

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**ESTUDIO DE VIABILIDAD PARA LA
IMPLEMENTACIÓN DE UN LABORATORIO DE
BIOANÁLISIS PARA PREPARACIONES
FARMACÉUTICAS EN LA UNIVERSIDAD
INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS**

MARIO VEGA QUIRÓS

TUTOR: M.Sc. CARLOS CASTRO MEJÍA

SAN JOSE, COSTA RICA

DICIEMBRE, 2019

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	8
Planteamiento del Problema	8
Objetivos.....	10
Objetivo general	10
Objetivos específicos.....	10
Justificación.....	11
Proyecciones.....	12
Antecedentes.....	13
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO O MARCO REFERENCIAL.....	18
Microbiología Farmacéutica.....	18
Introducción a la microbiología y conceptos	18
Microorganismos con más relevancia en la rutina farmacéutica.....	27
Buenas prácticas de laboratorio microbiológico	32
Control de calidad microbiológico de los productos farmacéuticos	32
Laboratorio de Análisis Microbiológico	33
Generalidades, Estructura, Personal, Equipos y Materiales	33
Pruebas que se realizan en microbiología farmacéutica.....	46
Prácticas Asépticas y Muestreo	68
Gestión de Residuos Peligrosos	74
Legislación	76
Viabilidad Legal	76
Entes Internacionales relacionados con laboratorios de microbiología farmacéutica	77
Legislación Costarricense.....	83

Legislación para Universidades Privadas	86
Estudio de Mercado	87
Definición e Importancia.....	87
Etapas de un Estudio de Mercado	89
Instrumentos de medición	90
Costos en el Estudio Técnico	91
Definición e Importancia.....	91
Descripción de las posibles áreas de inversión.....	92
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	94
Enfoque de la Investigación	94
Diseño de la Investigación.....	94
Población.....	95
Selección de la Muestra.....	96
Instrumento de Investigación	96
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	98
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	122
LITERATURA CITADA	124
APÉNDICES	133
Apéndice 1: Instrumento de investigación	133
Apéndice 2: Cuadro de Operacionalización de variables.....	137
Anexo 1: Cotización de equipos de laboratorio TecnoSagot®	138
Anexo 2: Cotización de equipos de laboratorio Énhmed®.....	139
Anexo 3: Cotización de Cepas de referencia Tecnodiaagnóstica®	140
Anexo 4: Cotización de API STAPH 25 T™ Tecnodiaagnóstica®	141
Anexo 5: Cotización de API 20E 25 GALERIES™ Tecnodiaagnóstica®	142

Anexo 6: Cotización de medios de cultivo Tecnodiaagnóstica®	143
Anexo 7: Cotización de medios de cultivo y cepas Prelab®	144
Anexo 8: Cotización de cepas de referencia VarMedical®	145
Anexo 9: Cotización de medios de cultivo VarMedical®	146

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de agentes biológicos según su biopeligrosidad.....	23
Cuadro 2. Clasificación de biopeligrosidad para microorganismos utilizados para pruebas de USP	24
Cuadro 3. Resumen de requisitos por nivel de bioseguridad.	25
Cuadro 4. Propiedades Indicadoras de Promoción del Crecimiento e Inhibitorias de los Medios	28
Cuadro 5. Métodos de esterilización, sus limitaciones y aplicación.....	39
Cuadro 6. Selección de una Cámara de Seguridad Biológica [CSB] según el tipo de protección necesaria.....	44
Cuadro 7. Categorías de Productos Farmacopeicos	49
Cuadro 8. Condiciones de Cultivo para la Preparación de Inóculos.....	50
Cuadro 9. Preparación y Uso de Microorganismos de Prueba.....	52
Cuadro 10. Características generales de microorganismos específicos determinados.....	54
Cuadro 11. Criterios de Aceptación para Microorganismos específicos	57
Cuadro 12. Etapas para la determinación de la potencia antibiótica por métodos microbiológicos	60
Cuadro 13. Características morfológicas y bioquímicas de microorganismos en estudio ...	67
Cuadro 14. Mecanismos y blancos de acción de algunos desinfectantes.....	72
Cuadro 15. Clasificación de agentes antimicrobianos según se nivel de acción.....	73

Cuadro 16. Comparación entre Guía OMS, USP y Guía FDA.....	80
Cuadro 17. Red Panamericana de Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos (LOCM)	83
Cuadro 18. Especificaciones para determinación de recuento microbiano en UFC/g	85
Cuadro 19. Especificaciones para determinación de microorganismos patógenos en UFC/g	85
Cuadro 20. Límites microbianos en cosméticos en UFC/g.....	86
Cuadro 21. Especificación de microorganismos patógenos en cosméticos	86
Cuadro 22. Cursos y utilidad en la Universidad Internacional de las Américas.....	99
Cuadro 23. Equipos y materiales utilizados en el laboratorio.....	109
Cuadro 24. Pruebas propuestas para realizar en el laboratorio... ..	109
Cuadro 25. Precios cotizados por las empresas ÉNHMED® y TecnoSagot®.....	111
Cuadro 26. Mejores precios de ambas empresas.....	112
Cuadro 27. Descripción y costos de los medios de cultivo preparados Tecnodiaagnóstica®	116
Cuadro 28. Descripción y costos de los medios de cultivo Prelab®.....	116
Cuadro 29. Descripción y costos de los medios de cultivo VarMedical®.....	117
Cuadro 30. Presentación y precio de las cepas distribuidas por VarMedical®	118
Cuadro 31. Presentación y precio de las cepas distribuidas por Prelab®... ..	119
Cuadro 32. Principales costos para implementar un laboratorio de Bioanálisis en la UIA.....	120

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1. Cámara de seguridad biológica.....	27
Figura 2. Agentes físicos y químicos de esterilización.	37
Figura 3. Autoclave	40

Figura 4. Cabina de seguridad biológica Clase II	43
Figura 5. Caja de Petri o placa de Petri	45
Figura 6. Técnica de siembra de microorganismos por método de estrías	45
Figura 7. Fuentes de contaminación más frecuentes de productos de uso y consumo humano.....	48
Figura 8. <i>Escherichia coli</i> en Agar McConkey.....	55
Figura 9. <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar Manitol Salado.	56
Figura 10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en Agar Cetrimida	56
Figura 11. <i>Salmonella spp</i> en Agar Xilosa Lisina Desoxicolato.....	56
Figura 12. Uso general de cultivos de referencia	62
Figura 13. Morfología macroscópica	64
Figura 14. Bacterias Gram negativas en cultivo directo y Gram positivas en hemocultivo	66
Figura 15. Sistema de Pruebas Bioquímicas API (<i>Analytical Profile Index</i>).....	67
Figura 16. Opciones o puntos en la escala de Likert.....	91
Figura 17 ¿Cree usted que la Universidad Internacional de las Américas cuenta con materiales, equipos y cepas necesarios para realizar de manera adecuada pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas?.....	101
Figura 18. ¿Le gustaría participar en laboratorios que realicen pruebas de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) relacionadas con eficacia, recuento, identificación y valoración de microorganismos?	101
Figura 19. ¿Le interesaría desarrollar su tema de investigación evaluando la actividad antimicrobiana de algún extracto natural?	102
Figura 20. ¿Conoce usted proyectos de investigación realizados en la Universidad Internacional de las Américas que utilizaron análisis microbiológicos aplicados al campo farmacéutico?	103
Figura 21. Número de proyectos de investigación que conocen los estudiantes	103

Figura 22. ¿Considera usted que la validación de resultados en un laboratorio de microbiología farmacéutica utilizando métodos de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) puede ser realizada por un farmacéutico?	104
Figura 23. ¿Cuál es el grado de importancia que tiene para usted la implementación de un laboratorio de pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas?	105
Figura 24. ¿Estaría usted interesado en realizar investigación con respecto a temas relacionados con pruebas microbiológicas a productos farmacéuticos?	105
Figura 25. ¿Qué tan útil considera usted que sería contar con un laboratorio de microbiología farmacéutica para fortalecer la investigación en la Carrera de Licenciatura en Farmacia?	106
Figura 26. ¿Estaría de acuerdo en realizar horas de práctica en un laboratorio que realiza pruebas de microbiología farmacéutica?	107
Figura 27. ¿Qué tan importante considera usted que el Profesional en Farmacia tenga una formación práctica en cuanto a cómo realizar pruebas de calidad microbiológica en productos farmacéuticos?	108
Figura 28. Incubadora bacteriológica Thermo Scientific®, Modelo IGS60	112
Figura 29. Cabina de Seguridad Biológica ESCO, Modelo AC2-4S9-NS.....	113
Figura 30. Congelador Panasonic®, Modelo MDF-U334-PA.....	114
Figura 31. Autoclave CertoClav® modelo CV Classic 18L.....	115
Figura 32. Cepas CultiControl™ en su empaque y su forma de pellet.....	118
Figura 33. Uso de las cepas de la marca Culti-Loops™.....	120

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del Problema

El control microbiológico en el campo farmacéutico se aplica a diferentes áreas, como lo son la producción industrial y la investigación. La Organización Mundial de la Salud (2013), en su documento técnico “Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica”, refiere que los laboratorios de microbiología farmacéutica pueden involucrarse en: ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) y pruebas de endotoxinas bacterianas en diferentes materiales (ejemplos: materias primas, agua), productos, superficies, vestimentas y el medio ambiente, y valoraciones usando microorganismos como parte de las pruebas realizadas.

La presencia de ciertos microorganismos, en preparaciones farmacéuticas no estériles, puede tener el potencial de reducir la actividad terapéutica del producto, o incluso inactivar su efecto, además de afectar la salud del paciente. Por lo tanto, los fabricantes deben asegurar una baja biocarga en las formas de dosificación terminadas, implementando buenas prácticas de manufactura en todo el proceso de producción. Es muy importante evaluar la carga microbiana total, además de posibles microorganismos patógenos, que podrían generar enfermedades muy peligrosas. (European Pharmacopoeia, 2010).

Es por esto que un laboratorio de análisis microbiológico brinda valiosa información. El Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería (2014) indica que los datos que se pueden obtener tienen relevancia en diferentes ámbitos como: salud, medicina, industria, agricultura, biotecnología, investigación y docencia. Constantemente surgen nuevos conocimientos científicos relacionados con microorganismos; esto involucra una necesidad de contar con un laboratorio, para poder estudiar y documentar los microorganismos con un enfoque farmacéutico.

Por otra parte, en un laboratorio de microbiología farmacéutica se pueden investigar sustancias con actividad antibiótica como en extractos de plantas y animales; por ejemplo, se puede determinar la potencia antibiótica que posee una molécula; esto se puede realizar utilizando un medio de cultivo adecuado, en el cual se visualiza una disminución de crecimiento microbiano. Para determinar la potencia antibiótica, es necesario que el microorganismo sea susceptible al antibiótico a estudiar, y el medio de cultivo permitir un crecimiento rápido y

abundante en ausencia del antibiótico. (Cerra, Fernández, Horak, Lagomarsino, Torno & Zarankin, 2013).

Los ensayos microbiológicos se pueden utilizar para diferentes fines, tales como: investigación y desarrollo de nuevas sustancias activas, seguimiento de procesos fermentativos de producción de antibióticos, ensayos de biodisponibilidad en fluidos corporales y control de calidad de materias primas y productos finales. Las características de las pruebas microbiológicas dependerán de los diferentes propósitos para los cuales se utilizan; algunos métodos microbiológicos están indicados en las Farmacopeas. (Cerra *et al.*, 2013).

Reportes de infecciones ocasionadas por medicamentos contaminados por microorganismos, llevó al establecimiento, en la segunda mitad del siglo XX, de un comité especial en la Federación Farmacéutica Internacional [FFI], al cual se le asignó la tarea de diseñar guías regulando la producción de medicamentos. Dichos trabajos culminaron en el desarrollo de guías de Buenas Prácticas de Manufactura [BPM]. Los principios de las BPM se introdujeron para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos, y salvaguardar la vida y la salud de los pacientes. (Ratajczak, Kubicka, Kaminska & Dlugaszwska, 2015).

Se plantea la pregunta de investigación, debido a que surge la necesidad de contar con un laboratorio de microbiología farmacéutica en la Universidad Internacional de las Américas, para fortalecer el aprendizaje y fomentar la investigación. Algunos estudiantes plantean, en sus tesis, cómo algunos extractos pueden tener propiedades antibacterianas o antifúngicas; sin embargo, deben buscar en laboratorios externos a la universidad cómo obtener cepas y realizar los cultivos incurriendo en gastos adicionales.

¿Es posible evaluar desde un punto de vista técnico la viabilidad de realizar bioanálisis a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas?

Objetivos

Objetivo General

Evaluar desde un punto de vista técnico la viabilidad de realizar bioanálisis a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas, con el fin de fortalecer el aprendizaje y fomentar la investigación.

Objetivos Específicos

Identificar la legislación que rige para un laboratorio de microbiología farmacéutica para determinar si es posible realizar bioanálisis en la Universidad Internacional de las Américas.

Determinar la necesidad que tiene la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas en cuanto a la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica para demostrar demanda de mercado.

Especificar algunos requerimientos con los que debe cumplir un laboratorio de análisis microbiológico para preparaciones farmacéuticas con el propósito de lograr que opere correctamente.

Determinar los costos de equipos y materiales requeridos en un laboratorio de bioanálisis para preparaciones farmacéuticas con la finalidad de guiar o proyectar futuras inversiones.

Justificación

La microbiología farmacéutica es una práctica común en el quehacer farmacéutico. Carrión (2016) señala que la industria farmacéutica es una de las más importantes, con mayores requerimientos y exigencias a nivel de tecnología y de procesos; así mismo se hace necesaria la regulación y el monitoreo de estas actividades de manera estricta, cumpliendo exigencias tanto nacionales como internacionales. Los procesos críticos y la estricta regulación hacen que la industria farmacéutica sea una de las más controladas, a todo nivel, en sus procesos. El sector farmacéutico está sometido a factores científicos, sociales, económicos y legales, a nivel global y nacional, que rigen las etapas de aprobación, fabricación, comercialización y venta de medicamentos. (Carrión, 2016).

Los laboratorios de análisis microbiológico son una herramienta muy importante en la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos. El Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería (2014), indica que la información relacionada con microorganismos es una de las más importantes para cualquier país, debido a que puede llegar a impactar relevantes áreas esenciales como: Farmacia, Medicina, Agricultura e Industria, razón por la cual es necesario mantener un control estricto, minucioso y válido de toda esta información. (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, 2014).

Burguet, Sierra & Brito (2012) mencionan que los microorganismos son fuente de recursos para el desarrollo de la Medicina, la Farmacia, la Biotecnología y la Industria; por esto plantean la necesidad de conservar esta fuente microbiana mediante colecciones de cultivo. En la última década, se ha visto un marcado aumento en la concientización del valor de las colecciones de cultivos; actualmente, existen en el mundo alrededor de 488 colecciones de 65 países, registradas en el Centro de Datos Mundial de Microorganismos de Japón. El acelerado desarrollo de la industria farmacéutica y biotecnológica, así como el potencial uso de los microorganismos, obligan cada vez más a promover actividades de aseguramiento de la calidad para su conservación, de manera que puedan ser utilizados en diversos ensayos analíticos en los laboratorios de control microbiológico. (Burguet, Sierra & Brito, 2012).

Además, existen problemáticas actuales, como la resistencia antimicrobiana (RAM). En este sentido, Malbrán (2015) proyecta que para el 2050, si continúa el aumento de la RAM, las infecciones por gérmenes fármaco-resistentes serán la primera causa de muerte de la población humana, superando a cualquier otra patología actualmente prevalente; por esto es necesario que la comunidad científica investigue y trabaje en conjunto, ya que esta problemática trasciende fronteras y estructuras de Gobierno, y requiere del esfuerzo simultáneo de múltiples sectores. (Malbrán, 2015).

Un laboratorio de microbiología farmacéutica en la Universidad Internacional de las Américas, utilizado para futuros proyectos de investigación, sería de gran ayuda para el desarrollo de la carrera de Farmacia. Según Castillo, Pascual, CunhaNune, Lorente & Cañete (2014), el hombre ha dirigido sus investigaciones a la identificación y aislamiento de estas sustancias que tienen actividad antimicrobiana. De esta manera, ha logrado probar que un gran número de especies vegetales inhiben el crecimiento de bacterias resistentes a numerosos antibióticos y hongos patógenos para el hombre. Se recalca el gran número de posibles investigaciones, ya que las plantas tienen una habilidad casi sin límites de sintetizar compuestos químicos, que en muchos casos les sirven como mecanismos de defensa. (Castillo, Pascual, CunhaNune, Lorente & Cañete, 2014).

Proyecciones

- Establecer una base técnica, que pueda utilizarse como referente para la implementación de un laboratorio de pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas, en la Universidad Internacional de las Américas.
- Evidenciar el impacto que tendría contar con un laboratorio de control microbiológico en el campo farmacéutico, al brindar herramientas para fortalecer y potenciar la investigación en la Carrera de Farmacia de la UIA.
- Determinar los requerimientos técnicos, los costos, el fundamento legal y la necesidad que conlleva la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica.

Antecedentes

Antecedentes Históricos

Ha sido un proceso de muchos años, en los cuales el quehacer farmacéutico ha ido evolucionando como parte de esta historia. Naranjo & Castillo (2015) destacan que la civilización griega fue de las primeras en crear preparaciones magistrales; luego, a finales del siglo XVIII, con el desarrollo de la Química, se dio un gran avance en la elaboración de medicamentos, pues empezó el aislamiento de los principios activos. (Naranjo & Castillo, 2015).

Es así como en siglo XVIII Sertürner aisló la morfina; Pelletier y Caventou obtuvieron la quinina, logrando avances muy importantes. Luego, en el siglo XIX, con la Revolución Industrial, se dio la invención de nuevas tecnologías e instrumentos de trabajo, y es así como la Farmacia dejó de ser una profesión artesanal para convertirse en una ciencia e industria. (Naranjo & Castillo, 2015).

Ya en el siglo XX se promovieron nuevos e importantes descubrimientos, como los arsenicales, las sulfamidas de síntesis química y, posteriormente, la penicilina obtenida a partir de un hongo, evidenciándose cómo desde hace décadas existe una simbiosis entre las áreas farmacéutica y microbiológica. (Naranjo & Castillo, 2015).

Ledermann (2006) expone que el científico Alexander Fleming, en 1928, estaba trabajando con variantes de *Staphylococcus* cuando encontró que una placa, dejada descuidadamente junto a una ventana abierta, se había contaminado con un hongo; luego de más estudios descubrió la actividad antibiótica de este hongo, el cual era como un *penicillium* (que en latín significa “cepillo”), y así se descubrió la penicilina. (Ledermann, 2006).

Como parte de este desarrollo, se ha estudiado más a fondo la contaminación microbiana de los productos farmacéuticos. La *U.S. Food and Drug Administration* [FDA] reconoce tres categorías de microorganismos: patógenos, oportunistas y objetables. Por ejemplo, las preparaciones farmacéuticas y los cosméticos pueden contaminarse con hongos filamentosos, levaduras y bacterias. Cerra *et al.* (2013) señalan que un medicamento o un cosmético se considera contaminado si contiene microorganismos patogénicos, oportunistas, objetables o metabolitos microbianos tóxicos. Por lo tanto, buenas prácticas de higiene son necesarias para disminuir el tipo y número de microorganismos presentes. (Cerra *et al.*, 2013).

Antecedentes Internacionales

Según Archila (2009), en su Trabajo de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Química y Farmacia, denominado “Propuesta de un manual de procedimientos microbiológicos para pruebas de límites microbianos en productos farmacéuticos no estériles”, se deben reunir ciertos requisitos y condiciones en todo laboratorio que realiza análisis microbiológicos, y es así como en esta investigación se recopiló la información necesaria para obtener un buen funcionamiento y acreditación. (Archila, 2009).

De esta manera, se evaluó la importancia de la acreditación de los procedimientos de análisis microbiológico; posteriormente se propuso un manual de procedimientos normalizados de análisis microbiológico, correspondiente a las pruebas de límites microbianos para productos farmacéuticos no estériles, y se concluyó que todo laboratorio, que realiza análisis microbiológicos en medicamentos no estériles, debe contar con un manual de procedimientos, que contenga todas las técnicas específicas para evaluar los diferentes tipos de muestras. (Archila, 2009).

La Organización Mundial de la Salud (2013) en su documento “Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica”, destina estas guías a todos los laboratorios microbiológicos implicados en actividades como: ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos, pruebas de endotoxinas bacterianas y valoraciones, usando microorganismos como parte del sistema de pruebas. Estas guías están basadas, y suplementan los requisitos descritos, en Buenas prácticas para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos, Guías generales para el establecimiento, mantenimiento y distribución de sustancias químicas de referencia, Farmacopea Internacional y la Norma ISO/IEC 17025. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Cerra *et al.* (2013), en su “Manual de Microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos”, tratan no solo temas teóricos, prácticos y demás relacionados con las buenas prácticas, sino que además incluyen nuevas tecnologías, algunas ya en uso incipiente, y otras que están en desarrollo, pero que pueden ser aplicadas en el futuro. En este documento se desarrollan temas como generalidades sobre microbiología, destrucción microbiana, instalaciones, desde su diseño hasta la calidad de los servicios, como el

aire y al agua, métodos microbiológicos y sus validaciones, además de aspectos relacionados con el aseguramiento o garantía de la calidad. (Cerra *et al.*, 2013).

En su investigación: “Propuesta de implementación de un Laboratorio de Microbiología para la Industria Farmacéutica NATUALFA”, Naranjo & Castillo (2015) realizaron un estudio de carácter bibliográfico, cualitativo y evaluativo: dentro de sus objetivos tuvieron: definir los ensayos microbiológicos a utilizarse y determinar las necesidades, disposición física necesarios para la implementación de un Laboratorio de Microbiología en la Industria Farmacéutica Natualfa. (Naranjo & Castillo, 2015).

En este proyecto de investigación se concluyó que el costo de implementación del Laboratorio de Microbiología es de 48270,62 USD, considerando: cepas de referencia, equipos, equipo de seguridad, infraestructura, material de empaque, material de plástico/caucho, medios de cultivo, material de vidrio/porcelana/acero inoxidable, reactivos y otros insumos. (Naranjo & Castillo, 2015).

Por otra parte, Tapia, Vega & Rojas (2015) en su artículo “Implementación de un laboratorio clínico moderno” señalan que, en la actualidad, la implementación de un laboratorio moderno resulta menos complicado que años atrás, debido a la enorme cantidad de equipos y técnicas disponibles en el mercado, y a la incorporación de los laboratorios a sistemas de gestión de calidad. (Tapia, Vega & Rojas, 2015).

Concluyen que la implementación de un laboratorio moderno implica una planificación adecuada del espacio físico e infraestructura, incorporación de equipamiento automatizado y adecuado manejo de los desechos. (Tapia *et al.*, 2015).

Ávila (2014) en su artículo “Proyecto de inversión para la creación de un laboratorio clínico y diagnóstico en la Ciudad de Chetumal del Estado de Quintana Roo” plantea, entre sus objetivos, obtener la evaluación financiera del laboratorio clínico y de diagnóstico, que puedan justificar la factibilidad del proyecto, utilizando una metodología tipo prospectiva, y esta investigación se clasifica como exploratoria. (Ávila, 2014).

Se logró visualizar que se necesitan recursos físicos, instalaciones adecuadas, equipos, reactivos y materiales adecuados y suficientes para el desarrollo de las actividades de laboratorio, y para obtener resultados oportunos y confiables. (Ávila, 2014).

Parra (2013), en el “Informe de internado realizado en la industria farmacéutica como parte de los requisitos para optar al título de Químico Farmacéutico”, realiza un internado en el área de control de calidad de Fresenius Kabi Chile, específicamente en la sub-área de Microbiología, llevando a cabo controles microbiológicos que se realizan en una planta farmacéutica de medicamentos parenterales, los cuales abarcan: materias primas y material de envase, ambientes de producción, control microbiológico a operadores de planta, y controles al producto terminado. (Parra, 2013).

Con esta investigación, se concluye que es necesario conocer la contaminación de tipo microbiológica y demostrar, científicamente, que el proceso de limpieza y desinfección cumple con el objetivo de eliminar o reducir a niveles mínimos la contaminación microbiana. (Parra, 2013).

En su artículo “Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global”, Alós (2014) menciona algunos ejemplos recientes de resistencia en patógenos de interés para el hombre. Se explica mediante revisión bibliográfica, el proceso que ha llevado a que se dé una resistencia bacteriana a los antibióticos en poco tiempo, evolutivamente hablando. Concluye que es necesaria una mayor inversión en investigación básica y aplicada y en innovación; además, plantea, como parte de la solución, desarrollar nuevos antibióticos con nuevos mecanismos de acción. (Alós, 2014).

Antecedentes Nacionales

Baudrit (2008), en su tesis “Estudio de prefactibilidad para el establecimiento de un Laboratorio de servicios privados en Microbiología y Química Clínica en el Cantón de La Unión en el año 2008”, para optar por el título de Máster en Gerencia de Proyectos de Desarrollo, describe cómo se realiza un estudio de prefactibilidad y cómo se desarrollan estudios de mercado, técnicos, evaluación financiera y cribado ambiental. Entre sus objetivos está realizar un estudio de prefactibilidad, con el fin de estudiar la posibilidad del establecimiento del Laboratorio Clínico; concluye que la necesidad del establecimiento del laboratorio en la región está demostrada; por lo tanto, es posible que se pueda establecer con éxito. (Baudrit, 2008).

El Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica [LAYAFA], es un ente adscrito al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas [INIFAR]; este laboratorio cuenta con casi 30 años de

experiencia en el análisis de fármacos, control de calidad de medicamentos y asesoría a la industria farmacéutica de Costa Rica. En LAYAFA se realizan pruebas descritas en la Farmacopea de Estados Unidos o en otros libros oficiales; entre las pruebas descritas se encuentran determinación de límites microbianos y análisis microbiológicos. El Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica es un Laboratorio Nacional Oficial que brinda apoyo a las autoridades sanitarias en el aseguramiento, control y mejora de la calidad de los medicamentos, cosméticos, materias primas, material de acondicionamiento y afines. (Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica, 2019).

El Laboratorio de Normas y Calidad de Medicamentos de la Caja Costarricense de Seguro Social se conoce que ha trabajado bajo estándares de calidad: Farmacopeas Oficiales, Buenas Prácticas de Laboratorio [BPL], *Food and Drug Administration* [FDA], *European Medicines Agency* [EMA]. En cuanto al Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica [LAYAFA], en 1997 fue declarado oficial por decreto presidencial, y hasta hoy ofrece sus servicios a la empresa farmacéutica nacional, y también mantiene un Convenio de Compra y Venta de Servicios, suscrito entre el Ministerio de Salud y la Universidad de Costa Rica; el laboratorio está acreditado por el Ente Costarricense de Acreditación [ECA] en la norma INTE-ISO/IEC 17025:2005. LAYAFA abarca los laboratorios o áreas de Físicoquímica y Microbiología. (Bustos & Medina, 2014).

El Instituto Tecnológico de Costa Rica cuenta con un Centro de investigación en Biotecnología [CIB], en el cual se realizan diferentes investigaciones y se prestan algunos servicios y capacitaciones. En este centro de investigación se realiza la relacionada con biología molecular, bioprocesos, control biológico, cultivo de células y tejidos animales, entre otros; además, se realiza microbiología industrial, que podría incluir análisis en el área de la industria farmacéutica; se utiliza diferentes metodologías, por ejemplo, PCR (reacción en cadena de polimerasa). (Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2019).

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Microbiología Farmacéutica

Introducción a la Microbiología y conceptos

Para poder comprender mejor la importancia de los microorganismos, se debe conocer un poco de su historia. La Microbiología ha sido muy importante en la Medicina; ha aclarado muchas hipótesis e interrogantes que existían en la antigüedad sobre el origen y la naturaleza de las enfermedades, ya que por mucho tiempo fueron atribuidas solo a la teoría del castigo divino, entrando, así, a un periodo de empirismo y especulación, planteándose la teoría espontánea, que no fue desechada sino hasta antes de 1546, época donde Jerónimo Fracastorius publicó el primer libro denominado “De contagionibus et contagionis morbis et curium curatione”, en el que postula que la causa principal de la enfermedad se debía a la presencia de partículas vivas que pasan del enfermo al sano, describiendo, así, la forma de transmisión de una enfermedad. (Toola, 2014).

Ya para 1590, la teoría de la transmisión de enfermedades toma fuerza con la construcción del primer microscopio a manos de los hermanos Jensen; años más tarde, en 1695, Antonio Van Leewenhoek da a conocer los primeros microorganismos observados por el hombre, nombrándolos como animálculos, dando, de esta manera, paso a una serie de estudios realizados en primera instancia, en 1729, por Spallanzani. Posteriormente, Agostino Bassi, en 1938, identificó el primer microorganismo, al cual nombró como *Botrytis basicae*, hongo encargado de la producción de la muscardina del gusano de seda. Los microorganismos son los seres más primitivos y numerosos que existen en la Tierra; colonizan todo ambiente: suelo, agua y aire, participan de forma vital en todos los ecosistemas y están en interacción continua con las plantas, los animales y el hombre. (Toola, 2014).

Algunos avances científicos han sido posibles gracias a los microorganismos; por ejemplo, el bacteriólogo inglés F. Griffith, en 1928, quien a partir de las bacterias que causan la neumonía *Pneumococcus*, aportó la primera evidencia para demostrar que el ácido desoxirribonucleico ADN era la sustancia portadora de la herencia y de los rasgos estructurales y funcionales de un individuo; sin embargo, no se debe dejar de lado que hay unas 9,000 especies de parásitos que atacan células humanas y que alteran la salud del ser humano. Como ejemplo de

ellos están los protozoarios, que habitan en el intestino, y las bacterias patógenas, que tienen alta virulencia, ya sea en heridas superficiales o en órganos internos del cuerpo humano. (Arias, Sandoval, Camargo & Sánchez, 2010).

Actualmente, se ha profundizado más en la investigación, y se ha definido que un microorganismo, también llamado microbio u organismo microscópico, es un ser vivo que solo puede visualizarse con el microscopio. Algunas características que poseen los microorganismos son: tamaño inferior a 1 mm, tienen una estructura y organización sencillas, la mayoría son unicelulares; es decir, solo están formados por una célula. El diámetro de la mayoría de las bacterias no es superior a la milésima de milímetro. El uso de estos microorganismos ha ayudado a la creación de distintos medicamentos, como es el caso de la ampicilina; sin embargo, se utilizan en la industria alimentaria, industrial, textil, farmacéutica, así como también en otras industrias. (Arroyo, 2015).

Para poder comprender mejor el tema de la microbiología aplicada al área farmacéutica, es importante conocer algunos conceptos que se mencionan a continuación.

Conceptos

- Bacteria: microorganismo unicelular que se presentan en diferentes formas, incluyendo barras y espirales; muchas de ellas poseen propiedades patógenas.
- Estéril: exento de vida de cualquier clase.
- Hongo: organismos protistas no fotosintéticos que se proliferan como una masa de filamentos ramificados entrelazados (hifas), que se conoce como micelio.
- Unidades Formadoras de Colonias [UFC]: expresan el número de colonias originales a partir de una célula, pares, cadenas o agrupaciones de células.
- Número Más Probable [NMP]: es el número que da un valor estimado de la densidad media de las bacterias.
- Mesófilos: cuando tiene una temperatura óptima de crecimiento comprendida entre 20 °C y 45 °C. La temperatura mínima se encuentra en el rango de 15 °C a 20 °C, y la temperatura máxima en torno a 45 °C. La gran mayoría de los microorganismos son mesófilos, incluidos los patógenos.

- Microorganismos Aerobios: organismos que necesitan del oxígeno biatómico para vivir, o a los procesos que lo necesitan para poder desarrollarse. (Archila, 2009).

