laminar.</p> <p>Indicadores: X<sub>1</sub>: superficie en cm<sup>2</sup>.</p> <p>Variable Dependiente (X) X: Evaluación microbiológica</p> <p>Indicadores: X<sub>1</sub>: Mohos y levaduras (UFC/cm<sup>2</sup>) X<sub>2</sub>: Aerobios mesófilos.(UFC/cm<sup>2</sup>)</p>	<p>Población: Cabina de Flujo Laminar del área de Laboratorio de Farmacia de Producción</p> <p>Muestra: Superficie de la Cabina de Flujo Laminar.</p>

## ANEXO N°2

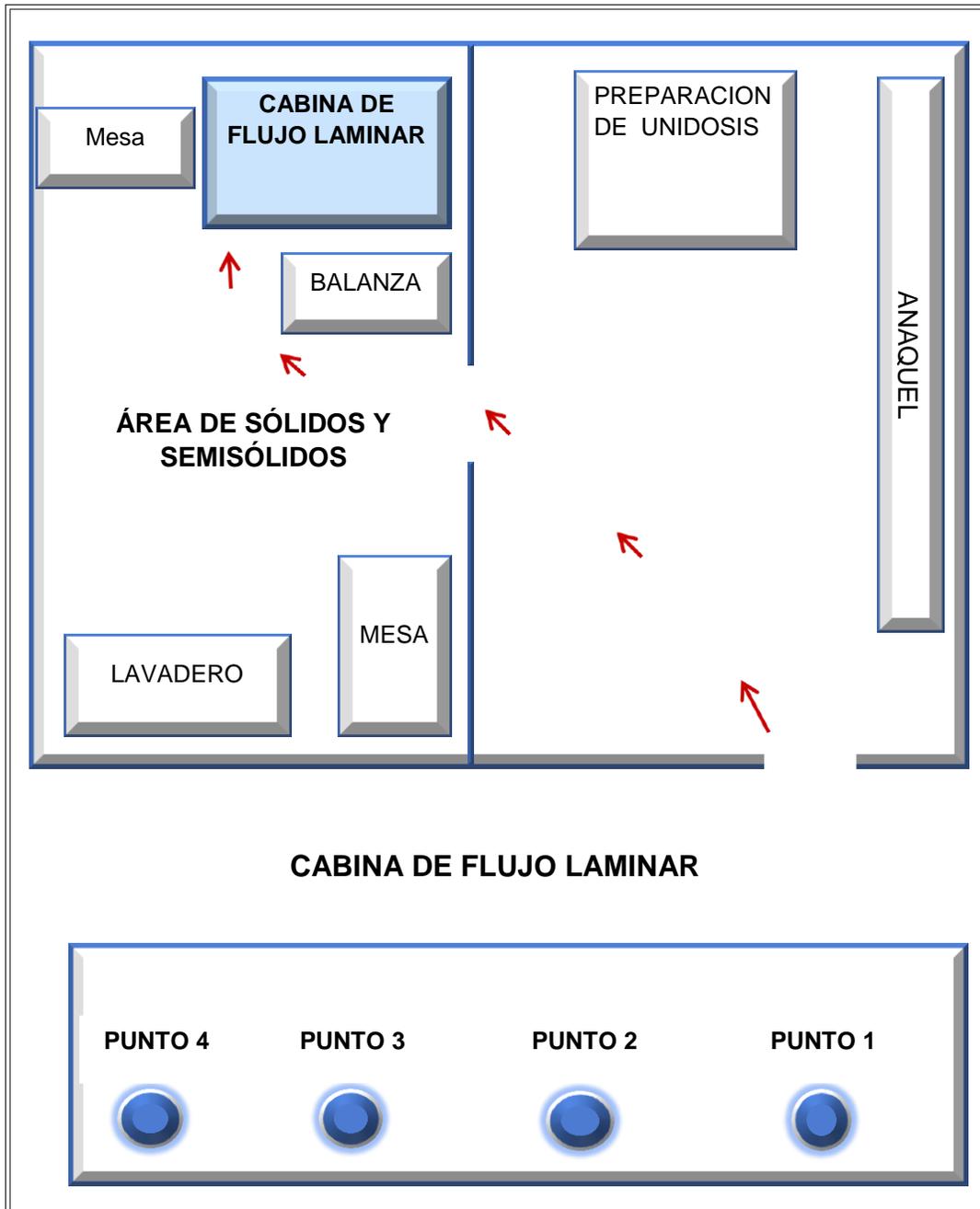
### FLUJOGRAMA DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CABINA DE FLUJO LAMINAR



