

**VERIFICACIÓN DEL GRADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRÁCTICAS DE
LABORATORIO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS SEGÚN LA RESOLUCIÓN 3619-2013 DE MINISTERIO DE
SALUD Y PROTECCIÓN EN ANALTEC LABORATORIOS S.A.S SEDE MEDELLÍN**

MARIAN ARLIETH HINOJOSA BORREGO

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA – NORTE DE SANTANDER
2015**

**VERIFICACIÓN DEL GRADO DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRÁCTICAS DE
LABORATORIO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS SEGÚN LA RESOLUCIÓN 3619-2013 DE MINISTERIO DE
SALUD Y PROTECCIÓN EN ANALTEC LABORATORIOS S.A.S SEDE MEDELLÍN**

**MARIAN ARLIETH HINOJOSA BORREGO
TRABAJO DE PRÁCTICA EMPRESARIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
MICROBIÓLOGO**

**ASESORA:
ANA MERCEDES SÁNCHEZ SÁNCHEZ
BACTERIÓLOGA – DIRECTORA TÉCNICA DE MICROBIOLOGÍA
ANALTEC LABORATORIOS S.A.S.**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA – NORTE DE SANTANDER
2015**

Nota de aceptación:

Firma del Primer Jurado

Firma del Segundo Jurado

Pamplona (Norte de Santander-Colombia), 3 de Diciembre de 2015

DEDICATORIA

Quiero dedicar este gran logro en mi vida primero que todo a Dios, por encaminarme, darme las fuerzas para no rendirme y sobre todo confiar en mí misma, a mi madre, una mujer luchadora quien siempre me brindó su apoyo incondicional y me dio la oportunidad de estar hoy donde estoy, mis hermanos y mi padre porque siempre estuvieron allí dándome ánimos y pendientes de todo mi proceso, y a mis amigos por estar conmigo en las buenas y en las malas.

“Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas.” Josue 1:9.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Luz Elena de Analtec Laboratorios S.A.S por haberme brindado la oportunidad de realizar mis prácticas profesionales en sus instalaciones, por haber creído en mis capacidades y confiado en mí.

A Ana Mercedes Sánchez, Gabriel Ospino Torres, y Andrés Ávila Mendoza, por el apoyo incondicional durante mi proceso como pasante.

Al personal docente de la universidad de Pamplona por los conocimientos adquiridos por parte de ellos.

A Carlos Barrabía por llenarme con sus palabras, por sus consejos y por enseñarme que en la vida no hay que dejar las cosas a medias.

"Dad gracias en todo, porque esta es la voluntad de Dios para con vosotros en Cristo Jesús." 1 Tesalonicenses 5:18.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| 1. OBJETIVOS..... | 12 |
| 1.1 OBJETIVO GENERAL..... | 12 |
| 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 12 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 13 |
| 3. MARCO REFERENCIAL..... | 14 |
| 3.1 BASES LEGALES..... | 14 |
| 3.1.1 NTC ISO/IEC 17025:2005:..... | 14 |
| 3.1.2 Resolución 3619 de 2013 de Ministerio de Salud y Protección. | 14 |
| 3.1.3 Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica, 2013. | 14 |
| 3.1.4 USP 38 – NF 33..... | 14 |
| 3.2 ANTECEDENTES..... | 15 |
| 3.3 SISTEMA TEÓRICO..... | 16 |
| 3.3.1 Medicamentos | 16 |
| 3.3.2 Sala blanca | 18 |
| 3.3.3 Integridad de formulaciones..... | 20 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS | 23 |
| 4.1 REVISIÓN DOCUMENTAL..... | 23 |
| 4.2 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD..... | 23 |
| 4.2.1 Equipos: Verificación y optimización de condiciones metrológicas..... | 23 |
| 4.2.2 Instalaciones y condiciones ambientales | 24 |
| 4.2.3 Control esterilización..... | 26 |
| 4.2.4 Preparación, conservación y control de calidad de medios de cultivo | 27 |
| 4.3 ESTANDARIZACIÓN INÓCULO BACTERIANO | 28 |
| 4.3.1 Reactivación y conservación de material de referencia certificado (Cepas) | 28 |
| 4.3.2 Verificación del Nefelómetro Desincheck..... | 29 |
| 5 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES | 31 |
| 6 RESULTADOS Y ANÁLISIS | 32 |
| 6.1 REVISIÓN DOCUMENTAL..... | 32 |
| 6.2 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD..... | 36 |
| 6.2.1 Verificación y optimización de condiciones metrológicas | 36 |
| 6.2.2 Instalaciones y condiciones ambientales | 43 |

| | | |
|-------|---|----|
| 6.2.3 | Control esterilización..... | 47 |
| 6.2.4 | Preparación, conservación y control de calidad de medios de cultivos. | 49 |
| 6.3 | ESTANDARIZACIÓN INÓCULO BACTERIANO..... | 52 |
| 6.3.1 | Reactivación y conservación de material de referencia certificado (Cepas). | 52 |
| 6.3.2 | Verificación del Nefelómetro DensiCHECK | 54 |
| 7. | CONCLUSIONES | 61 |
| 8. | RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS..... | 62 |
| 9. | GLOSARIO | 63 |
| | BIBLIOGRAFÍA..... | 66 |
| | ANEXOS..... | 69 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 medios de cultivo evaluados, cepas diana e interferentes con sus respectivos tiempos y temperatura de incubación..... | 27 |
| Tabla 2. Cronograma de actividades | 31 |
| Tabla 3. Diferencias de la gestión de informes de la Resolución 3619 de 2013 que deberían implementarse en la NTC ISO/IEC 17025:2005..... | 33 |
| Tabla 4. Requisitos de instalaciones, calidad de aire y equipos necesarios de acuerdo a la guía BPL de la OMS..... | 34 |
| Tabla 5. Control de equipos de volumen. | 41 |
| Tabla 6. Verificación limpieza y desinfección..... | 46 |
| Tabla 7. Verificación de la temperatura crecimiento del microorganismo <i>Geobacillus stearothermophilus</i> utilizado en el Bioindicador Sterikon. | 47 |
| Tabla 8. Verificación de la termoresistencia del microorganismo <i>Geobacillus stearothermophilus</i> en condiciones de esterilización. | 47 |
| Tabla 9. Control Productividad, selectividad y recuperación de medios de cultivo sólidos..... | 49 |
| Tabla 10. Control de esterilidad medios de cultivo. | 51 |
| Tabla 11. Control del uso del material de referencia certificado | 52 |
| Tabla 12. Formato verificación del rendimiento DensiCHECK..... | 54 |
| Tabla 13. Resultados estandarización McFarland 0.5 dilución 10^{-7} | 56 |
| Tabla 14. Resultados estandarización McFarland 1 dilución 10^{-7} | 56 |
| Tabla 15. Resultados estandarización McFarland 2 dilución 10^{-7} | 57 |
| Tabla 16. Resultados estandarización McFarland 3 dilución 10^{-7} | 57 |
| Tabla 17. Resultados estandarización McFarland 4 dilución 10^{-7} | 58 |
| Tabla 18. Resultados estandarización McFarland, Comparación de los promedios experimentales analista 1 y 2 Vs valor experimental..... | 59 |

LISTA DE IMÁGENES

| | |
|--|----|
| Imagen 1. Cumplimiento de cronograma, Calibración externa con Laboratorio Acreditado por ONAC bajo la norma NTC ISO/IEC 17025:2005..... | 37 |
| Imagen 2. Verificación diaria de balanza antes de uso para análisis microbiológico.... | 40 |
| Imagen 3. Verificación micropipetas antes de uso para análisis microbiológico..... | 42 |
| Imagen 4. Instalaciones de análisis microbiológico Analtec Laboratorios | 43 |
| Imagen 5. Verificación de la termoresistencia. | 48 |
| Imagen 6. Reactivación de cepas de referencia certificada, conservadas en congelación a -30°C, en sistema de crioperlas Copan..... | 53 |
| Imagen 7. Verificación del Rendimiento DensiCHECK plus Biomereux. | 55 |

LISTA DE GRÁFICAS

| | |
|--|----|
| Gráfica 1. Formato Digital, carta de control equipos de temperatura | 38 |
| Gráfica 2. Carta control equipos de masa. | 39 |
| Gráfica 3. Formato digital carta control condiciones ambientales Temperatura (t°) y humedad relativa (%HR). | 45 |
| Gráfica 4. Comparación resultados estandarización de inóculos experimentales Vs valor de referencia (teórico). | 60 |

INTRODUCCIÓN

En la actualidad Analtec Laboratorios S.A.S sede Medellín, dentro del amplio portafolio de servicios ofrecidos a sus clientes establece la necesidad de certificarse también en la realización de análisis a productos farmacéuticos independiente de las características de los mismos (estériles y no estériles).

Ahora bien, en este trabajo se plantea fortalecer el sistema documental relacionado con el campo farmacológico, al igual que la implementación del sistema de gestión de calidad del laboratorio de microbiología con el fin último de brindar herramientas útiles en la obtención de la certificación ante el INVIMA.

La certificación ante un ente regulatorio, es la acción mediante la cual se emite una calificación de aprobación, que es el resultado de una evaluación e inspección de ciertos criterios que se tienen en cuenta de manera obligatoria basados en una norma o resolución específica para la realización de una función en particular.

La industria farmacéutica se encarga de la fabricación de productos químicos o naturales destinados a la prevención y tratamiento de enfermedades, por lo que se encuentra estrictamente regida por una serie de normativas que cobijan todo el ciclo productivo; entendido entonces desde la implementación del sistema de gestión de calidad del laboratorio hasta la comercialización de los productos obtenidos. Por lo citado anteriormente, esta industria en especial se encuentra siempre vigilada por instituciones que ejercen funciones de inspección, vigilancia y control de los productos comercializados así como a los laboratorios encargados de evaluar la calidad microbiológica de los mismos, es decir, estos últimos tienen la responsabilidad de entregar resultados confiables y seguros que confirmen que no representa ningún problema al tener contacto con los seres humanos.

Aunado a lo anterior, la resolución número 3619 de 2013 del Ministerio de Salud y Protección, establece los requisitos para implementar las buenas prácticas de laboratorio de control de productos farmacéuticos. Esta resolución se tendrá en cuenta para la implementación del sistema de gestión de la calidad y documentación, fundamentado en apoyar la certificación del laboratorio de microbiología de Analtec Laboratorios S.A.S sede Medellín en cuanto al análisis de productos farmacéuticos. De otro lado, con ayuda de la guía de la OMS sobre buenas prácticas para laboratorios farmacéuticos de microbiología (Referencia QAS/09.297) se fortalece además del sistema de gestión todo lo relacionado con requisitos y la praxis de muestras de origen farmacológico.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Comparar los requisitos de la Resolución 3619 de 2013 del Ministerio de salud y Protección con la NTC ISO/IEC 17025:2005 —Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y/o Calibración para su verificación y posterior implementación en Analtec Laboratorios S.A.S.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Asegurar el control de calidad analítico de los equipos críticos utilizados en análisis microbiológicos que cumplen con la NTC ISO/IEC 17025:2005 y que a su vez cumplen con lo estipulado por la Resolución 3619 de 2013.
- Verificar que las condiciones del ambiente, superficies del área de trabajo y los medios de cultivo a emplear están aptos para la realización de cualquier ensayo descartando todo tipo de contaminación e interferentes que invaliden los resultados a obtener.
- Estandarizar la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 como inicio de la implementación de la Resolución 3619 de 2013 para posteriores estudios de validación y confirmación de métodos microbiológicos de productos farmacéuticos.

2. JUSTIFICACIÓN

Analtec Laboratorios S.A.S sede Medellín, es una empresa en donde se realizan análisis microbiológicos y fisicoquímicos de aguas, alimentos y a fines, los cuales están orientados a brindar una herramienta eficaz y oportuna a todos sus clientes en los análisis que este requiera; buscando fortalecer lo relacionado con todo el proceso productivo (sistema de gestión, procedimientos y/o metodologías, personal idóneo, entre otras) que conlleve a brindar seguridad y confiabilidad en los resultados que se emitan independientemente el tipo de matriz que sea analizada en el laboratorio.

En vista de la necesidad que tienen las empresas de comercializar productos que cumplan los estándares de calidad, relacionadas con el campo farmacéutico; Analtec Laboratorios S.A.S sede Medellín proyecta certificarse como un laboratorio líder en el análisis de productos farmacéuticos al implementar los requisitos exigidos en la Resolución 3619 “Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio de Control de Productos Farmacéuticos” para realizar análisis microbiológicos de estos productos con el fin de ampliar su competencia y liderazgo en el mercado.

Debido a que el laboratorio actualmente se encuentra acreditado antes el IDEAM bajo la Norma Internacional NTC ISO/IEC 17025:2005 para la realización de ensayos microbiológicos y fisicoquímicos en aguas crudas y residuales, se hace necesario comparar los requerimientos de la Resolución 3619 con dicha norma y, así buscar los requisitos que las hacen diferentes e implantarlos logrando cumplir con las exigencias de un laboratorio de análisis de productos farmacéuticos.

La implementación de este sistema analítico, amplía las posibilidades del laboratorio al mercado competitivo ya que esto brinda mayor confianza y reconocimiento frente a los clientes quienes en últimas desean que sus resultados estén respaldados por un ente regulatorio que asegura la competencia en la praxis del ensayo que se realice.

Por lo explicado anteriormente, se pretende estandarizar la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 para la posterior validación de análisis microbiológico de un producto farmacéutico de característica estéril siguiendo los lineamientos establecidos por la United States Pharmacopeial (USP) 38 NF 33 2015, logrando evidenciar así competencia y aptitud en la realización de ensayos que estén directamente relacionados con el sector farmacéutico.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 BASES LEGALES

3.1.1 NTC ISO/IEC 17025:2005:

Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y/o Calibración.

3.1.2 Resolución 3619 de 2013 de Ministerio de Salud y Protección.

Por la cual se expide el Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, se establece la guía de evaluación y se establecen otras disposiciones.

3.1.3 Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica, 2013.

Guía destinada a todos los laboratorios microbiológicos implicados en ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos filamentosos) y pruebas de endotoxinas bacterianas en diferentes materiales (ej. Materias primas, agua), productos, superficies, vestimentas y el ambiente, valoraciones usando microorganismos como parte del sistema de pruebas.

3.1.4 USP 38 – NF 33

Farmacopea de los Estados unidos y formulario nacional 2015.

3.2 ANTECEDENTES

La importancia de la acreditación de un laboratorio en la realización de análisis microbiológicos enfocados al campo farmacológico debe sentarse en el impacto que estos productos tienen en la salud del ser humano. Partiendo de ello, lo que se quiere evaluar es la carga o impacto de un microorganismo (ya sea bacteria, levadura, moho, etc.) en un producto de origen farmacológico resaltando la importancia de la evaluación de la calidad de cualquier sustancia que se desee utilizar de manera directa sobre un organismo en particular.