Medios de cultivo

El cultivo de un microorganismo se basa en el conocimiento de sus necesidades nutritivas y físicas. En el laboratorio es posible preparar o seleccionar medios adecuados a las necesidades de crecimiento de una bacteria u hongo. Existen diferentes medios de cultivo, entre los que puede haber de consistencia líquida; en este caso se denomina caldo, o sólida, si se agrega agar al caldo. El agar es un polisacárido, extraído de algas, que funciona como sustancia solidificante; se comercializa en forma de polvo o gránulos finos, y se puede agregar a cualquier caldo en concentración, de aproximadamente 15 a 20 gramos por litro, de acuerdo con la calidad y grado de hidratación. El agar le confiere al medio una consistencia sólida, o si se agrega en menor cantidad, se pueden preparar medios semisólidos. Muchos de los avances de la Microbiología se debieron al uso del agar, que ha permitido aislar y diferenciar bacterias, proceso que no es posible en medios líquidos. (Lopardo, 2016).

Los medios de cultivo pueden tener diferentes clasificaciones; por ejemplo, de acuerdo con la composición, existen sintéticos de composición conocida, y no sintéticos, que podrían tener peptonas, extractos de carne vacuna, además de mezclas de vitaminas y minerales. Otro tipo de clasificación para los medios de cultivo es de acuerdo con la finalidad, como medios no selectivos, enriquecidos, medios selectivos y diferenciales, que permiten distinguir la presencia de distintos microorganismos en el cultivo, y dan una orientación rápida sobre algunos géneros y especies. (Lopardo, 2016).

Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de levadura; sin embargo, la preparación de estas sustancias, para su aplicación a los medios de cultivo, provocaba la pérdida de los factores nutritivos lábiles. (Cerra *et al.*, 2013).

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas, por lo que se añaden sustancias como suero, sangre y otras. Igualmente, pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales

minerales como las de calcio, magnesio, manganeso, sodio o potasio, y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica. Muy a menudo se le añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas, o bien por sus capacidades de actuar como inhibidores selectivos de ciertos microorganismos. (Cerra *et al.*, 2013).

Clasificación de los medios de cultivo

- Según su consistencia (estado físico)

Medios líquidos: como se presentan en ese estado, son llamados también caldos.

Medios sólidos: se preparan a través de medios líquidos, agregándoles un agente gelificante. Los más utilizados son la gelatina y el agar. La gelatina es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene la limitación de que es hidrolizada por muchas bacterias, y porque su punto de fusión es bajo. El agar es un polímero de azúcares obtenido de algas marinas.

Medios semisólidos: se preparan a partir de los medios líquidos agregándoles un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus principales usos es para la investigación de la movilidad de los microorganismos.

- Según su uso

Medios comunes: son aquellos que poseen los componentes mínimos para que pueda producirse el crecimiento de microorganismos que no necesiten requerimientos especiales. El más conocido es el agar nutritivo o agar común, resultante de la adición de agar al caldo nutritivo.

Medios de enriquecimiento: son aquellos que, además de las sustancias nutritivas normales, incorporan una serie de factores indispensables para el crecimiento de microorganismos exigentes o fastidiosos. Este enriquecimiento se hace por agregado de: sangre, leche, bilis y huevo, entre otros.

Medios selectivos: son aquellos utilizados para favorecer el crecimiento de ciertas bacterias, inhibiendo el desarrollo de otras, ya que poseen una sustancia inhibitoria. Ejemplo: el agar MacConkey posee sales biliares y cristal violeta, que inhiben las bacterias gram positivas.

Medios diferenciales: se utilizan para poner en evidencia características bioquímicas que ayuden a diferenciar géneros o especies. Contienen compuestos químicos o indicadores sobre los

que determinados microorganismos adquieren coloraciones específicas, o reaccionan de una manera determinada.

Medios de identificación: son aquellos que se utilizan para poner en evidencia alguna cualidad bioquímica, que permite reconocer la identidad de un microorganismo.

Medios de conservación: se utilizan para conservar una cepa microbiana.

Medios de transporte: se usan, por ejemplo, para el transporte de muestras clínicas e hisopos que fueron utilizados en el control de superficies, que no pueden sembrarse inmediatamente.

- Según su composición

Medios complejos o indefinidos: son aquellos cuya composición química exacta se desconoce, ya que son el producto de realizar infusiones y extractos de materiales naturales complejos. Son medios muy ricos nutricionalmente, aunque indefinidos químicamente, como, por ejemplo: digeridos de extracto de carne o extracto de levadura.

Medios sintéticos o definidos: son aquellos que contienen en su composición exclusivamente sustancias químicas conocidas y disueltas en agua en proporciones determinadas, resultando un medio de composición perfectamente definida.

Medios semisintéticos: es una mezcla de los medios anteriores. Llevan algunas sustancias químicas, cuya naturaleza y cantidad se conoce, junto con sustancias de naturaleza y composición indefinidas. (Cerra *et al.*, 2013).

El agua es el diluyente universal que se emplea en medios microbiológicos; lo que más se emplea en la preparación de medios es el agua purificada, aunque en ciertos casos pueda ser apropiado usar agua destilada o desionizada. No se debe usar agua de menor calidad para la preparación de medios microbiológicos. Por otra parte, la preparación de medios en recipientes de vidrio, que no estén completamente limpios, puede ocasionar introducción de sustancias inhibitorias como, por ejemplo, residuos de detergente después del lavado. Se recomienda que durante el proceso de limpieza se remuevan todos los materiales de rezago, y que se enjuague bien el detergente con agua purificada. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Seguridad en el laboratorio

La seguridad, y en particular la seguridad biológica, son temas de permanente interés para todas las personas que trabajan en la industria de medicamentos, cosméticos, laboratorios de análisis clínicos, institutos biomédicos y todos los laboratorios afines. Las normas de Seguridad Biológica intentan reducir a un mínimo aceptable el riesgo inherente a la manipulación de material biológico. Es importante conocer con cuáles microorganismos se trabaja para el Grupo de Riesgo (véase el cuadro 1) y, en consecuencia, el Nivel de Bioseguridad, el cual condicionará las características que debe tener el laboratorio y la protección que se proporciona al operador, de tal manera que el mismo esté expuesto al mínimo peligro posible. (Cerra *et al.*, 2013).

Con la seguridad en el laboratorio se pretenden manipular adecuadamente los materiales biológicos, manejo correcto de los residuos, cómo manipular correctamente los productos químicos y sustancias peligrosas; además, se debe impulsar siempre que el personal siga programas de capacitación. El acceso a los laboratorios deberá restringirse de acuerdo con los trabajos que en ellos se estén realizando. De todos modos, este estará limitado al personal del laboratorio en áreas de trabajo; no deberá permitirse el ingreso de niños, personas ajenas al laboratorio e individuos inmunocomprometidos. (Lopardo, 2016).

Cuadro 1. Clasificación de agentes biológicos según su biopeligrosidad

CLASIFICACION DE AGENTES BIOLOGICOS	
Grupo de riesgo 1	Aquel que resulta poco probable que cause una enfermedad en el hombre.
Grupo de riesgo 2	Aquel que puede causar una enfermedad en el hombre y puede suponer un peligro para los trabajadores, siendo poco probable que se propague a la colectividad y existiendo generalmente profilaxis o tratamiento eficaz.
Grupo de riesgo 3	Aquel que puede causar una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores con riesgo de que se propague a la colectividad y existiendo generalmente una profilaxis o tratamiento eficaz.
Grupo de riesgo 4	Aquel que causa una enfermedad grave en el hombre, supone un serio peligro para los trabajadores, con muchas probabilidades de que se propague a la colectividad y sin que exista generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaz.

Fuente: Centro Nacional de Biotecnología (2017).

Para evaluar el riesgo biológico se deben considerar los siguientes factores: patogenicidad, vías de transmisión, transmisibilidad, virulencia, viabilidad, endemicidad de los

microorganismos con que se trabaja. (Véase el cuadro 2). Estas propiedades incluyen todos los organismos patógenos (bacterias, virus, hongos, parásitos), los priones, material genético de cualquier origen o sus derivados, como así también tejidos y fluidos de organismos vivos que porten o puedan portar ese material. Si la actividad a realizar involucra la exposición a varios grupos de agentes biológicos, se asume el riesgo con base en el peligro presentado por todos los agentes biológicos presentes. (Cerra *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Clasificación de biopeligrosidad para microorganismos utilizados para pruebas de USP

Agente Biológico: Bacterias	Clasificación
<i>Escherichia coli</i>	2
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2
<i>Salmonella spp</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
Agente Biológico: Hongos	Clasificación
<i>Aspergillus niger</i>	2
<i>Candida albicans</i>	2

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Los laboratorios se clasifican como sigue:

- Laboratorio básico - nivel de bioseguridad 1.
- Laboratorio básico - nivel de bioseguridad 2.
- Laboratorio de contención - nivel de bioseguridad 3.
- Laboratorio de contención máxima - nivel de bioseguridad 4.

Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en una combinación de las características de diseño, construcción, medios de contención, equipo, prácticas y procedimientos de operación, necesarios para trabajar con agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo. En el cuadro 3 se resumen los requisitos por nivel de bioseguridad. La asignación de un agente a un nivel de bioseguridad, para el trabajo de laboratorio, debe basarse en una evaluación del riesgo. Esa evaluación tendrá en cuenta el grupo de riesgo, además de otros factores, con el fin de determinar el nivel de bioseguridad más apropiado. Por ejemplo, un agente patógeno asignado al grupo de riesgo 2 en general requerirá instalaciones, equipo, prácticas y procedimientos del nivel de bioseguridad 2 para trabajar sin riesgo. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Cuadro 3. Resumen de requisitos por nivel de bioseguridad

	NIVEL DE BIOSEGURIDAD			
	1	2	3	4
Aislamiento ^a del laboratorio	No	No	Sí	Sí
Sala que pueda precintarse para ser descontaminada	No	No	Sí	Sí
Ventilación:				
— Flujo de aire hacia el interior	No	Conveniente	Sí	Sí
— Sistema de ventilación controlada	No	Conveniente	Sí	Sí
— Salida de aire con HEPA	No	No	Sí/No ^b	Sí
Entrada de doble puerta	No	No	Sí	Sí
Cámara de cierre hermético	No	No	No	Sí
Cámara de cierre hermético con ducha	No	No	No	Sí
Antesala	No	No	Sí	—
Antesala con ducha	No	No	Sí/No ^c	No
Tratamiento de efluentes	No	No	Sí/No ^c	Sí
Autoclave:				
— En el local	No	Conveniente	Sí	Sí
— En la sala de trabajo	No	No	Conveniente	Sí
— De doble puerta	No	No	Conveniente	Sí
CSB	No	Conveniente	Sí	Sí
Capacidad de vigilancia de la seguridad del personal ^d	No	No	Conveniente	Sí

Fuente: Organización Mundial de la Salud (2005).

Se considera desecho todo aquello que debe descartarse. En los laboratorios, la descontaminación y la eliminación de desechos son operaciones estrechamente relacionadas. En el trabajo cotidiano, son pocos los materiales contaminados que es preciso retirar del laboratorio o destruir. La mayor parte de la cristalería, los instrumentos y la ropa del laboratorio vuelve a utilizarse o se recicla. El principio básico es que todo el material infeccioso ha de ser descontaminado, esterilizado en autoclave o incinerado en el laboratorio; el tratamiento en autoclave de vapor constituye el método de elección para todos los procesos de descontaminación. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Independientemente del tipo de riesgo que posea el laboratorio, existen normas básicas de seguridad que se aplican en todos los casos:

- Acceso limitado al personal autorizado.

- Empleo de las barreras de protección primaria adecuadas: guantes, bata de mangas largas, sin botones, gafas, máscaras, calzado cerrado.
- No usar la indumentaria de trabajo y/o los equipos de protección personal fuera de las áreas restringidas.
- No comer y no fumar en el laboratorio.
- No usar maquillaje.
- No pipetear con la boca.
- No oler directamente los reactivos y materiales.
- No tocar reactivos y materiales sin guantes.
- Adoptar procedimientos que impidan generación de aerosoles.
- Descontaminar las mesas de trabajo antes y al finalizar las tareas de cada día, y cada vez que se derrame material químico o biológico.
- Colocar los residuos en recipientes rotulados según el tipo de los mismos, destinados a tal fin.
- Lavarse las manos con antisépticos antes de colocar los guantes y después de quitar los mismos, previo al retiro del área.
- Almacenar muestras y reactivos en heladeras distintas.
- Colocar carteles indicadores de riesgo en lugares claramente visibles.
- Usar solamente agujas y jeringas ya montadas.
- Desechar agujas y jeringas sin desmontar en contenedores especiales, diseñados a tal efecto.
- Comunicar a la supervisión, quien lo debe registrar, heridas y cortes que se hayan producido durante la realización de las tareas.
- Capacitar periódicamente a los operadores en los procedimientos operativos relacionados con los accidentes biológicos. (Cerra *et al.*, 2013).

Existen barreras que les permiten a las personas trabajar de manera más segura; por esto se recomienda el uso de gabachas o uniformes de laboratorio; es imprescindible el uso de guantes y protección ocular, en casos que haya riesgo de salpicaduras. Se puede disponer de cámaras de seguridad biológica, en las áreas de procesamiento de microorganismos. (Véase la figura 1). Las cámaras de seguridad se conocen también como cámaras de flujo laminar, y es necesario que

exista un control y un mantenimiento de estos equipos; además, los laboratorios deben estar diseñados para que su limpieza sea sencilla. (Lopardo, 2016).

Figura 1. Cámara de seguridad biológica



Fuente: Lopardo (2016).

Microorganismos con más relevancia en la rutina farmacéutica

Según la Organización Mundial de la Salud [OMS] en su documento técnico: “Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica los laboratorios de microbiología farmacéutica”, pueden involucrarse en: ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) y pruebas de endotoxinas bacterianas en diferentes materiales como, por ejemplo, aguas y materia prima. Los laboratorios de microbiología farmacéutica también manejan ensayos que utilizan microorganismos como parte de su sistema de pruebas; por ejemplo, actividad (potencia) de los antibióticos. (WHO Health Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, 2011).

El control microbiológico o límite microbiano permite determinar el número de bacterias mesófilas (aerobias) y hongos que pueden desarrollarse en una muestra, así como determinar si en la misma se encuentran microorganismos de riesgo para la salud (patógenos) como:

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella* y Bacterias gram negativas. Mediante medios de cultivos óptimos, se evalúa si la muestra tiene gérmenes dentro de los límites establecidos, y que estos no sean patógenos. (Organización Mundial de la Salud, 2011).

Se puede definir un medio de cultivo óptimo como aquel que se encuentra libre de gérmenes, y apto para que sea capaz de generar el crecimiento de microorganismos si estos estuvieran presentes en la muestra. Se prevé y evalúa si la ausencia de crecimiento en la muestra corresponde a inactivantes que se encuentren en la formulación. Se debe evaluar que los medios de cultivo estén libres de gérmenes, para lo cual se les incuba por lo menos 48 horas, y no deben presentar crecimiento alguno. Se debe evaluar que estén óptimos; es decir, que se compruebe que puedan crecer microorganismos si la muestra los tuviera, para lo cual se realiza la prueba de promoción de crecimiento. (Véase el cuadro 4). Se muestran propiedades indicadoras de Promoción del Crecimiento e Inhibitorias de los Medios. (OMS, 2011).

Cuadro 4. Propiedades Indicadoras de Promoción del Crecimiento e Inhibitorias de los Medios

Prueba/Medio	Propiedad	Cepas de Prueba
Prueba de <i>Escherichia coli</i>		
Caldo MacConkey	Promoción del crecimiento	<i>Escherichia coli</i>
	Inhibitoria	<i>Staphylococcus aureus</i>
Agar MacConkey	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>Escherichia coli</i>
Prueba de <i>Salmonella</i>		
Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de <i>Salmonella</i>	Promoción del crecimiento	<i>Salmonella enterica subesp., enterica serovar Typhimurium o</i>
		<i>Salmonella enterica subesp., enterica serovar Abony</i>
	Inhibitoria	<i>Staphylococcus aureus</i>
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>Salmonella enterica subesp, enterica serovar Typhimurium o</i>
		<i>Salmonella enterica subesp, enterica serovar</i>

		Abony
Prueba de <i>Pseudomona aeruginosa</i>		
Agar Cetrimida	Promoción del crecimiento	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Inhibitoria	<i>Escherichia coli</i>
Prueba de <i>Staphylococcus aureus</i>		
Agar Manitol Salado	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Inhibitoria	<i>Escherichia coli</i>
Prueba de <i>Candida albicans</i>		
Caldo Sabouraud Dextrosa	Promoción del crecimiento	<i>Candida albicans</i>
Agar Sabouraud Dextrosa	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>Candida albicans</i>

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014).

Los microorganismos indicadores son aquellas especies cuya presencia indica que hubo exposición, por parte de los fármacos, a condiciones que pudieron determinar la llegada a los mismos, de microorganismos peligrosos, y permitir la proliferación de especies patógenas o toxigénicas. Por lo tanto, se usan los microorganismos indicadores como reveladores de prácticas de higiene inadecuadas, lo cual es precisamente para poner en evidencia determinadas condiciones de tratamiento, o manipulación de los medicamentos que suponen un riesgo. (Archila, 2009).

Microorganismos indicadores más comunes

Bacterias aerobias mesófilas: son microorganismos que crecen a 37 °C y cuyos recuentos se obtienen en placas, los cuales, si son altos, indican la posible proliferación de organismos patógenos dentro de los medicamentos y, al mismo tiempo, indican que los medicamentos van a alterarse muy pronto. (Cerra *et al.*, 2013).

***Escherichia coli* y coliformes:** la *E. coli* es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto digestivo del hombre; por lo tanto, su presencia en los medicamentos es un indicador de contaminación directa o indirecta de origen fecal, lo que implica la presencia simultánea de bacterias patógenas como *Salmonella typhi*, *Shigella spp*, *Vibrios spp* y *Entamoeba spp* (estas

últimas no se analizan comúnmente en el laboratorio). Los coliformes son buenos indicadores de una limpieza y desinfección no adecuada, o de una industrialización o tratamiento de medicamentos incorrectos, favoreciendo la multiplicación de microorganismos patógenos. Los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*, como lo es la *Escherichia coli*, son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos que fermentan la glucosa. Las enterobacterias están ampliamente distribuidas en plantas, suelos y en el intestino de humanos y animales. Están asociadas con muchos tipos de infecciones como abscesos, neumonía, meningitis, septicemia e infecciones intestinales, urinarias y heridas. (Cerra *et al.*, 2013).

Staphylococcus aureus y *Pseudomonas aeruginosa* en medicamentos se interpretan como indicativos de contaminación a partir de la piel, boca y fosas nasales de los manipuladores de los medicamentos, así como también de material, equipos sucios y de temperaturas de conservación no efectivas. (Archila, 2009).

El *Staphylococcus aureus* es un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprófito; se encuentra en la piel y fosas nasales del individuo sano, pero en ocasiones en que las defensas caen, puede causar enfermedad. Por ser una bacteria de la flora normal de la piel, esta constituye un riesgo de contaminación en la fabricación de los medicamentos. El *Staphylococcus aureus* es coagulasa positiva, lo cual constituye su característica más distintiva. *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista para los humanos. *P. aeruginosa* es frecuentemente y preliminarmente identificada por su apariencia perlada y olor a grapa *in vitro*. La identificación definitiva frecuentemente incluye identificar la producción de ambas piocianina y fluoresceína como su habilidad de crecer a 42 °C. (Archila, 2009).

La presencia del género *Staphylococcus*, y particularmente *S. aureus*, en una materia prima o producto farmacéutico o cosmético, indica que la fuente de contaminación puede ser humana; o sea, la de los operadores. Estos microorganismos pueden ser transportados por el polvo, piel, ropa y microgotas de humedad que se generan al moverse, hablar y estornudar. Está bien documentado que *S. aureus* es un patógeno oportunista humano, y es una de las mayores causas de infecciones agudas y piogénicas; si no es tratada, puede extenderse al tejido circundante, o por vía de una bacteriemia a otros órganos. (Cerra *et al.*, 2013).

La infección de *P. aeruginosa* en ojos está frecuentemente asociada al uso de lentes de contacto, y de soluciones de lavado de lentes de contacto, contaminadas con este microorganismo. Esta infección puede llegar a producir úlceras de córnea, que pueden progresar a una pérdida de la función ocular si no es adecuadamente tratada. La infección más severa causada por este microorganismo es la endocarditis por administración endovenosa de medicamentos, cuando, al ser inyectados, son disueltos o suspendidos en vehículos acuosos que, si están contaminados con *P. aeruginosa*, pueden llegar a producir bacteriemia, que puede evolucionar a una endocarditis. (Cerra *et al.*, 2013).

Salmonella crece con facilidad en Agar sangre, formando colonias de 2 a 3 milímetros. En laboratorios de Microbiología se aísla con medios selectivos, Selenito, SS o Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), para inhibir el crecimiento de otras bacterias patógenas y de la flora intestinal saprófita. Ninguno de los tubos con medio Agar triple azúcar-hierro debe presentar superficies alcalinas (rojas) y fondos ácidos (amarillos), con o sin ennegrecimiento concomitante de los fondos, debido a la producción de sulfuro de hidrógeno. (Archila, 2009).

Las salmonelas se encuentran ampliamente difundidas en la naturaleza, y como flora normal del tracto intestinal de animales y humanos. Se distinguen de otros microorganismos, causantes de enfermedades gastrointestinales, en que su presencia puede ser habitual en materias primas de origen natural, en especial aquellas de origen animal. Posee una gran habilidad de multiplicarse en un amplio rango de temperaturas, alcanzando recuentos muy elevados. Pueden ser fácilmente diseminadas y transmitidas de una persona a otra. Puede producirse un prolongado período de excreción del microorganismo tras la infección, produciéndose lo que se conoce como estado de portador. Dada la etiología de este microorganismo, es de fundamental importancia su investigación en materias primas de origen natural. (Cerra *et al.*, 2013).

Los hongos son un grupo de diversos organismos unicelulares que se alimentan mediante la absorción directa de los nutrientes. La mayoría de los hongos están constituidos por finas fibras que contienen protoplasma, llamadas hifas. Los hongos se reproducen por esporas, diminutas partículas de protoplasma rodeado de pared celular. Los hongos son organismos protistas no fotosintéticos, los cuales se proliferan como una masa de filamentos ramificados entrelazados (hifas), que se conoce como micelio; los mohos son hongos con formas miceliales (hifas) y las

levaduras presentan célula mitótica sencilla oval o redonda; además, no forman micelio, y forman yemas para reproducirse. (Archila, 2009).

Los productos más susceptibles a la contaminación fúngica son las soluciones oftálmicas, ungüentos, supositorios, pomadas y en cosméticos, jabones y talcos, y otros que contienen nutrientes ricos en hidratos de carbono y ácidos grasos. Los excipientes y materias primas, derivados de cereales, son también óptimos sustratos para el desarrollo de cepas de *A. flavus*, productores de aflatoxinas. Las hierbas medicinales y medicamentos fitoterápicos pueden ser vehículos, también, de estos microorganismos. (Cerra *et al.*, 2013).

Buenas prácticas de laboratorio microbiológico

Las buenas prácticas en un laboratorio microbiológico consisten en actividades que dependen de varios principios: técnicas asépticas, control de medios de cultivo, control de cepas de prueba, operación y control de equipos, registro detallado y evaluación de datos, así como la capacitación del personal de laboratorio. Debido a que existe riesgo de variabilidad en los datos cuando se utilizan microorganismos, la confiabilidad y la reproducibilidad dependen de utilizar los métodos aceptados y del cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Reportes de infecciones ocasionadas por medicamentos contaminados por microorganismos, llevó al establecimiento, en la segunda mitad del siglo XX, de un comité especial en la Federación Farmacéutica Internacional [FFI], al cual se le asignó la tarea de diseñar guías regulando la producción de medicamentos. Dichos trabajos culminaron en el desarrollo de guías de Buenas Prácticas de Manufactura [BPM]. Los principios de las BPM se introdujeron para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos, y salvaguardar la vida y la salud de los pacientes. (Ratajczak *et al.*, 2015).

Control de calidad microbiológico de los productos farmacéuticos

En términos microbiológicos, los productos farmacéuticos se pueden dividir en dos grupos: estériles y no estériles. Los medicamentos no estériles deben satisfacer los criterios de

pureza microbiológica incluidos en las monografías farmacopeicas; los estudios farmacopeicos son preparados, específicamente, con miras a asegurar que los productos medicinales sean terapéuticamente efectivos y seguros para los pacientes. Para lograr el objetivo de calidad, son necesarios controles en todas las etapas de producción del fármaco, incluyendo materia prima, proceso de manufactura y evaluación de producto terminado. Una de las etapas de control es el aseguramiento de la calidad microbiológica de los productos medicinales. (Ratajczak *et al.*, 2015).

Ediciones consecutivas de la Farmacopea Europea [FE] son herramientas útiles en el aseguramiento de la calidad, ya que señalan las especificaciones microbiológicas, criterios y métodos para la examinación de microorganismos. Los métodos utilizados y los resultados obtenidos deben cumplir con las especificaciones y criterios delimitados en la farmacopea apropiada. Incluso, la presencia de una mínima cantidad de microorganismos patógenos, o niveles más altos de metabolitos bacterianos tóxicos, pueden generar que el producto sea inefectivo. (Ratajczak *et al.*, 2015).

Medicamentos como antimicrobianos, antiinflamatorios, antitusivos y vitaminas, son comúnmente utilizados para tratar las molestias, pero, si estos estuvieran contaminados, podrían empeorar la condición del paciente. El uso de preparaciones no estériles contaminadas pone en peligro la salud del paciente, además de causar pérdidas económicas a los fabricantes. Los microbios atacan ingredientes de la formulación como: principios activos, polímeros, surfactantes, aceites, agentes endulzantes, saborizantes, colorantes y preservantes. Esto ocasiona cambios en características físicas como turbidez en preparaciones líquidas, *cracking* de emulsiones y cambios de color y textura en tabletas y polvos. (Rauf, Erum, Noreen, Shujaat & Ashraf, 2018).

Laboratorio de Análisis Microbiológico

Generalidades, Estructura, Personal, Equipos y Materiales

Generalidades

El laboratorio de microbiología farmacéutica debe contar con una variedad de equipos e instrumentos, desde incubadoras hasta tecnologías más complejas como cámaras de bioseguridad; por lo tanto, la calificación de equipos es uno de los componentes principales requeridos para

obtener resultados confiables y repetibles. El término “validación” se utiliza para procesos de fabricación, procedimientos analíticos y de software, y el término “calificación” se emplea para equipos. Por lo tanto, la frase “calificación de equipos analíticos” se usa para el proceso de garantizar que un equipo es adecuado para el uso al que está destinado. (Cerra *et al.*, 2013).

La mayor parte de los equipos (incubadoras, baños de agua y autoclaves) está sujeto a las prácticas estándares de calificación de instalación, operación y desempeño. Además, es común requerir una calibración periódica (generalmente cada año). Los equipos nuevos, vitales para la operación del laboratorio, deberían calificarse para cumplir con lo estipulado; asimismo, debería llevarse a cabo la limpieza y sanitización regular del equipo, con el fin de minimizar la posibilidad de contaminación en el laboratorio. Los sellos de las puertas de las incubadoras y refrigeradoras deben limpiarse y revisarse, para determinar si necesitan reparaciones. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

El laboratorio debe contar con instalaciones que faciliten la correcta ejecución de las pruebas; es decir, que deben cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura [BPM], de cómo deben estar distribuidas cada una de las áreas con las que este cuente, evitando, así, contaminaciones cruzadas u otro inconveniente que pueda afectar la calidad de los resultados. De igual forma, se realiza un monitoreo y control, para determinar que las condiciones ambientales sean las requeridas, y no poner en riesgo los resultados. Todo laboratorio debe estar equipado adecuadamente con el rango de sus actividades, para facilitar la realización de los análisis; también, debe ser capaz de alcanzar la precisión requerida para la correcta ejecución de las pruebas y calibraciones, y además, se debe contar con personal capacitado para la operación de los equipos que se utilicen. (Archila, 2009).

Estructura

Los laboratorios microbiológicos deben estar diseñados para adaptarse a las operaciones que se llevan a cabo ahí. Debe haber espacio suficiente para todas las actividades, de manera tal que se eviten confusiones, contaminación y contaminación cruzada. Debe haber espacio suficiente y adecuado para las muestras, microorganismos de referencia, medios (con enfriamiento, si fuera necesario), ensayos y registros. Debido a la naturaleza de algunos materiales (ejemplos: medios de cultivo estériles vs. microorganismos de referencia o cultivos

incubados), puede ser necesario disponer de lugares de almacenamiento separados. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Personal

Los ensayos microbiológicos deben ser realizados y supervisados por una persona experimentada y calificada. El personal debe tener entrenamiento básico en Microbiología, y experiencia práctica relevante antes de ser autorizado a realizar el trabajo que implican los ensayos microbiológicos. El laboratorio también debe mantener registros de todo el personal técnico, describiendo sus áreas de competencia, entrenamiento y experiencia. El personal debe tener la capacitación adecuada y conocimientos relevantes de aplicación específica, incluyendo, por ejemplo, requisitos regulatorios y tecnológicos y criterios de aceptación. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

La competencia se puede demostrar mediante trabajos específicos, experiencia y capacitación profesional continua. Conseguir una certificación a través de un organismo acreditado es también una acreditación deseable. La pericia en Microbiología se puede lograr mediante diversas rutas adicionales a los estudios académicos y a la acreditación. La exigencia de las pruebas microbiológicas requiere que los operarios y gerentes tengan educación en Microbiología o en otro campo científico vinculado a la Biología. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Equipos y materiales

Cada equipo, instrumento u otro dispositivo utilizado para el análisis, verificación y calibración, debe identificarse individualmente. Como parte de su sistema de calidad, el laboratorio debe tener un programa documentado para la calificación, calibración, verificación del desempeño y mantenimiento de sus equipos, y un sistema para el monitoreo del uso de los mismos. Deben mantenerse registros detallados del mantenimiento de los equipos. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Dispositivos de medición de temperatura

La temperatura es crítica, porque tiene un efecto directo sobre el resultado de un análisis, o es indispensable para el correcto funcionamiento de los equipos; los dispositivos de medición de temperatura deben ser de la calidad apropiada para alcanzar la exactitud requerida; por

ejemplo: termómetros de líquido en vidrio, termocuplas y termómetros de resistencia de platino [TRP] empleados en las incubadoras y autoclaves. La calibración de los dispositivos debe ser trazable a estándares de temperatura nacionales o internacionales. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

La calibración de los dispositivos de medición debe ser trazable a patrones nacionales o internacionales de temperatura. Cuando la precisión lo permita, podrán utilizarse instrumentos que puedan demostrar el cumplimiento de especificaciones de fabricación apropiadas, y aceptadas en el ámbito nacional o internacional (verbigracia, la norma ISO 1770 para los termómetros de columna líquida). Estos instrumentos pueden utilizarse, por ejemplo, para controlar la temperatura de heladeras y congeladores, también de estufas y baños termostáticos cuando lo permita la tolerancia admitida en torno a la temperatura definida. El laboratorio debe verificar el correcto funcionamiento de estos instrumentos. (Cuesta, 2017).

Incubadoras, baños de agua y hornos

Las incubadoras son gabinetes provistos de un calentador interior construido, que permite obtener temperaturas más elevadas dentro del gabinete que las que hay afuera. La temperatura requerida puede controlarse mediante un termostato. La diferencia entre los hornos y las incubadoras radica en la temperatura en la cual deben tenerse en el interior, ya que los hornos por lo general manejan temperaturas superiores a los 100 °C. (Solórzano, 2015).