FUENTE: Elaboración Propia

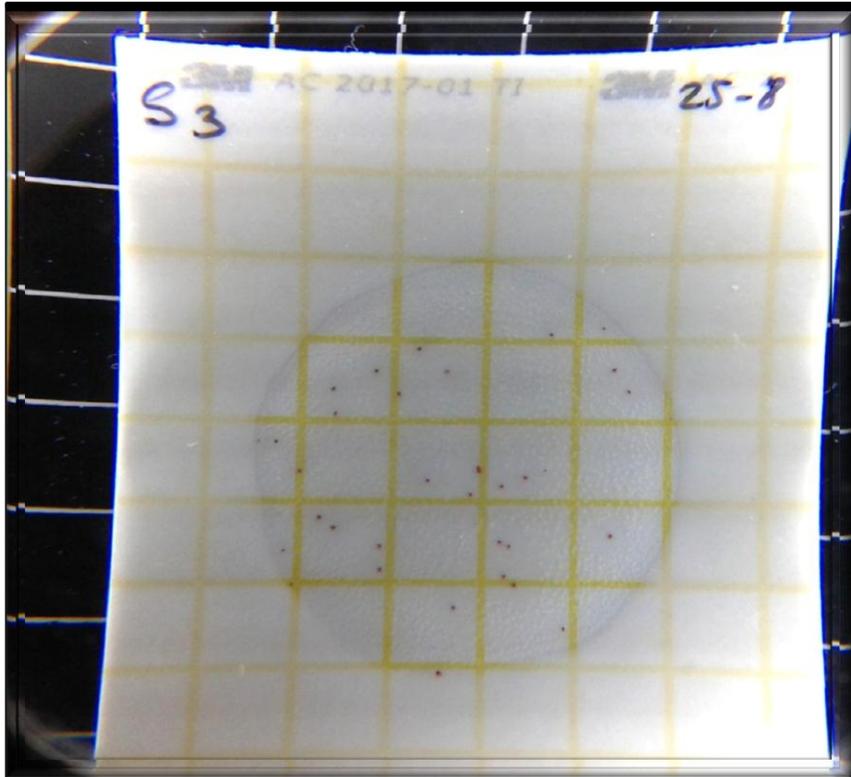
### ANEXO N°3

#### DISTRIBUCIÓN Y UBICACIÓN DE LA CABINA DE FLUJO LAMINAR



FUENTE: Elaboración Propia

**ANEXO N°4**  
**RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS EN PLACAS PETRIFILM**



**FUENTE:** Elaboración Propia.

Según la USP, por la técnica de hisopado describe la fórmula para hallar en UFC/cm<sup>2</sup>:

$$\text{UFC/cm}^2 = 10 \times \text{N}^\circ \text{ colonias} / 25\text{cm}^2$$

$$\text{UFC/cm}^2 = 10 \times 35\text{UFC} / 25\text{cm}^2$$

$$\text{UFC/cm}^2 = 14\text{UFC/cm}^2$$

Placas Petrifilm 3M de aerobios mesófilos, presentan un indicador 2,3,5 triclورو de trifeniltetrazolio (TTC) que se asocia con la enzima deshidrogenasa de la membrana de las bacterias y los iones hidrógenos se liberan reduciendo 2,3,5 triclورو de trifeniltetrazolio (TTC), coloreando las colonias de color rojo.