Es así como en Estados Unidos, un estudio realizado y soportado por organismos como la FDA y la EPA centra su atención para la implementación de BPL en laboratorios especialmente los que no son de índole clínico; buscando ajustar dichos laboratorios a estas prácticas brindando un enfoque más al sistema de calidad tras la aplicación de dichas prácticas en los laboratorios de análisis (Wedlich, *et al* 2013).

Actualmente existen diferentes metodologías relacionadas con farmacología fundamentadas con la Resolución 3619/2013, las cuales regulan y establecen criterios en la praxis de metodologías basadas en la evaluación de productos relacionados con productos farmacéuticos. Lo anterior se menciona con el fin de resaltar la importancia de realizar ensayos farmacológicos *in vitro*, que eviten el uso de animales en este campo de investigación. Un estudio llevado a cabo en India, resalta la importancia de realizar pruebas de calidad y seguridad para la aprobación reglamentaria de los medicamentos y productos farmacéuticos en ese país para garantizar normas mínimas de seguridad, aclarando en la prohibición del uso de animales para lograr dicho propósito; obligando entonces a diseñar herramientas que demuestren ser eficaces en asegurar la calidad de estos productos (Rastogi, *et al* 2015).

Así mismo en otro estudio realizado en Missouri, un grupo de estudiantes centró un proyecto en determinar la importancia de la calidad de los fármacos que son suministrados a ciertos pacientes. Aquí lo que pretendían determinar entre otras cosas es la concentración real y el efecto de la sustancia que se administra como la calidad de la misma ya que esto puede afectar las preparaciones farmacéuticas y el propósito inicial de las mismas (Bucholtz, *et al* 2010).

Analtec Laboratorios S.A.S es una empresa dedicada a la prestación de servicios de análisis microbiológico y fisicoquímico en la industria alimentaria y ambiental, con una trayectoria de 30 años. Para el año 2008 como una posibilidad de ampliar su portafolio de servicios incursionó en el ámbito farmacéutico posicionándose como un laboratorio en la prestación de servicios microbiológicos en la toma de muestras ambientales (superficies, ambientes) de áreas controladas (centrales de mezclas, quirófanos, entre otros); además la realización de ensayos

microbiológicos a productos estériles y no estériles. Para asegurar la calidad de dichos análisis la dirección del laboratorio decide mejorar la infraestructura, construyendo las áreas con aire calificado, (CFLH ISO 5, área de preparaciones ISO 7, pass through de ingreso y salida ISO 7 y una esclusa de personal ISO 7), dando cumplimiento parcial a la Resolución No 003619 de 2013 del Ministerio de Protección Social.

Para el año 2015 surge la necesidad de avanzar en el cumplimiento de la resolución anteriormente mencionada con el fin de obtener certificación de Buenas Prácticas de Laboratorios (BPL) ante el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), por lo que se realizó una revisión exhaustiva de la Resolución 3619 de 2013 dejando las bases necesarias para continuar con los procesos de validación de los métodos de ensayos microbiológicos y así solicitar la respectiva visita del ente de control INVIMA, para evaluar el nivel de cumplimiento del laboratorio.

3.3 SISTEMA TEÓRICO

3.3.1 Medicamentos

Los medicamentos son productos utilizados para auxiliar en la cura, prevención y diagnóstico de enfermedades. Estos productos tienen como base una o más sustancias – el denominado principio activo (fármaco). No se debe pensar que medicamentos y drogas son la misma cosa. El término droga designa a cualquier sustancia de origen animal, vegetal o mineral de donde es extraído el principio activo (fármaco). Adicionalmente, en Brasil y en otros países de América Latina, la palabra droga se relaciona generalmente con sustancias ilícitas que producen dependencia física, síquica o química, como la marihuana, el opio y la cocaína, entre otras. El término fármaco, por su parte, se refiere de forma específica al principio activo aislado que es la sustancia que ejerce la acción en el organismo y será la base del medicamento (Mendoza, *et al* 2009).

3.3.1.1 Características del medicamento que pueden determinar la calidad

La calidad de un medicamento es determinada por las características del propio producto y por el cumplimiento de las buenas prácticas de fabricación. Estas son las características principales:

- Identidad: indica que el producto contiene, de hecho, lo que el fabricante dice que contiene, es decir, es la presencia de los ingredientes descritos en el rótulo del producto farmacéutico.
- Pureza: indica que el producto no sufrió contaminación con otras sustancias, sean de origen química (ej: aceites o solventes), biológica (ej: bacterias, hongos, sangre, tejidos orgánicos o excrementos) o física (ej: polvo u otras partículas), o incluso de otros medicamentos.
- Potencia: indica la capacidad del medicamento de producir los resultados deseados. Esta característica tiene más relación con los agentes anti-infecciosos como los antibióticos y antirretrovirales.
- Concentración: es la cantidad del principio activo (fármaco) contenida en una unidad del medicamento – en un comprimido, una ampolla o una medida de líquido (cucharadita, cucharada, 5 ml, 15 ml), por ejemplo.
- Uniformidad: indica que todas las unidades del medicamento producido (cada comprimido, cada ampolla, etc.) poseen igual cantidad del principio activo. Por lo tanto, dos comprimidos producidos por el mismo fabricante deben tener cantidades iguales o tan equivalentes de principio activo que la diferencia no interfiera en el efecto.
- Estabilidad: se refiere a la capacidad del medicamento de mantener en el tiempo sus características originales dentro de las especificaciones establecidas.
- Biodisponibilidad: mide la capacidad del fármaco para desempeñar su actividad en el organismo. Está relacionada con el proceso de absorción del fármaco por el organismo y es analizada por dos aspectos básicos: la medida de la cantidad del fármaco que llega a la corriente sanguínea y la velocidad con que esto sucede. Es a partir de la corriente sanguínea que el fármaco llega al órgano sobre el cual deberá actuar (Mendoza, *et al* 2009).

3.3.2 Sala blanca

La fabricación de productos estériles (terapias avanzadas) debe llevarse a cabo en zonas limpias. El acceso a estas zonas debe realizarse a través de esclusas reservadas para el personal y/o los equipos y materiales filtrados a través de filtros de eficacia pertinente. Las zonas limpias deben mantener un nivel de limpieza adecuado y han de estar dotadas de un exhaustivo control de la calidad del aire. Un laboratorio de producción celular debe cumplir los requisitos mínimos para que el producto a fabricar sea aséptico. Estas instalaciones se denominan salas blancas, salas GMP o salas limpias. Deben considerarse varios aspectos, a saber:

- La protección del producto.
- La protección del personal.
- La protección del medio ambiente.

Una sala blanca es una sala especialmente diseñada para obtener bajos niveles de contaminación. Estas salas tiene que tener los parámetro ambientales estrictamente controlados: partículas en aire, temperatura, humedad, flujo de aire, presión interior del aire, iluminación. En todos los sistemas de acondicionamiento de aire, el sistema de filtración a seleccionar, debe prever la retención apropiada de las partículas procedentes del exterior. El riesgo de contaminación cruzada debe ser necesariamente evaluado para diseñar correctamente la sala blanca (Gálvez, *et al* 2010).

3.3.2.1 Clasificación de las salas blancas

Por el grado de pureza del aire interior: Las salas blancas se clasifican en función de la limpieza de su aire. La Organización Internacional de Normalización (ISO) ha publicado varias normas al respecto, redactadas por diversos comités de expertos, designados por los Estados en todo el mundo.

- Por el flujo del aire: por el tipo de flujo, las salas blancas se agrupan en flujo multidireccional y unidireccional. En el primero el régimen de movimiento del aire es turbulento mientras que en el segundo es laminar (Gálvez, *et al* 2010).

3.3.2.2. Grados de aire para la fabricación de medicamentos estériles

- Grado A: zona local donde se realizan operaciones específicas de alto riesgo tales como la zona de llenado, de bandejas de tapones, de ampollas y viales abiertos y de realización de conexiones asépticas.

- Grado B: entorno para la zona de grado A en el caso de preparación y llenado asépticos.
- Grados C y D: zonas limpias para realizar fases menos críticas de la fabricación de productos estériles.

Para alcanzar los grados de aire A, B, C y D, el número de renovaciones de aire debe estar relacionado con la dimensión de la sala y los equipos y personal presentes en ella; el sistema de aire debe tener filtros apropiados como los HEPA para los grados A, B y C. El filtro HEPA no se menciona para el grado D (Gálvez, *et al* 2010).

3.3.2.3. Calidad del aire de una sala blanca

La fabricación de medicamentos estériles está sujeta a requisitos especiales para minimizar los riesgos de contaminación microbiana, de partículas y de pirógenos. Depende en gran medida de la habilidad, formación y actitud del personal implicado.

A fin de cumplir las condiciones “en funcionamiento”, una sala blanca debe diseñarse de forma que alcance ciertos niveles específicos de limpieza del aire cuando estén “en reposo”.

- La situación “en reposo” es aquella en que la instalación está completa con el equipo de producción instalado y en funcionamiento pero sin que esté presente el personal.
- La situación “en funcionamiento” es aquella en que la instalación está funcionando de la forma definida de trabajo con el número de personas definidas trabajando:

a) Para alcanzar los grados B, C y D, el número de renovaciones de aire deberá ir en función del tamaño de la sala, así como del equipamiento y el personal presentes en la sala. El sistema de aireación debe estar equipado con filtros apropiados, como los filtro HEPA para los grados A, B y C.

(b) La directiva relativa al número máximo de partículas autorizado para el estado "de pausa" corresponde aproximadamente a la norma federal 209E (EE.UU.) y a las clasificaciones ISO como sigue: los grados A y B corresponden a las clases 100, M 3.5, ISO 5; el grado C a las clases 10.000, M 5.5, ISO 7 y el grado D a las clases 100.000, M 6.5, ISO 8.

En los laboratorios el ensayo de esterilidad se debe llevar a cabo dentro de una zona protegida con flujo de aire unidireccional de Grado A o una cabina de

bioseguridad (si se justifica), que debe localizarse dentro de un cuarto limpio con un entorno de Grado B. Alternativamente, el ensayo puede realizarse dentro de un aislador. Se debe tener cuidado con el diseño de las instalaciones y los patrones de flujo de aire de los ambientes, para asegurar que el flujo de aire unidireccional no sea perturbado. El aire suministrado a las zonas de Grado A y B debe filtrarse a través de filtros HEPA terminales (OMS, 2013).

3.3.3 Integridad de formulaciones

La formulación de sistemas químicos complejos destinados a uso humano, abarca un amplio sector del mercado de productos, tanto terapéuticos como de consumo. La implicación del farmacéutico durante el diseño y control de tales sistemas, deriva, además de por su posible finalidad o utilidad terapéutica, de los requisitos sanitarios y de seguridad de dichos productos compartan, aspectos para los que resulta indiscutible su capacitación profesional (Montero, 2014).

3.3.3.1. Inestabilidad microbiológica

Las condiciones de cultivo, cosecha y tratamiento de las sustancias o preparados vegetales (plantas, algas, hongos, líquenes, exudados, extractos y fermentaciones vegetales), especialmente susceptibles al ataque y proliferación microbiana, son recogidas en la directriz europea sobre Buenas Prácticas Agrícolas, del comité HMPC de medicamentos a base de plantas, obligatoria para los proveedores de dichas sustancias. También son importantes en el caso de los medicamentos inmunológicos (vacunas) de uso humano o veterinario, producidos a partir de pollos, embriones y cultivos celulares animales, así como en los piensos medicamentosos y en los denominados “preparados a base de órganos animales”, definidos en la terapéutica homeopática. Los medicamentos biológicos obtenidos a partir de tejidos (hemoderivados, enzimas, hormonas, etc.), por propagación de agentes vivos en embriones animales (sueros), o por fermentación de cultivos microbiológicos (vitaminas, aminoácidos, polisacáridos usados en fluidoterapia, etc.), pueden presentar, así mismo, un riesgo potencial en este sentido. Algunas de estas toxoinfecciones emergentes han sido recientemente incluidas en farmacopea, como la de encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET), que recoge materias primas involucradas en su transmisión, como el colágeno, gelatina, carbón animal, derivados de la lana, aminoácidos, hemoderivados bovinos y leche y sus derivados (Montero, 2014).

3.3.4. Microorganismos de importancia farmacéutica

Los organismos que más interesan en microbiología de formas farmacéuticas, son los quimiorganótrofos, que utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y de carbono. Por definición, dichos microorganismos son heterótrofos. Así, muchos componentes pueden ser metabolizados por los microorganismos, si se encuentran a bajas concentraciones, como el sorbitol y la glicerina (<5%), o los tensioactivos no iónicos, entre otros.

Como fuente de nitrógeno es habitual la necesidad de aminoácidos, aunque especies como *Escherichia coli*, pueden utilizar nitratos o amoníaco. Otros factores de crecimiento, como vitaminas, purinas, minerales, etc, varían notablemente, incluso de cepa a cepa, para una misma especie.

Debe prestarse especial atención, a preparados líquidos que contengan hidratos de carbono y vitaminas o abundancia de aminoácidos, verdaderos caldos de cultivo para el crecimiento microbiano, como es el caso de las soluciones para nutrición enteral o parenteral, o derivados de origen animal o vegetal. Así, la causa principal de putrefacción de los tejidos vegetales es la degradación de pectina por enzimas pectolíticas presentes en numerosos microorganismos. El almidón también es hidrolizado por la amilasa presente en determinadas bacterias y hongos, mientras que sólo unas pocas especies lo hacen sobre la celulosa. Los disacáridos como la maltosa, lactosa o sacarosa, son descompuestos en sus monosacáridos correspondientes (Montero, 2014).

Las endotoxinas bacterianas son complejos de lipopolisacáridos (LPS) de alto peso molecular que constituyen el principal componente de la pared celular de las bacterias Gram negativas patógenas o no patógenas tales como *E. coli*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Haemophilus* y otros. Las células viables producen pequeñas cantidades de endotoxinas durante su vida, pequeñas cantidades pueden ser liberadas en forma soluble especialmente por los cultivos jóvenes, sin embargo la mayor cantidad tiene lugar después de la muerte y lisis de la célula bacteriana. Durante casi 100 años, el término endotoxina ha descrito una toxina termoestable, pirógena y potencialmente letal de las bacterias Gramnegativas que se había constituido en una plaga para la Industria farmacéutica pues la administración de fármacos contaminados con éstas producía complicaciones e incluso la muerte de los pacientes.