La estabilidad de la temperatura, la uniformidad de la distribución de la temperatura y el tiempo necesario para alcanzar condiciones de equilibrio en las incubadoras, baños de agua, hornos y cuartos de temperatura controlada, deben establecerse inicialmente y documentarse, en particular para los usos habituales (por ejemplo, posición y altura de las pilas de placas de Petri y el espacio libre entre las mismas). La constancia de las características registradas, durante la validación inicial del equipo, debe chequearse y registrarse después de cada reparación o modificación significativa. La temperatura de operación de estos equipos debe monitorearse y registrarse. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

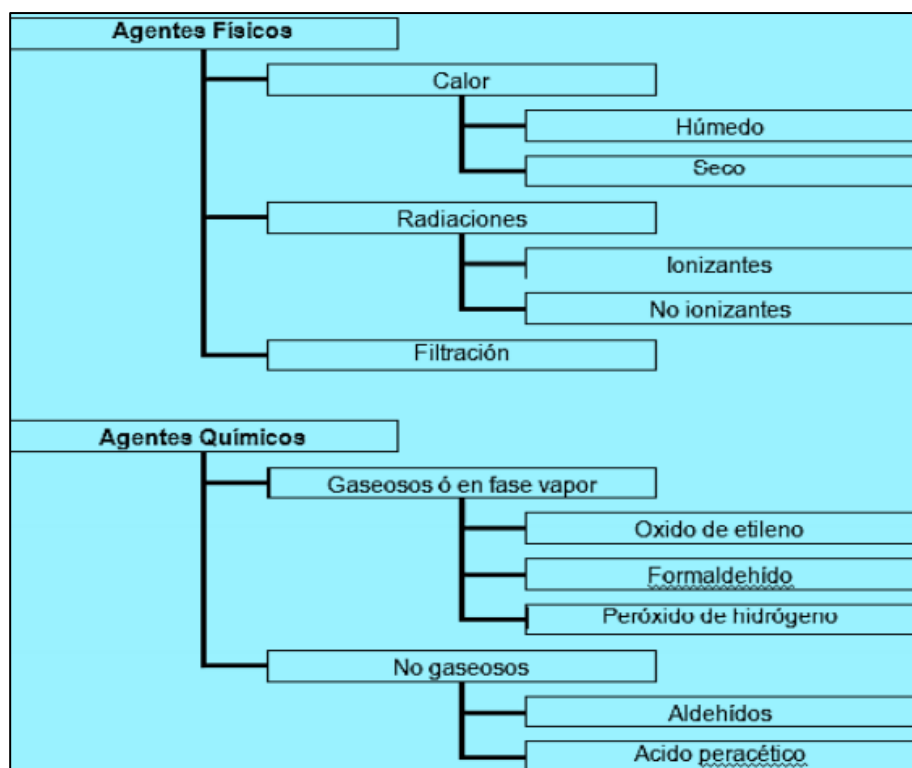
Esterilización y Autoclaves

El objetivo de cualquier proceso de esterilización es destruir o eliminar todos los microorganismos presentes en/o sobre un objeto o sustancia. En los últimos años, las técnicas de

esterilización han adquirido una importancia creciente, debido a la variedad y cantidad de productos estériles requeridos. La esterilidad es definida como la ausencia de microorganismos viables, pero en la práctica es imposible demostrar que todos los microorganismos de un producto o lote de productos han sido inactivados o removidos. (Cerra *et al.*, 2013).

El procedimiento a utilizar en la esterilización de un dispositivo de uso médico, medicamento, materia prima o envase, queda determinado en gran medida por la naturaleza del producto. Es importante recordar que una misma técnica de esterilización no puede aplicarse universalmente, debido a que determinadas propiedades de algunos productos pueden modificarse o destruirse. Los métodos de esterilización se pueden clasificar según se realice con agentes físicos y químicos, de acuerdo con la figura 2. (Cerra *et al.*, 2013).

Figura 2. Agentes físicos y químicos de esterilización



Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Esterilización por agentes físicos

El calor se puede aplicar como agente esterilizante de dos formas: el calor húmedo, el cual destruye a los microorganismos por desnaturalización de las proteínas, y el calor seco, que destruye a los microorganismos por oxidación de sus componentes celulares. (Cerra *et al.*, 2013).

La radiación, o emisión y propagación de la energía a través de un medio, puede ser utilizada como agente para la inactivación de microorganismos, por su efecto sobre los ácidos nucleicos principalmente. Las radiaciones ionizantes (gamma, electrones acelerados o Rayos X) son altamente penetrantes, lo que permite esterilizar grandes volúmenes, mientras que las radiaciones no ionizantes solo pueden ser utilizadas para esterilización de superficies, ya que no son penetrantes por su baja energía (ejemplo: luz ultravioleta). (Cerra *et al.*, 2013).

La filtración es el único método no letal que permite remover los microorganismos presentes en el producto, reteniéndolos sobre la superficie de un material filtrante. (Cerra *et al.*, 2013).

Esterilización por agentes químicos

Tienen la capacidad de reaccionar con gran facilidad con diferentes grupos funcionales de ácidos nucleicos y proteínas, modificando estos componentes esenciales de los microorganismos y alterando su viabilidad. Los agentes químicos gaseosos, como el óxido de etileno y el formaldehído, son alquilantes que inutilizan grupos funcionales responsables de actividades vitales de las células. El formaldehído es un gas fácilmente soluble en agua, que se utiliza vaporizado en cámara cerrada, en concentraciones desde un 2 a un 40%, en la esterilización hospitalaria y en la industria farmacéutica. Se emplea, asimismo, como desinfectante de superficies. Otros aldehídos y diversos agentes químicos no gaseosos se utilizan en solución, principalmente para la esterilización o desinfectar materiales por inmersión. En el cuadro 5 se muestran las limitaciones y ejemplos de aplicación de los diferentes métodos de esterilización. (Cerra *et al.*, 2013).

Cuadro 5. Métodos de esterilización, sus limitaciones y aplicación

Método	Limitaciones	Ejemplos de aplicación
Calor húmedo	No permite esterilizar soluciones que formen emulsiones con el agua Es corrosivo sobre ciertos instrumentos metálicos. Se debe secar el material	Medios de cultivo, diluyentes, textiles, Instrumental y material de curación hospitalarios. Conservas alimenticias
Calor seco	Son necesarias altas temperaturas, con lo cual los instrumentos a esterilizar pueden ser deteriorados por el excesivo calor.	Polvos inertes, sustancias oleosas, material metálico y algunos materiales de vidrio
Radiación	Se requiere instalaciones especiales; No se recomienda la esterilización de soluciones.	Productos médicos, envases de productos farmacéuticos Insumos hospitalarios y de laboratorio, Productos alimenticios Materias primas farmacéuticas y cosméticas, productos cosméticos y medicamentos
Oxido de etileno	Requiere instalaciones especiales; es necesario ventilación forzada de los productos previo a su uso	Productos médicos Especias alimenticias Insumos hospitalarios Principios activos sólidos deteriorables por radiación, equipos electrónicos, bombas cardiorrespiratorias
Filtración	Solo soluciones o gases filtrables; no retienen virus ni micoplasmas	Gases medicinales o ambientales Soluciones oleosas o soluciones termolábiles

Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Autoclavado

El autoclavado es un procedimiento en el que se emplea vapor a presión, en el que, como tiene gran poder de penetración, la temperatura y el tiempo utilizado son menores que los que se emplean con el horno Pasteur (121 °C, 15-20 minutos). Se utiliza para esterilizar medios de cultivo, ropa, material de plástico resistente al calor húmedo, objetos de metal que no se alteren con la humedad y, sobre todo, material de vidrio. (Solórzano, 2015).

Básicamente, una autoclave consiste en una cámara hermética construida en acero, de forma cuadrangular o cilíndrica, dispuesta horizontal o verticalmente. (Véase la figura 3). La cámara puede estar equipada con solo una puerta para carga y descarga de materiales, o bien con dos puertas ubicadas en las áreas anterior o de carga, y posterior o de descarga de materiales. La cantidad de puertas dependerá de si el esterilizador comunica dos áreas contiguas a modo de

esclusa o no. Cada puerta posee un mecanismo, que permite su sellado hermético a la cámara e impedir su apertura durante el proceso. En los equipos de dos puertas, este mecanismo también impide la apertura simultánea de las mismas en todo momento, para evitar la comunicación de dos áreas diferentes. (Cerra *et al.*, 2013).

Figura 3. Autoclave



Fuente: Solórzano (2015).

Las autoclaves deben poder cumplir con las tolerancias de tiempo y temperatura especificadas. Los sensores utilizados para controlar o vigilar los ciclos tienen que ser calibrados, además de verificar el correcto funcionamiento de los cronómetros. No es aceptable la utilización de autoclaves provistas solo de un manómetro. La validación inicial debe incluir estudios de funcionamiento (estudios de la distribución espacial de la temperatura), para los distintos ciclos y las distintas configuraciones de la carga que se utilicen en la práctica. Este proceso tiene que repetirse después de cada reparación o modificación importantes. (Cuesta, 2017).

El equipamiento para esterilización se presenta en una variedad importante de tamaños, diseño y variantes de tecnología, dependiendo del uso al que está destinado (esterilización de soluciones parenterales, insumos hospitalarios, materiales y medios de cultivo para laboratorio de

Microbiología y otros). Se pueden clasificar los esterilizadores disponibles en los siguientes tipos:

- Autoclaves por Vapor de Agua saturado seco, para todo tipo de materiales.
- Autoclaves de mesada, para instrumental de pequeñas dimensiones.
- Autoclaves por Lluvia de Agua Sobrecalentada con Presión Compensada, para soluciones parenterales en envases flexibles. (Cerra *et al.*, 2013).

Además de monitorear directamente la temperatura de una autoclave, el uso de indicadores químicos o biológicos, para los propósitos de esterilización o descontaminación, puede chequear la eficiencia de su funcionamiento durante cada ciclo. La cinta de autoclave, o las tiras indicadoras, deben utilizarse solo para demostrar que una carga ha sido procesada, pero no para demostrar que se ha completado un ciclo aceptable. Los laboratorios deben tener una autoclave dedicado a la descontaminación. No obstante, en casos excepcionales, una única autoclave puede ser aceptable, siempre que se tomen precauciones exhaustivas para separar las cargas de descontaminación y de esterilización, y se cuente con un programa de limpieza documentado, que considere tanto el entorno interno como el externo de la autoclave. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Refrigeradores y congeladores

Cada laboratorio requiere amplios servicios de refrigeración, para el almacenamiento de los medios de cultivo, materiales de referencia y reactivos perecederos. Se necesitan congeladores para el almacenamiento más prolongado de cepas, y para reactivos más delicados. Siempre se debe verificar la estabilidad y uniformidad de la temperatura. (Solórzano, 2015).

Cabina de seguridad biológica

Las cabinas de seguridad biológica [CSB], también se conocen como cabinas de bioseguridad; forman parte de un grupo de equipos destinados a mejorar las condiciones generales, bajo las cuales se realiza una gran variedad de actividades en los laboratorios clínicos y de investigación. Estas actividades abarcan, desde procesos rutinarios para la identificación de microorganismos, hasta actividades especializadas de investigación. Así mismo, son igualmente conocidas con diversos nombres tales como: gabinetes de bioseguridad, campanas de flujo

laminar y purificadores, entre otros. El término “flujo laminar” se utiliza también, comúnmente, para identificarlas. (Organización Panamericana de la Salud, 2002).

Es un gabinete de bioseguridad, que tiene como funciones ofrecerles protección al usuario y al ambiente, de los riesgos asociados al manejo de material infeccioso y otros materiales biológicos peligrosos, excluyendo materiales radiactivos, tóxicos y corrosivos. Todas las manipulaciones con material biológico, que pueda presentar riesgo, se realizarán en cabinas de bioseguridad. Se evitará el uso de mecheros y la acumulación de materiales en el interior de la vitrina, para no romper el flujo laminar. En microbiología se pueden utilizar microincineradores para las asas de siembra. Se evitará tapar la zona taladrada donde se apoyan los brazos, para no romper el flujo frontal de protección. (Centro Nacional de Biotecnología, 2017).

Las cabinas de seguridad biológica se utilizan principalmente para mantener un espacio denominado “zona de trabajo”, libre de partículas o de probables contaminantes, tales como bacterias que pueden dañar un producto, afectar la salud del trabajador, o afectar el medio ambiente. Para alcanzar la seguridad deseada se combinan elementos electromecánicos (motor, ventilador, filtro, ductos, iluminación y otros), y procesos físicos (flujo laminar, diferencias de presiones), que impulsan el aire a través de unos filtros especiales de gran superficie. (Organización Panamericana de la Salud, 2002).

Los filtros que se utilizan en las cabinas de bioseguridad se colocan estratégicamente, y poseen una eficiencia mínima de retención de partículas del 99,99%, cuando el tamaño de las mismas es en promedio de 0,3 μm (micrómetros). Dichos filtros se conocen internacionalmente como filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) y resultan adecuados para retener los aerosoles, que se generan cuando se realizan procedimientos experimentales con agentes biológicos como agitación, centrifugación o mezcla. (Organización Panamericana de la Salud, 2002).

Cuando se utilizan debidamente las Cabinas de Seguridad Biológica [CSB], son sumamente eficaces para reducir las infecciones adquiridas en el laboratorio, y la contaminación cruzada de cultivos por exposición a aerosoles. Las CSB también protegen la atmósfera del laboratorio. Si las Cabinas de Seguridad Biológica no se usan correctamente, sus efectos protectores pueden verse gravemente disminuidos. Los trabajadores deben tener cuidado de

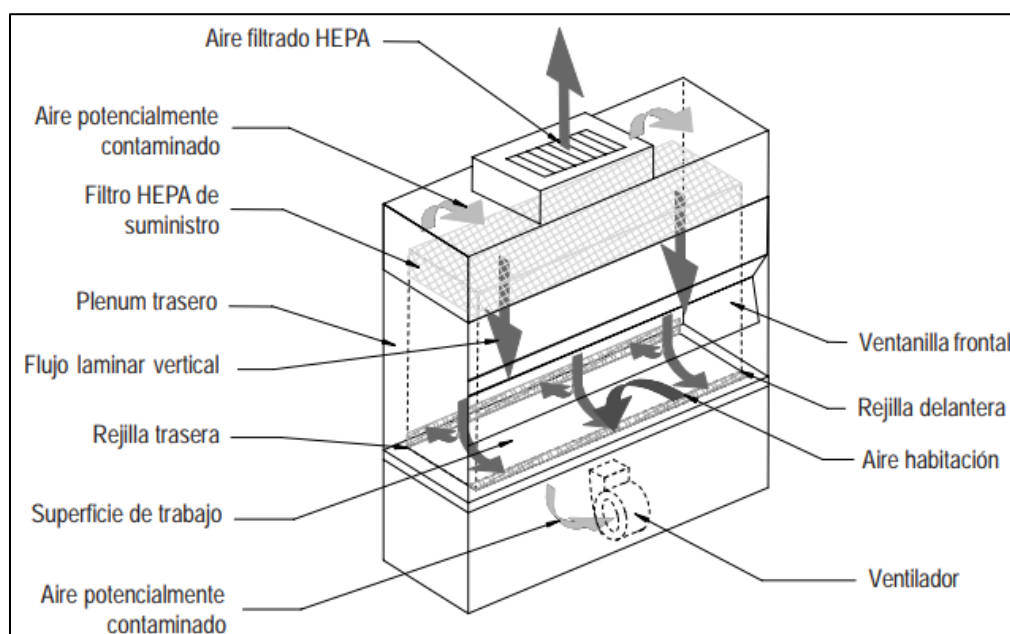
mantener la integridad del flujo de entrada de aire por la abertura frontal, al meter y sacar los brazos de la cámara. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Clases de cabinas de seguridad biológica

Existen tres clases básicas, conocidas como:

- Clase I: les suministran protección al personal y al ambiente; sin embargo, su mayor desventaja reside en que no le ofrecen protección al producto.
- Clase II (tipos: A, B1, B2 y B3): se encargan de suministrar protección al personal, al ambiente y al producto. (Véase la figura 4). Se identifica la cabina como de tipo A, si se recicla el aire dentro del laboratorio y, si se extrae el aire hacia el exterior a través de un ducto, se identifica la cabina como de tipo B.
- Clase III: es una cabina que se caracteriza por ser totalmente cerrada y sellada a los gases; está diseñada para trabajar con agentes microbiológicos clasificados en el nivel de bioseguridad 4, que les suministran máxima protección al trabajador y al ambiente. La ventana es sellada; no es posible abrirla. (Organización Panamericana de la Salud, 2002).

Figura 4. Cabina de seguridad biológica Clase II



Fuente: Organización Panamericana de la Salud, (2002)

Es importante que todos los artículos que ingresen en una CSB, incluido el material de laboratorio, tengan su superficie descontaminada; de igual forma, los artículos deben sacarse de la cámara una vez terminado el trabajo, ya que los medios de cultivo residuales pueden permitir la proliferación de microbios. Deben descontaminarse las superficies internas antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes internas deben limpiarse con un paño empapado en un desinfectante, que elimine los microorganismos que pudiera haber. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Al depender del tipo de protección que se necesite, así debe ser la elección de la Cámara de Seguridad Biológica; por ejemplo: protección del producto, protección del personal frente a microorganismos de los grupos de riesgo 1 a 4 (véase el cuadro 1), protección del personal frente a la exposición a radionúclidos y sustancias químicas tóxicas volátiles, o una combinación de todas ellas. En el cuadro 6 se muestra qué cámara de seguridad biológica se recomienda para cada tipo de protección. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Cuadro 6. Selección de una Cámara de Seguridad Biológica [CSB] según el tipo de protección necesaria

TIPO DE PROTECCIÓN	SELECCIÓN DE LA CSB
Protección personal, microorganismos de los grupos de riesgo 1 a 3	Clase I, clase II, clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con cámara de guantes	Clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con trajes especiales	Clase I, clase II
Protección del producto	Clase II, clase III sólo si incluye flujo laminar
Protección contra cantidades mínimas de sustancias químicas/ radionúclidos volátiles	Clase IIB1, clase IIA2 ventilada hacia el exterior
Protección contra sustancias químicas/ radionúclidos volátiles	Clase I, clase IIB2, clase III

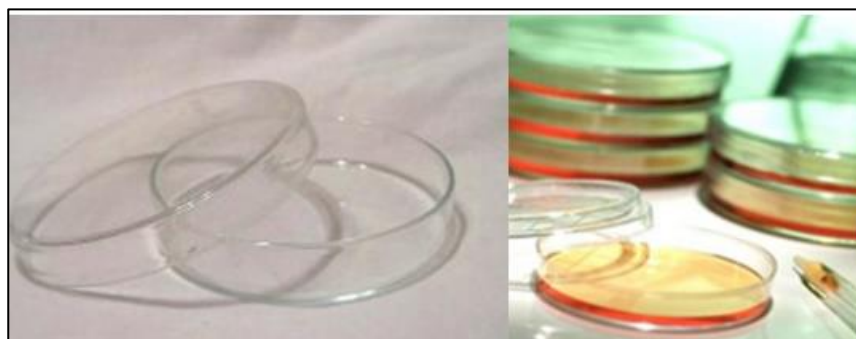
Fuente: Organización Mundial de la Salud (2005).

Placa de Petri

La placa de Petri es un recipiente redondo, de cristal o plástico, de diferentes diámetros (siendo más comunes los de diámetros alrededor de 10 cm), de fondo bajo, con una cubierta de la

misma forma que la placa, pero algo más grande de diámetro, para que pueda cubrir y cerrar el recipiente. (Véase la figura 5). En la placa de Petri se distribuyen los medios de cultivo sólidos “agar”, en los cuales se pueden sembrar los microorganismos por diferentes métodos como, por ejemplo, siembra por estrías, siembra por punción o siembra volumétrica. (Solórzano, 2015).

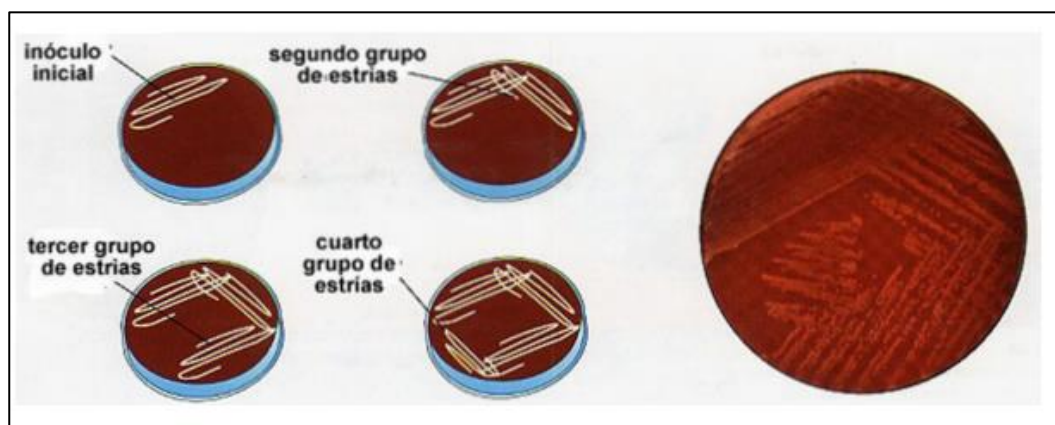
Figura 5. Caja de Petri o placa de Petri



Fuente: Solórzano (2015).

Al depender de los objetivos que se pretendan alcanzar con el cultivo, así será el método de siembra a emplear, ya que en ocasiones es necesario que el desarrollo del microorganismo se produzca de forma masiva, mientras que en otros casos resulta indispensable que las colonias queden aisladas, o que las manifestaciones del metabolismo tengan lugar con tensiones reducidas o privadas de oxígeno. Por ejemplo, para aislar las colonias se puede utilizar el método de siembra por estrías, como se muestra en la Figura 6. (Solórzano, 2015).

Figura 6. Técnica de siembra de microorganismos por método de estrías



Fuente: Solórzano (2015).

Pruebas que se realizan en Microbiología farmacéutica

La contaminación microbiana de los productos farmacéuticos ha sido extensamente estudiada, tanto a nivel nacional como internacional. Los productos para administración parenteral y de uso ocular deben ser estériles. Existen otras formas farmacéuticas no obligatoriamente estériles que se usan por vía oral, tópica, nasal, vaginal, fabricadas con ingredientes que pueden ser substratos adecuados para los microorganismos. Las preparaciones farmacéuticas pueden contaminarse con hongos filamentosos, levaduras y bacterias. Las materias primas naturales, el equipamiento, el agua, los operadores, el aire y el material de empaque, pueden ser fuentes de contaminación de los productos farmacéuticos y cosméticos. (Cerra *et al.*, 2013).

La U.S. *Food and Drug Administration* [FDA] reconoce tres categorías de microorganismos: patógenos, oportunistas y objetables: patógenos son aquellos microorganismos o toxinas responsables de enfermar o infectar al hombre (*Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium spp*). Se consideran oportunistas a aquellos microorganismos que producen enfermedad en pacientes inmunocomprometidos, y son objetables aquellos microorganismos que pueden inactivar drogas activas y/o deteriorar el producto, provocando una posible falta de eficacia de los productos farmacéuticos y seguridad en cosméticos. (Cerra *et al.*, 2013).

Los microorganismos pueden contaminar formulaciones desde una amplia variedad de fuentes. Todos los aspectos de la formulación y manufactura deben intentar minimizar la contaminación; esto es crítico para productos estériles. Para productos no estériles, debe existir un balance entre el costo de reducir la contaminación y el posible riesgo para el consumidor y el producto. (Kushwaha, 2010).

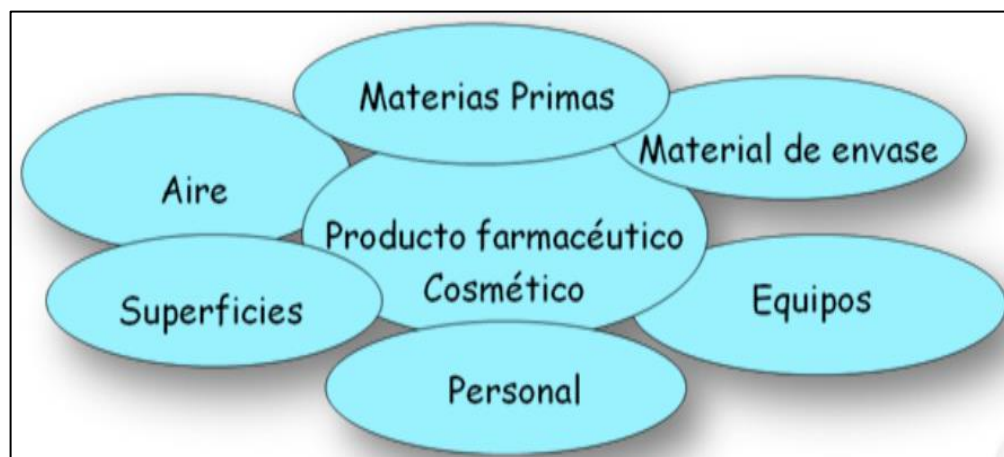
Existen varias fuentes de contaminación microbiana, entre las que se encuentran:

1. Materia prima/excipientes
 - a) Componentes
 - Naturales vs. sintéticos.
 - Nivel de actividad del agua.
 - Contenedores (cajas de cartón).

- b) Sistemas de agua (Agua purificada, WFI, Biofilm).
- 2. Equipos y procesos
 - Diseño
 - Materiales/Superficies.
 - Tanques de almacenamiento descubiertos.
 - Bombas contaminadas.
 - Filtros de carbón.
 - Filtros de membrana.
 - Válvulas.
 - Sellos/empaques.
- 3. Ambiente/Instalaciones
 - Diseño de las instalaciones.
 - Sistemas de manejo de aire inadecuados.
 - Materiales de construcción no aptos.
 - Inadecuados procedimientos de sanitización.
 - Mantenimientos inadecuados (restos de polvo, oxidación, acumulación de agua).
- 4. Personal
 - (Mayor fuente potencial de contaminación)*
 - Piel expuesta.
 - Cabello expuesto.
 - Ropa expuesta.
 - Uso de cosméticos.
 - Consumo de tabaco.
 - Comportamiento. (Kushwaha, 2010).

Solo unas pocas materias primas empleadas para la fabricación de productos farmacéuticos son estériles. Controles ambientales, del agua, de las materias primas, de limpieza de equipos y áreas, buenas prácticas de higiene del personal, son vitales para minimizar el tipo y número de microorganismos presentes. En la figura 7 se puede observar cuáles son las fuentes más comunes de contaminación de medicamentos y cosméticos. (Cerra *et al.*, 2013).

Figura 7. Fuentes de contaminación más frecuentes de productos de uso y consumo humano



Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Por otra parte, para poder realizar las pruebas de microbiología farmacéutica, es fundamental el control y seguimiento de las condiciones de almacenamiento de las cepas (origen, sistema de preservación, temperatura de almacenamiento, pureza, tipificación, número de repiques y otras). Deben proceder de centros especializados en cultivos microbianos, donde se pueda realizar la trazabilidad del origen y mantenimiento de las cepas, como, por ejemplo:

ATCC: American Type Culture Collection (Estados Unidos).

CIP: Collection de Bactéries de L' Institut Pasteur (Francia).

NCTC: National Collection of Type Cultures (Inglaterra).

IMI: International Mycological Institute (Inglaterra).

DSMZ: Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulten (Alemania).

Es muy importante tener en cuenta estas consideraciones, ya que las cepas serán los estándares de referencia y, como tales, no deben sufrir alteraciones durante su almacenamiento y uso. Esto asegurará que los resultados que se obtengan no serán erráticos, y que serán reproducibles en cualquier laboratorio, no importando en cuál parte del mundo se encuentre. (Cerra *et al.*, 2013).

Pruebas de eficacia antimicrobiana

Los conservantes antimicrobianos son sustancias agregadas a las formas farmacéuticas no estériles, para protegerlas del desarrollo microbiano, o de microorganismos que se introducen sin ser advertidos, durante el proceso de fabricación o después de este. En el caso de artículos estériles dispensados en envases multidosis, los conservantes antimicrobianos se agregan para inhibir el desarrollo de microorganismos, que puedan introducirse por la extracción reiterada de dosis individuales. Los conservantes antimicrobianos no deben reemplazar las buenas prácticas de fabricación, o solamente para reducir la población microbiana viable de un producto no estéril, o para controlar la biocarga, antes de la esterilización de formulaciones multidosis durante la fabricación. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

El test de eficacia antimicrobiana está diseñado para brindar una prueba de laboratorio, que logre determinar el nivel de actividad biológica que permite un preservante en un producto farmacéutico. No está diseñado para simular una situación del mundo real, ni tampoco es garantía de que el sistema preservante, que cumple con los requerimientos, nunca permitirá el crecimiento de contaminantes en el producto. Es un ensayo, en el cual un laboratorio cuidadoso puede reproducir resultados comparables con una variedad de laboratorios, y el valor de los resultados obtenidos permite estimar el desempeño de los preservantes en el producto. (Sutton & Porter, 2002).

Para los fines de las pruebas, los artículos farmacopeicos han sido divididos en cuatro categorías. (Véase el cuadro 7). Los criterios de eficacia antimicrobiana para estos productos se establecen en función de la vía de administración.

Cuadro 7. Categorías de Productos Farmacopeicos

Categoría	Descripción del Producto
1	Inyectables, otros parenterales incluyendo emulsiones, productos óticos, productos nasales estériles y productos oftálmicos preparados con bases o vehículos acuosos
2	Productos empleados de manera tópica preparados con bases o vehículos acuosos, productos nasales no estériles y emulsiones, incluyendo aquellos que se aplican a membranas mucosas
3	Productos orales a excepción de antiácidos, preparados con bases o vehículos acuosos.
4	Antiácidos preparados con una base acuosa.

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014).

Se requieren organismos de prueba; son necesarios cultivos de los siguientes microorganismos (cepas):

- *Candida albicans* (ATCC N° 10231).
- *Aspergillus niger* (ATCC N° 16404).
- *Escherichia coli* (ATCC N° 8739).
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 9027).
- *Staphylococcus aureus* (ATCC N° 6538).

Los microorganismos viables empleados en la prueba no deben haber sufrido más de cinco pesajes desde su extracción del cultivo original de ATCC. Para los fines de prueba, un pesaje se define como la transferencia de organismos, desde un cultivo establecido a un medio nuevo. En el cuadro 8 se muestran las condiciones de cultivo necesarias para la preparación de inóculos, dependiendo del microorganismo utilizado. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Cuadro 8. Condiciones de Cultivo para la Preparación de Inóculos

Organismo	Medio Apropriado	Temperatura de Incubación	Inóculo Tiempo de Incubación	Recuperación Microbiana Tiempo de Incubación
<i>Escherichia coli</i> (ATCC N° 8739)	Caldo digerido de Caseína y Soja; Agar digerido de Caseína y Soja	32,5 ± 2,5 ⁰	18 a 24 horas	3 a 5 días
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027)	Caldo digerido de Caseína y Soja; Agar digerido de Caseína y Soja	32,5 ± 2,5 ⁰	18 a 24 horas	3 a 5 días
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538)	Caldo digerido de Caseína y Soja; Agar digerido de Caseína y Soja	32,5 ± 2,5 ⁰	18 a 24 horas	3 a 5 días
<i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	Caldo Sabouraud Dextrosa; Agar Sabouraud Dextrosa	22,5 ± 2,5 ⁰	44 a 52 horas	3 a 5 días
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC N° 16404)	Caldo Sabouraud Dextrosa; Agar Sabouraud Dextrosa	22,5 ± 2,5 ⁰	6 a 10 horas	3 a 7 días

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014).