## ANEXO N°5

### RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS EN LA CABINA DE FLUJO LAMINAR.

Cabina de Flujo Laminar					
Puntos	P1	P2	P3	P4	Media(x)
Primer muestreo	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	14UFC/cm <sup>2</sup>	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	3.5UFC/cm <sup>2</sup>
Segundo muestreo	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>				

FUENTE: Elaboración Propia

#### Leyenda

La cabina de flujo laminar se dividió en cuatro cuadrantes para la toma de muestra:

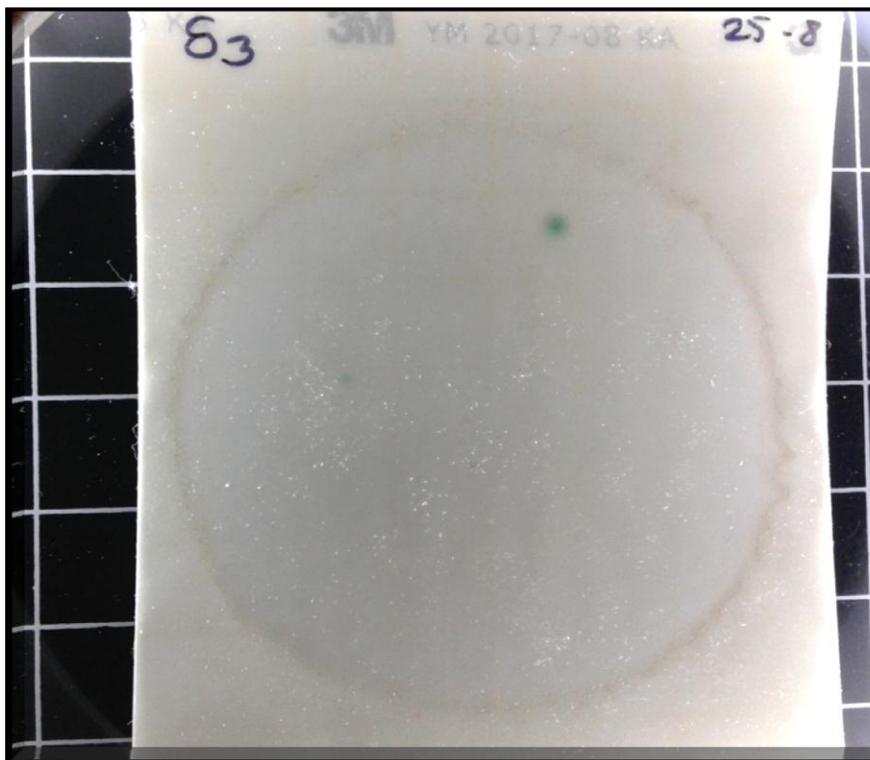
**P1:** Cuadrante N°1 de la derecha.

**P2:** Cuadrante N°2 del centro.

**P3:** Cuadrante N°3 del centro.

**P4:** Cuadrante N°4 de la izquierda.

**ANEXO N°6**  
**RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS EN PLACAS PETRIFILM**



**Fuente:** Elaboración Propia

Según la USP, por la técnica de hisopado describe la fórmula para hallar en UFC/cm<sup>2</sup>:

$$\mathbf{UFC/cm^2 = 10 \times N^{\circ} \text{ colonias} / 25cm^2}$$

$$\mathbf{UFC/cm^2 = 10x 1UFC/25cm^2}$$

$$\mathbf{UFC/cm^2 = 0.4UFC/cm^2}$$

Placas Petrifilm 3M de mohos y levaduras presentan agar infusión de corazón de Sabouraud "Sabhi", dos antibióticos (clorotetraciclina y cloramfenicol) y un indicador, 5-bromo-4-cloro-3-indoxil-fosfato (BCIP) que provoca una precipitación azul en presencia de fosfatasa. Esta enzima es producida por hongos y levaduras en la mayoría de los casos. Los mohos presentan un foco en el centro de la colonia azulada.

## ANEXO N°7

### RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS EN LA CABINA DE FLUJO LAMINAR

Cabina de flujo laminar					
puntos	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Media(x)
Primer muestreo	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	0.4UFC/cm <sup>2</sup>	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>
Segundo muestreo	< 0.4UFC/cm <sup>2</sup>				

FUENTE: Elaboración Propia

#### Leyenda

La cabina de flujo laminar se dividió en cuatro cuadrantes para la toma de muestra:

**P1:** Cuadrante N°1 de la derecha.

**P2:** Cuadrante N°2 del centro.

**P3:** Cuadrante N°3 del centro.

**P4:** Cuadrante N°4 de la izquierda.