Durante la elaboración de productos inyectables hay que tomar todas las medidas concebibles para evitar la contaminación pirogénica, así como disponer de un

ensayo confiable de control en el producto terminado. En los últimos años, los principales organismos reguladores de productos farmacéuticos (Farmacopeas) exigen cada vez más en sus monografías la aplicación del método del lisado de amebocitos de *Limulus* (LAL) para la liberación de pirógenos en productos terminados parenterales. El análisis de pirógenos constituye uno de los principales ensayos en el control de calidad de la fabricación de inyectables por su repercusión en la salud humana, puesto que la presencia y administración de los mismos, es capaz de provocar una serie de respuestas fisiológicas, en su mayoría de carácter perjudicial y en casos extremos, la muerte del paciente. Por las razones anteriores, existe un creciente interés en el conocimiento y dominio de estos métodos (Osorio, 2011).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 REVISIÓN DOCUMENTAL

Se realizó la búsqueda bibliográfica de la Resolución 3619 de 2013 y la NTC ISO/IEC 17025:2005 y se observó que existen ítems en común en la tabla de contenido; luego se hizo una lista de estos y siguiendo el orden secuencial de la NTC ISO/IEC 17025:2005 se hizo lectura paralela resaltando así las diferencias y las similitudes existentes entre ambas. Por último se leyeron aquellos ítems que no compartían y se buscó si existía correlación y/o diferencia entre las dos.

4.2 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

4.2.1 Equipos: Verificación y optimización de condiciones metrológicas

Antes de ejecutar un método de análisis microbiológico, el laboratorio debe asegurar que los equipos que intervienen en los análisis, se encuentren en óptimas condiciones, esto con el fin de que no se presenten desviaciones significativas que puedan afectar la confiabilidad de los datos analíticos para dar cumplimiento al numeral 5.5 de la norma NTC ISO/IEC 17025 del 2005. Para esto se diseñaron diferentes actividades encaminadas al aseguramiento metrológico, tales como:

4.2.1.1 Verificación de mantenimiento y calibración de equipos

Los equipos cuentan con un plan de mantenimiento preventivo, lo que permite tener a punto los diferentes equipos junto con los que son considerados como críticos e intervienen directamente sobre la calidad de los resultados; estos, son sometidos a procesos de calibración por laboratorios externos acreditado bajo la norma NTC ISO/IEC 17025:2005 ante el Organismo Nacional de Acreditación (ONAC). El control de este programa está estipulado en el **“Procedimiento mantenimiento de equipos e infraestructura, del proceso de Gestión de Recursos Físicos, versión 01”**.

El estado de este plan es registrado en el formato **“Listado de equipos, del procedimiento mantenimiento de equipos e infraestructura, versión 04”**.

4.2.1.2 Verificación y control de equipos de temperatura

Con el fin de asegurar el cumplimiento de las condiciones exigidas por los métodos normalizados de análisis, Analtec laboratorios cuenta con un sistema de verificación y control de temperatura, que consiste en realizar lecturas de los equipos y registrar los datos en las respectivas cartas de control; los termómetros utilizados en este proceso han sido verificados y comparado con respecto a el termómetro patrón FQ 032 que se encuentra calibrado por un ente acreditado bajo la norma NTC ISO/IEC 17025:2005 ante el ONAC, este proceso es de vital importancia, ya que asegura que los métodos de ensayos que se ejecutan en el laboratorio de microbiología cumplen con las exigencias de los respectivos métodos normalizados.

4.2.1.3 Verificación y control de equipos de masa

Las balanzas utilizadas en el laboratorio de microbiología son verificadas a diario antes del uso, para esto se realizó mediciones con unas masas patrón de característica F1, los resultados obtenidos de este proceso se registró en el formato **“Control de equipo de masa, del instructivo de aseguramiento metrológico, Versión 03”**, este formato es una carta de control que de acuerdo al tipo de balanza tiene un criterio de aceptación, si al momento de realizar la verificación el resultado se encuentra por fuera del criterio, el equipo no se debe utilizar en actividades de análisis, se debe identificar como inactivo y notificar al Director Técnico.

4.2.1.4 Verificación y control de equipos de volumen

Al igual que las balanzas, las micropipetas y demás elementos volumétricos fueron verificados antes del uso, las mediciones fueron registradas en el formato **“Control equipos de volumen del instructivo de aseguramiento metrológico, Versión 03”**, las micropipetas que son verificadas deben estar dentro de los criterios de aceptación, de no estar conformes, dichos equipos son identificados como inactivos y se procede a notificar al Director Técnico.

4.2.2 Instalaciones y condiciones ambientales

La dirección de calidad con el apoyo de los Directores Técnicos del laboratorio han diseñado un “procedimiento control de condiciones ambientales, perteneciente al

proceso de gestión de recursos”, en dicho procedimiento se establecen las normas del control de condiciones ambientales en los laboratorios de Físicoquímica, Microbiología y Muestreo ambiental, de manera que dichas instalaciones no afecten los resultados emitidos por Analtec Laboratorios y se cumplan los requisitos técnicos del numeral 5.3 de la norma NTC ISO/IEC 17025:2005.

4.2.2.1 Seguimiento y control de condiciones ambientales

El monitoreo y control de las condiciones ambientales (Temperatura y % de humedad relativa) se realizó con termohigrómetros, los cuales fueron verificados con respecto al patrón de referencia MB 065, que ha sido calibrado por un ente acreditado bajo la norma NTC ISO/IEC 17025:2005 ante el ONAC.

Los termohigrómetros de esta manera cuentan con factores de corrección para temperatura (°C) y % de humedad relativa (%HR), esto permite trabajar con un valor “real” de las condiciones ambientales del laboratorio.

Se ha definido que las instalaciones de Microbiología se deben mantener a una temperatura $\leq 27^{\circ}\text{C}$ y un %HR no mayor al 65 %HR.

Se realizaron dos lecturas diarias, una en la mañana y una al finalizar la jornada laboral, los datos obtenidos de dichas lecturas fueron registrados en el formato **“Control de Condiciones ambientales, del procedimiento de Condiciones Ambientales, versión 03”**.

4.2.2.2 Control y verificación de los procesos de limpieza y desinfección.

Las actividades de limpieza y desinfección se encuentran documentadas en el **“Plan de Limpieza y Desinfección, del procedimiento de Condiciones Ambientales, versión 01”**.

En dicho documento están establecido los desinfectantes a utilizar, los procedimientos operativos estandarizados de sanitización POE’S y la manera de verificar que los procesos de limpieza y desinfección son efectivos.

Una vez ejecutadas las actividades de limpieza y desinfección se realizaron muestreos de ambientes y superficies de las diferentes áreas del laboratorio de Microbiología, estas muestras fueron analizadas por un analista como si se tratase de una muestra de un cliente, esto con el fin de evitar sesgos y que los resultados obtenidos reflejen el verdadero estado de dichas áreas analizadas. Los resultados se registraron en el formato **“Verificación Limpieza y Desinfección, del Plan de Limpieza y desinfección, Versión 03”**.

4.2.2.3 Toma de muestras ambientales (método de impactación)

Para evaluar el ambiente en el laboratorio se utilizó un equipo (impactador biológico de aire) usando una absorción de 1000 L; se quitó el cabezote, seguido a esto se ubicó la caja Petri en el mismo y la tapa de manera invertida sobre una superficie plana, los medios de cultivos usados fueron Agar Plate Count para aerobios mesófilos y Agar Sabouraud para mohos y levaduras dispuestos en el receptáculo del equipo; posteriormente se ubicó el cabezote en el equipo y se oprimió el botón de inicio.

Una vez el equipo terminó de tomar la muestra, se retiró el cabezote y la caja de Petri la cual se tapó y rotuló con la información correspondiente (USP 38) para brindar condiciones de tiempo y temperatura correspondiente a cada medio.

4.2.2.4 Toma de muestras de superficies

Para desarrollar esta metodología en el laboratorio fue necesario el uso de un escobillón estéril el cual se humedeció por inmersión en un tubo que contenía agua peptona estéril al 0.1%, luego se removió el exceso de agua peptona y así se dispuso el escobillón entre el pulgar y el dedo índice en dos direcciones en sentido derecho uno al otro y se frotó un área aproximada de 20 a 100 cm² de la superficie a analizar.

Por último el escobillón fue introducido en el tubo con agua peptona tomando cuidado de romper el lado del hisopo que tuvo contacto con las manos enguantadas (NTC 5230).

Para el aislamiento de mohos y levaduras se utilizó Agar Sabouraud el cual se incubó a 25°C/7 días y para aerobios mesófilos Agar Plate Count a 35°C/48 horas.

Luego del tiempo de incubación se identificó si hubo colonias aisladas en áreas extendidas en las cajas con Agar Sabouraud y crecimiento de colonias de color rojas en Agar Plate Count, pigmentación debida al cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) adicionado al medio.

4.2.3 Control esterilización

Los medios de cultivos, insumos y materiales son esterilizados mediante calor húmedo, y se ejecutan de acuerdo a lo descrito en el **“Instructivo de esterilización, del procedimiento manejo de insumos para análisis, versión 02”**.

4.2.3.1 Verificación del indicador biológico de esterilización Sterikon.

El indicador biológico utilizado para la verificación de los procesos de esterilización es el Sterikon®, Se verificó la temperatura de crecimiento del microorganismo, esto se realizó incubando ampollas sin someter a tratamiento térmico (esterilización), las temperaturas de incubación fueron 35°C y 60°C respectivamente. Por otro lado, se verificó la termoresistencia del microorganismo presente en la ampolla, esto se realizó sometiendo esta a proceso de esterilización (calor húmedo), con la diferencia que para un grupo de ampollas el tiempo fue de 6 minutos y para el otro grupo por 15 minutos (Merck, 2012).

4.2.4 Preparación, conservación y control de calidad de medios de cultivo

La preparación, conservación y control de calidad de los medios de cultivos se realiza acorde a los lineamientos descritos en el “**instructivo de preparación, conservación y control de calidad de medios de cultivos versión 02**”.

Se realizó el control de calidad de medios de cultivos siguiendo las instrucciones del “**anexo 1. Control de Calidad de medios de cultivos**”.

Tabla 1 medios de cultivo evaluados, cepas diana e interferentes con sus respectivos tiempos y temperatura de incubación

| Medios | Cepa Diana | Cepa interferente | T°/tiempo de incubación |
|------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------|
| EMB | <i>E. coli</i> ATCC 25922/ | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 | 35°C/ 24 horas |
| Chromocult | <i>E. coli</i> ATCC 25922/ | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 | 35°C/ 24 horas |
| Mac Conkey | <i>E. coli</i> ATCC 25922/ | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 | 35°C/ 24 horas |

S. aureus para pruebas de interferencia (USP 38).

4.2.4.1 Control de calidad de medios de cultivos sólidos (Test Ecométrico)

Se obtuvieron cultivos frescos de la cepas diana e interferente en fase logarítmica, en caldo BHI (caldo infusión-cerebro corazón). Se preparon placas de Petri con el medio de ensayo y el medio de referencia (Agar Trypticasa de Soya). El medio no tuvo menos de 4 mm de espesor.

Se dividió la caja en cuatro cuadrantes, se tomó la suspensión microbiana con un asa y se trazó sobre la superficie del medio de cultivo 5 estrías paralelas en cada

uno de los cuadrantes y una estría central de forma continua sin cargar ni torcer el asa o repisar. Se realizó el mismo procedimiento con el medio de referencia (Mossel, 2003).

Las cajas se incubaron en posición invertida a 35°C/ 24 horas.

4.2.4.2 Control de esterilidad de medios de cultivos

Cada vez que se prepara cualquier cantidad de medio de cultivo, a este se le debe realizar control de esterilidad que consiste en servir el medio en una caja de petri o tubo de ensayo, en caso de caldos de cultivo, e incubarlos a su respectiva temperatura y tiempo de incubación, luego de pasar el tiempo de incubación se observa si hubo crecimiento de microorganismos en la caja de petri y turbidez en el caso de los medios líquidos en tubo de ensayo, siendo satisfactoria la prueba al observarse ausencia de estos.

4.3 ESTANDARIZACIÓN INÓCULO BACTERIANO

Antes de realizar un proceso de confirmación, verificación o validación de cualquier método analítico una de las actividades primordiales es tener estandarizado el inóculo bacteriano, para esto Analtec Laboratorios cuenta con un cepario de 12 cepas de referencia certificada (CMR) de pase 1.

Estas cepas CMR son utilizadas para controles de calidad internos (controles positivos y negativos) y como material para realizar los respectivos procesos de validación o confirmación para los ensayos de repetibilidad, reproducibilidad, límite de detección, % de recuperación, entre otros.

4.3.1 Reactivación y conservación de material de referencia certificado (Cepas)

La reactivación de la cepa se llevó a cabo en caldo CASOY en donde se adicionó una crioperla (microorganismo preservado) y luego este medio fue incubado a 35 °C durante 18 horas, pasado este tiempo se tomaron 500 µL de el medio con el concentrado celular y se adicionó a una caja con Agar Plate Count el cual fue incubado a 35 °C durante 18 horas.

Los microorganismos utilizados en la ejecución de las diferentes actividades, fueron microorganismos de referencia certificada (CMR) de pase 1 marca LabElite™ de Microbiologics (COPAN).

4.3.2 Verificación del Nefelómetro Desincheck

Se realizó verificación del equipo DensiCHECK utilizando los patrones MacFarland 0.5, 2.0 y 3.0 de la casa comercial bioMérieux. Antes de realizar las mediciones se insertó el patrón 0.0 de MacFarland 3 veces hasta que el valor de lectura fue 0.0, al momento de la toma de las lecturas de los diferentes patrones se tomó la precaución de limpiar la superficie externa del recipiente contenedor de los patrones con papel tisú para lentes y se invirtió de 5 a 6 veces con el fin de asegurar la homogeneidad completa. Seguido de todo esto se observó si los valores mostrados en el display del instrumento se encontraban dentro del intervalo aceptable y el respectivo registro en el formato **“Control patrón químico e inóculo bacteriano, instructivo estandarización de inóculos bacterianos versión 02”**.

Esta verificación se realizó cada vez que el equipo fue utilizado para la estandarización del material de referencia (cepa).

4.3.2.1 Estandarización y Confirmación de inóculos bacterianos.

A partir de la cepa de referencia certificada *Escherichia coli* ATCC 25922 en fase logarítmica de crecimiento se realizó un barrido de esta en la caja de petri adicionando 10 ml de agua peptona al 0.1%, realizando la remoción con un asa de drigalski; posteriormente se recuperó el homogenizado con la cepa concentrada en un tubo de ensayo y se procedió a estandarizar la cepa en las concentraciones 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 de MacFarland tomando como referencia el patrón químico proporcionado por la casa comercial BioMérieux, cuando se obtuvieron las concentraciones deseadas se procedió a realizar diluciones en base 10, hasta 10^{-8} utilizando como diluyente agua peptona al 0.1%.