Todos los agentes antimicrobianos útiles son sustancias tóxicas, y se debe velar por que la concentración que se indique como eficaz sea menor al nivel que pueda resultar tóxico en el ser humano. La concentración de un conservante antimicrobiano puede mantenerse al mínimo si los ingredientes activos de la formulación poseen eficacia antimicrobiana intrínseca; de igual forma la eficacia antimicrobiana, ya sea inherente al producto o producida por la adición de un conservante, debe ser demostrada por diferentes medios: en inyecciones multidosis, multidosis orales, tópicas, oftálmicas, óticas, nasales, de irrigación y con líquidos de diálisis. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano.

El test de recuento microbiano es básico, y con un diseño simple para contar el número de unidades formadoras de colonias [UFC] en productos no estériles o materia prima. El método preferido es colocar el material en una solución, y luego adicionar alícuotas en una placa de cultivo para determinar UFC/g (o mL) en el material inicial. Se pueden utilizar diferentes métodos como lo son: Método del número Más Probable [NMP], Métodos de Recuento en Placa y Filtración por membrana. (Kushwaha, 2010).

En el Capítulo general <61> de la Farmacopea de los Estados Unidos 37 se describen los procedimientos que permitirán el recuento cuantitativo de bacterias mesófilas y hongos. que pueden desarrollarse en condiciones aeróbicas. En el Cuadro 9 se muestra la preparación y el uso de microorganismos de prueba Las pruebas han sido diseñadas, principalmente, para determinar si una sustancia o preparación cumple con una especificación establecida de calidad microbiológica, para realizar las determinaciones en condiciones diseñadas, con el propósito de evitar la contaminación microbiana extrínseca del producto a examinar. Las precauciones a tomar, para que no haya contaminación, no deben afectar ningún microorganismo que deba detectarse en la prueba. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Cuadro 9. Preparación y Uso de Microorganismos de Prueba

Microorganismo	Preparación de Cepas Prueba	Promoción del Crecimiento		Aptitud del Método de Recuento en Presencia del Producto	
		Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras	Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538)	Caldo digerido de Caseína y Soja o Agar digerido de Caseína y Soja 30 ⁰ -35 ⁰ de 18-24 horas	Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días		Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja/ NMP ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027)	Caldo digerido de Caseína y Soja o Agar digerido de Caseína y Soja 30 ⁰ -35 ⁰ de 18-24 horas	Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días		Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja/ NMP ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días	
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCCN°6633)	Caldo digerido de Caseína y Soja o Agar digerido de Caseína y Soja 30 ⁰ -35 ⁰ de 18-24 horas	Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días		Caldo digerido de Caseína y Soja y Agar digerido de Caseína y Soja/ NMP ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 3 días	
<i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa 20 ⁰ -25 ⁰ 2-3 días,	Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC 20 ⁰ -25 ⁰ ≤5 días	Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC 20 ⁰ -25 ⁰ ≤5 días
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC N° 16404)	Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa 20 ⁰ -25 ⁰ 5-7 días o hasta alcanzar una buena esporulación	Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC 20 ⁰ -25 ⁰ ≤5 días	Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC 30 ⁰ -35 ⁰ ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC 20 ⁰ -25 ⁰ ≤5 días

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014).

Los límites microbianos son las pruebas, por medio de las cuales se estima un número de microorganismos aerobios, mohos y levaduras presentes en especialidades farmacéuticas, y determinar si dichas especialidades se encuentran libres de ciertos microorganismos patógenos; estas especialidades incluyen: materia prima, producto en proceso y producto terminado. Los límites microbianos son pruebas que permiten darle protección al consumidor, ya que asegura la calidad microbiológica del producto. Por lo tanto, la industria farmacéutica reconoce la necesidad de un control microbiológico en los medicamentos, ya que involucra áreas como: salud pública, estabilidad del producto y financiero. (Archila, 2009).

Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos

En el Capítulo General <62> “Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos”, se describen las pruebas que permitirán determinar la presencia o ausencia de microorganismos específicos que puedan ser detectados en las condiciones descritas, (Véase el cuadro 10). Las pruebas han sido diseñadas, principalmente, para determinar si una sustancia o preparación cumple con especificaciones establecidas de calidad microbiológica, y se deben seguir las instrucciones indicadas en la USP 37. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Cuadro 10. Características generales de microorganismos específicos determinados

Microorganismo	Tinción de Gram	Medio de Cultivo	Morfología de las colonias
<i>Escherichia coli.</i>	Bacilos Gram negativos (cocos-bacilos).	Agar McConkey.	De color rojo ladrillo; pueden tener una zona de bilis precipitada alrededor.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Cocos Gram positivos (en grupos).	Manitol Agar Salado.	Colonias amarillas con zonas amarillas.
<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	Bacilos Gram negativos.	Agar Cetrimida.	Colonias generalmente verdosas.
<i>Salmonella spp.</i>	Bacilos Gram negativos.	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato.	Colonias de color rojo, con o sin centros negros.

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Se requieren los siguientes medios de cultivo para realizar esta prueba:

Caldo digerido de Caseína y Soja.
 Agar digerido de Caseína y Soja.
 Agar Sabouraud Dextrosa.
 Caldo Sabouraud Dextrosa.

Se requieren los siguientes medios de cultivo para microorganismos específicos:

- Prueba de *Escherichia coli*
 Agar MacConkey.
 Caldo MacConkey.
- Prueba de *Salmonella*
 Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella*.
 Agar Xilosa Lisina Desoxicolato.
- Prueba de *Pseudomonas aeruginosa*
 Agar Cetrimida.

- Prueba de *Staphylococcus aureus*
Agar Manitol Salado.

- Prueba de *Candida albicans*
Agar Sabouraud Dextrosa.

Caldo Sabouraud Dextrosa. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Es de suma importancia que se proteja la calidad de estos medios, ya que constituyen la base la mayoría de pruebas microbiológicas. La preparación de los medios, el almacenamiento apropiado, y las pruebas de control de calidad, pueden asegurar un suministro de medios de alta calidad. Es fundamental que se elijan los medios con base en el empleo de fuentes o referencias aceptadas. En las figuras 8, 9, 10 y 11 se representa cómo se observan los microorganismos específicos en los medios de cultivo adecuados para cada prueba. Los medios deshidratados o previamente fabricados, generalmente, se acompañan con la fórmula y las instrucciones de preparación provistas por el fabricante. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Figura 8. *Escherichia coli* en Agar McConkey



Fuente: Fisher Scientific (2019).

Figura 9. *Staphylococcus aureus* en Agar Manitol Salado



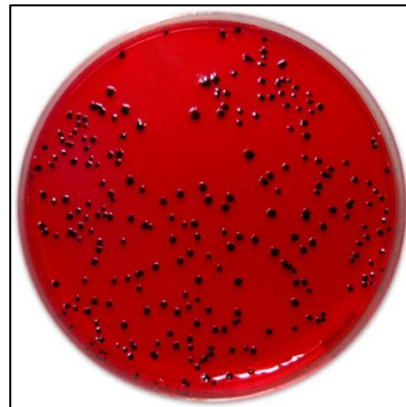
Fuente: Fisher Scientific (2019).

Figura 10. *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Cetrimida



Fuente: Fisher Scientific (2019).

Figura 11. *Salmonella* spp en Agar Xilosa Lisina Desoxicolato



Fuente: Fisher Scientific (2019).

La presencia de ciertos microorganismos en preparaciones no estériles puede tener el potencial de reducir, y hasta inactivar, la actividad terapéutica del producto, y afectar adversamente la salud del paciente. Los fabricantes deben asegurar, por lo tanto, una baja biocarga de formas farmacéuticas terminadas, mediante la implementación de las guías de Buenas Prácticas de Fabricación vigentes durante la fabricación, el almacenamiento y la distribución de preparaciones farmacéuticas. Los criterios de aceptación para microorganismos específicos se presentan en el cuadro 11. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014)

Cuadro 11. Criterios de Aceptación para Microorganismos específicos

Vía de Administración	Microorganismo (s) Específico (s)
Preparaciones no acuosas para uso oral	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 mL)
Preparaciones acuosas para uso oral	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 mL)
Uso rectal	
Uso oromucosal	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL)
Uso gingival	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL)
Uso cutáneo	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL)
Uso nasal	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL)
Uso auricular	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL)
Uso vaginal	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Candida albicans</i> (1 g o 1 mL)
Parches transdérmicos (límites para un parche incluyendo la capa adhesiva y el soporte)	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 parche) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 parche)
Uso por Inhalación (los requisitos especiales aplican a las preparaciones líquidas para nebulización)	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 mL) Ausencia de bacterias Gramnegativas tolerantes a la bilis (1 g o 1 mL)

Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014).

Para el aseguramiento de la calidad en las pruebas descritas se propone:

- Utilizar vestimenta adecuada para realiza el análisis (guantes, mascarilla, gorro y gabacha estéril).
- El medio de cultivo a utilizar debe ser recientemente preparado y esterilizado.
- Todo el material a utilizar debe estar completamente estéril.
- Las muestras a analizar deben ser únicamente abiertas bajo cámara de flujo laminar.
- Las temperaturas de incubación deben ser controladas periódicamente. (Cerra *et al.*, 2013).

Pruebas para Antibióticos-Valoraciones Microbiológicas

En las condiciones adecuadas, la actividad (potencia) de los antibióticos puede demostrarse por su efecto inhibitor sobre los microorganismos. La reducción en la actividad microbiana puede ser difícil de demostrar por métodos químicos. En el Capítulo General <81> “Antibióticos-Valoraciones Microbiológicas de la Farmacopea de los Estados Unidos 37” (2014), se resumen los procedimientos que se les realizan a los antibióticos reconocidos en la USP, para los que la valoración microbiológica es el método analítico estándar. Se utilizan dos técnicas generales: la valoración en cilindro-placa (o en placa) y la valoración turbidimétrica (o en tubo). (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Valoración en cilindro-placa: se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical, a través de una capa de agar solidificado, en un plato o placa de Petri. El crecimiento del microorganismo específico inoculado en el agar resulta inhibido en un área circular o zona en torno al cilindro, que contiene la solución del antibiótico.

Materiales e insumos para realizar la prueba:

- Placas de Petri.
- Cilindros de acero inoxidable 8mm de diámetro externo 6mm de diámetro interno y 10mm de altura.
- Soluciones estándar (dependiendo del antibiótico a valorar).
- Agar sangre.

Valoración turbidimétrica: se basa en la inhibición de crecimiento de un microorganismo en una solución uniforme del antibiótico, en un medio fluido, que favorezca el crecimiento del microorganismo en ausencia del antibiótico.

Materiales e insumos para realizar la prueba:

- Tubos de ensayo de vidrio o plástico.
- Soluciones estándar (dependiendo del antibiótico a valorar).
- Espectrofotómetro. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Se compara la capacidad de inhibir crecimiento de microorganismos en un producto antibiótico contra la dosis de un Patrón Biológico Internacional, una Referencia Biológica Internacional o un Patrón de Referencia Químico. Los materiales de referencia secundarios, adecuadamente validados, se pueden utilizar en el ensayo. Para llevar a cabo la prueba, se realiza una comparación entre la inhibición de crecimiento de microorganismos, producida por concentraciones conocidas del material de referencia, y la generada por diluciones medidas de la sustancia de prueba. Esta respuesta puede medirse por método de difusión o por método turbidimétrico. La Unidad Internacional es la actividad específica contenida en una cantidad (peso) del patrón de referencia. (The International Pharmacopeia, 2018).

Las valoraciones microbiológicas se pueden emplear cuando así lo especifican las farmacopeas, o cuando es el único método aplicable, debido a la naturaleza química del antibiótico o a que la misma es desconocida. Dado que el método microbiológico determina la potencia (actividad), a través de la medición de la inhibición del crecimiento, y no de propiedades físicas o estructuras químicas, no resulta imprescindible conocer su composición. Por ejemplo, en el descubrimiento de la penicilina por Fleming, en 1928, se puede observar que la actividad de la penicilina fue descubierta antes de que se conociera su estructura química. (Cerra *et al.*, 2013).

Se pueden analizar, por métodos microbiológicos, muestras que incluyen sustancias activas puras y productos compuestos, ya sea fármacos, muestras clínicas, extractos naturales, entre otros, constituidos por mezclas de sustancias relacionadas químicamente, pero que difieren en forma cualitativa y cuantitativa en sus efectos biológicos, o por mezclas de sustancias que tienen actividad biológica, pero no están relacionadas químicamente. Se pueden utilizar las valoraciones microbiológicas para distintos objetivos, como: investigación y desarrollo de nuevas sustancias activas, seguimiento de procesos fermentativos de producción de antibióticos, ensayos

de biodisponibilidad y control de calidad de materias primas y productos finales. En el control de calidad de antibióticos, los ensayos microbiológicos deberán ser fundamentalmente precisos y, eventualmente, rápidos y/o sensibles. En el cuadro 12 se numeran las etapas para la determinación de la potencia antibiótica por métodos microbiológicos. (Cerra *et al.*, 2013).

Cuadro 12. Etapas para la determinación de la potencia antibiótica por métodos microbiológicos

<p>1. Consulta bibliográfica (Farmacopeas) Preparaciones de referencia y unidades Técnicas sugeridas Microorganismos de ensayo y preparación de inóculos Medios de cultivo Diluyentes Rangos de concentraciones de las sustancias activas Temperaturas de incubación</p> <p>2. Realización de la curva Dosis – Respuesta Rango de concentraciones del ensayo Transformaciones de datos para linealizar la respuesta</p> <p>3. Elección del diseño experimental Examinar la validez del modelo matemático para calcular la potencia Estimar el intervalo de confianza de la potencia calculada</p> <p>4. Ensayo microbiológico propiamente dicho</p> <p>5. Descarte y reemplazo de datos aberrantes</p> <p>6. Análisis de la validez del ensayo</p> <p>7. Cálculo de la potencia y de su intervalo de confianza</p>
--

Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Caracterización, identificación y tipificación de cepas microbianas

Las colecciones microbianas, referidas también como “ceparios”, son centros de recursos genéticos que preservan a los microorganismos, garantizando la disponibilidad de dicho material biológico para actividades de docencia, investigación científica y comercial. Los ceparios son el sitio de depósito, no solo de cepas de referencia, sino también de microorganismos aislados,

caracterizados e identificados, obtenidos de investigaciones realizadas en diferentes periodos de tiempo, habilitando, así, su categoría como cepas de referencia. (Pacheco & Serpas, 2013).

Actualmente. Existe una gran cantidad de métodos para la preservación de los microorganismos de interés, ya sea para la producción, como referencias o para el control de calidad de algunos productos. A continuación, se detallan algunas de las técnicas más importantes utilizadas en la actualidad (Pacheco & Serpas, 2013):

- Liofilización (Freeze-drying Liquid-drying).
- Congelación (nitrógeno líquido y congelación de -20 °C a -50 °C).
- Conservación en tubos inclinados cubiertos de parafina.
- Conservación por cultivo continuo.
- Métodos restringidos (adherencia a un sustrato).

La conservación de microorganismos es una herramienta útil, en la que se necesitan microorganismos que mantengan ciertas características debidamente identificadas. Los cultivos de microorganismos con determinadas características son esenciales para la mayoría de los ensayos microbiológicos. Los cultivos de referencia o controles son utilizados en un amplio número de determinaciones, debido a que no pueden obtenerse resultados válidos si no se trabaja con cultivos de alta calidad. Por todo esto, una colección de cultivos bien mantenida es un requisito indispensable para las buenas prácticas del laboratorio. (Pacheco & Serpas, 2013).

La conservación de los microorganismos de la colección debe garantizar su viabilidad en estado inactivo, puro y homogéneo, bajo condiciones que aseguren la estabilidad microscópica, macroscópica, bioquímica, fisiológica y genética; es decir, sin variaciones fenotípicas ni mutaciones con respecto a las condiciones originales. En la figura 12 se señala el uso general de los cultivos de referencia. (Gutiérrez, Luna, Mendoza, Díaz, Burguette & Feliciano, 2015).

Figura 12. Uso general de cultivos de referencia



Fuente: Organización Mundial de la Salud (2013).

Para poder comprender mejor el tema de la microbiología aplicada al área farmacéutica, es importante conocer algunos conceptos que se mencionan a continuación:

Conceptos

- Cepas de referencia: microorganismos definidos al menos a nivel de género y especie, catalogados y descritos de acuerdo con sus características, e indicando preferiblemente su origen. Se obtienen normalmente de una colección nacional o internacional reconocida.
- Cultivos de referencia: término colectivo para la cepa de referencia y los stocks de referencia.
- Cultivo de trabajo: subcultivo primario de un stock de referencia.
- Especificidad (selectividad): capacidad del método para detectar la gama requerida de microorganismos que podrían estar presentes en la muestra.
- Stocks de referencia: conjunto de cultivos individuales idénticos, obtenidos por medio de un único subcultivo de una cepa de referencia.
- Material de referencia: material suficientemente homogéneo y estable en relación con una o más propiedades especificadas, el cual se ha establecido que es apto para el uso previsto en un proceso de medición. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

La caracterización de microorganismos se lleva a cabo cuando estos se detectan en fármacos, excipientes, agua para uso farmacéutico, productos intermedios, productos farmacéuticos terminados y en el ambiente de fabricación, y puede incluir la identificación y tipificación de cepas. La caracterización de rutina de microorganismos puede incluir la determinación de morfología de la colonia (UFC), morfología de celular (bacilos, cocos, agrupaciones celulares, modos de esporulación entre otros), tinción de Gram u otras técnicas de coloración o tinción; también reacciones bioquímicas como prueba de oxidasa y catalasa. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Se requiere una identificación más concluyente en algunos casos a nivel de género y especie; las metodologías disponibles, incluso, pueden llevar a cabo una identificación a nivel de cepa, que puede ser muy útil en una investigación, para determinar la fuente del microorganismo. La identificación es habitual cuando se recuperan organismos que exceden, por mucho, los niveles recomendados para las categorías específicas de los productos. Otros usos de la

identificación microbiana pueden ser: procesamiento aséptico, cuando las pruebas de esterilidad arrojan resultados positivos, y cuando se da un procesamiento aséptico fallido como, por ejemplo, contaminación en el llenado de medios. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Existen diferentes metodologías analíticas para la identificación microbiológica, y puede haber limitaciones inherentes al método. La identificación se logra comparando las características (genotípicas y/o fenotípicas) con un organismo estándar (referencia) establecido. Los usuarios deben considerar los sistemas de identificación microbiológica que mejor se ajusten a sus necesidades. El capítulo de pruebas generales USP “Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos” <62> cita específicamente la necesidad de la identificación microbiana. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Métodos de identificación microbiana

Métodos basados en criterios morfológicos

Esta metodología evalúa características estructurales de los microorganismos, ya sea a nivel microscópico o macroscópico, para lograr distinguir a un microorganismo de otro; es decir, a nivel macroscópico se pueden determinar características de la forma de la colonia y su aspecto; por ejemplo, colonias circulares con un aspecto específico (véase la figura 13), mientras que a nivel microscópico se puede distinguir la presencia de diferentes tipos de estructuras (cilios o flagelos y sus posiciones respectivas) o la presencia de esporas. (Pacheco & Serpas, 2013).

Figura 13. Morfología macroscópica



Fuente: Pacheco & Serpas (2013).

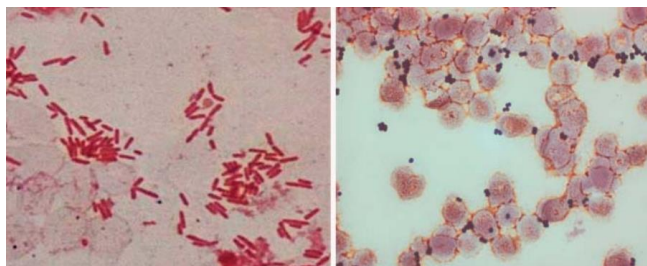
Tinciones diferenciales

Se puede examinar una lámina que fue sometida a una tinción diferencial, para encaminar el proceso de identificación. Los criterios morfológicos que se obtienen, mediante la tinción bacteriana, forman parte de las primeras etapas del proceso de identificación bacteriana. La mayor parte de las bacterias, utilizando la tinción de Gram, se pueden clasificar como Gram positivas o Gram negativas, debido a características presentes en la composición de su pared celular; en el caso de las Gram negativas, esta pared se compone por una fina pared celular de peptidoglicano, que no retiene el colorante durante la tinción de Gram, mientras que las Gram positivas presentan una membrana lipídica, y la pared de peptidoglicano es mucho más gruesa. (Pacheco & Serpas, 2013).

La tinción de Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta, el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana; después se coloca lugol, el cual sirve como mordiente, e impide la salida del cristal violeta por la formación de un complejo cristal violeta yodo, que satura los espacios del peptidoglicano de la pared bacteriana. En seguida, se coloca una mezcla de alcohol-acetona, la cual deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de la misma; también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas, debido a que esta es soluble a la acción de solventes orgánicos, como la mezcla de alcohol-acetona. (López, Hernández, Colín & Ortega, 2014).

Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener, por tener menos cantidad de peptidoglicano. Por último, se coloca safranina, la cual funciona como un colorante secundario o de contratinción, y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-yodo. (Véase la figura 14). (López *et al.*, 2014).

Figura 14. Bacterias Gram negativas en cultivo directo (izquierda) y Gram positivas en hemocultivo (derecha)



Fuente: López, Hernández, Colín & Ortega (2014).

Pruebas Bioquímicas

Las pruebas bioquímicas han sido de gran utilidad para diferenciar bacterias. El fundamento de las pruebas bioquímicas, por lo general, es el de las reacciones que prueban al microorganismo; por ejemplo, la capacidad de fermentar azúcares, la presencia de enzimas, la degradación de compuestos, la producción de compuestos coloreados, oxidación, reducción entre otros. Aún bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies diferentes, con base en pruebas bioquímicas. (Pacheco & Serpas, 2013).

El tiempo necesario para la identificación de bacterias puede reducirse, considerablemente, con el uso de sistemas miniaturizados basados en pruebas bioquímicas. Estas herramientas que permiten reducir el tiempo del reporte, en primer lugar, fueron elaboradas para bacterias de importancia médica, tales como las enterobacterias. Los sistemas miniaturizados han sido diseñados para realizar varias pruebas bioquímicas simultáneamente, y permitir la identificación en un tiempo más corto. Cada uno de los ensayos consta de tubos miniaturizados, que contienen el reactivo o sustratos, que se hidratan al inocularse con una suspensión bacteriana. (Véase la figura 15). (Pacheco & Serpas, 2013).

Figura 15. Sistema de Pruebas Bioquímicas API (*Analytical Profile Index*)



Fuente: Pacheco & Serpas (2013).

En el cuadro 13 se describen propiedades de identificación respecto a morfología macroscópica, características bioquímicas, morfología microscópica y aplicaciones en Farmacia.

Cuadro 13. Características morfológicas y bioquímicas de microorganismos en estudio

Microorganismo	Morfología Macroscópica	Características Bioquímicas	Tinción al Gram	Aplicaciones en Farmacia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes de color gris a dorado. Pueden producir grado variable de hemólisis.	Coagulasa (+) fibrinolisis (+) hialuronidasa (+) termonucleasas (+) bacteriocinas (+) penicilinasas (+) ADNasa (+)	Cocos gran positivos que forman racimos en forma de uva	- Eficacia de preservantes. - Control de calidad de medios de cultivo. - Límites microbianos.
<i>Escherichia coli</i>	Las colonias en agar nutritivo son lisas, convexas, húmedas de superficie brillante con	Oxidasa, (-), Voges Proskauer (-), H ₂ S (-), Ureasa (-), lipasa (-), Catalasa	Son bacilos rectos Gram negativos de 1.1 -1.5µm de	- Pruebas de resistencia de coliformes en agua.

	bordes lisos.	(+), rojo de metilo (+)	ancho por 2 – 6µm de largo.	- Control de calidad de medios - Límite microbiano.
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Colonias mucoides, rugosas. La mayoría presenta una coloración verde por la difusión de pigmentos.	Puede producir pigmento verde, pigmento rojo, piocianina, Catalasa (+), Oxidasa (+).	Bacilos rectos o ligeramente curvados, con flagelos unipolares.	- Pruebas de sensibilidad. - Control de calidad de medios -Límite microbiano.

Fuente: Pacheco & Serpas (2013).

Prácticas Asépticas y Muestreo

Se deben tener en cuenta los requisitos de buenas prácticas microbiológicas y de seguridad en el diseño y diagrama del laboratorio. Es esencial tratar de minimizar la contaminación cruzada de los cultivos microbiológicos, y es muy importante que las muestras microbiológicas se manipulen en un medio ambiente donde se evite la contaminación. Si no se pueden separar por completo las zonas de cultivos vivos y las zonas limpias, se deberán emplear otras barreras o prácticas asépticas, para reducir la posibilidad de contaminación accidental. Estas barreras incluyen vestimentas de protección, procedimientos para sanitizar y desinfectar, cabinas de seguridad biológica. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Es necesario contar con procedimientos para el control de los derrames o percances con cultivos vivos, y todo el personal técnico pertinente debería entrenarse en cuanto a la aplicación del manejo de este tipo de sustancias o desechos. En lo posible, no deben abrirse muestras que contengan colonias de crecimiento en las zonas limpias del laboratorio; la separación cuidadosa de materiales y muestras contaminadas reduce la posibilidad de obtener resultados positivos falsos. Es importante considerar que la contaminación microbiana de muestras es siempre posible, por lo que las precauciones de asepsia son muy importantes. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Cuando se abarcan las prácticas asépticas, se utilizan muchos términos diferentes. Los siguientes se encuentran entre los más comunes en el campo de la bioseguridad:

- Antimicrobiano: agente que mata los microorganismos o suprime su crecimiento y proliferación.
- Antiséptico: sustancia que inhibe el crecimiento y el desarrollo de microorganismos, pero no necesariamente los mata. Los antisépticos suelen aplicarse a las superficies corporales.
- Biocida: término general para cualquier agente que mate organismos.
- Descontaminación: cualquier proceso utilizado para eliminar o matar microorganismos. También se utiliza para referirse a la eliminación o neutralización de sustancias químicas peligrosas y materiales radioactivos.
- Desinfectante: sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies u objetos inanimados.
- Esporicida: sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos y esporas.
- Germicida químico: sustancia o mezcla de sustancias químicas, utilizada para matar microorganismos.
- Microbicida: sustancia o mezcla de sustancias químicas que mata microorganismos. Este término se utiliza a menudo en lugar de biocida, germicida químico o antimicrobiano. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

El término “limpieza” abarca la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas; también el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes. Es fundamental una limpieza previa, para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas solo son activos sobre material previamente limpio. Es muy importante evitar la exposición a agentes infecciosos, por lo que es necesario realizar los procedimientos de limpieza y desinfección con mucho cuidado, además de utilizar las sustancias de desinfección correctas. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

El uso correcto de los germicidas químicos contribuirá a la seguridad en el lugar de trabajo y, al mismo tiempo, reducirá el riesgo que suponen los agentes infecciosos. A continuación, se mencionan los germicidas más utilizados:

- Cloro (hipoclorito sódico): el cloro, oxidante de acción rápida, es un germicida químico de uso muy extendido y de amplio espectro.
- Dicloroisocianurato sódico: el dicloroisocianurato sódico (NaDCC) en polvo contiene un 60% de cloro libre.
- Cloraminas: las cloraminas existen en forma de polvo, que contiene aproximadamente un 25% de cloro libre.
- Dióxido de cloro: el dióxido de cloro (ClO_2) es un germicida, desinfectante y oxidante potente y de acción rápida, que a menudo tiene actividad a concentraciones inferiores a las necesarias, en el caso del cloro procedente de la lejía.
- Formaldehído: el formaldehído (HCHO) es un gas que mata todos los microorganismos y esporas a temperaturas superiores a los 20 °C. Sin embargo, no tiene actividad contra los priones.
- Glutaraldehído: al igual que el formaldehído, el glutaraldehído ($\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$) tiene actividad contra formas vegetativas de bacterias, esporas, hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo, y su acción es más rápida que la del formaldehído.
- Compuestos fenólicos: los compuestos fenólicos, un grupo amplio de productos, figuran entre los germicidas más antiguos. Sin embargo, los resultados de estudios de inocuidad más recientes recomiendan restringir su uso. Incluyen triclosán y el cloroxilenol.
- Compuestos de amonio cuaternario: muchos tipos de compuestos de amonio cuaternario se utilizan como mezclas, y a menudo en combinación con otros germicidas, como los alcoholes; un ejemplo de este grupo es el cloruro de benzalconio.
- Alcoholes: el etanol y el 2-propanol (alcohol isopropílico) tienen propiedades desinfectantes similares. Son activos contra las formas vegetativas de las bacterias, los hongos y los virus con envoltura lipídica, pero no contra las esporas.
- Yodo y yodóforos: la acción de estos desinfectantes es análoga a la del cloro, aunque pueden ser ligeramente menos susceptibles a la inhibición por la materia orgánica. El

yodo puede manchar los tejidos y las superficies del entorno, y en general no es adecuado como desinfectante.

- Peróxido de hidrógeno y perácidos: como el cloro, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los perácidos son oxidantes energéticos, y pueden servir como potentes germicidas de amplio espectro. Son también más inocuos que el cloro, para el ser humano y para el medio ambiente. (Organización Mundial de la Salud, 2005).
- Biguanidos: su acción la ejercen en un primer paso sobre las envolturas celulares, dañando la funcionalidad de la membrana plasmática, y luego penetran y coagulan el citoplasma. Son agentes de nivel medio, con acción más reducida sobre *Pseudomonas* y *P. vulgaris*. El agente tipo es la clorhexidina, muy utilizada en desinfección en general, fundamentalmente en la desinfección de manos donde, por su adsorción a la piel, presenta acción residual. (Cerra *et al.*, 2013).
- Ácido paracético: es un agente oxidante, cuya función se ejerce por oxidación de grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos, y por desnaturalización proteica. Es un potente agente de alto nivel, siendo esporicida en concentraciones del 0,3%. Al ser oxidante, a su acción desinfectante se le suma la acción desodorizante, por lo cual es ampliamente usado en la desinfección de objetos y superficies. (Cerra *et al.*, 2013).

En el cuadro 14 se resumen los mecanismos y los blancos de algunos agentes desinfectantes.

Cuadro 14. Mecanismos y blancos de acción de algunos desinfectantes

BLANCO	AGENTE	MECANISMO
Pared Celular	Glutaraldehído EDTA	Entrecruzamientos en proteínas Remoción de cationes divalentes, liberación de LPS
Membrana citoplasmática	Amonios cuaternarios Clorhexidina, biguanidos poliméricos	Daño general afectando los fosfolípidos de la bicapa Afectan integridad de la membrana celular con aumento a de la permeabilidad, pérdida de Potasio, aminoácidos y macromoléculas, desacople y coagulación citoplasmática (a altas concentraciones)
Macromoléculas	Formol Glutaraldehído	Entrecruzamientos entre cadenas de DNA, RNA y Proteínas
ADN	Acridinas y colorantes básicos Halógenos, Peróxidos, Ag	Intercalamiento entre dos bases de la cadena. Ruptura de hebras e inhibición de síntesis
Grupo Tiol	Metales pesados	Unión al grupo tiol de proteínas unidas a membranas y pérdida de actividad biológica
Oxidantes	Halógenos, peróxidos	Oxidación de grupos funcionales de macromoléculas (SH, SO, SS, Formación de radicales OH*.

Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Cuando se trabaja con desinfectantes o, mejor dicho, con agentes antimicrobianos de uso externo, se tienen dos tipos de respuestas o efectos:

a) Los microorganismos presentes, en contacto con agente aplicado, cesan su replicación (su número permanece constante), sin perder su viabilidad (sin morir). Esto se conoce como efecto bioestático; por ejemplo: bacteriostático o fungistático.

b) Los microorganismos presentes, al ponerse en contacto por cierto tiempo con el agente aplicado, pierden su viabilidad, con lo cual su número se reduce significativamente; es decir, hay muerte microbiana. Esto se conoce como efecto biocida; por ejemplo: bactericida o fungicida. (Cerra *et al.*, 2013).