Una vez se estandarizaron los inóculos bacterianos se procedió a realizar la respectiva confirmación de dicho proceso por medio de recuento en placa, para esto se siguen los lineamientos descritos, **“Confirmación estandarización, versión 1”**. Ver anexo.

La información obtenida de dicho proceso se debe registrar en el **“Dato Primario de Validación”** y posteriormente llevado al formato digital **“Confirmación de la Estandarización, Versión 03”**. Este formato permite la elaboración del informe de la confirmación.

Para este proceso de confirmación Analtec Laboratorio como criterio de aceptación de los inóculos establece 70 a 130% con respecto al porcentaje de recuperación experimental del inóculo.

5 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 2. Cronograma de actividades

| CRONOGRAMA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|---|---|---|---------|---|---|---|------------|---|---|---|---|---------|---|---|---|-----------|---|---|---|
| ACTIVIDADES | Julio | | | | Agosto | | | | Septiembre | | | | | Octubre | | | | Noviembre | | | |
| | Semanas | | | | Semanas | | | | Semanas | | | | | Semanas | | | | Semanas | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Acompañamiento en la revisión normativa para certificación ante el IDEAM y la ONAC | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elección del tema | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Apoyo en el laboratorio (siembra, recuento, preparación de medios) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Revisión documental | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Búsqueda de las bases bibliográficas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Reactivación de la cepa | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estandarización de la cepa | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Muestreos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Análisis de resultados | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración del informe | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Presentación informe final | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Comunicación de resultados en la empresa | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

6 RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.1 REVISIÓN DOCUMENTAL

Una vez realizado el análisis documental de manera detallada y minuciosa de la Resolución 3619 de 2013 y la NTC ISO/IEC 17025:2005, se logró evidenciar una relación estrecha en cada uno de los ítems o parámetros que cada una de ellas cita dentro de su contenido.

Con relación a lo anterior, es claro que existen diferencias aunque son pocas logran ser apreciables, resaltando y/o haciendo énfasis en que ambas comparten el mismo sistema de gestión de la calidad, los requisitos generales, la organización, control de documentos, registros, sistema de contratación, entre otros; en cuanto a la parte de hoja de trabajo analítico, informe de análisis y certificado de análisis hay algunas especificaciones que deberían agregarse a las dadas por la NTC ISO/IEC 17025:2005, dichas especificaciones se muestran a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3. Diferencias de la gestión de informes de la Resolución 3619 de 2013 que deberían implementarse en la NTC ISO/IEC 17025:2005.

| HOJA DE TRABAJO ANALÍTICO | INFORME DE ANÁLISIS | CERTIFICADO DE ANÁLISIS |
|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • La interpretación de los resultados y las conclusiones finales (ya sea que la muestra haya cumplido o no con las especificaciones), aprobadas y firmadas por el supervisor. • Cualquier comentario adicional, por ejemplo, para información interna, o notas detalladas sobre las especificaciones elegidas y los métodos de evaluación usados, o cualquier desviación del procedimiento establecido, que debe ser aprobado e informado, o si porciones de la muestra fueron asignadas—y cuando fueron asignadas—a otras unidades para ensayos especiales, y la fecha en que los resultados fueron recibidos. • Todos los valores obtenidos en cada ensayo, incluyendo los resultados de los blancos deben anotarse inmediatamente en la hoja de trabajo analítico y todos los datos gráficos, obtenidos ya sea por registro del instrumento o trazados a mano, deben ser anexados o trazables a un archivo de registro electrónico o a un documento en que los datos estén disponibles. | <ul style="list-style-type: none"> • El número de informe del ensayo del laboratorio. • Una introducción que proporciona los antecedentes y el propósito de la investigación. • El nombre y dirección del fabricante original y, si corresponden, los del re-ensasador y/o distribuidor. • La fecha cuando fue (fueron) completado el(los) ensayo. | <ul style="list-style-type: none"> • El nombre y dirección del fabricante original y, si corresponde, los del re-ensasador y/o distribuidor. • La referencia a la especificación usada para analizar la muestra. • La fecha en que se completó el ensayo. • La fecha de vencimiento o re-análisis, si corresponde. |

Como se puede observar en la tabla anterior, no son muchos los requerimientos para cada documento lo que hace posible ajustar estos, ya que no afecta al formato actual utilizado en Analtec Laboratorios S.A.S sede Medellín, conllevando solamente a una modificación del mismo.

Como se mencionó, existen diferencias entre estas dos normas mencionando la de mayor impacto la divergencia existente entre la selección de un jefe de laboratorio (supervisor), el cual debe tener calificaciones apropiadas para la posición, con extensa experiencia en análisis de medicamentos y gestión de laboratorio, en un laboratorio de control de calidad de productos farmacéuticos en el sector regulador o en la industria. El jefe del laboratorio es responsable del contenido de los certificados de análisis e informes de análisis (Resolución 3619, 2013). De otro lado las instalaciones requieren ciertas especificaciones ya que la resolución 3619 de 2013 tiene un enfoque farmacopéico y las exigencias de estas son muy puntuales.

A continuación se muestra la Tabla 4 en la que se explica con más detalle las exigencias en instalaciones, equipos y grado de aire del ambiente de las instalaciones.

Tabla 4. Requisitos de instalaciones, calidad de aire y equipos necesarios de acuerdo a la guía BPL de la OMS

| GRADO DE AIRE | | |
|---|--|---|
| ZONA | GRADO DE LA INSTALACIÓN | PROPUESTA |
| Recepción de muestra | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Preparación de medios | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Carga de autoclave | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Descarga de autoclave dentro del área del ensayo de esterilidad | Grado B | ISO 5 (flujo turbulento) y <10 ufc/m ³ |
| Ensayo de esterilidad – flujo de aire unidireccional (UDAF, por sus siglas en inglés) | Grado A | ISO 5 (UDAF) y <1 ufc/m ³ |
| Ensayo de esterilidad – entorno del UDAF | Grado B | ISO 5 (flujo turbulento) y <10 ufc/m ³ |
| Ensayo de esterilidad aislador | Grado A (NVP y microbiología únicamente) | ISO 5 (UDAF) y <1 ufc/m ³ |
| Ensayo de esterilidad entorno del aislador | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Incubadora | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Recuento | Sin clasificar | Sin clasificar |
| Descontaminación | Sin clasificar | Sin clasificar |

| CLASIFICACIÓN DE AIRE EQUIVALENCIAS | | |
|---|--------------|-------|
| Grado A y B | Clase 100 | ISO 5 |
| Grado C | Clase 10000 | ISO 7 |
| Grado D | Clase 100000 | ISO 8 |
| EQUIPOS PARA UNIDAD DE MICROBIOLOGÍA | | |
| Medidor de pH | | 1 |
| Espectrofotómetro ultravioleta/visible, haz único | | 1 |
| Microscopios (para bacteriología) | | 2 |
| Montaje de filtro de membrana para ensayos de esterilidad | | 1 |
| Contador de colonias con aumento | | 1 |
| Unidad de flujo de aire laminar | | 1 |
| Esterilizador de aire caliente | | 1 |
| Incubadoras, 60 litros | | 2 ó 3 |
| Vaso de vidrio anaeróbico | | 1 |
| Lector de zonas | | 1 |
| Centrífuga | | 1 |
| Baño de agua (controlado por termostato) | | 2 |
| Autoclaves (de carga superior, 100 litros) | | 2 |
| Refrigeradores (340 litros) | | 2 |
| Congelador (deep freeze) | | 1 |
| Máquina lavadora de material de vidrio de laboratorio | | 1 |
| Balanza analítica (5 dígitos) | | 2 |

Notas: UFC: unidades formadoras de colonias;(OMS, 2013).

Los suministros de aire para los laboratorios y para las áreas de producción deben estar separados. Los laboratorios de microbiología deben contar con unidades de manejo de aire separadas y otras provisiones, incluyendo controles de temperatura y humedad cuando se requieran. El aire suministrado al laboratorio debe ser de calidad adecuada y no debe representar una fuente de contaminación (OMS, 2013).

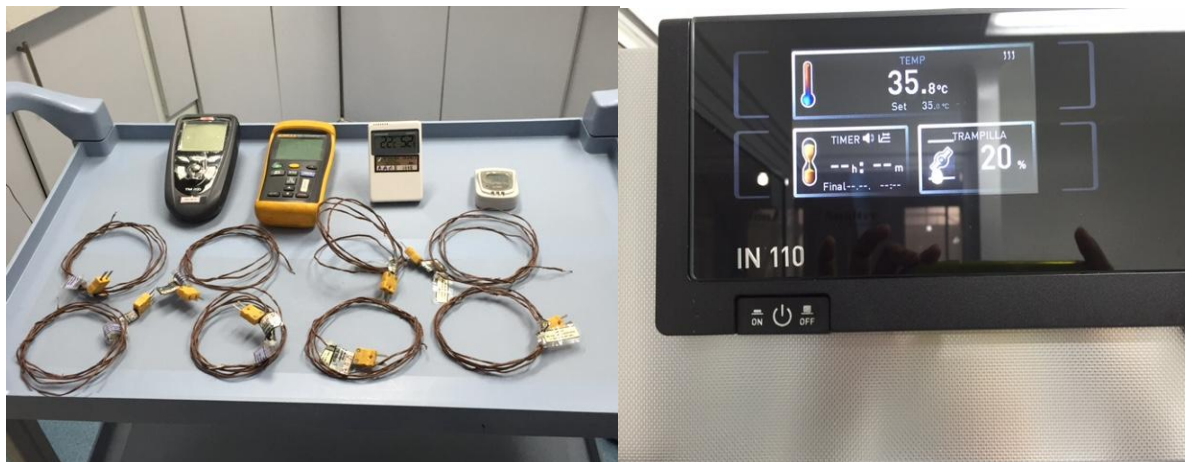
Es necesario tener en cuenta la calidad de aire en las instalaciones, debido a que esto garantiza que los resultados de los ensayos sean confiables, en donde juega un papel importante la capacitación del personal en cuanto a higiene y procedimientos de vestimenta para minimizar el riesgo de contaminación extrínseca, para esto se debe disponer de instalaciones adecuadas para lavado y desinfectado de manos (OMS, 2013). Es recomendable realizar verificación de limpieza y desinfección y llevar un control de condiciones ambientales rutinariamente en las diferentes áreas, definiendo límites de alerta y de acción; el monitoreo ambiental de la zona de ensayos de esterilidad se debe realizar durante cada sesión de trabajo bajo las condiciones operativas (dinámicas), documentando el mapeo de los puntos de muestreo y el tiempo de exposición (OMS, 2013), todo esto con el fin de monitorear y garantizar que se posee las condiciones adecuadas para llevar a cabo los ensayos.

6.2 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

6.2.1 Verificación y optimización de condiciones metrológicas

Analtec laboratorios cuenta con un sistema de aseguramiento metrológico que se encarga de la verificación de los equipos, para de este modo garantizar la ejecución de los ensayos y así contribuir al sistema de gestión de calidad.

6.2.1.1 Programa de mantenimiento y calibración de equipos.





Fuente: Autor

Imagen 1. Cumplimiento de cronograma, Calibración externa con Laboratorio Acreditado por ONAC bajo la norma NTC ISO/IEC 17025:2005

Las calibraciones de los equipos se realizan en las fechas programadas, primero que todo se hace mantenimiento preventivo en el que se mira el funcionamiento del equipo, luego prosigue la verificación externa y por último se pasa al proceso de calibración. Aquel equipo que no pase la calibración debe ajustarse a las condiciones necesarias para alcanzar la medición deseada, y pasar a mantenimiento correctivo para volver a someterse a un nuevo proceso de calibración.

Es necesario evitar sobrecarga en el sistema eléctrico, y manipulación del equipo sin capacitación previa del manejo, ya que esto podría influir en el desajuste del equipo, y otro punto a tener en cuenta es que los equipos cuenten con un sistema de alerta cuando se encuentren por fuera de los criterios aceptables.

6.2.1.2 Verificación y control de equipos de temperatura

A continuación se observa la Gráfica 1. **Formato Digital, carta de control equipos de temperatura**, dicha grafica es obtenida a partir del diligenciamiento de formato digital, Este formato es responsabilidad de los analistas de microbiología, que realizan el seguimiento de los equipos de temperatura (incubadoras, refrigeradores y congeladores).

Gráfica 1. Formato Digital, carta de control equipos de temperatura

| Anaitec | CONTROL EQUIPOS DE TEMPERATURA INSTRUCTIVO ASEGURAMIENTO METROLÓGICO Formato No. 1 | | | | | | | | | | | | | | | Versión: 03 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|--|-------------------|--------------------------|--------|-----------|------------------------|-----------------|----------------------|-----------|-----------------------|-----------|---------------------|-----------|----|-----------|-------------|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|--|--|
| FECHA (Año/Mes) | 2015 NOVIEMBRE | NOMBRE DEL EQUIPO | INCUBADORA/MEMMERT/NESOD | CÓDIGO | MB 002 | CRITERIO DE ACEPTACIÓN | 35°C +/- 0,5 °C | FACTOR DE CORRECCIÓN | 0 | TERMÓMETRO DE CONTROL | No aplica | Emisión: 2015-07-24 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| +C | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | | |
| 33,5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33,7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33,8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 33,9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 34,9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35,9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 36,5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPONSABLE | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | NO APLICA | | |
| Verificado por | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Observaciones | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Se realizó el registro de temperatura en las cartas de control correspondientes como está plasmado en el sistema de gestión, observándose que las mediciones se encuentran dentro de los límites establecidos por los métodos normalizados de análisis, favoreciendo así el buen desarrollo de los análisis y la obtención de resultados confiables. Es importante resaltar que los equipos de temperatura tales como incubadoras se consideran como críticos en la realización de los ensayos por ende es recomendable hacer las respectivas verificaciones garantizando así el buen rendimiento del equipo.

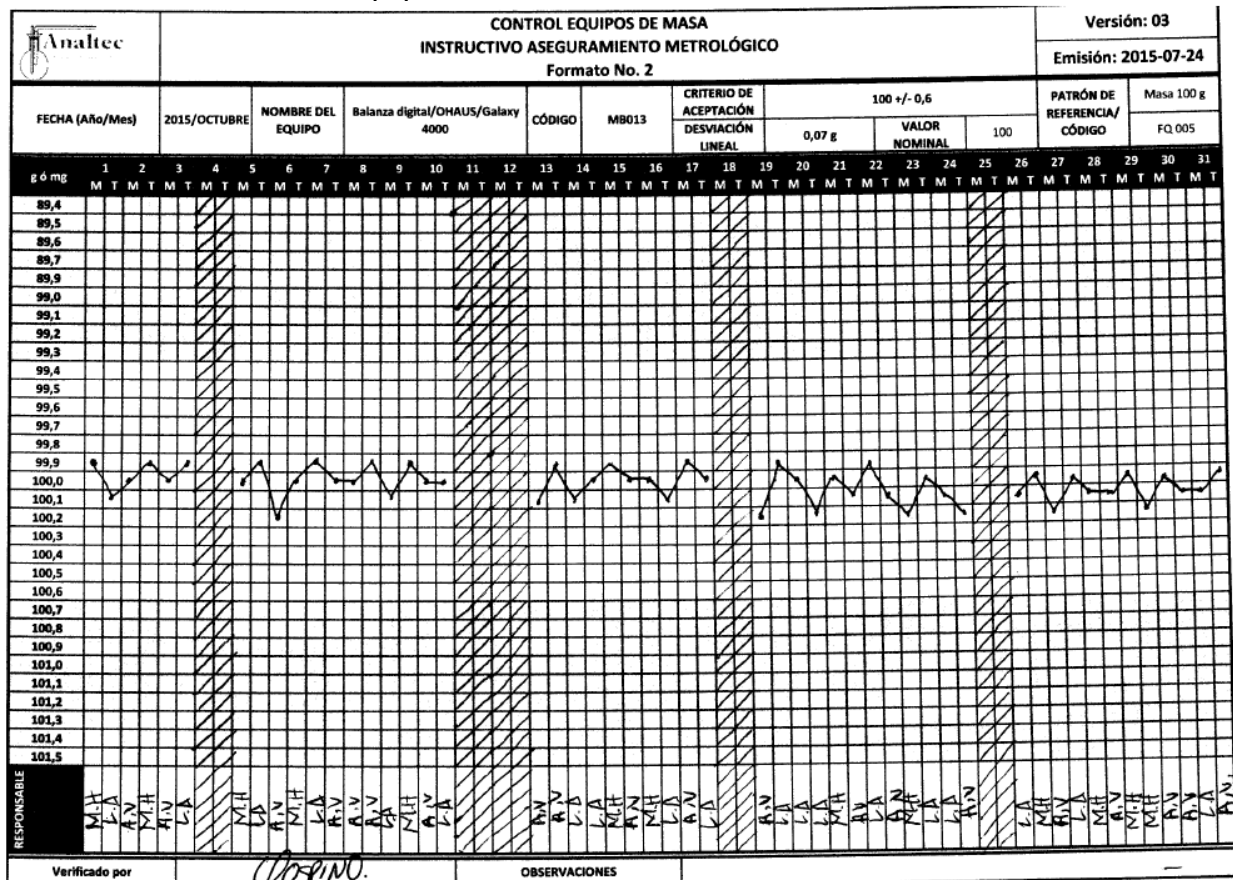
Los equipos que presenten lecturas por fuera de los criterios, son identificados como **“Inactivos”**, se realiza seguimiento del equipo para observar el comportamiento del mismo, en caso del que el equipo no entre a los criterios de aceptación, se notifica al director del área para realizar el respectivo contacto con el proveedor de mantenimiento.

Por otro lado los análisis que se encuentren en los equipos por fuera de criterio, se deben anular, notificar al cliente sobre la desviación y solicitar autorización para proceder a realizar nuevamente el análisis. Si no se procede a lo mencionado anteriormente y se continúa con la ejecución de los análisis se estaría realizando un trabajo de ensayo no conforme y se estaría incumpliendo el numeral 5.5.7 de la NTC ISO/IEC 17025:2005.

6.2.1.3 Verificación y control de equipos de masa.

En la gráfica 2 se observa el seguimiento metrológico realizado a la balanza con código MB013, utilizada para pesar muestras de alimentos para análisis microbiológico, en la carta de control, se definen los criterios de aceptación del equipo.

Gráfica 2. Carta control equipos de masa.





Fuente: Autor

Imagen 2. Verificación diaria de balanza antes de uso para análisis microbiológico.

Antes de realizar análisis en los equipos de masa, estos deben ser verificados, para esto se realiza el seguimiento de la condición metrológica de la balanza con masas patrón calibradas, los resultados de estas mediciones son registrados en el formato **“Control equipo de masa”** que funciona como carta de control, donde se establecen los criterios de aceptación del equipo (balanza). Para que el equipo sea liberado para el uso en los análisis las mediciones deben estar dentro de los límites permitidos, de no cumplir esto se procederá a realizar las mismas acciones mencionadas en la verificación de equipos de temperatura.

Como se evidencia en la gráfica 2, las mediciones del equipo de masa se encuentran dentro del criterio de aceptación.

El uso de equipos verificados permite asegurar datos más confiables, disminuye los errores analíticos y contribuye a la trazabilidad metrológica de los análisis.



Es importante resaltar que los equipos de masas no deben ser movidos del lugar donde el metrólogo realizó el proceso de calibración, si es necesario realizar reubicación del equipo se debe realizar en condiciones que velen por la integridad del equipo, si en el desplazamiento del equipo se sospecha que se realizó de manera inadecuada, es necesario realizar verificación del mismo con las masas patrón.

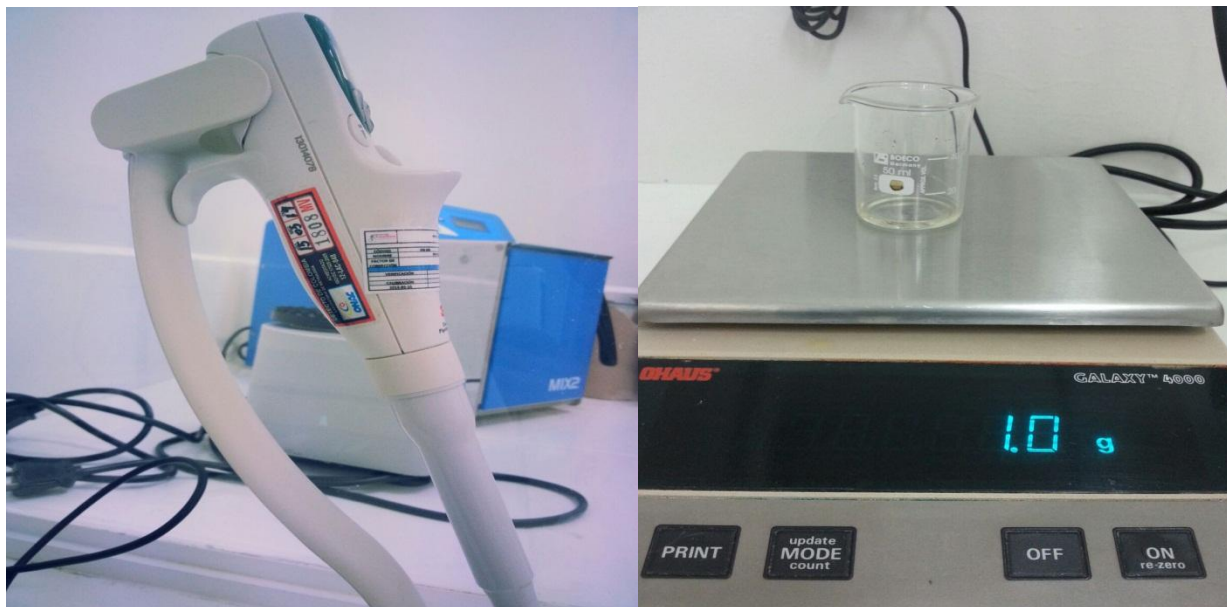
Otro aspecto a tener en cuenta es no pesar en el equipo cargas que superen la capacidad máxima permitida, como también no se debe dejar cargas sobre el equipo cuando se encuentre apagado, estos son unos de los principales factores que influyen en el mal funcionamiento de este tipo de equipos.

6.2.1.4 Verificación y control de equipos de volumen

De la actividad de seguimiento de los equipos de volumen (Micropipetas) surge el formato “Control de equipo”, en dicho formato se establecen los criterios de aceptación para la liberación del uso para análisis microbiológico.

Tabla 5. Control de equipos de volumen.

|  | | CONTROL EQUIPOS DE VOLUMEN INSTRUCTIVO ASEGURAMIENTO METROLÓGICO Formato No. 3 | | | | Versión 03 | | |
|---|-----|--|----------|----------|--------|---------------------|-------------|---------------|
| | | | | | | Emisión: 2015-07-24 | | |
| INFORMACIÓN DEL EQUIPO | | | | | | | | |
| NOMBRE DEL EQUIPO | | PIPETA ELECTRÓNICA 16503 | | | CÓDIGO | MB 009 | | |
| NOMBRE DE LA BALANZA | | BALANZA OHAUS GALAXY 4000 | | | CÓDIGO | MB 013 | | |
| DATOS | | | | | | | | |
| Año | Mes | Día | PESO 1 | PESO 2 | CUMPLE | | Responsable | Observaciones |
| | | | 1,0000 g | 5,0000 g | SI | NO | | |
| 2015 | 10 | 06 | 0,9950 | 4,9947 | X | | LA | |
| 2015 | 10 | 10 | 0,9923 | 4,9956 | X | | M.H | |
| 2015 | 10 | 11 | 0,9985 | 4,9981 | X | | A.AV | |
| 2015 | 10 | 12 | 1,0015 | 4,9916 | X | | LA | |
| 2015 | 10 | 17 | 0,9988 | 5,0102 | X | | M.H | |
| 2015 | 10 | 19 | 1,0003 | 4,9803 | X | | LA | |
| 2015 | 10 | 20 | 1,0043 | 4,9917 | X | | LA | |
| 2015 | 10 | 21 | 1,0050 | 4,9907 | X | | M.H | |
| 2015 | 10 | 24 | 1,0043 | 4,9937 | X | | A.AV | |
| 2015 | 10 | 26 | 0,9950 | 5,0012 | X | | A.AV | |
| Criterios de aceptación: | | | | | | | | |
| El peso obtenido del volumen de <u>1,0</u> mL debe estar entre <u>0,9921</u> y <u>1,0043</u> g | | | | | | | | |
| El peso obtenido del volumen de <u>5,0</u> mL debe estar entre <u>4,9605</u> y <u>5,0240</u> g | | | | | | | | |
| Revisado por:  | | | | | | | | |



Fuente: autor

Imagen 3. Verificación micropipetas antes de uso para análisis microbiológico.

Es uno de los equipos de mayor uso en el laboratorio y tal vez uno de los que más pueden aportar errores si no se cuenta con trazabilidad metrológica, ya que estos equipos van a tomar las alícuotas para realizar los análisis microbiológicos.

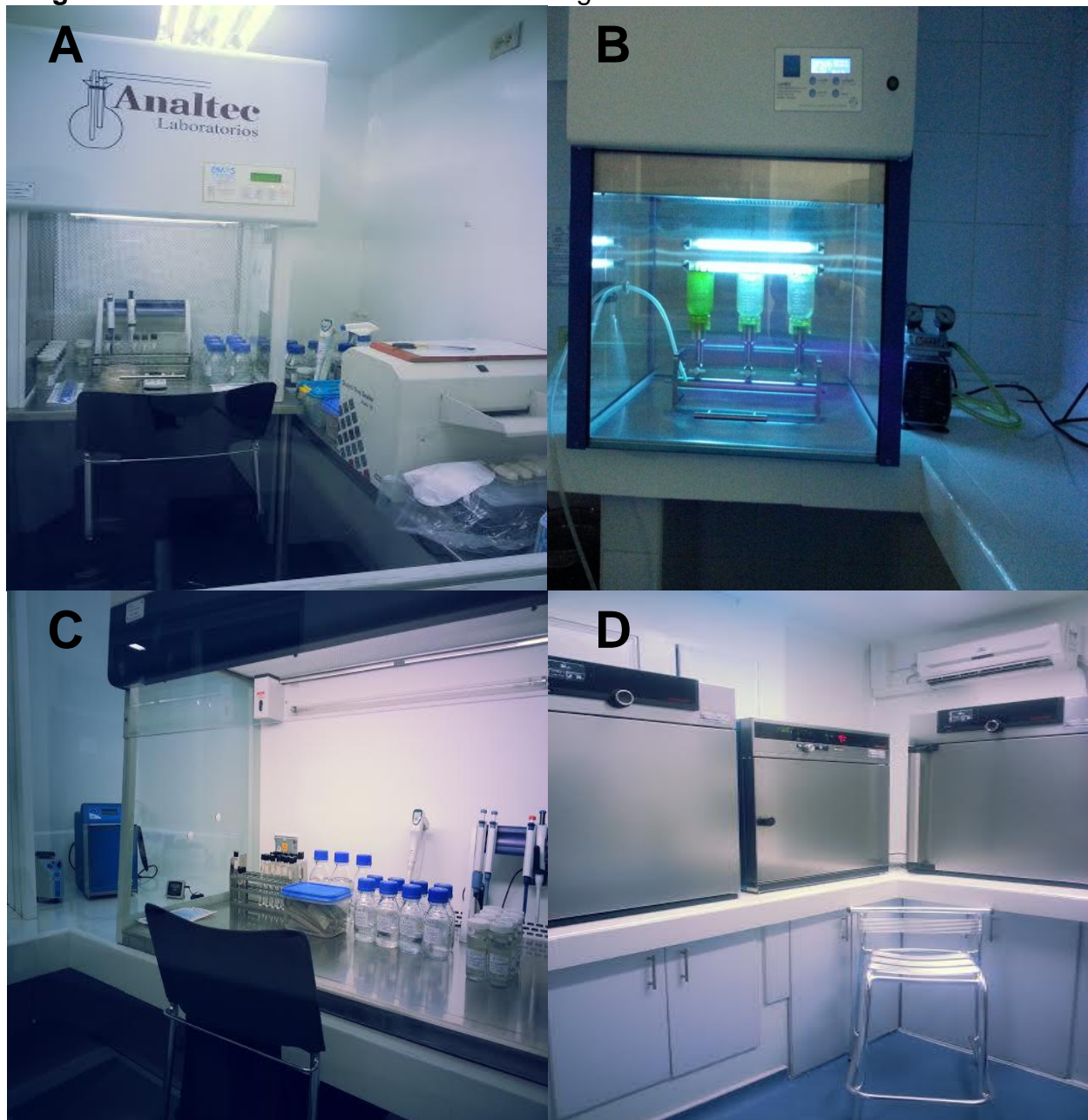
Las micropipetas se encuentran en el plan de mantenimiento y calibración como equipo crítico, por tal motivo es sometido a proceso de calibración y es verificado antes del uso, la verificación de dicho equipo se debe realizar en una balanza igualmente calibrada, la información de estos procesos permiten evidenciar el grado de error, de ser superior a los permitidos por el fabricante, estos equipos no son tenidos en cuenta para la realización de ensayos.