Dentro de estos procesos de muerte microbiana se puede definir:

- Desinfección: eliminación de los agentes contaminantes presentes sobre una superficie inanimada. Se suele admitir como desinfección la destrucción del 99,999% de los microorganismos presentes. Cuando se habla de desinfección, se entiende que lo que se

desea es reducir el número de microorganismos presentes y, por lo tanto, se deben utilizar agentes para tal fin.

- Antisepsia: es un proceso de desinfección aplicado sobre un ser vivo.
- Esterilización: es la destrucción de todos los microorganismos presentes en una superficie, convenientemente acondicionada para evitar su recontaminación y mantener su condición de estéril.
- Sanitización: es la reducción de microorganismos a niveles seguros; está ligada al concepto de limpieza. Cuantitativamente, se admite como umbral de acción de un sanitizante la destrucción del 99,9% (3 logaritmos) de la carga inicial. (Cerra *et al.*, 2013).

Es necesario recordar que diferentes microorganismos tienen diferente sensibilidad a un mismo agente: esto se debe a la resistencia intrínseca de cada grupo microbiano, la cual puede deberse a diferentes mecanismos. Esta diferencia entre especies es tan marcada y constante, que se utiliza para clasificar a los agentes antimicrobianos en cuanto a su nivel de acción (alto, mediano o bajo). Esta clasificación puede observarse en el cuadro 15. (Cerra *et al.*, 2013).

Cuadro 15. Clasificación de agentes antimicrobianos según se nivel de acción

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

Fuente: Cerra *et al.* (2013).

Gestión de Residuos Peligrosos

Los procedimientos para la eliminación de materiales contaminados deben diseñarse para minimizar la posibilidad de contaminación del ambiente o materiales de trabajo. Esta cuestión corresponde a las buenas prácticas de gestión del laboratorio, y debe ajustarse a las regulaciones ambientales o sanitarias, y de seguridad nacional e internacional. Deben consultarse las últimas versiones de los documentos pertinentes, antes de diseñar y poner en práctica un programa de manipulación, transporte y eliminación final de desechos biológicos peligrosos. Los desechos de la autoclave pueden ser eliminados en vertederos autorizados, o por incineración fuera del laboratorio. (Organización Mundial de la Salud, 2005).

Para comprender mejor el tema de gestión de residuos peligrosos, es importante comprender los siguientes conceptos (Ministerio de Salud, 2002):

- Agente biológico: los microorganismos, sus metabolitos o derivados que se utilizan con fines terapéuticos o de investigación.
- Contaminación microbiana: entrada o presencia de microorganismos indeseables en un organismo, objeto o material.
- Desecho infecto-contagioso: el que contiene bacterias, virus u otros microorganismos con capacidad de causar infección, o que contiene o puede contener toxinas producidas por microorganismos, que causan efectos nocivos a seres vivos o al ambiente humano.
- Gestión de desechos: se refiere a la clasificación, separación, envasado, almacenamiento temporal, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los desechos infecto-contagiosos. (Ministerio de Salud, 2002).

Se consideran desechos infectocontagiosos los siguientes: los cultivos y cepas almacenadas de agentes infecciosos; por ejemplo: los cultivos generados en los procedimientos de investigación y la producción de agentes biológicos, los instrumentos y equipos para transferir, inocular, verter, cultivar y mezclar cultivos infecciosos. (Ministerio de Salud, 2002).

Manipulación de muestras

En la mayoría de muestras biológicas, los microorganismos viables son sensibles a las condiciones de manipulación y almacenamiento, particularmente muestras de agua, monitoreo ambiental y biocarga. La composición del producto (o muestra), composición del recipiente,

tiempo y temperatura de almacenamiento son parámetros críticos. Por lo tanto, es importante minimizar el tiempo de muestreo y el inicio de la prueba, además de controlar, en la medida de lo posible, las condiciones de almacenamiento. Puede ser necesario mezclar el producto, para asegurar dispersión de microorganismos y lograr una muestra representativa de alícuota de muestra. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Todas las muestras microbiológicas se deberían tomar usando técnicas asépticas, incluso las tomadas de productos no estériles. De ser posible, las muestras microbiológicas deberían tomarse en condiciones absolutamente asépticas, en áreas diseñadas para tal fin. Es importante que las muestras, que se manipulan en el laboratorio, estén acompañadas por documentación que indique varios datos como, por ejemplo, detalle del origen de estas, fecha de recolección, responsable, y cualquier característica potencialmente peligrosa asociada. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Las muestras en espera de los ensayos deben almacenarse en condiciones adecuadas, para minimizar los cambios en cualquier población microbiana presente. Las condiciones de almacenamiento deben estar validadas, definidas y registradas. Los envases y etiquetas de las muestras pueden estar altamente contaminados, y deben manipularse y almacenarse con cuidado, a fin de evitar la propagación de la contaminación. Los procesos de desinfección aplicados al envase exterior no deben afectar la integridad de la muestra. Se debe destacar que el alcohol no es esporicida. (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Legislación asociada con los laboratorios de bioanálisis en el campo farmacéutico

Viabilidad legal

La viabilidad legal es una revisión del ordenamiento jurídico de cada país, fijado por su constitución política, sus leyes, reglamentos, decretos y costumbres. Entre otros elementos, determina diversas condiciones que se traducen en normas permisivas o prohibitivas, que pueden afectar, directa o indirectamente, un proyecto del cual se evalúa su factibilidad. Busca principalmente determinar la existencia de alguna restricción legal a la realización de una inversión en un proyecto. (Sapag *et al.*, 2014).

Los principales componentes o partes de un estudio legal son (Sapag *et al.*, 2014):

- Exigencias y normas sanitarias.
- Exigencias de seguridad laboral.
- Cumplimiento del Código del Trabajo y leyes laborales y previsionales.
- Exigencias y normas ambientales.
- Leyes y normas económicas y tributarias.
- Normas ISO.

Al formular un proyecto, es preciso identificar clara y completamente las principales normas que inciden sobre su implementación, ya que pueden condicionar aspectos como comercio, localización, infraestructura necesaria, relaciones laborales y derechos de propiedad, entre muchos otros. La existencia de normas de carácter general se complementa, muchas veces, con legislaciones específicas de tipo regional. La posibilidad de identificar todas las implicancias de la legislación, guarda directa relación con la capacidad de conocer el marco normativo general y particular del proyecto. (Sapag *et al.*, 2014).

Existen factores legales y reglamentarios que afectan de manera diferente a los proyectos, dependiendo del bien o servicio que produzcan. Por ejemplo, en el otorgamiento de permisos y patentes, en las tasas arancelarias diferenciadas para tipos distintos de materias primas o productos terminados, o incluso en la constitución de la empresa que llevará a cabo el proyecto, que según el tipo de organización tiene exigencias diferentes. Asimismo, es posible identificar una serie de condicionamientos vinculados con variables legales. Por

ejemplo, relaciones internas (trabajadores, proveedores, organigrama) y relaciones externas (instituciones, órganos fiscalizadores, marco regulatorio del país). (Sapag *et al.*, 2014).

Entes Internacionales relacionados con laboratorios de microbiología farmacéutica

Organización Mundial de la Salud

La Organización Mundial de la Salud [OMS] ha estado involucrada en el aseguramiento y control de calidad de medicamentos desde 1948, la cual ha creado un Comité de Expertos de la OMS para Preparaciones Farmacéuticas. De dicho comité, en su Reporte Técnico número cuarenta y cinco, incluye el Anexo 2, denominado “Buenas prácticas de la OMS para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica”, para elaborar este reporte técnico, se reúnen los miembros del comité, además de otros expertos en materia de fármacos, como, por ejemplo, la Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria, Asociación de Farmacéuticos de la Commonwealth (CPA), Federación Farmacéutica Internacional y representantes de las Farmacopeas de Gran Bretaña y de los Estados Unidos, entre otros. (WHO Health Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, 2011).

El trabajo del Comité de Expertos de la OMS para Preparaciones Farmacéuticas ha sido, y continuará siendo, la columna vertebral para diseñar procesos estandarizados en la Organización Mundial de la Salud. Por otra parte, el trabajo de este comité está ligado, de forma muy cercana, a otras organizaciones, como la Agencia Europea de Medicamentos (EMA por sus siglas en inglés), Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria, Farmacopeas regionales y nacionales, instituciones, autoridades y otros expertos de la OMS. (WHO Health Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, 2011).

Existen guías como las Buenas Prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos, que proporcionan recomendaciones para el sistema de gestión de calidad, dentro del cual debe realizarse el análisis de los ingredientes farmacéuticos activos (API, por sus siglas en inglés), excipientes y productos farmacéuticos, para demostrar que se obtienen resultados confiables. El cumplimiento de las recomendaciones previstas en estas guías ayudará a promover la armonización internacional de prácticas de laboratorio, y facilitará la cooperación entre laboratorios y el reconocimiento mutuo de los resultados. (Organización Mundial de la Salud, 2010).

Las guías de la Organización Mundial de la Salud las aplican a cualquier laboratorio de control de calidad de productos farmacéuticos, ya sea nacional, comercial o no gubernamental. Estas guías son consistentes con los requisitos de las Guías de la OMS para las buenas prácticas de fabricación, con los requisitos de la norma internacional ISO/IEC 17025, y proporcionan una guía detallada para los laboratorios que realizan control de calidad de medicamentos. La guía específica para laboratorios microbiológicos puede encontrarse en el documento de trabajo de la “Guía para las buenas prácticas de laboratorios microbiológicos de productos farmacéuticos de la OMS” (referencia QAS/09.297). (Organización Mundial de la Salud, 2010).

United States Pharmacopeia (USP)

La *United States Pharmacopeia* (USP) es publicada por la Convención de la USP, una organización privada, formada principalmente por voluntarios, y totalmente desvinculada de las dependencias estatales sanitarias. Al ser un producto de la empresa privada, la USP nunca ha sido un estándar farmacéutico oficial en el estricto sentido de la palabra. Sus autores carecen de la capacidad legislativa para establecerlo así. Sin embargo, la *Federal Food and Drug Law* de 1906, y su sucesora, la *Food, Drug and Cosmetic Act* de 1938, eligieron a la USP y al *National Formulary* (NF-14), como estándares americanos legales para medicamentos, dado el rigor científico de sus contenidos. Esto quiere decir que las especificaciones de los fármacos contenidos en ambos textos son consideradas por la FDA (*Food and Drug Administration*) como los parámetros más confiables de pureza, potencia y calidad. (Schifter, Puerto & Aceves, 2009).

La USP es probablemente el código oficial de medicamentos más consultado del mundo y, definitivamente, la principal referencia de la gran mayoría de los países latinoamericanos, que incluso, en muchos casos, la han declarado su código oficial de consulta. Es claro que la USP ha marcado un hito, sobre todo en los últimos cincuenta años, en lo que se refiere a técnicas instrumentales, métodos de identificación y su aplicación, para determinar la calidad y potencia de simples, compuestos y preparaciones farmacéuticas terminadas. (Schifter, Puerto & Aceves, 2009).

Si bien no es una entidad gubernamental, USP trabaja en estrecha colaboración con agencias gubernamentales, ministerios y autoridades reguladoras de todo el mundo, para ayudar a proporcionar estándares de identidad, fortaleza, calidad y pureza, que puedan ayudar a

salvaguardar el suministro global de medicamentos, suplementos dietéticos e ingredientes alimentarios, Los estándares de la USP están legalmente reconocidos en los Estados Unidos y en más de 140 países. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

En relación con la Microbiología farmacéutica, la USP contiene varios Capítulos Generales:

- <51> Pruebas de eficacia antimicrobiana.
- <61> Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano.
- <62> Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos.
- <71> Pruebas de esterilidad.
- <81> Antibióticos-Valoraciones Microbiológicas.
- <1111> Examen microbiológico de productos no estériles: criterios de aceptación para preparaciones farmacéuticas y sustancias de uso farmacéutico.
- <1113> Caracterización, identificación y tipificación de cepas microbianas.
- <1117> Óptimas prácticas de laboratorio microbiológico. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

U.S Food and Drug Administration (FDA)

La FDA es responsable de proteger la salud pública, garantizando la seguridad y eficacia de los medicamentos humanos y veterinarios, productos biológicos y dispositivos médicos; garantizando la seguridad del suministro de alimentos, cosméticos y productos que emiten radiación. El alcance de la autoridad reguladora de la FDA es muy amplio. Las responsabilidades de la FDA están estrechamente relacionadas con las de otras agencias gubernamentales. (*U.S Food and Drug Administration*, 2019).

Algunas funciones de la FDA son:

- Regular los medicamentos de uso humano y veterinario, las vacunas y otros productos biológicos, los dispositivos médicos, el abastecimiento de alimentos, los cosméticos, los suplementos dietéticos y los productos que emiten radiaciones.

- Favorecer la salud pública mediante el fomento de las innovaciones de productos.
- Proveer al público la información necesaria, exacta, con base científica, que le permita utilizar medicamentos y alimentos para mejorar su salud.

La FDA tiene injerencia sobre los 50 estados de Estados Unidos, el Distrito de Columbia, Puerto Rico, las Islas Vírgenes, Samoa Americana y otros territorios y posesiones de Estados Unidos. (*U.S Food and Drug administration, 2019*).

Otro documento relacionado con el control de calidad en los laboratorios que realizan microbiología farmacéutica es una guía publicada por la FDA, denominada “*Microbiological Pharmaceutical Quality Control Labs*” que se encuentra un poco desactualizada, ya que se revisó por última vez en 1993. (Sandle, 2013).

En el cuadro 16 se señalan diferencias y similitudes entre los diferentes documentos, de la OMS: “Buenas prácticas de la OMS para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica”, de la USP el Capítulo General; <1117> “Óptimas prácticas de laboratorio microbiológico” y de la FDA la guía “*Microbiological Pharmaceutical Quality Control Labs*”.

Cuadro 16. Comparación entre Guía OMS, USP y Guía FDA

Tema	OMS	USP	FDA
Alertas y niveles de acción	Sí	No	No
Técnicas asépticas	No	En parte	No
Autoclaves	Sí	No	No
Balanzas	Sí	No	No
Limpieza y desinfección	Sí	No	No
Eliminación de desechos contaminados	Sí	No	No
Instalaciones para pruebas	No	No	Sí
Medios de cultivo: fabricación	Sí	Sí	Sí
Medios de cultivo: pruebas	Sí	Sí	No
Desviaciones/ Resultados fuera de especificaciones	No	No	No
Monitoreo del ambiente del laboratorio de microbiología	Sí	No	No
Calibración de equipos	Sí	En parte	No

Calificación de equipos	Sí	En parte	No
Diseño del laboratorio/Local	Sí	Sí	No
Gerencia del Laboratorio	En parte	Sí	Sí
Personal del Laboratorio	Sí	Sí	No
Validación de métodos: métodos alternativos	Sí	No	No
Validación de métodos: farmacopeicos	Sí	En parte	Sí
Microorganismos: uso en el laboratorio	Sí	Sí	No
Microorganismos: cultivos de referencia	Sí	Sí	No
Tests para productos no estériles	No	Sí	Sí
Control de calidad	Sí	No	No
Reactivos	Sí	No	No
Cultivos de referencia	Sí	Sí	No
Muestreo	Sí	Sí	No
Test de esterilidad para el ambiente (cuartos limpios)	Sí	No	Sí
Aparatos para monitoreo de la temperatura	Sí	En parte	No
Procedimientos para pruebas	Sí	Sí	No
Registro de las pruebas	Sí	Sí	Sí
Capacitación	En parte	Sí	No
Manejo de desechos	Sí	En parte	No

Fuente: Sandle (2013).

International Organization for Standardization [ISO]: ISO/IEC 17025

ISO es una organización internacional no gubernamental, independiente, con una membresía de 164 organismos nacionales de normalización. A través de sus miembros, reúne a expertos para compartir conocimientos y desarrollar estándares internacionales, basados en el consenso. La norma ISO/IEC 17025 les permite, a los laboratorios, demostrar que operan de manera competente y generan resultados válidos, promoviendo, así, la confianza en su trabajo tanto a nivel nacional como mundial. También ayuda a facilitar la cooperación entre laboratorios

y otros organismos, al generar una mayor aceptación de los resultados entre países. (International Organization for Standardization, 2019).

ISO/IEC 17025 es útil para cualquier organización que realice pruebas, muestreo o calibración y desee resultados confiables. Esto incluye todos los tipos de laboratorios, ya sean propiedad y operados por el Gobierno, la industria o, de hecho, cualquier otra organización. El estándar también es útil para universidades, centros de investigación, gobiernos, reguladores, organismos de inspección, organizaciones de certificación de productos y otros organismos de evaluación de la conformidad, con la necesidad de realizar pruebas, muestreo o calibración. (International Organization for Standardization, 2019).

Red Panamericana de la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF)

En América Latina y el Caribe se han desarrollado diferentes acciones, para fortalecer el aseguramiento y el control de calidad de los fármacos y productos farmacéuticos. Es así como, en la I Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica, se reconoció la necesidad de contar con criterios armonizados, para la acreditación de laboratorios para el control analítico de muestras de medicamentos. Contar con Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos [LOCM] ha sido fundamental para el aseguramiento de la calidad: los LOCM han sido implementados por la Organización Panamericana de la Salud [OPS]. (Parisi, Cariatti & Castro, 2016).

Se creó, en el 2000, la Red Panamericana de la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica [Red PARF], como una iniciativa de las Autoridades Regulatoras Nacionales [ARN] y la Organización Panamericana de la Salud [OPS]. La Red PARF posee grupos de trabajo para desarrollar propuestas armonizadas, estudios diagnósticos y planes de cooperación entre países; uno de sus logros ha sido establecer un grupo de trabajo coordinado por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y compuesto por los representantes de las cuatro Farmacopeas activas de América: la Farmacopea Argentina [FA], la Farmacopea Brasileña [FB], la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos [FEUM] y la USP. (Parisi *et al.*, 2016).

En el 2005, la Red Panamericana de la Armonización de la Reglamentación constituyó un grupo de trabajo de las Buenas Prácticas de Laboratorio; dicho grupo de trabajo está formado por

representantes de las Autoridades Reguladoras Nacionales de la región, representantes de la Industria farmacéutica y la USP. Por último, se creó una Red Panamericana de Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos [LOCM] (véase el cuadro 17), que proporcionan un ámbito de intercambio en relación con la calidad de los medicamentos, y ayudan a optimizar el desempeño de los laboratorios y armonizar métodos analíticos. (Parisi *et al.*, 2016).

Cuadro 17. Red Panamericana de Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos [LOCM]

País	Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos (LOCM)
Argentina	Instituto Nacional de Medicamentos (INAME) ^a
Bolivia	Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos y Toxicología (CONCAMYT) ^{a,b}
Brasil	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) ^{a,b} Fundação Ezequiel Dias (FUNED) ^{a,b}
Chile	Instituto de Salud Pública (ISP)
Colombia	Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) ^a
Costa Rica	Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica (LAFAYA) Laboratorio de Normas y calidad de Medicamentos (CCSS)
Cuba	Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) Centro para el Control Estatal de Medicamentos, equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) ^a
Ecuador	Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI)
El Salvador	Laboratorio de Control de Calidad del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social Laboratorio de Control de Calidad de la Dirección Nacional de Medicamentos (DNM)
Guatemala	Laboratorio Nacional de Salud (LNS)
Guyana	Food & Drug Department
Honduras	Laboratorio oficial para el control de calidad de los medicamentos (LEF- CQFH)
Jamaica	Caribbean Public Health Agency Drug Treatment Laboratory (CARPHA DTL)
México	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC) ^{a,b}
Nicaragua	Laboratorio Nacional de Control de Calidad de Medicamentos
Panamá	Instituto Especializado de Análisis de la Universidad de Panamá
Paraguay	Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT)
Perú	Laboratorio de Control de Calidad de Drogas y Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas Universidad Nacional de Asunción (LABCON)
República Dominicana	Centro Nacional de Control de Calidad, Instituto Nacional de Salud ^{a,b}
Surinam	Laboratorio Nacional de Salud Pública
Trinidad y Tobago	Bedrijf Geneesmiddelen Voorziening Suriname Laboratory (BGVS)
Uruguay	Chemistry, Food and Drugs Division (CFDD)
Uruguay	Comisión para el Control de Calidad de Medicamentos (CCCM) ^{a,b}
Venezuela	Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR)

Fuente: Parisi *et al.* (2016).

Legislación Costarricense

En cuanto a la legislación costarricense, con respecto al tema de control de calidad para laboratorios fabricantes de medicamentos, existe el Decreto Ejecutivo N° 35994, llamado “Reglamento Técnico sobre Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria Farmacéutica, Productos Farmacéuticos y Medicamentos de Uso Humano”. Este decreto aplica para laboratorios fabricantes de medicamentos, y señala que, los laboratorios fabricantes de medicamentos, deben velar por que todas las operaciones de fabricación se lleven a cabo de

acuerdo con la información aprobada en el Permiso Sanitario de Funcionamiento, que se obtiene mediante el Área Rectora de Salud. Para Costa Rica, el Ministerio de Salud es el encargado de otorgar el Permiso Sanitario de Funcionamiento. Por lo tanto, cumplir con las disposiciones del reglamento es obligatorio, para que un laboratorio farmacéutico pueda operar. (Presidencia de la República de Costa Rica, 2010).

El Decreto Ejecutivo N° 35994-S, “Reglamento Técnico sobre Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria Farmacéutica, Productos Farmacéuticos y Medicamentos de Uso Humano”, señala que la verificación de su cumplimiento le corresponde al Ministerio de Salud, lo que implica que se revisen todos los elementos relacionados con las Buenas Prácticas de Manufactura [BPM] implementados en la industria, destinados a garantizar la producción de lotes uniformes de productos farmacéuticos, con el fin de asegurar la calidad, seguridad y eficacia de los mismos. (Presidencia de la República de Costa Rica, 2010).

En cuanto al registro de productos naturales, existe también legislación al respecto: se debe cumplir con el Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 11.03.56:09, Productos Farmacéuticos. Productos Naturales Medicinales para uso Humano, que define “producto natural” como producto procesado, industrializado y etiquetado con propiedades medicinales, que contiene en su formulación ingredientes obtenidos de las plantas, animales, minerales o mezclas de estos. Dicho reglamento toma como referencia las especificaciones para determinación de microorganismos patógenos los valores aportados por el Apéndice XVI D: *Microbiological quality of pharmaceutical preparations* de la Farmacopea Británica 2007, Volumen 4, los cuales se resumen en los cuadros 18 y 19. (RTCA 11.03.56:09, Productos Farmacéuticos. Productos Naturales Medicinales para uso Humano, 2011).

Cuadro 18. Especificaciones para determinación de recuento microbiano en UFC/g

Producto natural	Recuento total de aerobios viables	Recuento total de hongos y levaduras	Recuento total de enterobacterias
Preparaciones de administración oral	$\leq 10^4$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
Producto al que se le agrega agua a temperatura ambiente antes de su uso.	$\leq 10^5$	$\leq 10^4$	$\leq 10^3$
Producto al que se le agrega agua hirviendo antes de su uso.	$\leq 10^7$	$\leq 10^5$	-----
Preparaciones de administración tópica	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^1$

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano [RTCA], 11.03.56:09 (2011).

Cuadro 19. Especificaciones para determinación de microorganismos patógenos en UFC/g

Producto natural	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i> sp.
Preparaciones de administración oral	Ausente	Ausente	-----	Ausente
Producto al que se le agrega agua a temperatura ambiente antes de su uso.	-----	Ausente	-----	Ausente
Producto al que se le agrega agua hirviendo antes de su uso	-----	Ausente	-----	-----
Preparaciones de administración tópica	Ausente	-----	Ausente	-----

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano [RTCA], 11.03.56:09 (2011).

Existe también el Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 71.03.45:07, Productos Farmacéuticos. Cosméticos. Verificación de la Calidad, que establece las pruebas analíticas de control, que deben ser evaluadas para comprobar la calidad de los cosméticos, y asegurarle a la población que mantienen sus características de acuerdo con sus especificaciones. Las disposiciones de este reglamento son de aplicación para todos los cosméticos importados y

fabricados en los países de la región centroamericana. También regula los límites microbianos que deben efectuarse a todos los cosméticos (véanse los cuadros 20 y 21), excepto a los que no sean susceptibles a la contaminación microbiológica por su propia naturaleza, como por ejemplo perfumes con alto contenido de alcohol. (Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 71.03.45:07, Productos Farmacéuticos. Cosméticos. Verificación de la Calidad, 2008).

Cuadro 20. Límites microbianos en cosméticos en UFC/g

PRODUCTO	DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN
Para Bebé	Recuento Total de Mesófilos aerobios	$\leq 10^2$
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$
Para el contorno de ojos	Recuento Total de Mesófilos aerobios	no más de 5×10^2
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$
Todos los otros	Recuento Total de Mesófilos aerobios	$\leq 10^3$
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 71.03.45:07, Productos Farmacéuticos. Cosméticos. Verificación de la Calidad (2008).

Cuadro 21. Especificación de microorganismos patógenos en cosméticos

MICROORGANISMO	ESPECIFICACIÓN
Staphylococcus aureus	Ausente
Escherichia coli	Ausente
Pseudomonas aeruginosa	Ausente

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 71.03.45:07, Productos Farmacéuticos. Cosméticos. Verificación de la Calidad (2008).

Legislación para Universidades Privadas

Con la ley 6693 se creó en 1981, el Consejo Nacional de Enseñanza Superior Universitaria Privada [CONESUP], adscrito al Ministerio de Educación Pública. Dentro de los términos de esta ley, las universidades privadas, como instituciones de enseñanza superior, gozarán de plena libertad para la docencia, la investigación científica y la difusión de la cultura.

Además de contar con las instalaciones, la infraestructura y el equipo necesarios para su funcionamiento, deberán ofrecer como servicios básicos bibliotecas, laboratorios y todos los indispensables para cumplir sus objetivos. (Asamblea Legislativa de Costa Rica, 1981).

También existe un Reglamento General del Consejo Nacional de Enseñanza Superior Universitaria Privada, como decreto Ejecutivo N° 29631-MEP, que amplía la Ley N° 6693. En este reglamento se señalan, entre otros asuntos, los proyectos del Estatuto Orgánico y de los Reglamentos Internos correspondientes a: Reglamento Académico, Reglamento del Régimen Docente, Reglamento del Régimen Estudiantil, Reglamento de Becas y Reglamento de Trabajo Comunal o de Servicio Social, contenidos mínimos de los reglamentos con los que debe necesariamente contar una Universidad privada. (Decreto Ejecutivo N° 29631-MEP, 2001).

En todo lo que sea pertinente, se les aplicarán, a las instalaciones de las universidades privadas, las normas relativas a planta física, que señala el Reglamento de Seguridad e Higiene Ocupacional, con el fin de asegurar las condiciones mínimas en las que han de iniciar las universidades su funcionamiento, por lo que debe aportarse el respectivo permiso de funcionamiento, extendido por el Ministerio de Salud y la aprobación por el Consejo de Salud Ocupacional. El aporte de las autorizaciones y permisos, antes referidos, relativos a la infraestructura de la universidad, es indispensable para que sea autorizado el funcionamiento de la misma. (Decreto Ejecutivo N° 29631-MEP, 2001).

Estudio de Mercado

Definición e Importancia

Según lo define el “Manual de Buenas Prácticas para la elaboración de Estudios de Mercado”, elaborado por la International Competition Network (Red Internacional de Competencia Económica, en adelante ICN), los estudios de mercado son proyectos de investigación que se orienten para llegar a comprender mejor cómo los sectores, mercados o las prácticas de mercado están funcionando. Los estudios de mercado se realizan tomando en cuenta posibles preocupaciones sobre el funcionamiento de los mercados, y revisando los siguientes factores (Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos [OCDE], 2015):

- Comportamiento de los agentes económicos.

- Estructura del mercado.
- Falta de información.
- Conducta de los consumidores.
- Intervención del sector público en los mercados.
- Otros factores que pueden dar lugar a perjuicios para los consumidores.

El resultado de un estudio de mercado es un informe que contiene conclusiones basadas en la investigación, que puede concluir que el mercado está funcionando satisfactoriamente, o exponer los problemas encontrados. (Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos [OCDE], 2015).

El estudio de mercado se puede definir como el vínculo que une a los consumidores o posibles usuarios de un servicio, con el encargado de estudiar el mercado a través de la información, la cual se utiliza para identificar y definir tanto las oportunidades como las amenazas del entorno; para generar y evaluar las medidas de mercadeo, así como para mejorar la comprensión del proceso del mismo. Los estudios, por su carácter preliminar, constituyen un sondeo antes de incurrir en costos innecesarios. Pueden servir, entonces, de precedentes para la realización de los estudios técnicos, ambientales y económicos/financieros. (Ramírez, Vidal & Domínguez, 2009).

Los estudios de mercado contribuyen a disminuir el riesgo que toda decisión lleva consigo, pues permiten conocer mejor los antecedentes del problema. El estudio de mercado ayuda en la toma de decisiones en una empresa u organización. No obstante, este no garantiza una solución en todos los casos; más bien es una guía que sirve solamente de orientación para facilitar la conducta en los negocios o proyectos y que, a la vez, trata de reducir al mínimo el margen de error posible. El objetivo del estudio del mercado, en un proyecto, consiste en estimar si realmente existe un mercado para un producto o servicio que se ofrece. (Ramírez *et al.*, 2009).

Los estudios de mercado son variados, desde estudios muy formales basados en pruebas de hipótesis estrictas hasta investigaciones bastante informales. Algunos estudios de mercado pueden parecer ser poco detallados, pero ellos proveen información suficiente para obtener una idea general de las condiciones que afectan el mercado, lo cual, en algunos casos, puede ser

suficiente para el objetivo que se tenía. En contraste, otros estudios involucran análisis cuantitativos sofisticados sobre grandes conjuntos de datos que son exigentes para las autoridades, pero necesarios para llegar a conclusiones precisas en algunos mercados. (Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos [OCDE], 2015).

Los estudios de mercado son importantes para:

- Definir claramente la demanda.
- Conocer la oferta actual y potencial.
- Establecer qué se puede vender.
- Saber a quién va dirigido un producto o servicio.
- Conocer cómo se puede vender un producto o servicio.
- Conocer gustos y preferencias de posibles clientes.
- Conocer la competencia y contrarrestar sus efectos.
- Evaluar resultados de estrategias de comercialización.
- Conocer sobre precios. (Ramírez *et al.*, 2009).

Etapas de un Estudio de Mercado

Es importante comprender que los estudios de mercado no solo son útiles para grandes corporaciones o empresas, sino que además se debe dejar de lado que los estudios de mercado requieren muchos gastos para su realización. Los estudios de mercado son una herramienta que puede tener varios niveles de acción, y resultan útiles prácticamente en todas las actividades que se realizan en libre competencia. A continuación, se muestra la metodología o etapas para desarrollar un estudio de mercado (Centro Europeo de Empresas e Innovación [CEEI], 2015):

1. Definición del Problema.
2. Análisis de la situación actual.
3. Análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas).
4. Definición de objetivos.
5. Tipo de información con la que se cuenta.
6. Elección de la muestra: quiénes serán los que responderán al estudio.
7. Técnicas a utilizar (cuantitativas o cualitativas).

8. Recolección de datos.
9. Interpretación de datos.
10. Informe o reporte final. (Centro Europeo de Empresas e Innovación [CEEI], 2015).