Como se puede observar en el formato control equipo de volumen Tabla 5, la micropipeta se encuentra dentro de los límites recomendables y puede ser utilizada para el fin previsto, aumentando la confiabilidad de los datos analíticos.

6.2.2 Instalaciones y condiciones ambientales

Las instalaciones del laboratorio de microbiología se encuentran correctamente delimitadas y separadas con el fin de evitar posibles contaminaciones cruzadas entre las matrices que se analizan, entre ellas se destaca el área de análisis de aguas crudas, aguas potables, alimentos, productos estériles, incubación, esterilización, lavado y descarte de material. Se recalca que en cada una de estas áreas se realiza proceso de limpieza y desinfección de acuerdo al **“Plan de limpieza y desinfección”**.

Imagen 4. Instalaciones de análisis microbiológico Analtec Laboratorios





Fuente: Analtec Laboratorios

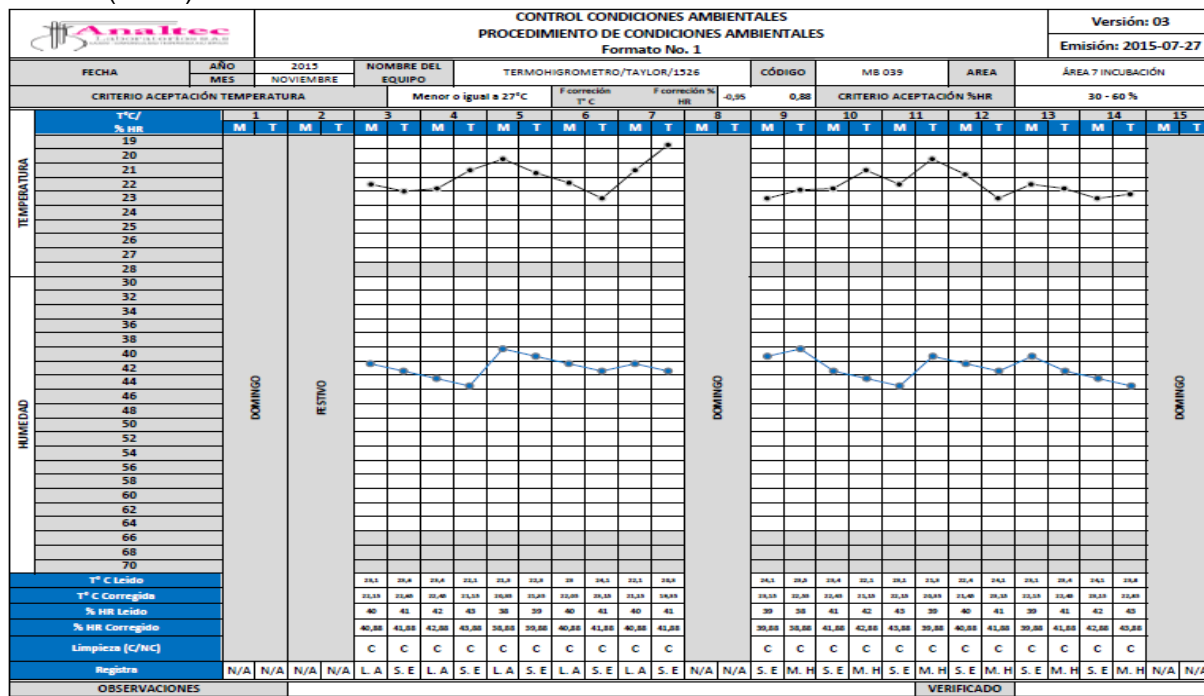
A) Área de análisis de aguas crudas y residuales (parámetro microbiológico acreditado por IDEAM bajo norma NTC ISO/IEC 17025:2005, **B)** Área de aguas potables y de uso recreativo, **C)** área de análisis microbiológico de alimentos de consumo humano, **D)** área de incubación, **E)** área de análisis microbiológico de productos estériles.

El laboratorio debe asegurarse de que las condiciones ambientales no invaliden los resultados ni comprometan la calidad requerida de las mediciones NTC ISO/IEC 17025:2005.

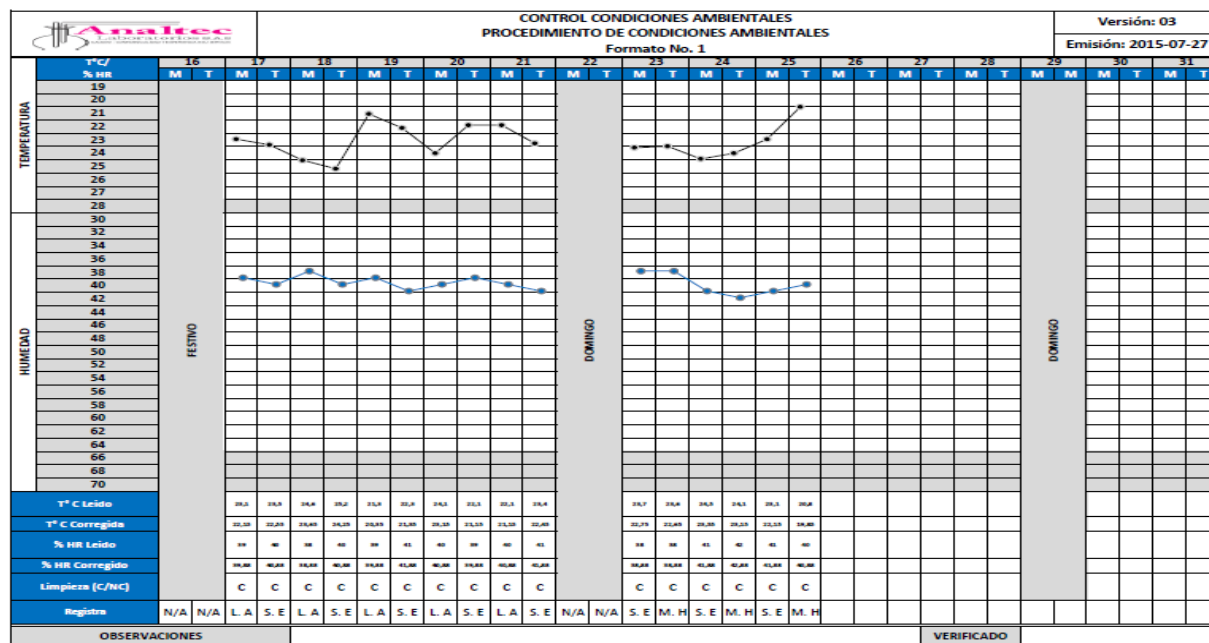
6.2.2.1 Seguimiento y control de condiciones ambientales

En la gráfica 3 se observa la carta de control de condiciones ambientales del área de incubación monitoreada con el termohigrómetro Taylor 1526.

Gráfica 3. Formato digital carta control condiciones ambientales Temperatura (t°) y humedad relativa (%HR).



Página 1 de 2



Página 2 de 2

Las condiciones ambientales de las áreas de microbiología se encuentran bajo control. De las áreas más importantes donde se lleva a cabo el control y seguimiento de las condiciones ambientales es tal vez el área de incubación, ya que en dicha área se encuentran los equipos que suministran las condiciones de temperatura óptima de

crecimiento de los microorganismos, la mayoría de incubadoras operan a 5°C + la temperatura ambiental, es decir, si se necesita una incubadora que suministre una temperatura de 25°C, la temperatura del área debe estar como mínimo en 20°C.

Por otro lado controlar las condiciones ambientales, favorece el confort del analista, que juega un papel importante en la realización de los ensayos.

6.2.2.2 Control y verificación de los procesos de limpieza y desinfección

A continuación en la tabla 6 se observa la verificación de limpieza y desinfección en el área de cabinas e incubación.

Tabla 6. Verificación limpieza y desinfección.

| FECHA (Año/Mes) | | VERIFICACIÓN LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN PLAN DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN Formato No. 3 | | | | | | | | | | Versión: 03 Emisión: 2015-08-01 | |
|---------------------|-------|--|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------|----|----------------|---------------------|-------------|--|---|--|
| 2015/NOVIEMBRE | | Especificaciones del Ensayo | | Criterio de aceptación | | Resultado | | Cumple | | Responsable | | Observaciones | |
| Fecha AAAA/MM/DD | Hora | Area/Zona | Parametro | UFC/cm ³ ó cm ² | UFC/cm ³ ó cm ² | Si | No | Realiza Ensayo | Verifica Resultados | | | | |
| 2015/10/22 | 9:35 | CABINA 1 | Superficie | AM | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | M. HINOJOSA | | MANIPULADOR LUZ AMADOR - SANITIZACIÓN METAQUAT 30.000 PPM | |
| | | | M. | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Ambiente | AM | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | |
| | | | M. | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Nombre manipulador | CT | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | E.c | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| 2015/10/22 | 9:42 | CABINA 2 | Superficie | AM | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | M. HINOJOSA | | MANIPULADOR LINA BALCARCEL - SANITIZACIÓN METAQUAT 30.000 PPM | |
| | | | M. | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Ambiente | AM | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | |
| | | | M. | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Nombre manipulador | CT | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | E.c | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| 2015/10/22 | 9:48 | CABINA 3 | Superficie | AM | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | M. HINOJOSA | | - MANIPULADOR ANDRÉS AVILA - SANITIZACIÓN METAQUAT 30.000 PPM | |
| | | | M. | Menor o igual a 3 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Ambiente | AM | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | |
| | | | M. | Menor o igual a 1 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Nombre manipulador | CT | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | E.c | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| 2015/10/22 | 15:20 | ALEATORIO Identificación | Superficie | AM | Menor o igual a 100 | 0 | X | | | M. HINOJOSA | | MANIPULADOR CARBOL ESPINO - CABINA BIOMÉDICO - SANITIZACIÓN METAQUAT 30.000 PPM | |
| | | | M. | Menor o igual a 100 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Ambiente | AM | Menor o igual de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | M. | Menor o igual de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Nombre manipulador | CT | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | E.c | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| 2015/10/22 | 15:35 | ALEATORIO Identificación | Superficie | AM | Menor o igual a 100 | 0 | X | | | M. HINOJOSA | | - MANIPULADOR MARIAN HINOJOSA - ÁREA DE INCUBACIÓN - SANITIZACIÓN METAQUAT 30.000 PPM | |
| | | | M. | Menor o igual a 100 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Ambiente | AM | Menor o igual de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | M. | Menor o igual de 10 | 0 | X | | | | | | | |
| | | | Nombre manipulador | CT | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | |
| | | | E.c | Menor de 10 | 0 | X | | | | | | | |

* AM: AEROBIOS MESOFILOS; M.L: MOHOS Y LEVADURAS; CT: COLIFORMES TOTALES; E.c: *Escherichia coli*
Muestras analizadas directamente se reportan como 0 UFC/cm3 ó cm2

VERIFICADO *A-J*

El proceso de limpieza y desinfección, se debe realizar para asegurar áreas limpias y, garantizar que no va a existir contaminación cruzada lo cual pone en tela de juicio el resultado de un ensayo.

En Analtec Laboratorios se utilizan para el proceso de limpieza y desinfección amonios cuaternarios de quinta generación, Clean by peroxy y Metaquat, los cuales son rotados

semanalmente. Una vez cada quince días se utiliza espuma clorada, Chlorinated plus, y ese día no se utiliza otro desinfectante, este proceso se conoce como choque de desinfectante y se realiza con el fin de evitar el desarrollo de resistencia por parte de los microorganismos, acompañado a todo esto diariamente se realiza aspersión al ambiente con sanitizer.

Teniendo en cuenta lo anterior, en la tabla 6 se observa la carta de control que evidencia los resultados obtenidos tras el uso del desinfectante en el área de microbiología; en este caso, para la semana indicada en la tabla 6 se utilizó Metaquat, (33 mL/1L de agua). Según los recuentos microbiológicos obtenidos se puede analizar que tanto el desinfectante, la concentración y el tiempo de exposición son los adecuados para lograr mantener áreas seguras que garantizan que todos los análisis y procesos llevados a cabo no tendrán interferencia con el medio ambiente.

6.2.3 Control esterilización.

6.2.3.1 Verificación del indicador biológico de esterilización Sterikon.

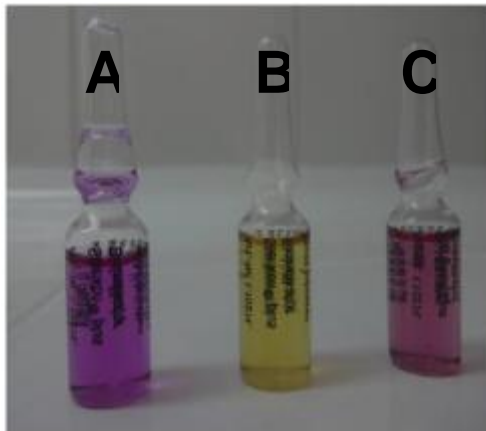
Se realizó control interno de la caja de ampolla Sterikon referencia **1.10274.0002** Lote: **VM620574**, esto con el fin de comprobar que el producto estuviese en las condiciones necesarias para ser usado como indicador en los diferentes procesos de esterilización de insumos, reactivos y medios de cultivos.

Tabla 7. Verificación de la temperatura crecimiento del microorganismo *Geobacillus stearothermophilus* utilizado en el Bioindicador Sterikon.

| VERIFICACIÓN INTERNA DE LA CALIDAD AMPOLLA STERIKON® | | | | |
|--|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------|---------------|
| | Descripción | Tratamiento | T° de incubación | Resultado |
| Ampolla Sterikon® | Color violeta opalescente | Sin tratamiento de esterilización | 35°C | Satisfactorio |
| Ampolla Sterikon® | La ampolla viro de color a amarillo | Sin tratamiento de esterilización | 60°C | Satisfactorio |

Tabla 8. Verificación de la termoresistencia del microorganismo *Geobacillus stearothermophilus* en condiciones de esterilización.

| VERIFICACIÓN INTERNA DE LA CALIDAD AMPOLLA STERIKON | | | | |
|---|-------------------------------------|--------------|------------------|---------------|
| | Descripción | Tratamiento | T° de incubación | Resultado |
| Ampolla Sterikon® | La ampolla viro de color a amarillo | 121°C/ 6 min | 60° | Satisfactorio |
| Ampolla Sterikon® | La ampolla no viro de color | 121°C/15 min | 60°C | Satisfactorio |



Fuente: Autor

Imagen 5. Verificación de la termoresistencia.