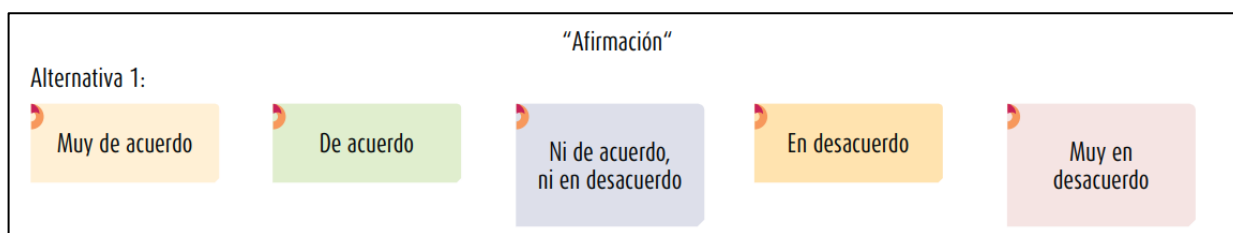
Instrumentos de medición

En la investigación se dispone de varios tipos de instrumentos, para medir las variables de interés, y en algunos casos se combinan varias técnicas para la recolección de datos; por ejemplo: cuestionarios, escalas de aptitudes, observación cuantitativa, pruebas estandarizadas, indicadores y metaanálisis. Un instrumento muy utilizado para recolectar datos es el cuestionario, que consiste en una serie de preguntas respecto a una o más variables a medir. Los cuestionarios se utilizan en todo tipo de encuestas; además, el contenido de las preguntas de un cuestionario es tan variado como los aspectos que mide. Básicamente se consideran dos tipos de preguntas: cerradas y abiertas. (Hernández, 2014).

En las preguntas cerradas, las respuestas han sido previamente delimitadas; es decir, se presentan las posibilidades de respuesta a los participantes, quienes deben apegarse a estas. Pueden existir dos posibilidades de respuesta (dicotómicas) o varias posibilidades de respuestas. Por otra parte, las preguntas abiertas no delimitan de antemano las alternativas de respuesta, por lo cual son muy elevados las categorías y tipos de respuestas; además, pueden variar de población en población. Las preguntas cerradas son más fáciles de codificar y preparar para su análisis; estas preguntas requieren un menor esfuerzo por parte de los encuestados, que no tienen que escribir o verbalizar pensamientos, sino solamente deben elegir la opción que encaje mejor en su respuesta. (Hernández, 2014).

Dentro de la recolección de datos cuantitativos, existen también escalas para medir actitudes, en las cuales se busca una reacción de los participantes; por ejemplo: el escalamiento de Likert, que consiste en un conjunto de ítemes presentados en forma de afirmaciones o juicios. Es decir, se presenta cada afirmación y se le solicita al sujeto que externe su reacción, eligiendo uno de los cinco puntos o categorías de la escala, a las cuales se le asigna un valor numérico. En la figura 16 se observa un ejemplo de las opciones o puntos de la escala de Likert. (Hernández, 2014).

Figura 16. Opciones o puntos en la escala de Likert



Fuente: Hernández (2014).

Costos en el Estudio Técnico

Definición e importancia

El estudio de costeo o evaluación económica/financiera se define como: una serie de criterios empleados para valorar la inversión, a partir de aspectos cuantitativos y cualitativos de evaluación de proyectos, empleando varias herramientas para tomar decisiones de inversión. La evaluación económica financiera constituye el punto culminante del estudio de factibilidad, pues mide en qué magnitud, los beneficios que se obtienen con la ejecución del proyecto, superan los costos y gastos necesarios para su funcionamiento; en otras palabras, evaluar el costo contra el beneficio de llevar a cabo un proyecto. (Ramírez *et al.*, 2009).

Los estudios de costeo de un proyecto son importantes, porque permiten determinar si conviene realizarlo o no; o sea, si es o no rentable y si, siendo conveniente, es oportuno ejecutarlo en ese momento, o cabe postergar su inicio. Además, la evaluación económica-financiera puede brindar elementos para decidir el alcance más adecuado del proyecto. En presencia de varias alternativas de inversión, la evaluación es un medio útil para fijar un orden de prioridad entre ellas, seleccionando los proyectos más rentables y descartando los que no lo sean. (Ramírez *et al.*, 2009).

El estudio técnico tiene mayor incidencia sobre la magnitud de los costos e inversiones que deberán efectuarse, si se implementa el proyecto. Es posible desarrollar un sistema de ordenamiento, clasificación y presentación de datos económicos derivados del estudio técnico. Se deben tomar en cuenta costos de equipos, mantenimientos, insumos, requerimientos del personal; además de que, en algunos casos, la disponibilidad de los equipos se obtiene, no por su compra

sino por su arrendamiento, con lo cual, en lugar de afectarse el ítem de inversiones, se influirá en el de costos. (Sapag *et al.*, 2014).

Descripción de las posibles áreas de inversión

El objetivo del estudio técnico es llegar a determinar qué se necesita para la utilización eficiente y eficaz de los recursos disponibles, y así lograr producir un bien o servicio. El costo de operación se cuantifica en función de necesidades de equipos, espacio físico, personal, materias primas e insumos. A continuación, se describen las inversiones en estas áreas (Sapag *et al.*, 2014):

Equipamiento

Por inversión en equipamiento se entenderán todas las inversiones que permitan la operación normal de la planta de la empresa creada por el proyecto, por ejemplo: maquinaria, herramientas, vehículos, mobiliario y equipos en general. Al igual que en la inversión en obra física, aquí interesa la información de carácter económico, y necesariamente deberá respaldarse, de manera técnica, en el texto mismo del informe del estudio que se elabore.

Espacio físico

En relación con las obras físicas, las inversiones incluyen desde la construcción o remodelación de edificios, oficinas o salas de venta, hasta la construcción de caminos, cercos o estacionamientos. Para cuantificar estas inversiones, es posible utilizar estimaciones aproximadas de costo (por ejemplo, el costo promedio del metro cuadrado de construcción).

Personal

Uno de los principales costos de operación de un proyecto puede ser la mano de obra. La importancia relativa que tenga dentro de los costos dependerá, entre otros aspectos, del tipo de proyecto que se esté evaluando, y de la especialización del personal requerido. El estudio del proyecto requiere la identificación y cuantificación del personal que se necesitará en la operación, a fin de determinar el costo de remuneraciones.

Materias primas e insumos

Cada proyecto tendrá, entre sus ítemes de costos de fábrica, algunos insumos y materiales más relevantes que el resto. El cálculo de los materiales se realiza a partir de un programa de producción que define, en primer término, el tipo, la calidad y la cantidad de materiales e insumos requeridos para operar en los niveles de producción esperados. (Sapag *et al.*, 2014).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

Enfoque de la investigación

De acuerdo con Hernández-Sampieri & Mendoza (2014), los métodos mixtos representan un conjunto de procesos sistemáticos, empíricos y críticos de investigación, e implican la recolección y el análisis de datos cuantitativos y cualitativos, así como su integración y discusión conjunta, para realizar inferencias producto de toda la información recabada (meta inferencias) y lograr un mayor entendimiento del fenómeno bajo estudio; además, señalan que los métodos de investigación mixtos utilizan evidencia de datos numéricos, verbales, textuales, visuales, simbólicos y de otras clases, para entender problemas en las ciencia.

Por lo tanto, al tomar como referencia lo definido por Hernández-Sampieri & Mendoza, se considera esta investigación como mixta, ya que se recolectan y analizan datos de revisiones bibliográficas, utilizando como fuentes artículos científicos, libros, manuales y reglamentos oficiales; además, se desarrollan herramientas, como encuestas, que se basan en el análisis de datos numéricos. De esta forma, se toman datos cualitativos y cuantitativos que se desarrollan en forma conjunta.

En esta investigación se va a realizar un estudio de factibilidad, que toma en cuenta principalmente aspectos técnicos, pero no se pueden dejar de lado los temas de mercado, legales y de costos, ya que influyen directamente sobre el estudio técnico. Como el enfoque es mixto para desarrollar este proyecto, se realizan revisiones bibliográficas, con el propósito de obtener información relevante sobre la parte técnica y legal. Como parte del estudio de mercado, se desarrolla un cuestionario como instrumento de investigación; además, los costos se determinan contactando con diferentes proveedores que proporcionan los precios de venta.

Diseño de la investigación

Este estudio se considera exploratorio, ya que se realiza cuando el objetivo es examinar un tema o problema de investigación poco estudiado, del cual se tienen muchas dudas o no se ha abordado antes. Es decir, cuando la revisión de la literatura reveló que tan solo hay guías no investigadas e ideas vagamente relacionadas con el problema de estudio, o bien, si se desea indagar sobre temas y áreas desde nuevas perspectivas. Los estudios exploratorios sirven para familiarizarse con fenómenos relativamente desconocidos, y obtener información sobre la

posibilidad de llevar a cabo una investigación más completa respecto de un contexto particular. (Hernández, 2014).

De esta manera, se considera este trabajo de investigación como exploratorio, ya que se plantea una temática con pocos antecedentes, o si existen investigaciones, pero con diferentes perspectivas; por ejemplo, existen referencias de análisis microbiológicos en la industria farmacéutica; sin embargo, los laboratorios universitarios para realizar pruebas microbiológicas como parte de investigación en el área de Farmacia son pocos; además, la factibilidad de implementar algo lleva circunscrita la necesidad de obtener información para evaluar posibilidades.

También se considera este estudio como descriptivo, ya que se busca especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, únicamente se pretende medir o recoger información de manera independiente, o conjunta, sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan estas. (Hernández, 2014).

Se plantea esta investigación como descriptiva, porque se especifican muchas variables que forman parte de un fenómeno como herramienta para evaluar la factibilidad; por lo tanto, se recoge información sobre muchos conceptos y procesos. Es así como este tipo de estudios es útil para mostrar, con precisión, cómo visualizar variables y componentes que facilitan la comprensión de un proceso y la toma de decisiones.

Población

Se define “población” como el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones; por lo tanto, para desarrollar el instrumento de las encuestas en esta investigación, se va a tomar una muestra de la población en estudio; para este caso los estudiantes de la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas, quienes conforman o delimitan la población con un total de 505 estudiantes. Se define “muestra” como un subgrupo de la población; se puede decir que es un subconjunto de elementos que pertenecen a ese conjunto definido en sus características, al que se denomina “población”. Se plantea que la muestra se delimite de forma no probabilística, en la que la elección de los elementos no dependa de la

probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o los propósitos del investigador. (Hernández, 2014).

Selección de la muestra

Para esta investigación se van a tomar como miembros de la muestra los estudiantes que están matriculados en el curso de Microbiología (F-080) y Parasitología (F-095), debido a que tienen conceptos más actualizados sobre el tema en estudio; además, como parte de la muestra, se van a incluir a los estudiantes que matricularon Taller de Tesis para la carrera de Farmacia, para identificar si alguna de sus investigaciones se relaciona con el tema en estudio. Los estudiantes de ambos cursos se encuentran matriculados en el tercer cuatrimestre del 2019.

Instrumento de investigación

Una vez que se seleccionan el diseño de investigación apropiado y la muestra adecuada, de acuerdo con el problema de estudio e hipótesis (si es que se establecieron), la siguiente etapa consiste en recolectar los datos pertinentes sobre los atributos, conceptos o variables de las unidades de muestreo, análisis o casos (participantes, grupos, fenómenos, procesos, organizaciones y otros). Con la finalidad de recolectar datos, se dispone de una gran variedad de instrumentos o técnicas, tanto cuantitativas como cualitativas. (Hernández, 2014).

Para este proyecto se utiliza la encuesta como instrumento de investigación, que se les va a aplicar a los estudiantes seleccionados como muestra. La encuesta consta de cinco preguntas cerradas y cinco preguntas abiertas, utilizando la escala de Likert, para estimar la demanda interna del laboratorio, ya que los estudiantes de la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas serían los principales usuarios.

Se va a analizar la malla curricular de la carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas, para determinar cuáles cursos se pueden beneficiar con la implementación de un laboratorio de bioanálisis, aplicado a productos farmacéuticos. Con base en los programas de los cursos, se puede determinar la existencia de temas fortalecidos con la formación práctica que puede ofrecer un laboratorio, como el que se propone en esta investigación.

Para comprender cómo funcionan ciertos laboratorios que les hacen pruebas microbiológicas a fármacos, se les realizaron consultas, vía telefónica, a la coordinadora del

Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica, Dra. Jeimy Blanco, y al encargado de la parte de bioanálisis en el Laboratorio de Normas y Control de Calidad de la Caja Costarricense del Seguro Social, Dr. Mario Oreamuno.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

Legislación aplicable

Como parte de la factibilidad de un proyecto, se debe tomar en cuenta la legislación, ya que es un factor que puede determinar si es viable o no su realización. Para un laboratorio de pruebas microbiológicas, aplicadas al campo farmacéutico en la Universidad Internacional de las Américas, que inicialmente fungirá como un laboratorio de investigación, se debe cumplir con lo estipulado por el Consejo Nacional de Enseñanza Superior Universitaria Privada [CONESUP]; la ley 6693 que crea este Consejo señala que las universidades privadas, como instituciones de enseñanza superior, gozarán de plena libertad para la docencia, la investigación científica y la difusión de la cultura.

De igual manera, se deben respetar las leyes y reglamentos que se aplican en Costa Rica; por ejemplo, con el tema del manejo de los desechos bioinfecciosos, el Reglamento N° 30965-S, sobre la gestión de los desechos infectocontagiosos generados en establecimientos que prestan atención a la salud y afines, ya que se consideran desechos infectocontagiosos cultivos y cepas almacenadas de agentes infecciosos; por ejemplo: los cultivos utilizados en la investigación, los instrumentos y equipos para transferir, inocular, verter, cultivar y mezclar cultivos infecciosos.

En Costa Rica, la autoridad nacional reguladora de medicamentos es el Ministerio de Salud de Costa Rica, y dicha función la realiza por medio de dos laboratorios nacionales de referencia: el Laboratorio de Normas y Calidad de Medicamentos de la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS), para los medicamentos que se consumen en la CCSS, y el Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica [LAYAFA], para los demás medicamentos que se comercializan a nivel nacional.

Para determinar el responsable técnico de un laboratorio de bioanálisis, enfocado en productos farmacéuticos, se consultó con las dos instituciones antes mencionadas. Para el LAYAFA se contactó a la Dra. Jeimy Blanco, farmacéutica coordinadora del laboratorio; ella señaló que para pruebas que involucran microorganismos, el responsable de validar es el microbiólogo. En el caso del Laboratorio de Normas y Calidad de Medicamentos de la Caja Costarricense de Seguro Social, se consultó con el Dr. Mario Oreamuno, farmacéutico encargado del laboratorio de bioanálisis: por su parte el Dr. Oreamuno indicó que él, como farmacéutico, es

el responsable técnico de validar y llevar a cabo las pruebas de bioanálisis, siguiendo metodología USP.

Al tomar en cuenta estos criterios utilizados por los dos laboratorios oficiales en Costa Rica, se evidencia que no se encuentra totalmente legislado quién debe ser el responsable de realizar las pruebas de bioanálisis en productos farmacéuticos. Para el laboratorio propuesto en la Universidad Internacional de las Américas, se recomienda que el responsable sea un farmacéutico, ya que se sigue metodología de la United States Pharmacopeia [USP]; además, no se manejan muestras de fluidos biológicos ni se realizan pruebas circunscritas a un laboratorio clínico.

Demanda o necesidad por parte de los estudiantes de la Universidad Internacional de las Américas

Por otra parte, como base para implementar un laboratorio de microbiología farmacéutica, es necesario conocer si existe demanda o necesidad por parte de los estudiantes en la Universidad Internacional de las Américas. Para esto, se tomó la malla curricular y se delimitó cuáles cursos en la Carrera de Farmacia podrían verse beneficiados con la implementación de este tipo de laboratorio. (Véase el cuadro 22).

Cuadro 22. Cursos y utilidad en la Universidad Internacional de las Américas

Curso	Utilidad
(B-005) Biología	Acercamiento inicial a organismos que pueden contaminar fármacos.
(F-063) Análisis de Drogas	Analizar fármacos y repasar los criterios de aceptación de la USP.
(F-080) Microbiología	Observar microorganismos contaminantes en medicamentos y aplicar técnicas de identificación.
(F-095) Parasitología	Observar microorganismos contaminantes en medicamentos.
(F-100) Farmacognosia	Probar actividad antimicrobiana de extractos naturales obtenidos en la universidad.
(F-112) Farmacia Industrial I	Aplicar pruebas de Control de Calidad a productos farmacéuticos elaborados en la universidad.
(F-125) Farmacia Industrial II	Aplicar pruebas de Control de Calidad a productos farmacéuticos elaborados en la universidad.
Proyecto final de investigación	Desarrollar investigación en la universidad; por ejemplo: potencia o actividad de posibles antibióticos.

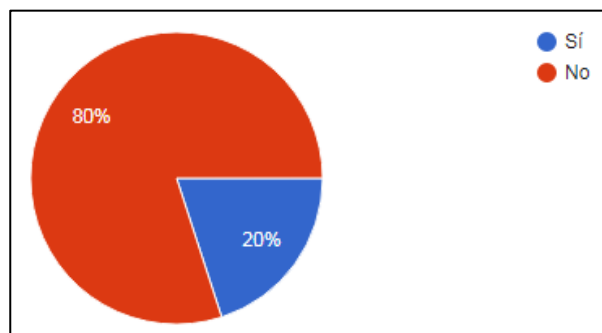
Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Debido a que existe una variedad de usos, que puede dárseles, en un laboratorio de pruebas microbiológicas, a productos farmacéuticos en la Universidad Internacional de las Américas, se puede evidenciar que sí hay una necesidad, y que existe una demanda proveniente del mercado interno. Esto se puede justificar con la premisa de una formación más integral y más práctica para los estudiantes que cursan la Carrera de Farmacia, además de fomentar la investigación y fortalecer conceptos, como el control de calidad en productos farmacéuticos y las Buenas Prácticas de Laboratorio [BPL].

De igual forma, se quiso conocer la opinión de los estudiantes, como parte de este análisis de mercado, lo que se realizó mediante un cuestionario aplicado a ellos. Para esta investigación, se tomaron como muestra los alumnos que están matriculados en los cursos de Microbiología (F-080) y Parasitología (F-095) , debido a que tienen conceptos más actualizados sobre el tema en estudio; además, como parte de la muestra se van a incluir a los estudiantes que matricularon Taller de Tesis para la carrera de Farmacia, ya que ellos han concluido la mayoría del plan de estudios; los estudiantes de ambos cursos se encuentran matriculados en el tercer cuatrimestre del 2019.

Como parte de esta investigación, se realizó un cuestionario como instrumento de investigación, como se muestra en el Apéndice 1. Se les preguntó a los estudiantes si ellos consideran que la Universidad Internacional de las Américas cuenta con materiales, equipos y cepas necesarios para realizar, de manera adecuada, pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas; para lo que un total de 50 encuestados respondieron lo siguiente: el 80% de los estudiantes consideran que no y el 20% considera que sí se cuenta con materiales, equipos y cepas necesarios para realizar, de manera adecuada, pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas en la UIA. (Véase la figura 17).

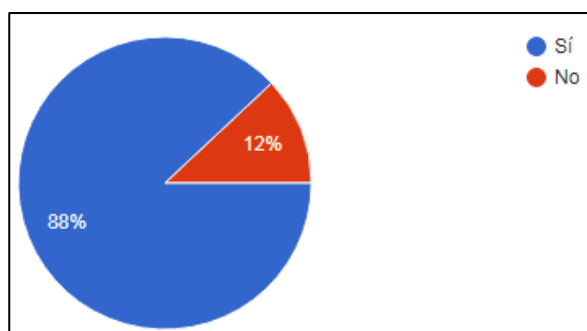
Figura 17. ¿Cree usted que la Universidad Internacional de las Américas cuenta con materiales, equipos y cepas necesarios para realizar de manera adecuada pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Es importante analizar que los estudiantes creen que existe una posibilidad de mejora, ya que la mayoría considera que se puede contar con mejores instrumentos para desarrollar la investigación, en el área de la Microbiología aplicada al campo farmacéutico. Al continuar con el análisis de mercado enfocado en los estudiantes, se les preguntó a los mismos si les gustaría participar en laboratorios que realicen pruebas de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) relacionadas con eficacia, recuento, identificación y valoración de microorganismos. La mayoría de los encuestados demostró interés, ya que el 88% respondió de manera afirmativa. (Véase la figura 18).

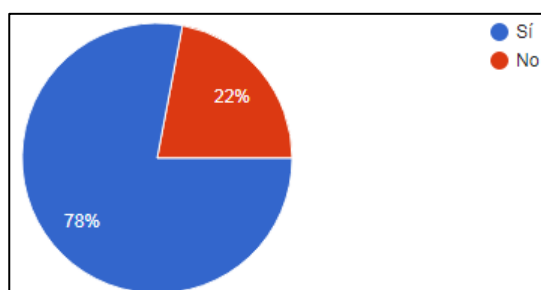
Figura 18. ¿Le gustaría participar en laboratorios que realicen pruebas de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) relacionadas con eficacia, recuento, identificación y valoración de microorganismos?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Para conocer sobre el interés que tienen los estudiantes en cuanto a realizar investigación básica o aplicada, se les preguntó si les interesaría desarrollar su tema de investigación evaluando la actividad antimicrobiana de algún extracto natural. (Véase la figura 19). Se logró evidenciar que existe un deseo en los estudiantes de investigar sobre posibles antimicrobianos utilizando fuentes naturales como principios activos, ya que el 78% de ellos expresó que estarían interesados.

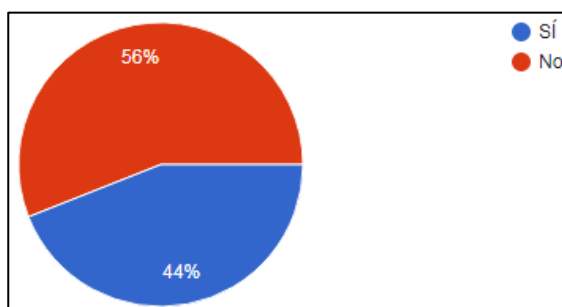
Figura 19. ¿Le interesaría desarrollar su tema de investigación evaluando la actividad antimicrobiana de algún extracto natural?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Con el fin de realizar un sondeo del impacto que podría tener la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica, se consultó a los estudiantes si conocen proyectos de investigación, realizados en la Universidad Internacional de las Américas, que utilizaran análisis microbiológicos aplicados al campo farmacéutico. El 56% de ellos no conocen ningún proyecto de este tipo realizado en la UIA, y un 44% de los encuestados sí afirman conocer proyectos que utilizaran análisis microbiológicos aplicados al campo farmacéutico realizados en la UIA. (Véase la figura 20).

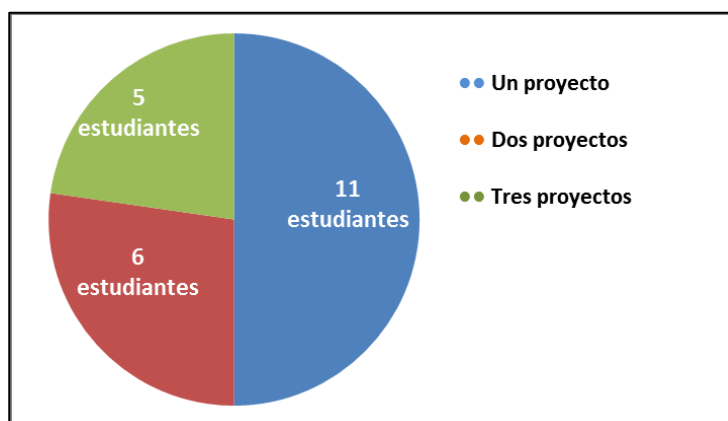
Figura 20. ¿Conoce usted proyectos de investigación realizados en la Universidad Internacional de las Américas que utilizaron análisis microbiológicos aplicados al campo farmacéutico?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Para comprender mejor los antecedentes, se consultó cuantos proyectos conocían los estudiantes que afirmaron saber de proyectos de investigación que utilizan análisis microbiológicos aplicados al área farmacéutica realizados en la UIA, a lo que 11 estudiantes indicaron que conocen solamente un proyecto, 6 estudiantes que conocen dos, y 5 estudiantes que conocen tres proyectos, para un total de 22 estudiantes que tienen conocimiento sobre proyectos de investigación relacionados con el tema en estudio. (Véase la figura 21).

Figura 21. Número de proyectos de investigación que conocen los estudiantes



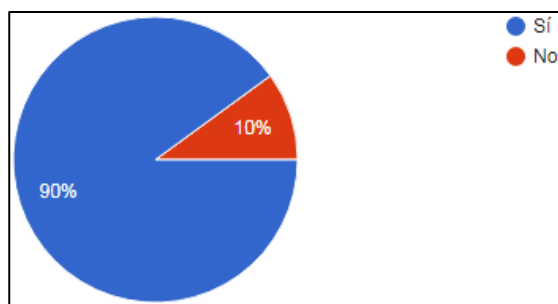
Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Se evidencia que sí existe este tipo de proyectos de investigación en la Universidad Internacional de las Américas, y que algunos estudiantes tienen conocimiento de estudios previos. Por otra parte, cabe destacar que para la mayoría de estudiantes es un tema innovador, lo

cual despierta un interés para indagar en esta área de estudio, y puede llegar a ser una fuente de nuevas investigaciones.

Para indagar sobre la percepción que tienen los estudiantes sobre el tema en estudio, se les consultó si ellos consideran que la validación de resultados, en un laboratorio de microbiología farmacéutica, utilizando métodos de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) puede ser realizada por un farmacéutico. En este sentido, la mayoría (con un 90%) afirmó que sí, y solamente el 10% de los estudiantes señaló que no. (Véase la figura 22). Este resultado es importante, porque evidenció que los estudiantes, como futuros profesionales en Farmacia, consideran que tienen la competencia y la formación necesaria para desarrollar procedimientos basados en la USP.

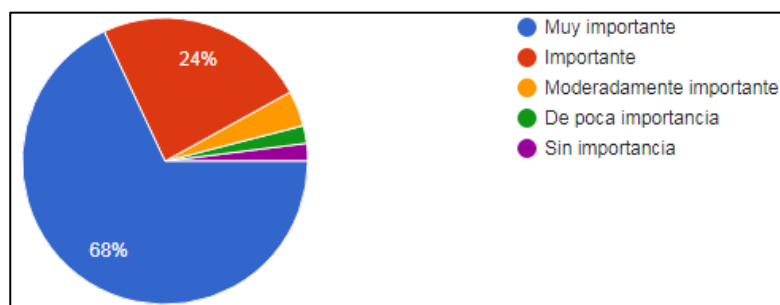
Figura 22. ¿Considera usted que la validación de resultados en un laboratorio de microbiología farmacéutica utilizando métodos de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) puede ser realizada por un farmacéutico?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Con el fin de establecer la demanda que tendría un laboratorio de bioanálisis aplicado a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas, se evaluó el grado de importancia que tiene la implementación de este laboratorio para los estudiantes. De los 50 estudiantes que realizaron el cuestionario, el 68% consideró que es muy importante, el 24% de los estudiantes respondieron que es importante, y un 4% de los estudiantes señalaron que es de moderada importancia. (Véase la figura 23).

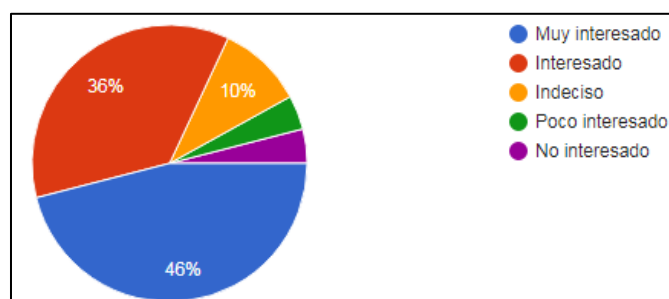
Figura 23. ¿Cuál es el grado de importancia que tiene para usted la implementación de un laboratorio de pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

La respuesta de los estudiantes fue positiva, ya que el 92% de ellos le dan importancia a este proyecto, lo cual evidencia que hay una atracción como posibles usuarios de este tipo de laboratorio. Para identificar, de una mejor manera, la demanda de un posible mercado, se evaluó en los estudiantes el grado de interés por realizar investigación, respecto a temas relacionados con pruebas microbiológicas a productos farmacéuticos. (Véase la figura 24).

Figura 24. ¿Estaría usted interesado en realizar investigación con respecto a temas relacionados con pruebas microbiológicas a productos farmacéuticos?



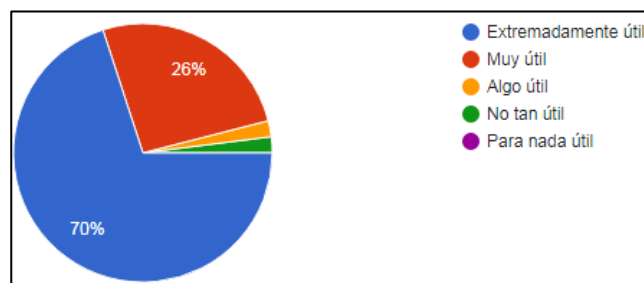
Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Es importante destacar que un 82% de los estudiantes demostró interés en realizar investigación sobre temas relacionados con pruebas microbiológicas aplicadas al campo farmacéutico, lo que evidencia una posible demanda por parte del estudiantado.

Para determinar qué tan provechoso puede ser un laboratorio de microbiología farmacéutica, para fortalecer la investigación en la Carrera de Licenciatura en Farmacia, se

consultó a los estudiantes qué tan útil consideran que sería contar con un laboratorio de microbiología farmacéutica. La respuesta de los estudiantes señaló que un 70% considera que contar con un laboratorio, para realizar pruebas microbiológicas aplicadas al campo farmacéutico, es extremadamente útil, y un 26% de los estudiantes señala que muy útil, lo que asegura que un 96% de los encuestados creen provechoso este proyecto. (Véase la figura 25).

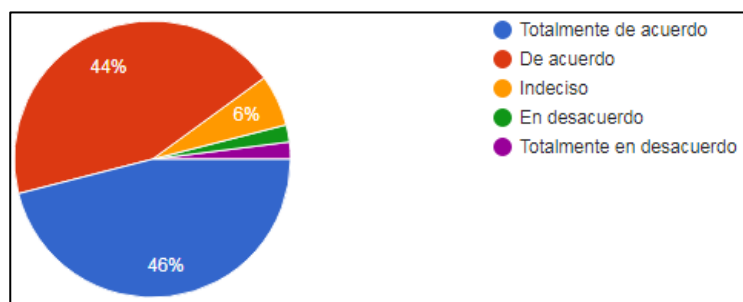
Figura 25. ¿Qué tan útil considera usted que sería contar con un laboratorio de microbiología farmacéutica para fortalecer la investigación en la Carrera de Licenciatura en Farmacia?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Como parte de la factibilidad y tomando en cuenta la demanda de personal que requiere un buen funcionamiento del laboratorio, se les consultó a los estudiantes encuestados si estarían de acuerdo en realizar horas de práctica en un laboratorio que realiza pruebas de microbiología farmacéutica. Esto sería beneficioso, ya que los mismos estudiantes pueden formar parte del equipo de trabajo, lo cual disminuye costos en la contratación de personal. Para este caso, un 46% de los estudiantes afirmó estar totalmente de acuerdo, y un 44% señaló que estaría de acuerdo. (Véase la figura 26).

Figura 26. ¿Estaría de acuerdo en realizar horas de práctica en un laboratorio que realiza pruebas de microbiología farmacéutica?

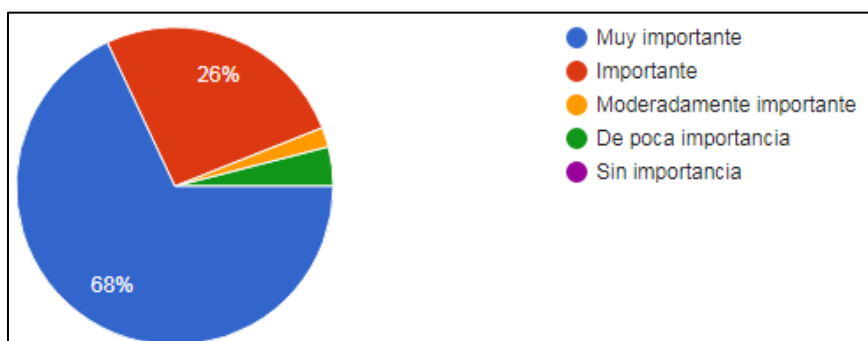


Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Los datos de la figura 26 son importantes, ya que indican que existe anuencia por parte de los estudiantes en realizar horas de práctica, lo que puede ayudar a reducir costos en el área de personal, pues los estudiantes se pueden capacitar para desarrollar funciones importantes en el laboratorio, y así adquirir experiencia práctica, que es valiosa para la formación de profesionales integrales y competitivos en el mercado laboral.