Ampollas Sterikon. A: Ampolla control sin tratamiento térmico (esterilización) B: Ampolla condiciones de esterilización 121°C/ 6 min, incubada a 60°C/72 Horas; C: Ampolla condiciones de esterilización 121°C/ 15min, incubada a 60°C/72 Horas.

Se verificó la viabilidad del microorganismo (*Geobacillus stearothermophilus*) utilizado en el bioindicador, ya que solo presentó crecimiento (evidenciado por viraje de la ampolla) cuando se incubó a 60°C, resultado descrito en la Tabla 7. Verificación de la temperatura crecimiento del microorganismo *Geobacillus stearothermophilus* utilizado en el Bioindicador Sterikon.

Se pudo evidenciar la termoresistencia del microorganismo (*Geobacillus stearothermophilus*) utilizado en el bioindicador, ya que cuando la ampolla fue tratada 121°C/ 6 min e incubada a 60°C/72 horas, presentó viraje de color (violeta-amarillo) lo cual indica que el microorganismo sigue viable. Caso contrario cuando la ampolla fue tratada a 121°C/ 15 min e incubada a 60°C/72 horas, que no presentó viraje del color de la ampolla, lo cual indica que cuando se esteriliza bajo las condiciones anteriormente descrita, es suficiente para causar la pérdida de la viabilidad del microorganismos utilizado en el bioindicador. Resultados descritos en la Tabla 8. Verificación de la termoresistencia del microorganismo *Geobacillus stearothermophilus* en condiciones de esterilización.

Se libera y se aprueba el uso de las ampollas de Sterikon referencia 1.10274.0002 Lote: **VM620574**, como control de los procesos de esterilización (calor húmedo) ejecutados en el Departamento de Microbiología de Analtec Laboratorios S.A.S

6.2.4 Preparación, conservación y control de calidad de medios de cultivos.

La preparación y la conservación de medios de cultivo juega un papel importante en el análisis microbiológico ya que es el punto de partida, si esta actividad no se encuentra bajo control, los resultados emitidos por el laboratorio no son confiables.

6.2.4.1 Control de calidad de medios de cultivo sólidos (Test ecométrico)

La siguiente tabla presenta los resultados de la evaluación de los medios de cultivos por test ecométrico. Los microorganismos utilizados son cepas ATCC de pase 1; se evaluó el medio con un microorganismo diana y otro interferente.

Tabla 9. Control Productividad, selectividad y recuperación de medios de cultivo sólidos.

| CONTROL PRODUCTIVIDAD, SELECTIVIDAD Y RECUPERACIÓN MEDIOS DE CULTIVOS SÓLIDOS INSTRUCTIVO DE PREPARACIÓN, CONSERVACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVOS Formato No. 5 | | | | | | | | | | | | | Versión: 03 | | |
|---|-------------------------------|-------------|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------------------|--------|---------------------------------------|--------|---|--------|----|
| | | | | | | | | | | | | | Emisión: 2015-08-01 | | |
| MÉTODO ECOMÉTRICO | | | | | | | | | | | | | | | |
| FECHA (aaaa-mm-dd) | MEDIO DE CULTIVO A EVALUAR | LOTE | MICROORGANISMO DIANA/ INTERFERENTE # ATCC | VALOR CUADRANTE 1 | VALOR CUADRANTE 2 | VALOR CUADRANTE 3 | VALOR CUADRANTE 4 | VALOR LÍNEA CENTRAL | ICA PRODUCTIVIDAD | | ICA SELECTIVIDAD | | ÍNDICE DE CRECIMIENTO RELATIVO ICR | | |
| | | | | | | | | | Σ CUADRANTES + LÍNEA CENTRAL | CUMPLE | Σ CUADRANTES - LÍNEA CENTRAL | CUMPLE | VALOR | CUMPLE | |
| | | | | | | | | | | | | | | | SI |
| 2015-10-07 | EMB | 103949 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | 1 | X |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |
| 2015-10-07 | EMB | 103949 | S.aureus ATCC 6538 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | 0 | X | | | |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | S.aureus ATCC 6538 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |
| 2015-10-07 | Chromocult | VM665126502 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | 1 | X |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |
| 2015-10-07 | Chromocult | VM665126502 | S.aureus ATCC 6538 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | 0 | X | | | |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | S.aureus ATCC 6538 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |
| 2015-10-07 | MAC CONKEY | 102995 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | 1 | X |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | E.coli ATCC 25922 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |
| 2015-10-07 | MAC CONKEY | 102995 | S.aureus ATCC 6538 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | 0 | X | | | |
| 2015-10-07 | TSA | 102332 | S.aureus ATCC 6538 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | X | - | - | - | | |

| Verificado por | A.6 | OBSERVACIONES | CRITERIO DE ACEPTACIÓN ICA PRODUCTIVIDAD | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN ICA SELECTIVIDAD | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN ICA | |
|----------------|-----|---------------|--|----------------|---|----------------|--|----------------|
| | | | RESULTADO | INTERPRETACIÓN | RESULTADO | INTERPRETACIÓN | RESULTADO | INTERPRETACIÓN |
| | | | 5 | | > 2 | | Cercano a 1 con medio a evaluar + microorganismo target | |
| | | | 2,5 a 5 | | 0 a 2 | | Cercano a 1 con medio a evaluar + microorganismo NO target | |
| | | | < 2,5 | | 0 | | | |
| | | | 0 | | | | | |

Si se comparan los resultados de la tabla 9 se puede observar que los medios de cultivo evaluados EMB, Chromocult y MacConkey presentan una muy buena

productividad (Mossel, 2003) ya que los índice de crecimiento absoluto ICA's obtenidos para el microorganismo evaluado *Escherichia coli* ATCC 25922, están en 5, en cuanto a porcentaje de recuperación de estos medios, se puede afirmar que es mayor al 80 % esto debido a que el índice de crecimiento relativo ICR está en 1 el cual resulta de comparar el medio prueba con el medio de referencia, $ICR = ICA \text{ prueba} / ICA \text{ control}$, Interpretando el $ICR > 1$ como resultado altamente favorable para el medio prueba (Villalobos A, *et al* 2007).

En cuanto a la selectividad se puede afirmar que los medios son de alta selectividad, pues se registraron valores de ICA de 0 para el organismo interferente *S. aureus* ATCC 6538 (USP 38). El ICA resultado de la cepa interferente evalúa la selectividad por lo que a mayor selectividad menor será el ICA: ICA= 0 medios altamente selectivos, de 0-2,5 medios medianamente selectivos (Mantilla, *et al* 2010).


Finalmente se observó muy buena productividad de los medios de cultivo ya que se observó crecimiento de los microorganismos dejando evidenciar que estos no presentan daños subletales de crecimiento, ya que presentaron ICA's de 5 en el medio de cultivo control TSA.

Esta verificación se realizó como actividad de aseguramiento, antes de realizar proceso de estandarización del inóculo bacteriano.

1.1.1.1 Control de esterilidad de medios de cultivo

La tabla 10, recolecta los resultados del control de esterilidad de los medios de cultivo, este control incluye medios sólidos y líquidos.

Tabla 10. Control de esterilidad medios de cultivo.

|  | | CONTROL DE ESTERILIDAD MEDIOS DE CULTIVOS INSTRUCTIVO DE PREPARACIÓN, CONSERVACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVOS Formato No. 7 | | | | | | | | | | Versión: 03 Emisión: 2015-08-01 | | | | | | |
|---|----------------------------|---|------------------------|-----------|----------------------------------|---------------|--------|---|---|------------------------|----|---------------------------------------|------------------------|---|-----------------------|-------------|---------------|---------------------------------|
| CONTROL DE ESTERILIDAD | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FECHA (aaaa-mm-dd) | MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO | LOTE DE PREPARACIÓN aaaa-mm-dd INC HH:00 | CONDICIONES DE CONTROL | | CRECIMIENTO SOBRE EL MEDIO | | CUMPLE | MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS Y DILUYENTES | LOTE DE PREPARACIÓN aaaa-mm-dd INC HH:00 | CONDICIONES DE CONTROL | | | TURBIDEZ | | CUMPLE | RESPONSABLE | OBSERVACIONES | |
| | | | T°C | t (horas) | aerobiosis o anaerobiosis | SI | | | | NO | SI | NO | T°C | t (horas) | | | | aerobiosis o anaerobiosis |
| 2015-10-07 | EMB | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | AGUA PENONIA | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-07 | TSA | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | AGUA REGULA- DA ESTERIL | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-07 | Chromocult | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | — | — | — | — | — | — | — | — | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-07 | Mac CONKEY | 20151007 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | — | — | — | — | — | — | — | — | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-13 | PCA | 20151013 MH 9:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | CALDO CASOP | 20151013 MH 9:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-14 | Mac CONKEY | 20151014 MH 7:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | A.P | 20151014 MH 7:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-10-20 | Mac CONKEY | 20151020 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | A.P | 20151020 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-11-12 | Mac CONKEY | 20151112 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | A.P | 20151112 MH 8:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| 2015-11-17 | Mac CONKEY | 20151117 MH 9:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | A.P | 20151117 MH 9:00 | 35 | 24 | AEROBIOSIS | | X | X | M.HINDOUSA | |
| Verificado por | | | A.S | | | OBSERVACIONES | | | *Control de servicios: Los medios de cultivos sólidos, líquidos y diluyentes que presenten crecimiento / Turbidez, los análisis realizados con estos lotes deben ser descartados y reportados al Director Técnico MB o Coordinador MB | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | RESULTADO | INTERPRETACIÓN | NIVEL DE CUMPLIMIENTO | | | |
| | | | | | | | | | | | | | No crecimiento | Medios de cultivos aptos para los análisis | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | Crecimiento | medios de cultivos con contaminación, no aptos para análisis | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | Sin Turbidez | Caldos y diluyentes aptos para los análisis | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | Con Turbidez | caldos o diluyentes con contaminación, no aptos para análisis | | | | |

Se evidenció que los procesos de preparación y esterilización de medios de cultivos se están realizando de manera correcta, los medios de cultivos que se evaluaron se observó que no presentan contaminación y pueden ser utilizados para análisis microbiológico.


Los resultados obtenidos y emitidos por el laboratorio son confiables, en dado caso de que un cliente no estuviese conforme porque su producto presentó crecimiento microbiano, este formato permite evidenciar toda la trazabilidad, desde quien lo preparó, hora de preparación, equipo utilizado para esterilizar y lote del medio de cultivo de fábrica, demostrando así que los análisis que se realizaron con dichos medios, no presentan contaminación y que los resultados obtenidos reflejan la carga microbiana de dicha muestra.

6.3 ESTANDARIZACIÓN INÓCULO BACTERIANO

6.3.1 Reactivación y conservación de material de referencia certificado (Cepas).

El material de referencia certificado es controlado, cada vez que se hace uso de él, se debe registrar en el formato digital “**Control de cepa de referencia**”, indicando la fecha de uso, si el crecimiento posterior a incubación fue conforme, el uso previsto que se le va a dar a la cepa. Este formato aporta trazabilidad y hace parte del conjunto que asegura el control de calidad analítico.

Tabla 11. Control del uso del material de referencia certificado

|  | | CONTROL DE CEPAS DE REFERENCIA INSTRUCTIVO MANEJO DEL CEPARIO Formato No. 1 | | | | Versión: 04 | | | |
|---|-------------------------|---|-------------|--------------------|------------------------------|---|--------------|-----------|----------------------------|
| | | | | | | Emisión: 2015-07-20 | | | |
| Microorganismo: | <i>Escherichia coli</i> | No ATCC: | 25922 | Lote: | 335-114-7 | | | | |
| Fecha de reconstitución | 2014-07-09 | Temperatura de criopreservación | -30°C | Fecha de caducidad | 2016-07-09 | | | | |
| # Crio-Banks | 5 | | | | | | | | |
| CONTROL DE MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO | | | | | | | | | |
| Fecha | Número de pase | Medio de cultivo utilizado | Crecimiento | | Número de repiques obtenidos | Uso previsto | Responsable | Autorizó | Observaciones |
| | | | C | NC | | | | | |
| 2015-07-30 | 1 | TSB | X | | 10 | Verificación efectividad desinfectantes | Luz Amador | G. Ospino | Verificación desinfectante |
| 2015-08-03 | 1 | TSB | X | | 10 | Control Positivos Estandarización cepa confirmación | L. Balcarcel | G.Ospino | Validación |
| 2015-08-09 | 1 | TSB | X | | 10 | Control Positivos Estandarización cepa | L. Balcarcel | G.Ospino | Material estatuamiento |



Fuente: Autor

Imagen 6. Reactivación de cepas de referencia certificada, conservadas en congelación a -30°C , en sistema de crioperlas Copan


El crecimiento presentado en los medios de cultivo líquidos cuando se reactivaron las perlas fue satisfactorio, se evidenció gran cantidad de biomasa (crecimiento de microorganismos), la pureza de las cepas se confirmó en medios de cultivo selectivos, en cada reactivación se observó características macroscópicas típica del microorganismo. Todos los ensayos donde se trabajó con cepas se infiere que están libres de microorganismo contaminantes y se está trabajando con cepa pura.

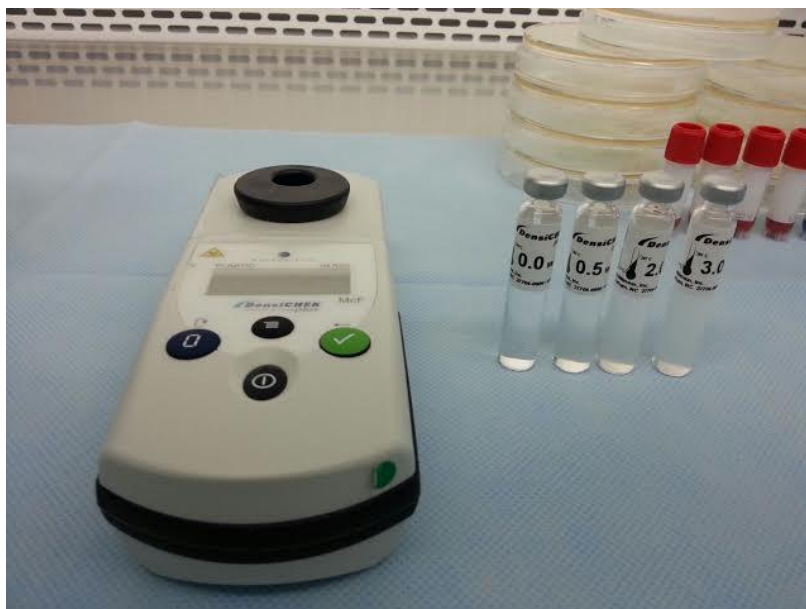
Las cepas de referencia juegan un papel importante para el control de calidad analítico, este material es utilizado como controles positivos o negativos para los diferentes métodos de ensayo, control de calidad de medios de cultivo, evaluación de desinfectantes, procesos de confirmación o validación de métodos, entre otras actividades encaminadas al aseguramiento de calidad del Departamento de Microbiología.