Con el objetivo de visualizar el alcance o el impacto que puede tener este proyecto, se planteó la interrogante de qué tan importante consideran los estudiantes que el Profesional en Farmacia tenga una formación práctica en cuanto a cómo realizar pruebas de calidad microbiológica en productos farmacéuticos. Los resultados señalan que un 68% de los encuestados consideró muy importante la formación práctica, y un 26% indicó que es importante. (Véase la figura 27).

Figura 27. ¿Qué tan importante considera usted que el Profesional en Farmacia tenga una formación práctica en cuanto a cómo realizar pruebas de calidad microbiológica en productos farmacéuticos?



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Se puede determinar, con estos resultados, que los estudiantes consideran que la formación práctica, realizando pruebas de calidad microbiológica aplicadas al área de la Farmacia, es valiosa para los futuros farmacéuticos. Es importante comprender que los estudiantes desean tener bases sólidas en su formación como profesionales. Por ejemplo, en el área de control de calidad de medicamentos se desarrollan, cada vez más, procedimientos que permitan demostrar que el fármaco es seguro y eficaz; además de que, con las políticas de armonización, es fundamental mantenerse actualizado y desarrollar habilidades para demostrar competencia.

Estudio Técnico

Con el fin de especificar los requerimientos técnicos, con los que debe cumplir un laboratorio de análisis microbiológico para preparaciones farmacéuticas, se realizó una búsqueda en diferentes fuentes bibliográficas. Por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud (2013) en su Documento Técnico N° 11, “Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica”, describe diferentes aspectos importantes para que un laboratorio de microbiología farmacéutica opere correctamente. En estas guías se abarcan puntos como: personal, equipamiento, reactivos y medios de cultivo, materiales de referencia y eliminación de desechos.

Es muy importante contar con los equipos, insumos, instalaciones y personal calificado para obtener resultados confiables, en un laboratorio de bioanálisis para preparaciones farmacéuticas; ya sea un laboratorio independiente o una unidad o departamento dentro de un

laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos. Conocer los requerimientos técnicos es indispensable, cuando se desea determinar la factibilidad de un proyecto, ya que sirven de base para calcular los costos de implementación, además de asegurar un buen funcionamiento, pues la falta de herramientas adecuadas puede generar un mal manejo de recursos. En el cuadro 23 se señalan los principales requerimientos, en cuanto a equipos y materiales con los que debe contar un laboratorio de microbiología farmacéutica.

Cuadro 23. Equipos y materiales utilizados en el laboratorio

Equipos y Materiales	Utilidad
Medios de cultivo para microorganismos	Permitir crecimiento de microorganismos.
Cepas de referencia (ATCC)	Control de calidad y realizar antibiogramas.
Incubadora	Necesaria para que los microorganismos se desarrollen.
Refrigerador (congelador)	Mantener medios de cultivo y en el congelador las cepas de referencia.
Autoclave	Destruir microorganismos bioinfecciosos.
Cabina de Seguridad Biológica (Clase II)	Proteger al personal y a las muestras.

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Como parte del estudio técnico, es necesario delimitar cuáles pruebas se realizan en el laboratorio y con qué propósito. Para este laboratorio se proponen pruebas descritas en la Farmacopea de los Estados Unidos 37 (2014) (véase el cuadro 24), ya que es uno de los libros oficiales que aplican para medicamentos en Costa Rica. En esta Farmacopea se describen metodologías, procedimientos, cepas de prueba a utilizar, medios de cultivo necesarios y criterios de aceptación. Cabe destacar que es posible variar algunas metodologías, siempre y cuando se pueda validar que los resultados obtenidos son confiables.

Cuadro 24. Pruebas propuestas para realizar en el laboratorio

Prueba	Propósito
Pruebas de eficacia antimicrobiana	Logra determinar el nivel de actividad biológica, que permite un preservante en un producto farmacéutico.
Pruebas de recuento microbiano	Se utiliza para contar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en productos no estériles o materia prima.

Pruebas de microorganismos específicos	Permiten determinar la presencia o ausencia de microorganismos específicos, que puedan ser detectados.
Pruebas para Antibióticos-Valoraciones Microbiológicas	Se puede demostrar la actividad (potencia) de un antibiótico, o comprobar la actividad antimicrobiana de alguna sustancia en estudio.
Caracterización, identificación y tipificación de cepas microbianas	La caracterización de microorganismos se lleva a cabo cuando estos se detectan en fármacos, excipientes, agua para uso farmacéutico, productos intermedios, productos farmacéuticos terminados y en el ambiente de fabricación, y puede incluir la identificación y tipificación de cepas.

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Las pruebas se enfocan en fortalecer y potenciar la investigación en la Carrera de Farmacia de la Universidad Internacional de las Américas; además, con proyecciones a la venta de servicios a la empresa privada o a otras universidades que realicen investigación. Es necesario comprender que, al contar con el equipos y materiales básicos, se puede, incluso, aumentar el esquema de pruebas, y existe un número muy amplio de aplicaciones para este laboratorio, tanto en posibles investigaciones como en oferta de servicios.

Más allá de contar con equipos, materiales e insumos, es necesario un conocimiento técnico que permita obtener resultados de calidad. Esto se logra con personal capacitado y con habilidades en laboratorio; para este tipo de laboratorio, se propone que el responsable técnico sea el farmacéutico, ya que la metodología utilizada para realizar las pruebas está descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos. De igual forma, se señala, en la Farmacopea, que profesionales en otros campos científicos vinculados a la biología pueden ser operarios y gerentes de este tipo de laboratorios. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Costos de insumos y equipos

En cuanto a los costos necesarios, para implementar un laboratorio de pruebas microbiológicas a preparaciones farmacéuticas, pueden existir diferentes variables; por ejemplo, diferentes proveedores o convenios que se pueden pactar contractualmente. Sin embargo, con este proyecto se pretende guiar o proyectar futuras inversiones, por lo que se cotizaron los insumos, equipos y materiales más importantes para implementar este laboratorio, para poder proponer una inversión inicial.

Como parte de este estudio de costos, se tomaron en cuenta los equipos básicos que representan el gasto mayor, cotizándolos con dos diferentes proveedores para evaluar, de mejor forma, la oferta en el mercado. Las dos empresas contactadas para verificar costos de equipos fueron ÉNHMED® y TecnoSagot®, ambas ubicadas en Costa Rica. Las dos empresas manejan diferentes marcas y modelos de equipos, por lo que se especificaron, en forma general, los requerimientos técnicos de cada equipo.

De los precios cotizados por ambas empresas (véase el cuadro 25), se puede determinar que algunos equipos son más baratos en una empresa; sin embargo, no son los mismos modelos ni las mismas marcas. De igual forma, si lo que se busca es economizar, se pueden comprar los equipos más baratos de cada empresa. Mientras que ÉNHMED® maneja la incubadora, la cabina de seguridad biológica y el congelador de menor precio, la empresa TecnoSagot® oferta la autoclave más barata.

Cuadro 25. Precios cotizados por las empresas ÉNHMED® y TecnoSagot®

Equipo	Precio de ÉNHMED® en colones	Precio de TecnoSagot® en colones
Incubadora	¢1.184.000	¢1.535.000
Refrigerador (congelador)	¢2.985.000	¢9.750.000
Autoclave	¢7.650.000	¢2.845.000
Cabina de Seguridad Biológica (Clase II)	¢4.640.000	¢7.480.000
Total	¢16.459.000	¢21.610.000

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

De esta manera, se propone como mejor opción, de acuerdo con los precios (véase el cuadro 26), la incubadora bacteriológica marca Thermo Scientific, Modelo IGS60, que tiene una capacidad de 75 litros y rango de temperatura de ambiente 5 °C a 75 °C. En cuanto a la Cabina de Seguridad Biológica (Clase II), se recomienda la de marca ESCO, Modelo AC2-4S9-NS, que cumple con normas ISO 14644.1. Por otra parte, se sugiere la adquisición del refrigerador marca PANASONIC, Modelo MDF-U334-PA con rango de temperatura de -20 °C a -30 °C, y la autoclave CertoClav Classic de 18 litros 125 °C / 140 °C, de acero inoxidable con temporizador.

Cuadro 26. Mejores precios de ambas empresas

Equipo	Precio de ÉNHMED® en colones
Incubadora	¢1.184.000
Cabina de Seguridad Biológica (Clase II)	¢4.640.000
Refrigerador (congelador)	¢2.985.000
Equipo	Precio de TecnoSagot® en colones
Autoclave	¢2.845.000
Total	¢11.654.000

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

La incubadora bacteriológica elegida (véase la figura 28) es esencial en este laboratorio, ya que la mayoría de las metodologías, descritas por la Farmacopea de los Estados Unidos, requieren que los medios de cultivo inoculados con los microorganismos se incuben a temperaturas de 30 °C a 35 °C; además, como son microorganismos vivos, son sensibles a cambios bruscos de temperatura, lo que podría afectar su crecimiento. (Farmacopea de los Estados Unidos 37, 2014).

Figura 28. Incubadora bacteriológica Thermo Scientific®, Modelo IGS60

Fuente: Thermo Fisher (2019).

Otro de los equipos de mucha importancia es la Cabina de Seguridad Biológica (Clase II), que permite crear un ambiente seguro de trabajo, que protege tanto a los operarios como a las muestras que se manipulan dentro de la cámara. La Cabina de Seguridad Biológica elegida para este laboratorio, marca ESCO, Modelo AC2-4S9-NS (véase la figura 29), posee filtros ULPA, que atrapan partículas biopeligrosas y generan aire limpio clase 3.

Figura 29. Cabina de Seguridad Biológica ESCO, Modelo AC2-4S9-NS



Fuente: Escoglobal (2019).

El refrigerador (congelador) es muy importante, ya que se utiliza principalmente para almacenar cepas bacterianas de trabajo, que requieren temperaturas bajas, para conservarse correctamente, con temperaturas entre -20°C y -50°C ; la conservación mantiene la viabilidad en estado inactivo. Las características del congelador elegido, marca Panasonic®, Modelo MDF-U334-PA (véase la figura 30) cumplen con especificaciones como rango de temperatura de -20°C a -30°C , cuenta con temperatura controlada por microprocesador y mostrada en pantalla digital, además de control estable de la temperatura.

Figura 30. Congelador Panasonic®, Modelo MDF-U334-PA



Fuente: Panasonic (2019).

En cuanto a la autoclave, hay que recalcar que es un equipo fundamental en este tipo de laboratorios, ya que su función es esterilizar materiales, ya sea de trabajo o de desecho, como instrumental sólido, fluidos (medios de cultivo), botellas y desechos de placas de Petri que ya han sido utilizadas. La autoclave seleccionada es marca CertoClav® modelo CV Classic 18L (véase la figura 31) con rangos de temperatura de 125 °C-140 °C, de acero inoxidable, con control de válvulas y temporizador para controlar el tiempo.

Figura 31. Autoclave CertoClav® modelo CV Classic 18L



Fuente: CertoClav (2019).

Como parte de los insumos necesarios para un funcionamiento adecuado del laboratorio de bioanálisis aplicado a preparaciones farmacéuticas, se encuentran los medios de cultivo. Para este caso se cotizaron medios de cultivo preparados con la empresa Tecnodagnóstica®, que distribuye medios de cultivo dirigidos a la Industria Farmacéutica de la marca bioMérieux®. Para este laboratorio, los medios son muy importantes, ya que permiten la detección y el recuento de organismos específicos, así como la obtención de los viables totales, según las exigencias de las Farmacopeas oficiales en Costa Rica.

En el Cuadro 27 se observan los precios en colones para los diferentes medios de cultivo preparados, facilitados por la empresa Tecnodagnóstica®; además, para facilitar el análisis de los costos, se detallan la presentación y el precio unitario. Es importante recalcar que los precios no incluyen el impuesto al valor agregado (IVA), que corresponde a un 13% del valor total.

Cuadro 27. Descripción y costos de los medios de cultivo preparados Tecnodiaagnóstica®

Medio	Presentación	Precio en colones	Precio unitario
Solución de Peptona tamponada PH 7,0	6 botellas de 90mL	¢23,280	¢3880
Caldo digerido de Caseína y Soja	6 botellas de 90mL	¢23,280	¢3880
Agar digerido de Caseína y Soja	100 placas	¢86,718	¢867
Agar Sabouraud Dextrosa	20 placas	¢13,968	¢698
Caldo Sabouraud Dextrosa	20 tubos	¢23,280	¢1164
Agar MacConkey	20 placas	¢10,476	¢524
Caldo MacConkey	6 botellas de 100mL	¢27,354	¢4559
Caldo Rappaport-Vassiliadis	20 tubos	¢18,042	¢902
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	20 placas	¢11640	¢582
Agar Cetrimida	20 placas	¢17,460	¢873
Agar Manitol Salado	20 placas	¢9312	¢465
Medio Líquido de Tioglicolato	20 tubos	¢26,772	¢1339

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

De igual manera, para ampliar el detalle de los costos y conocer otras opciones, se cotizaron con la empresa Prelab® los medios de cultivo sin preparar (véase el cuadro 28); es decir, en frascos con polvo seco para elaborar los medios de cultivo. Es posible elaborar los medios con agua destilada y luego, con la ayuda de la autoclave, se logra la esterilización. De igual manera, se le solicitó al proveedor indicar cuántas placas de cultivo se pueden preparar por frasco.

Cuadro 28. Descripción y costos de los medios de cultivo Prelab®

Medio de cultivo	Presentación	Precio en colones	Cantidad de placas por frasco	Estimado del precio por placa en colones
Caldo digerido de Caseína y Soja	Frasco de 500g	¢36,500	No aplica	No aplica
Agar digerido de Caseína y Soja	Frasco de 500g	¢ 42,865	312	¢137

Agar Sabouraud Dextrosa	Frasco de 500g	₡ 32,900	192	₡171
Caldo Sabouraud Dextrosa	Frasco de 500g	₡ 47,540	No aplica	No aplica
Agar MacConkey	Frasco de 500g	₡ 45,500	242	₡188
Caldo MacConkey	Frasco de 500g	₡ 79,000	No aplica	No aplica
Caldo Rappaport-Vassiliadis	Frasco de 500g	₡ 60,350	No aplica	No aplica
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	Frasco de 500g	₡ 54,715	235	₡233
Agar Cetrimida	Frasco de 500g	₡71.845	274	₡262
Agar Manitol Salado	Frasco de 500g	₡ 33,000	112	₡294
Medio Líquido de Tioglicolato	Frasco de 500g	₡ 45,300	No aplica	No aplica

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Como parte de la investigación, también se consultó el precio de algunos medios de cultivo con la empresa VarMedical®, cotizando algunas presentaciones en placa y otras en frasco (véase el cuadro 29). Sin embargo, esta empresa no oferta los medios Agar digerido de Caseína y Soja en placa, Agar Xilosa Lisina Desoxicolato en placa, ni Agar Cetrimida en placa.

Cuadro 29. Descripción y costos de los medios de cultivo VarMedical®

Medio de Cultivo	Presentación	Precio en colones	Cantidad de placas por paquete	Precio por placa
Agar Sabouraud Dextrosa	1 paquete	₡5900	10	₡590
Caldo Sabouraud Dextrosa	1 frasco	₡19,500	No aplica	No aplica
Agar MacConkey	1 paquete	₡5900	10	₡590
Agar MacConkey	1 frasco 500g	₡31,500	No aplica	No aplica
Caldo Rappaport-Vassiliadis	1 frasco 500g	₡24,300	No aplica	No aplica
Agar Cetrimida	1 frasco 500g	₡34,100	No aplica	No aplica
Agar Manitol Salado	1 paquete	₡5900	10	₡590
Medio Líquido de Tioglicolato	Caja con 20 tubos	₡21,000	No aplica	No aplica

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Otro insumo de gran importancia para un funcionamiento óptimo de un laboratorio de bioanálisis es el de las cepas de control, por lo que se cotizó con la empresa VarMedical® el costo de las cepas de control, como se observa en el cuadro 30. Para este caso las cepas son liofilizadas producidas por Liofilchem® y se comercializan como CultiControl™ (véase la figura 32). La presentación trae 5 pellets liofilizados, que se deben almacenar a una temperatura de 2 °C a 8 °C. La liofilización es un método recomendado y bien documentado para la preservación de microorganismos a largo plazo. (Pacheco & Serpas, 2013).

Cuadro 30. Presentación y precio de las cepas distribuidas por VarMedical®

Cepa	Presentación	Precio	Empresa
<i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	5 pellets	¢163,000	VarMedical®
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC N° 16404)	5 pellets	¢163,000	VarMedical®
<i>Escherichia coli</i> (ATCC N° 8739)	5 pellets	¢163,000	VarMedical®
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027)	5 pellets	¢163,000	VarMedical®
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538)	5 pellets	¢163,000	VarMedical®

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Figura 32. Cepas CultiControl™ en su empaque y su forma de pellet



Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Las cepas CultiControl™ son fáciles de utilizar, ya que los pellets se deben colocar en 0.5 mL de fluido estéril, ya sea agua o solución salina estériles; luego se presiona el pellet con la ayuda de un hisopo estéril hasta lograr una suspensión homogénea, y con el mismo hisopo saturado con la solución se transfiere a un medio de cultivo en placa adecuado, inoculando un tercio de la placa, para después, con la ayuda de un asa estéril, realizar un rayado adecuado, y así lograr el aislamiento de las colonias. Finalmente, se incuba la placa, para lograr el crecimiento de la cepa control. Es importante destacar que el material hidratado restante se debe descartar, utilizando las técnicas asépticas correctas para el manejo de desechos biopeligrosos.

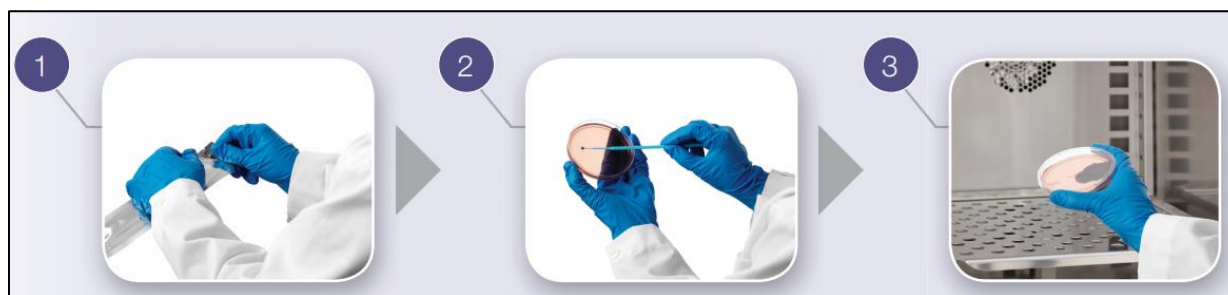
Se realizó otra cotización de cepas control con la empresa Prelab®, que distribuye las cepas fabricadas por Thermo Scientific®, de nombre comercial Culti-Loops™ (véase el cuadro 31), que utilizan una presentación distinta de asas bacteriológicas, las cuales contienen microorganismos viables estabilizados en una matriz de gel, evitando la necesidad de rehidratar las cepas, lo que reduce la manipulación y el riesgo de infección. Además, con este método únicamente se raya directamente con el asa sobre un medio de cultivo apropiado. (Véase la figura 33).

Cuadro 31. Presentación y precio de las cepas distribuidas por Prelab®

Cepa	Presentación	Precio	Empresa
<i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	Paquete con 5 asas	₡87,500	Prelab®
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC N° 16404)	Paquete con 5 asas	₡132,100	Prelab®
<i>Escherichia coli</i> (ATCC N° 8739)	Paquete con 5 asas	₡62,800	Prelab®
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027)	Paquete con 5 asas	₡65,300	Prelab®
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538)	Paquete con 5 asas	₡139,000	Prelab®

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Figura 33. Uso de las cepas de la marca Culti-Loops™



Fuente: Fisher Scientific (2019).

Las asas Culti-Loops™ se encuentran empaquetadas en fundas individuales, y luego en una bolsa que contiene un total de 5 asas, y se pueden conservar de 2 °C a 8 °C. Para realizar la inoculación se pueden utilizar dos métodos, uno de siembra directa, utilizando el medio de cultivo en placa adecuado; además, con la misma asa pueden sembrarse hasta cinco placas. El otro es un método indirecto en caldo, recomendado para microorganismos fastidiosos. Es importante comprender que la mayoría de los microorganismos, en condiciones adecuadas, crecerá en 24-48 horas; no obstante, algunos pueden presentar una fase de latencia prolongada, y deberían incubarse por 24 horas más. (Pacheco & Serpas, 2013).

Como parte de esta investigación, se incluyeron los costos más significativos que conllevan a la implementación de un laboratorio de pruebas microbiológicas a preparaciones farmacéuticas. (Véase el cuadro 32). Se incluyen los principales equipos e insumos necesarios para cumplir con las pruebas propuestas en el cuadro 24; además, al contar con los elementos mencionados, se puede incursionar en investigación, como por ejemplo: comprobar actividad antimicrobiana de extractos naturales, o analizar formas farmacéuticas elaboradas por los estudiantes de la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas.

Cuadro 32. Principales costos para implementar un laboratorio de Bioanálisis en la UIA

Insumo o Equipo	Precio en colones
Solución de Peptona tamponada PH 7,0	¢23280
Caldo digerido de Caseína y Soja	¢23280
Agar digerido de Caseína y Soja	¢86718
Agar Sabouraud Dextrosa	¢13968
Caldo Sabouraud Dextrosa	¢23280
Agar MacConkey	¢10476
Caldo MacConkey	¢27354

Caldo Rappaport-Vassiliadis	¢18042
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	¢11640
Agar Cetrimida	¢17460
Agar Manitol Salado	¢9312
Medio Líquido de Tioglicolato	¢26772
<i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	¢87500
<i>Aspergillus niger</i> (ATCC N° 16404)	¢132100
<i>Escherichia coli</i> (ATCC N° 8739)	¢62800
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027)	¢65300
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538)	¢139000
Incubadora	¢1184000
Cabina de Seguridad Biológica (Clase II)	¢4640000
Refrigerador (congelador)	¢2985000
Autoclave	¢2845000
Total	¢12.418.327

Fuente: Elaboración propia (Vega, 2019).

Pueden existir ciertos insumos o materiales que no se encuentren cotizados, ya que puede haber ciertas variaciones en los métodos que se utilicen o, dependiendo de los proveedores, ellos incluyen materiales necesarios. También es importante recalcar que los precios pueden variar, ya que, por ejemplo, representantes de la empresa Tecnodagnóstica® señalan que, dependiendo de la compra, pueden ajustar precios e incluir diferentes formas de financiamiento y asesoría, como capacitaciones para un correcto uso de sus productos.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Se evaluó desde un punto de vista técnico la viabilidad de realizar bioanálisis a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas, con el fin de fortalecer el aprendizaje y fomentar la investigación.

Se identificó la legislación aplicable a un laboratorio de microbiología farmacéutica para determinar si es posible realizar bioanálisis a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas.

Se determinó la necesidad que tiene la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas en cuanto a la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica y se demostró que hay una demanda de mercado.

Se especificaron algunos requerimientos con los que debe cumplir el laboratorio de análisis microbiológico para preparaciones farmacéuticas con el propósito de lograr que opere correctamente.

Se determinaron los costos de equipos y materiales requeridos en un laboratorio de bioanálisis para preparaciones farmacéuticas con la finalidad de guiar o proyectar futuras inversiones, con un monto estimado de ₡12.418.327.

Se concluye que evaluando desde un punto de vista técnico es viable realizar bioanálisis a preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas, y se comprendió que es necesario profundizar estudios para valorar factibilidad.

Recomendaciones

Al utilizar las pruebas descritas en este proyecto de investigación, se puede elaborar un manual de procedimientos, donde se detalle cómo realizar los ensayos para estandarizar los procesos.

Se recomienda que, para futuras investigaciones, se analice la demanda de mercado de laboratorios farmacéuticos que compran servicios de bioanálisis a empresas externas, con el propósito de vender servicios de análisis.

Este proyecto de investigación tiene un enfoque más técnico, en cuanto a pruebas propuestas y requisitos para poder realizarlas; sin embargo, con esta base se pueden realizar estudios, donde se profundicen las implicaciones legales y de costos.

Se puede evaluar la posibilidad de acreditar el laboratorio propuesto con la norma ISO/IEC 17025, lo cual le daría mucha credibilidad, y lo califica como un laboratorio que realiza pruebas confiables.

Se recomienda que, para la dirección técnica y para la validación de resultados de las pruebas propuestas en el laboratorio de bioanálisis, el responsable sea el farmacéutico, ya que la metodología a aplicar es de la United States Pharmacopeia.

LITERATURA CITADA

- Alós, J. (2014). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Revista Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, vol. 33, pp. 692-699. Recuperado de: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X14003413>
- Archila, R. (2009). Propuesta de un manual de procedimientos microbiológicos para pruebas de límites microbianos en productos farmacéuticos no estériles. Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador. Recuperado de: <http://ri.ues.edu.sv/2525/>
- Arias, N., Sandoval, M., Camargo, A. & Sánchez, J. (2010). *Los microorganismos: pequeños gigantes*. Elementos: Ciencia y cultura, vol. 17, pp. 15-23. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/41619841_Los_microorganismos_pequenos_gigantes
- Arroyo, R. (2015). Aplicaciones de los microorganismos en la industria farmacéutica. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. Recuperado de: <http://www.authorstream.com/Presentation/LissYessi-2652468-aplicaciones-en-los-microorganismos-la-industria-farmaceutica/>
- Ávila, M. (2014). Proyecto de inversión para la creación de un laboratorio clínico y diagnóstico en la Ciudad de Chetumal del Estado de Quintana Roo. Instituto Tecnológico de la Zona Maya. Quintana Roo, México. Recuperado de: http://www.itzonamaya.edu.mx/web_biblio/archivos/res_prof/ige/ige-2014-38.pdf
- Baudrit, E. (2008). *Estudio de prefactibilidad para el establecimiento de un Laboratorio de servicios privados en Microbiología y Química Clínica en el Cantón de La Unión en el año 2008*. Instituto Centroamericano de Administración Pública. San José, Costa Rica. Recuperado de: http://biblioteca.icap.ac.cr/BLIVI/TESIS/2008/Baudrit_Carrillo_Ester_PRO_08.pdf

- Burguet, N., Sierra, N. & Brito, C. (2012). *Conservación de cepas microbianas por el método de liofilización para el control microbiológico en Laboratorios Liorad*. Revista CENIC Ciencias Biológicas, vol. 43, pp. 1-10. Recuperado de: <https://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-3-2012-151-154.pdf>
- Burquette, J., Díaz, G., Gutiérrez, J., Luna, L., Mendoza, I. & Feliciano, J. (2015). *Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH)*, México. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, vol. 35, pp. 95-102. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/service/redalyc/downloadPdf/1994/199444210007/6>
- Bustos, E. & Medina, N. (2014). *Plan de implementación para obtener la Precalificación en las guías de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica (LAYAFA)*. Instituto Centroamericano de Administración Pública, San José, Costa Rica. Recuperado de: http://biblioteca.icap.ac.cr/BLIVI/TESIS/2014/bustos_araya_eduviges_ca_2014.pdf
- Carrión, L. (2016). *Aplicación de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) como herramienta del control de gestión de una empresa farmacéutica*. Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de: Especialista en Alta Gerencia. Universidad Militar Nueva Granada. Facultad de Estudios a Distancia Especialización en Alta Gerencia. Bogotá, Colombia. Recuperado de: <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/14576/Carri%F3nGuayaraAnaLeonor2016.pdf;jsessionid=B6B43ABDFCA3B27425FD4A955DE9F674?sequence=3>
- Castillo, A., Pascual, Y., CunhaNune, N., Lorente, C. & Cañete, F. (2014). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de Morinda citrifolia L. (noni)*. Rev. Cubana Plant. Med., vol. 19, pp. 374-382. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000400009

- Centro Europeo de Empresas e Innovación (CEEI). (2015). Guía para la Elaboración de un Estudio de Mercado. Creación y Desarrollo de Empresas. Recuperado de: http://www.ademaf.gob.bo/inf/digital/Guia_para_Elaboracion_de_Estudio_de_Mercado.pdf
- Centro de Investigación en Biotecnología. (2019). Centros de Investigación. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Recuperado de: <https://www.tec.ac.cr/centros-investigacion/centro-investigacion-biotecnologia-cib>
- Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. (2014). Distrito Federal, México. Recuperado de: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfHA025.pdf>
- Centro Nacional de Biotecnología. (2017). Manual de seguridad e higiene en los laboratorios Seguridad Biológica. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. España. Universidad Autónoma de Madrid. Recuperado de: https://www.cnb.csic.es/images/Julia2015/Services/Radiation_Protection_Biol_Safety/Guia%20basica%20de%20Seguridad%20e%20Higiene%20en%20los%20laboratorios.pdf
- Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G. & Zarankin, E. (2013). *Manual de Microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos*. Mayo, 21, 2019, de Asociación Argentina de Microbiología. Argentina. Recuperado: <http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>
- Colín, C., Hernández, M., López, J. & Ortega, S. (2014). *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*. Rev. Investigación en Discapacidad, vol. 3, pp. 10-18. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=48632>
- Cuesta, A. (2017). Guía Para la Acreditación de Laboratorios de Microbiología. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Argentina. Recuperado de:

http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/rla3014/pdf/4-biolo.pdf

Diccionario de la Real Academia Española. (2019). Definición de: Costo. Recuperado de: <https://dej.rae.es/lema/legislaci%C3%B3n>

Diccionario de la Real Academia Española. (2019). Definición de: Legislación. Recuperado de: <https://dle.rae.es/?id=B7MbcqN|B7QOlcz|B7RFb89>

European Pharmacopoeia. (2010). European Directorate for the Quality of Medicines EDQM, seventh edition. Strasbourg. European Pharmacopoeia. Recuperado de: <https://www.edqm.eu/>

Farmacopea de los Estados Unidos 37. (2014). Capítulos generales. Farmacopea de los Estados Unidos 37. Estados Unidos.

Fisher Scientific. (2019). Descripción de medios de cultivo. Thermo Fisher Scientific. Recuperado de: <https://www.fishersci.com/us/en/products/I9C8K0EE/cell-culture-media.html>.

Hernández, R. (2014). Metodología de la investigación. México D.F.: McGraw-Hill. Recuperado de: https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

International Organization for Standardization. (2019). Laboratorios de prueba y calibración. Ginebra, Suiza. Recuperado de: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-2:v1:es>

Kushwaha, P. (2010). *Microbial contamination: a regulatory perspective*. *Journal of Pharmacy Research*, vol. 3. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Poonam_Kushwaha/publication/40999115_Microbia

l_Contamination_A_Regulatory_Perspective/links/5b308967aca2720785e3b4c5/Microbia
l-Contamination-A-Regulatory-Perspective.pdf

Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica. (2019). Descripción de funciones y quiénes somos. Universidad de Costa Rica. Recuperado de: <http://inifar.ucr.ac.cr/es/node/250>

Ledermann, W. (2006). *La historia de la penicilina y de su fabricación en Chile*. Revista Chilena de Infectología, vol. 23, pp. 172-176. Recuperado: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v23n2/art12.pdf>

Ley Crea Consejo Nacional Enseñanza Superior Universitaria Privada CONESUP. N° 6693, Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica. (1981). Recuperado de: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=10481&nValor3=92692&strTipM=TC

Lopardo, H. (2016). Introducción a la microbiología clínica. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Recuperado de: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/52389>

Malbrán, C. (2015). Resistencia a los antimicrobianos: causas, consecuencias y perspectivas en Argentina. Argentina: Dpto. Bacteriología del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Recuperado: http://186.33.221.24/medicamentos//files/Resistencia_antimicrobiana_en_Argentina.pdf

Naranjo, L. & Castillo, L. (2015). Propuesta de implementación de un Laboratorio de Microbiología para la Industria Farmacéutica “NATUALFA”. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6318>

Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos. (2015). *Competencia y estudios de mercado en América Latina. Los casos de Chile, Colombia, Costa Rica, México, Panamá*

y Perú. Secretariado General de la OCDE. Recuperado de: <http://www.oecd.org/daf/competition/competencia-y-estudios-de-mercado-en-america-latina%202015.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (2013). Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. Mayo, 21, 2019, de Organización Panamericana de la Salud. Recuperado: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/Red-PARF-No11Es.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (2005). *Manual de bioseguridad en el laboratorio*. Ediciones de la OMS. Suiza.

Organización Mundial de la Salud. (2010). Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 957. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. Recuperado de: https://extranet.who.int/prequal/sites/default/files/documents/TRS957_annex1_SPANISH.pdf

Organización Panamericana de la Salud. (2002). *Cabinas de seguridad biológica: uso, desinfección y mantenimiento*. Biblioteca Sede OPS. Washington, Estados Unidos. Recuperado de: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/desastres/labcabinas_bioseguridad\[1\].pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/desastres/labcabinas_bioseguridad[1].pdf)

Pacheco, J. & Serpas, R. (2013). *Evaluación de dos métodos para la conservación de cepas bacterianas de trabajo utilizadas en un laboratorio de control microbiológico de medicamentos*. Universidad de El Salvador, San Salvador. El Salvador. Recuperado de: <http://ri.ues.edu.sv/5268/1/16103407.pdf>

Parasi, J., Cariati, D. & Castro, J. (2016). *Fortalecimiento de la Red Panamericana de Laboratorios Oficiales de Control de Medicamentos*. *Revista Panamericana de Salud Pública*, vol. 39, pp. 255-261. Recuperado de: <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2016.v39n5/255-261/#>

Parra, F. (2013). Informe de internado realizado en la industria farmacéutica como parte de los requisitos para optar al título de Químico Farmacéutico. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. Recuperado de: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fcp259i/doc/fcp259i.pdf>

Ramírez, D., Vidal, A. & Domínguez, Y. (2009). Etapas del análisis de factibilidad. Compendio bibliográfico. Contribuciones a la Economía. Recuperado de: <http://www.eumed.net/ce/2009a/amr.htm>

Ratajczak, M., Kubicka, M., Kaminska, P. & Dlugaszwska, J. (2015). Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. Saudi Pharmaceutical Journal, vol. 23, pp. 303-307. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106278>

Rauf, A., Erum, A., Noreen, S., Shujaat, T. & Ashraf, U. (2018). Microbiological quality control of some non-sterile preparations commonly used in Pakistan. Pak. J. Pharm. Sci., vol. 31, pp. 1237-1242. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30033406>

Reglamento Técnico sobre buenas prácticas de manufactura para la industria farmacéutica, productos farmacéuticos y medicamentos de uso humano. N° 35994-S. SCIJ Presidencia de la República de Costa Rica. (2010). Recuperado de: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=67935&nValor3=80710&strTipM=TC

Reglamento General del Consejo Nacional de Enseñanza Superior Universitaria Privada. N° 29631-MEP. Poder Ejecutivo. (2001). Recuperado de: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=46634&nValor3=91808&strTipM=TC

Reglamento sobre la gestión de los desechos infectocontagiosos que se generan en establecimientos que prestan atención a la salud y afines. N° 30965-S. Poder Ejecutivo Ministerio de Salud Costa Rica. (2002). Recuperado de:

http://www.digecca.go.cr/sites/default/files/reglamento_sobre_la_gestion_de_desechos_infectacontagiosos_0.pdf

Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 71.03.45:07 Productos farmacéuticos. Cosméticos. Verificación de la calidad. Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). (2008). Recuperado de: <https://defensoria.gob.sv/images/stories/varios/RTCA/COSMETICOS/NSORTCA71.03.45.07%20VERIFICACION%20DE%20LA%20CALIDAD.pdf>

Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.56:09 Productos farmacéuticos. Productos naturales medicinales para uso humano. Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). (2011). Recuperado de: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=72454&nValor3=88398&strTipM=TC

Sandle, T. (2013). *Good practices for Pharmaceutical Microbiology Laboratories*. GMP Publishing, vol. 11, pp. 1-4. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/297425198_Good_practices_for_pharmaceutical_microbiology_laboratories

Sapag, N., Sapag, R. & Sapag, J. (2014). Preparación y evaluación de proyectos. México: McGraw-Hill. Recuperado de: https://www.academia.edu/36800147/Preparacion_y_evaluacion_de_proyectos_6ta_edicion_Sapag

Schifter, L., Puerto, J. & Aceves, P. (2009). *Las farmacopeas de México y Estados Unidos en el nuevo milenio: paralelismos y divergencias*. An. R. Acad. Nac. Farm, vol. 75, pp. 923-946. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/277846320_Las_farmacopeas_de_Mexico_y_Estados_Unidos_en_el_Nuevo_Milenio_paralelismos_y_divergencias

Solórzano, L. (2015). Laboratorio de Microbiología. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador. Recuperado de: [https://27%20LABORATORIO%20DE%20MICROBIOLOGIA%20-\(3\).pdf](https://27%20LABORATORIO%20DE%20MICROBIOLOGIA%20-(3).pdf)

Sutton, S. & Porter, D. (2002). *Development of the Antimicrobial Effectiveness Test as USP Chapter <51>*. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, vol. 56, pp. 300-311. Recuperado de: http://microbiologynetwork.com/content/PDAJ_2002_Development-of-the-Antimicrobial-Effectiveness-Test-As-USP-Chapter-51.pdf

Tapia, C., Vega, C. & Rojas, C. (2015). *Implementación de un laboratorio clínico moderno*. Revista Médica Clínica Las Condes, vol. 26, pp. 794-801. Recuperado de: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0716864015001558?token>

Tools, J. (2014). Historia de la Microbiología. Revista de Actualización Clínica, vol. 44, 2304-2308. Recuperado de: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S230437682014000500001&script=sci_arttext

U.S Food and Drug administration. (2019). ¿Qué hace la FDA? Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.fda.gov/about-fda/fda-basics/que-hace-la-fda>

WHO Health Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. (2011). Forty-fifth technical report. World Health Organization. Geneva. Switzerland. WHO Publications. Recuperado de: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44079/WHO_TRS_961_eng.pdf;jsessionid=2F3CF1B8B5B28A6500B454129D02446C?sequence=1

World Health Organization. (2018). The international pharmacopeia, eighth edition. WHO Department of Essential Medicines and Health Products. New Zealand. Recuperado de: <https://apps.who.int/phint/en/p/about/>

APÉNDICES

Apéndice 1: Instrumento de investigación

Cuestionario

Buenos días (tardes): Se está trabajando en un estudio que servirá para elaborar una tesis profesional, que pretende estudiar la factibilidad de implementar un laboratorio para realizar microbiología farmacéutica en la Universidad Internacional de las Américas.

Quisiera pedir su ayuda para que conteste algunas preguntas que no le tomarán mucho tiempo.

- Sus respuestas serán confidenciales y anónimas.
- No hay preguntas delicadas.
- Las personas que fueron seleccionadas para el estudio no se eligieron por su nombre, sino al azar.
- Las opiniones de todos los encuestados serán sumadas e incluidas en la tesis profesional, pero nunca se comunicarán datos individuales.
- Le pido que conteste este cuestionario con la mayor sinceridad posible.
- No hay respuestas correctas ni incorrectas.

¡Muchas gracias por su colaboración!

Tema de Investigación: Estudio de Factibilidad para la Implementación de un Laboratorio de Pruebas Microbiológicas para Preparaciones Farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas.

Instrucciones: marque con (X) su respuesta, las respuestas son de **selección única**.

Preguntas

Pregunta 1. ¿Cree usted que la Universidad Internacional de las Américas cuenta con materiales, equipos y cepas necesarios para realizar de manera adecuada pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas?

() Sí / No ()

Pregunta 2. ¿Conoce usted proyectos de investigación realizados en la Universidad Internacional de las Américas que utilizaron análisis microbiológicos aplicados al campo farmacéutico?

Sí () / () No En caso de que sí, indique cuántos: _____

Pregunta 3. ¿Le interesaría desarrollar su tema de investigación evaluando la actividad antimicrobiana de algún extracto natural?

() Sí / No ()

Pregunta 4. ¿Le gustaría a usted participar en laboratorios que realicen pruebas de la *United States Pharmacopeia* (USP) relacionadas con eficacia, recuento, identificación y valoración de microorganismos?

Sí () / No ()

Pregunta 5. ¿Considera usted que la validación de resultados obtenidos en un laboratorio de microbiología farmacéutica utilizando métodos de *la United States Pharmacopeia* (USP) los puede realizar un farmacéutico?

Sí () / No ()

Pregunta 6. ¿Cuál es el grado de importancia que tiene para usted la implementación de un laboratorio de pruebas microbiológicas en preparaciones farmacéuticas en la Universidad Internacional de las Américas?

- Muy importante
- Importante
- Moderadamente importante
- De poca importancia
- Sin importancia

Pregunta 7. ¿Estaría usted interesado en realizar investigación con respecto a temas relacionados con pruebas microbiológicas a productos farmacéuticos?

- Muy interesado
- Interesado
- Indeciso
- Poco interesado
- No interesado

Pregunta 8. ¿Qué tan útil considera usted que sería contar con un laboratorio de microbiología farmacéutica para fortalecer la **investigación** en la Carrera de Licenciatura en Farmacia?

- Extremadamente útil
- Muy útil
- Algo útil
- No tan útil
- Para nada útil

Pregunta 9. ¿Estaría de acuerdo en realizar horas de práctica en un laboratorio que realice pruebas de microbiología farmacéutica?

- Totalmente de acuerdo
- De acuerdo
- Indeciso
- En desacuerdo
- Totalmente en desacuerdo

Pregunta 10. ¿Qué tan importante considera usted que el Profesional en Farmacia tenga una formación práctica en cuanto a cómo realizar pruebas de calidad microbiológica en productos farmacéuticos?

- Muy importante
- Importante
- Moderadamente importante
- De poca importancia
- Sin importancia

Apéndice 2: Cuadro de Operacionalización de Variables

Objetivo Específico	Variable	Definición Conceptual	Indicador	Instrumento
Especificar los requerimientos técnicos con los que debe cumplir el laboratorio de análisis microbiológico para preparaciones farmacéuticas, con el propósito de lograr que opere correctamente.	Requerimientos técnicos.	Son los puntos con los que se debe cumplir, que están definidos por un área de estudio específica. Elaboración propia. (2019).	No aplica.	Revisión de artículos científicos y otras fuentes de información, como reglamentos oficiales, libros y manuales.
Demostrar la necesidad que tiene la Carrera de Farmacia en la Universidad Internacional de las Américas en cuanto a la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica, para definir la demanda de mercado.	Demanda de mercado.	Necesidad de algún recurso que existe en una población definida. Elaboración propia (2019).	Porcentaje de los estudiantes que necesita un recurso.	Encuestas realizadas a los estudiantes de la carrera de Farmacia en la UIA.
Determinar los costos necesarios para implementar un laboratorio de pruebas microbiológicas a preparaciones farmacéuticas, con la finalidad de guiar o proyectar futuras inversiones.	Costos.	Gasto que ocasiona algo. Diccionario de la Real Academia Española. (2019)	No aplica.	Revisión de artículos científicos y otras fuentes de información, como reglamentos oficiales, libros y manuales.
Indicar cuál legislación aplica en la implementación de un laboratorio de microbiología farmacéutica, para determinar que es factible la realización de este proyecto.	Legislación.	Conjunto de leyes y otras normas. Real Academia Española. (2019).	No aplica.	Revisión de artículos científicos y otras fuentes de información, como reglamentos oficiales, libros y manuales.

Anexo 1: Cotización de equipos de laboratorio TecnoSagot®

Buenos días Mario.

Indico abajo modelos y precios de referencia. Si requiere una oferta formal, le ruego nos lo indique, y nos envíe los datos completos de la empresa a quien iría dirigida, para ingresarla en nuestra base de datos y generar la cotización.

Los productos de ELOS ya no están disponibles, por lo que incluimos una alternativa. Adjunto información técnica.

Todos los equipos se importan contra pedido de Alemania, y tienen un tiempo de entrega estándar de 4 a 6 semanas

1. Incubadora Memmert IN55, de convección natural, 53 litros ϕ 1,535,000.00 + IVA
2. Cabina de seguridad biológica H-1 Comecta 5609511 ϕ 1,925,000.00 + IVA
3. Autoclave CertoClav Classic 18 litros, 125/140°C (catálogo Tacc TE009001) ϕ 2,845,000.00 + IVA
4. Congelador Chest $\pm 0^{\circ}\text{C}$ a -40°C , 100 litros (catálogo Tacc TE002020) ϕ 9,750,000.00 + IVA
5. Congelador Chest $\pm 0^{\circ}\text{C}$ a -40°C , 220 litros (catálogo Tacc TE002021) ϕ 11,100,000.00 + IVA
6. Campana de manipulación SG150 (catálogo Tacc TE012006) ϕ 7,480,000.00 + IVA

Quedo a la espera de sus valiosos comentarios,



Anexo 2: Cotización de equipos de laboratorio Énhmed®



Tecnología para la Vida

UIA

27 de setiembre de 2019
1 / 6

Cotización: EML-19-620

Atención: Mario Vega

mvq_69@hotmail.com

Referencia: Equipos de Laboratorio

Seguidamente presentamos nuestra oferta de acuerdo a su solicitud,

ÍTEM	CANT.	DESCRIPCIÓN	UNIT	TOTAL
01	(01)	Autoclave Vertical Marca PANASONIC, Modelo MLS-3751-PA	\$13,145.00 IVA 13%	\$13,145.00 \$1,708.85

ÍTEM	CANT.	DESCRIPCIÓN	UNIT	TOTAL
02	(01)	CONGELADOR -20°C Marca PANASONIC, Modelo MDF-U334-PA	\$ 5,130.00 IVA 13%	\$5,130.00 \$666.90

ÍTEM	CANT.	DESCRIPCIÓN	UNIT	TOTAL
03	01	CABINA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA Marca ESCO, Modelo AC2-4S9-NS	\$7.975.00 IVA 13%	\$7.975.00 \$1,036.75

ÍTEM	CANT.	DESCRIPCIÓN	UNIT	TOTAL
04	(01)	Incubadora Bacteriológica Marca Thermo Scientific, Modelo IGS60	\$2,035.00 IVA 13%	\$2,035.00 \$264.55

TÉRMINOS DE LA OFERTA

PRECIOS: Firmes y definitivos unitarios y totales durante la vigencia de esta oferta, en dólares (pagaderos en colones al tipo de cambio del día de la emisión del cheque). Incluye entrega e instalación. Indica por aparte el IVA que debe ser cancelado en caso de que la UIA no este exento de los mismos.

VIGENCIA: 35 días hábiles

ENTREGA: 50-60 días hábiles después de recibida la orden de compra.

GARANTÍA: 12 meses contra defectos de manufactura, a partir del recibo del equipo a entera satisfacción de la institución; incluye la reparación o sustitución de partes que hayan sufrido daño por defecto del material o de su construcción. El equipo es totalmente nuevo.

SERVICIO: Contamos con nuestro propio departamento de servicio con técnicos capacitados dentro y fuera de Costa Rica para dar mantenimiento a los equipos ofrecidos. Así mismo contamos con instrumentos básicos necesarios para brindar el mantenimiento requerido.





REPUESTOS Contamos con un stock de repuestos básicos para la debida reparación de los equipos ofrecidos. Así mismo, la fábrica garantiza el rápido despacho de cualquier repuesto adicional.

PAGO: 50% contra OC, 50% contra entrega.


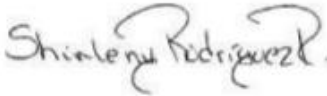
Atentamente,

Saylen Morales Hernández
Jefe, Departamento Ventas Laboratorio

Anexo 3: Cotización de Cepas de referencia Tecnodiaagnóstica®

COTIZACION			TECNO DIAGNOSTICA, S.A.		  		
N° COTIZACION	FECHA	CLIENTE	CEDULA JURIDICA No. 3-101-118223-24 SAN JUAN DE TIBAS - COSTA RICA TEL.: 4032-6060 www.tecnodiagnostics.com FAX: 2297-0606				
38539	01/11/2019	C01501					
CLIENTE:			ENVIAR A:				
MARIO VEGA QUIROS							
DIRECCION:							
25 mts Este de CCSS PALMARES							
PALMARES							
COSTA RICA							
DIRIGIDO A:							
CONDICION DE PAGO	VIGENCIA DE LA OFERTA	VENDEDOR					
CONTADO	01/12/2019	Ninguno					
#	Cant	Prest	Código	Catálogo	Descripción	Precio	Total
1	1.00	CFU™ One	0443Z	MICROBIOLOGICS	CANDIDA ALBICANS ATCC 10231	596.8700 USD	596.87 USD
2	1.00	CFU™ One	0392Z	MICROBIOLOGICS	ASPERGILLUS NIGER ATCC 16404	596.8700 USD	596.87 USD
3	1.00	CFU™ One	0483Z	MICROBIOLOGICS	ESCHERICHIA COLI ATCC8739	596.8700 USD	596.87 USD
4	1.00	CFU™ One	0484Z	MICROBIOLOGICS	P. AERUGINOSA ATCC 9027	596.8700 USD	596.87 USD
5	1.00	CFU™ One	0827Z	MICROBIOLOGICS	STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUBSP AUREUS ATCC6538P	596.8700 USD	596.87 USD
						SubTotal	2,984.35 USD
						Descuento	
MONTO TOTAL: Tres mil trescientos setenta y dos Dólares Americanos con Treinta y dos Centavos						**IV	387.97 USD
						Total	3,372.32 USD
CONDICIONES DE LA OFERTA:							
ENTREGA: 30 DIAS HABILES, VENCIMIENTO DE 8 A 12 MESES							
							
						Cristel Lopez Área de Ventas	




Anexo 4: Cotización de API STAPH 25 T™ Tecnodiagnóstica®

COTIZACION			TECNO DIAGNOSTICA, S.A.		TECNO DIAGNOSTICA		
Nº COTIZACION	FECHA	CLIENTE	CEDULA JURIDICA No. 3-101-118223-24				
38490	29/10/2019	C01501	SAN JUAN DE TIBAS - COSTA RICA				
CLIENTE:			TEL.: 4032-6060				
MARIO VEGA QUIROS			www.tecnodiagnostica.com				
DIRECCION:			FAX: 2297-0606				
25 mts Este de CCSS PALMARES							
PALMARES							
COSTA RICA							
DIRIGIDO A:							
CONDICION DE PAGO	VIGENCIA DE LA OFERTA	VENDEDOR					
CONTADO	29/11/2019	Ninguno					
#	Cant	Prest	Código	Catálogo	Descripción	Precio	Total
1	1.00	25	20500	BIOMERIEUX	API STAPH 25T	140.0000 USD	140.00 USD
2	1.00	AMPM	70422	BIOMERIEUX	VP1+VP2 REAGENTS 4X5ML	35.0000 USD	35.00 USD
3	1.00	AMP	70442	BIOMERIEUX	NIT 1 + NIT 2 2AMP	37.0000 USD	37.00 USD
4	1.00	AMP	70494	BIOMERIEUX	ZYM A 2 AMP	18.0000 USD	18.00 USD
5	1.00	AMP	70493	BIOMERIEUX	ZYM B 2 AMP	18.0000 USD	18.00 USD
6	1.00	125	70100	BIOMERIEUX	API ACEITE MINERAL 125ML	6.0000 USD	6.00 USD
7	1.00		40011	BIOMERIEUX	APIWEB	234.0000 USD	234.00 USD
						SubTotal	488.00 USD
						Descuento	
MONTO TOTAL: Quinientos cincuenta y un Dólares Americanos con Cuarenta y cuatro Centavos						**IV	63.44 USD
						Total	551.44 USD
CONDICIONES DE LA OFERTA:							
VENCIMIENTO: REACTIVOS DE API 4 HASTA 6 MESES, RESTO 6 A 8 MESES APROXIMADAMENTE.							
ENTREGA: 45 DIAS HABILES, POSTERIOR AL ENVIO DEL A ORDEN DE COMPRA.							
							
						Sirleny Rodriguez	
						Área de Ventas	

Anexo 5: Cotización de API 20E 25 GALERIES™ Tecnodiaagnóstica®

COTIZACION			TECNO DIAGNOSTICA, S.A.			 	
Nº COTIZACION	FECHA	CLIENTE	CEDULA JURIDICA No. 3-101-118223-24				
38491	29/10/2019	C01501	SAN JUAN DE TIBAS - COSTA RICA				
CLIENTE:			TEL.: 4032-6060				
MARIO VEGA QUIROS			www.tecnodiagnostica.com				
DIRECCION:			FAX: 2257-0606				
25 mts Este de CCSS PALMARES			ENVIAR A:				
PALMARES							
COSTA RICA							
DIRIGIDO A:							
CONDICION DE PAGO	VIGENCIA DE LA OFERTA	VENDEDOR					
CONTADO	29/11/2019	Ninguno					
#	Cant	Prest	Código	Catálogo	Descripción	Precio	Total
1	1.00	25 GAL	20100	BIOMERIEUX	API 20E 25 GALERIES	80.0000 USD	80.00 USD
2	1.00	6AMP	20120	BIOMERIEUX	API 20E REACTIVO 6AMP	23.0000 USD	23.00 USD
3	1.00	25AM	20150	BIOMERIEUX	MEDIO SUSPENSION 5ml X 25U	21.0000 USD	21.00 USD
4	1.00	125	70100	BIOMERIEUX	API ACEITE MINERAL 125ML	6.0000 USD	6.00 USD
5	1.00	AMP	70900	BIOMERIEUX	API MACFARLAND STANDARD 6	37.0000 USD	37.00 USD
6	1.00	UN	40011	BIOMERIEUX	APIWEB	235.0000 USD	235.00 USD
						SubTotal	402.00 USD
						Descuento	
MONTO TOTAL: Cuatrocientos cincuenta y cuatro Dólares Americanos con Veintiséis Centavos						**IV	52.26 USD
						Total	454.26 USD
CONDICIONES DE LA OFERTA:							
ENTREGA: LINEAS 1 A LA 6 60 DIAS HABILES, LINEAS 7-8 45 DIAS HABILES, POSTERIOR AL ENVIO DEL ORDEN DE COMPRA.							
VENCIMIENTO: API , MEDIO SUSPENSION Y ACEITE 8-12 MESES. REACTIVOS AMP 4-6 MESES MACFARLA 2-3 MESES, ATB 6 MESES							
							
						Sirleny Rodriguez	
						Área de Ventas	

Anexo 6: Cotización de medios de cultivo Tecnodiaagnóstica®

COTIZACION			TECNO DIAGNOSTICA, S.A.		TECNO DIAGNOSTICA		
Nº COTIZACION	FECHA	CLIENTE	CEDULA JURIDICA No. 3-101-118223-24		 		
38507	29/10/2019	C01501	SAN JUAN DE TIBAS - COSTA RICA TEL.: 4032-6060 www.tecnodiagnostica.com FAX: 2297-0606				
CLIENTE:			MARIO VEGA QUIROS		ENVIAR A:		
DIRECCION:			25 mts Este de CCSS PALMARES				
PALMARES COSTA RICA			DIRIGIDO A:				
CONDICION DE PAGO	VIGENCIA DE LA OFERTA	VENDEDOR					
CONTADO	29/11/2019	Ninguno					
#	Cant	Prest	Código	Catálogo	Descripción	Precio	Total
1	1.00	6X90ML	42609	BIOMERIEUX	BUFFERED PEPT SOL PH7.0 6X90ML	40.0000 USD	40.00 USD
2	1.00	6X90	42614	BIOMERIEUX	TRYPCASE SOY BROTH 6X90ML	40.0000 USD	40.00 USD
3	1.00	100	43019	BIOMERIEUX	GELOSE TRYPCASE-SOJA 100 PLA.	149.0000 USD	149.00 USD
4	1.00	20	43555	BIOMERIEUX	AGAR SABOURAUD DEXTROSA 20 PLACAS	24.0000 USD	24.00 USD
5	1.00	20	43141	BIOMERIEUX	MACCONKEY AGAR+CRISTAL VIDEN 20 PLACAS	18.0000 USD	18.00 USD
6	1.00	20	42110	BIOMERIEUX	RVS BROTH 20TUBES	31.0000 USD	31.00 USD
7	1.00	20	43563	BIOMERIEUX	AGAR XLD PLACA	20.0000 USD	20.00 USD
8	1.00	20	43565	BIOMERIEUX	CETRIMIDE AGAR 20 PLACAS	30.0000 USD	30.00 USD
9	1.00	20	42074	BIOMERIEUX	CALDO TIOGLICOLATO 20 TUBOS	46.0000 USD	46.00 USD
						SubTotal	398.00 USD
						Descuento	
MONTO TOTAL: Cuatrocientos cuarenta y nueve Dólares Americanos con Setenta y cuatro Centavos						**IV	51.74 USD
						Total	449.74 USD
CONDICIONES DE LA OFERTA:							
VENCIMIENTO: AGAR SAB. Y MACCONKEY 45 NATURALES, CALDO TIOGLICOLATO 3 MESES, RESTO 30 DÍAS NATURALES APROXIMADAMENTE.							
ENTREGA: PRIMERA ENTREGA 45 DIAS HABILES, POSTERIOR AL ENVIO DE LA ORDEN DE COMPRA.							
FORMA DE PAGO: CONTADO CON 50% ADELANTO, RESTO CONTRA ENTREGA.							
						 Sirleny Rodriguez Área de Ventas	

Anexo 7: Cotización de medios de cultivo y cepas Prelab®

Línea	Cantidad	Código	Descripción	U/M	Precio Unitario	Total
1	1	CM0129B	Tryptone Soya Broth 500 g, Oxoid CM0129B *	Fr	36.500,00	36.500,00
2	1	CM0131B	Tryptone Soya Agar 500 g, Oxoid CM0131B *	Fr	42.865,00	42.865,00
3	1	CM0041B	Sabouraud Dextrose Agar 500 g, Oxoid CM0041B *	Fr	32.900,00	32.900,00
4	1	CM0147B	Sabouraud Liquid Medium 500 g, Oxoid CM0147B *	Fr	47.540,00	47.540,00
5	1	CM0115B	MacConkey Agar 500 g, Oxoid CM0115B *	Fr	45.500,00	45.500,00
6	1	CM0005B	MacConkey Broth 500g, Oxoid CM0005B	Fr	79.000,00	79.000,00
7	1	CM0669B	Rappaport Vassiliadis (RV) Enrich. Broth 500g, Oxoid CM0669B	Fr	60.350,00	60.350,00
8	1	CM0469B	XLD Medium 500 g, Oxoid CM0469B *	Fr	54.715,00	54.715,00
9	1	CM0579B	Pseudomonas Cetrimide Agar 500 g, Oxoid CM0579B *	Fr	71.845,00	71.845,00
10	1	CM0085B	Mannitol Salt Agar 500 g, Oxoid CM0085B *	Fr	33.000,00	33.000,00
11	1	CM0173B	Thioglycollate Fluid Medium USP 500 g, Oxoid CM0173B *	Fr	45.300,00	45.300,00
12	1	R4601503	Candida albicans ATCC 10231 (5asas)**	Paq 5 asas	87.500,00	87.500,00
13	1	R4601100	Aspergillus niger ATCC 16404	Paq 5 asas	132.100,00	132.100,00
14	1	R4607085	Escherichia coli ATCC 8739 (5 asas)	Paq 5 asas	62.800,00	62.800,00
15	1	R4605210	Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (5 asas)	Paq 5 asas	65.300,00	65.300,00
16	1	R4607016	Staphylococcus aureus ATCC 6538 (5asas)	Paq 5 asas	139.000,00	139.000,00


Subtotal		CRC 1.036.215,00
I.V.A. (0,0%)		CRC 0,00
Total		CRC 1.036.215,00

ESTIMADO CLIENTE:
ES INDISPENSABLE EL ENVÍO DE ORDEN DE COMPRA PARA GESTIONAR SU PEDIDO

Anexo 8: Cotización de cepas de referencia VarMedical®

VAR MEDICAL S. A. 3101665823 Tel:40001230 Fax:24302683 ALAJUELA - COSTA RICA		OFERTA N°COT-000118  Alajuela, 29 de octubre del 2019
MARIO VEGA QUIROS Atención: Presente		
REF: COTIZACION		
Con todo gusto le cotizamos lo siguiente productos:		
Código	Descripción	Precio Total
10231	CANDIDA ALBICANSC	C 163,8000
16404	ASPERGULLUS BRASILIENSIS	C 163,800
8739	ESCHERICHIA COLI	C 163,8000
9027	PSEUDOMONAS AEROGINOSA	C 163,8000
6538	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	C 163,8000
SUBTOTAL:		819,000-
I.V.A.:		-
Total:		819,000
Tiempo de entrega: 45 días hábiles. Validez de la oferta: Treinta días naturales		
Sin otro en particular y esperando complacer su solicitud,		
OFICINA		
		

Anexo 9: Cotización de medios de cultivo VarMedical®

COTIZACION					
 VAR MEDICAL S. A. ALAJUELA - COSTA RICA Telefono: 40001230 Fax: 24302683 Email 1: info@varmedical.com Email 2: info@varmedical.com Pag. Web: www.varmedical.com Cédula: 3101665823		COT-021241			
		Pag: 1			
		29-10-2019			
CLIENTE: CLIENTE			TERMINOS: CREDITO		
DIRECCIÓN:			VALIDO: 28-11-2019		
TELÉFONO:			REF INT: 30 DIAS HABILES		
CONTACTO:			REF EXT: 30 DIAS NATURALES		
VENDEDOR: OFICINA					
NOTA1:					
NOTA2:					
CODIGO	DESCRIPCION	CANT	UND	PRECIO/UNIT	MONTO
REAPREP0016	AGAR SABOURAUD DEXTROSE. PLACAS 90	1	PAQUET	5,900.00	5,900.00
REAMEDI0094	SABOURAUD DEXTROSE BROTH.	1	FRASCO	19,500.00	19,500.00
REAPREP0020	AGAR MACCONKEY.PLACAS 90 MM,	1	PAQUET	5,900.00	5,900.00
REAMEDI0038	AGAR MAC CONKEY, DESHIDRATADO 500 G.	1	FRASCO	31,500.00	31,500.00
REAMEDI0020	CALDO RAPPAPORT VASSIALIDIS,	1	FRASCO	24,300.00	24,300.00
REAMEDI0032	AGAR PSEUDOMONAS (CETRIMIDA),	1	FRASCO	34,100.00	34,100.00
REAPREP0019	AGAR MANITOL SAL. PLACAS 90 MM,	1	PAQUET	5,900.00	5,900.00
REAIDMI0017	TUBOS DE CALDO TIOGLICOLATO (20	1	CAJA	21,000.00	21,000.00
				Sub Total:	¢ 148,100.00
				Descuento:	¢ 0.00
				Impuesto:	¢ 0.00
				Total:	¢ 148,100.00
MONTO EN LETRAS: CIENTO CUARENTA Y OCHO MIL CIEN CON 00/100					
Recibido por: _____					
Nombre:		Firma:		Cédula:	