6.3.2 Verificación del Nefelómetro DensiCHECK

A continuación se presentan datos obtenidos de la verificación del rendimiento del equipo DensiCHECK, utilizado para la estandarización de los inóculos bacterianos. En el formato se registra las lecturas de las mediciones de los patrones químicos y los resultados del inóculo.

Tabla 12. Formato verificación del rendimiento DensiCHECK

|  | | CONTROL PATRÓN QUÍMICO E INÓCULO BACTERIANO | | | | Versión: 02 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|---|--|---------------------|-----------------|---|--|---------------------------------------|--|--|---|--|--|--------|---------------------|--|--------|---------------------|--|---------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|--|--|--|---------|------|------|
| | | INSTRUCTIVO ESTANDARIZACIÓN DE INÓCULOS BACTERIANOS | | | | Emisión: 2015-08-01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Formato No. 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTROL PATRÓN QUÍMICO E INÓCULO BACTERIANO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FECHA (aaaa-mm-dd) | # DE PATRÓN UTILIZADO/ PREPARADO | MEDICIONES | CUMPLE | | RESPONSABLE | OBSERVACIONES | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | SI | NO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 0.5 LOTE: AK4300 | 0.46 | X | | CAROL OSPINO | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 0.45 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 0.46 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 2.0 LOTE: AK4300 | 1.92 | X | | CAROL OSPINO | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1.89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1.90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 3.0 LOTE: AK4300 | 2.99 | X | | CAROL OSPINO | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.89 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.85 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | INÓCULO BACTERIANO Escherichia coli ATCC 25922 | 2.16 | X | | CAROL OSPINO | ESTANDARIZACIÓN INÓCULO BACTERIANO ENSAYO 1 TRAYE DE GRANO. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 0.5 LOTE AK4300 | 0.47 | X | | MARIAH HINOJOSA | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 0.46 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 0.46 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 2.0 LOTE AK4300 | 1.92 | X | | MARIAH HINOJOSA | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1.91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 1.92 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | PATRÓN QUÍMICO McF 3.0 LOTE AK4300 | 2.92 | X | | MARIAH HINOJOSA | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.90 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.93 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2015/10/16 | INÓCULO BACTERIANO Escherichia coli ATCC 25922 | 2.14 | X | | MARIAH HINOJOSA | VERIFICACIÓN RENDIMIENTO EQUIPO ENSAYO 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 2.15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Verificado por | AS | OBSERVACIONES | <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">CRITERIO DE ACEPTACION PATRÓN QUÍMICO</th> <th colspan="3">CRITERIO DE ACEPTACION INÓCULO BACTERIANO</th> </tr> <tr> <th>Patrón</th> <th colspan="2">Intervalo aceptable</th> <th>Patrón</th> <th colspan="2">Intervalo aceptable</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.5 McF</td> <td>0.44</td> <td>0.56</td> <td>0.5 McF</td> <td>0.50</td> <td>0.63</td> </tr> <tr> <td>2.0 McF</td> <td>1.85</td> <td>2.15</td> <td>1.0 McF</td> <td>0.90</td> <td>1.10</td> </tr> <tr> <td>3.0 McF</td> <td>2.79</td> <td>3.21</td> <td>2.0 McF</td> <td>1.80</td> <td>2.20</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>3.0 McF</td> <td>2.70</td> <td>3.30</td> </tr> </tbody> </table> | | | | | CRITERIO DE ACEPTACION PATRÓN QUÍMICO | | | CRITERIO DE ACEPTACION INÓCULO BACTERIANO | | | Patrón | Intervalo aceptable | | Patrón | Intervalo aceptable | | 0.5 McF | 0.44 | 0.56 | 0.5 McF | 0.50 | 0.63 | 2.0 McF | 1.85 | 2.15 | 1.0 McF | 0.90 | 1.10 | 3.0 McF | 2.79 | 3.21 | 2.0 McF | 1.80 | 2.20 | | | | 3.0 McF | 2.70 | 3.30 |
| CRITERIO DE ACEPTACION PATRÓN QUÍMICO | | | CRITERIO DE ACEPTACION INÓCULO BACTERIANO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Patrón | Intervalo aceptable | | Patrón | Intervalo aceptable | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0.5 McF | 0.44 | 0.56 | 0.5 McF | 0.50 | 0.63 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2.0 McF | 1.85 | 2.15 | 1.0 McF | 0.90 | 1.10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3.0 McF | 2.79 | 3.21 | 2.0 McF | 1.80 | 2.20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | 3.0 McF | 2.70 | 3.30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



Fuente: Autor

Imagen 7. Verificación del Rendimiento DensiCHECK plus Biomereux.

Los resultados obtenidos en las mediciones de los patrones químicos se encontraron dentro del criterio de aceptación, los cuales se pueden observar en la Tabla 12.

Formato verificación del rendimiento DensiCHECK.

Esta verificación es el punto de partida para asegurar que los inóculos bacterianos se realizarán correctamente disminuyendo posibles errores instrumentales que afecte la calidad de los resultados.

Por otro lado se evidencia que el patrón celular se preparó correctamente.

En los diferentes ensayos los valores obtenidos en la verificación fueron similares a los presentados en la **Tabla 12**. Formato verificación del rendimiento DensiCHECK, datos no mostrados.

Se aclara que las unidades emitidas por este equipo está dada por unidades del valor MacFarland, no se expresa DO o NTU.

6.3.2.1 Estandarización y Confirmación de inóculos bacterianos

Las tablas 13, 14, 15,16 y 17 recolecta la información del proceso de confirmación del inóculo de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 13. Resultados estandarización McFarland 0.5 dilución 10^{-7} .

| COMPARACIÓN ESTANDARIZACIÓN ESCALA McF 0,5 TEÓRICA Vs EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------|------------|--|---------------------------------|------------|
| # de replicas | Log10 Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 | Promedio valor teórico Log10 UFC/mL | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 1 | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 2 | Porcentaje de Recuperación (%) | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (% DE RECUPERACIÓN) | Criterio de cumplimiento CUMPLE | |
| | | | | | | | Analista 1 | Analista 2 | | Analista 1 | Analista 2 |
| 1,00 | 1,18 | 1,26 | 1,20 | 1,18 | 1,21 | 1,17 | 103 | 97 | 70 % a 130 % | SI | SI |
| 2,00 | 1,18 | 1,28 | 1,15 | | | | | | | | |
| 3,00 | 1,18 | 1,23 | 1,20 | | | | | | | | |
| 4,00 | 1,18 | 1,08 | 1,11 | | | | | | | | |
| 5,00 | 1,18 | 1,20 | 1,20 | | | | | | | | |

Tabla 14. Resultados estandarización McFarland 1 dilución 10^{-7} .

| COMPARACIÓN ESTANDARIZACIÓN ESCALA McF 1 TEÓRICA Vs EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------|------------|--|---------------------------------|------------|
| # de replicas | Log10 Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 | Promedio valor teórico Log10 UFC/mL | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 1 | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 2 | Porcentaje de Recuperación (%) | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (% DE RECUPERACIÓN) | Criterio de cumplimiento CUMPLE | |
| | | | | | | | Analista 1 | Analista 2 | | Analista 1 | Analista 2 |
| 1,00 | 1,48 | 1,45 | 1,51 | 1,48 | 1,43 | 1,51 | 97 | 102 | 70 % a 130 % | SI | SI |
| 2,00 | 1,48 | 1,40 | 1,54 | | | | | | | | |
| 3,00 | 1,48 | 1,41 | 1,56 | | | | | | | | |
| 4,00 | 1,48 | 1,45 | 1,46 | | | | | | | | |
| 5,00 | 1,48 | 1,43 | 1,48 | | | | | | | | |

Tabla 15. Resultados estandarización McFarland 2 dilución 10^{-7} .

| COMPARACIÓN ESTANDARIZACIÓN ESCALA McF 2 TEÓRICA Vs EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------|------------|--|---------------------------------|------------|
| # de replicas | Log10 Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 | Promedio valor teórico Log10 UFC/mL | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 1 | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 2 | Porcentaje de Recuperación (%) | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (% DE RECUPERACIÓN) | Criterio de cumplimiento CUMPLE | |
| | | | | | | | Analista 1 | Analista 2 | | Analista 1 | Analista 2 |
| 1,00 | 1,78 | 1,81 | 1,76 | 1,78 | 1,79 | 1,77 | 101 | 100 | 70 % a 130 % | SI | SI |
| 2,00 | 1,78 | 1,81 | 1,76 | | | | | | | | |
| 3,00 | 1,78 | 1,81 | 1,75 | | | | | | | | |
| 4,00 | 1,78 | 1,78 | 1,80 | | | | | | | | |
| 5,00 | 1,78 | 1,76 | 1,81 | | | | | | | | |

Tabla 16. Resultados estandarización McFarland 3 dilución 10^{-7} .

| COMPARACIÓN ESTANDARIZACIÓN ESCALA McF 3 TEÓRICA Vs EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------|------------|--|---------------------------------|------------|
| # de replicas | Log10 Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 | Promedio valor teórico Log10 UFC/mL | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 1 | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 2 | Porcentaje de Recuperación (%) | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (% DE RECUPERACIÓN) | Criterio de cumplimiento CUMPLE | |
| | | | | | | | Analista 1 | Analista 2 | | Analista 1 | Analista 2 |
| 1,00 | 1,95 | 1,99 | 1,96 | 1,95 | 1,97 | 1,97 | 101 | 101 | 70 % a 130 % | SI | SI |
| 2,00 | 1,95 | 1,98 | 1,97 | | | | | | | | |
| 3,00 | 1,95 | 1,94 | 2,00 | | | | | | | | |
| 4,00 | 1,95 | 1,96 | 1,95 | | | | | | | | |
| 5,00 | 1,95 | 1,99 | 1,98 | | | | | | | | |

Tabla 17. Resultados estandarización McFarland 4 dilución 10^{-7} .

| COMPARACIÓN ESTANDARIZACIÓN ESCALA McF 4 TEÓRICA Vs EXPERIMENTAL | | | | | | | | | | | |
|--|---------------------|--|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------|------------|--|---------------------------------|------------|
| # de replicas | Log10 Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 | Promedio valor teórico Log10 UFC/mL | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 1 | Promedio Valor Experimental Log10 UFC/mL Analista 2 | Porcentaje de Recuperación (%) | | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (% DE RECUPERACIÓN) | Criterio de cumplimiento CUMPLE | |
| | | | | | | | Analista 1 | Analista 2 | | Analista 1 | Analista 2 |
| 1,00 | 2,08 | 2,08 | 2,06 | 2,08 | 2,08 | 2,08 | 100 | 100 | 70 % a 130 % | SI | SI |
| 2,00 | 2,08 | 2,10 | 2,10 | | | | | | | | |
| 3,00 | 2,08 | 2,08 | 2,09 | | | | | | | | |
| 4,00 | 2,08 | 2,07 | 2,07 | | | | | | | | |
| 5,00 | 2,08 | 2,09 | 2,08 | | | | | | | | |

Como se puede evidenciar en las tablas 13, 14, 15, 16 y 17 los inóculos bacterianos cumplieron con el criterio establecido del 70 al 130%.

Dicho proceso de estandarización es el punto de partida para los futuros ensayos de confirmación de los métodos de análisis de productos farmacéuticos estériles y no estériles según la USP 36, 38 y 62. Todos los analistas de microbiología con un buen entrenamiento en manejo de cepario y entrenado en la estandarización se encuentra en la capacidad de elaborar inóculos bacterianos.

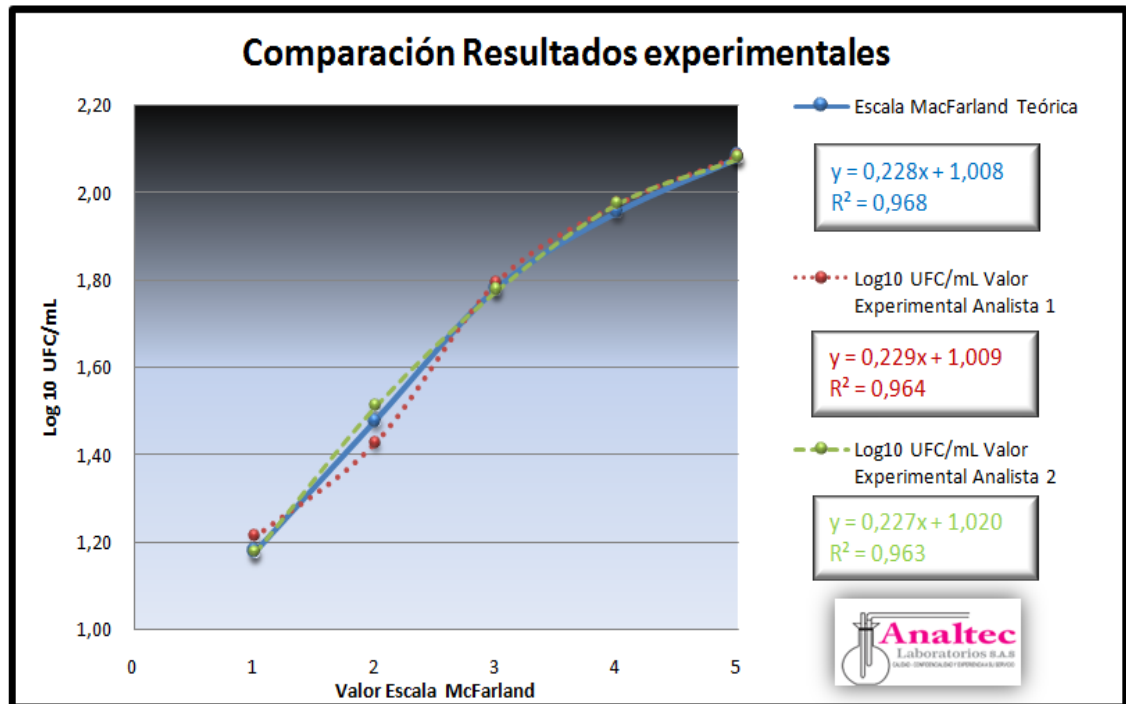
Los porcentajes de recuperación de los inóculos bacterianos se encuentran en promedio de 100, lo que indica que la cepa utilizada se encuentra viable y sin posible problema de crecimiento, por otro lado la técnica de los analistas para este proceso es similar, ya que los resultados no difieren entre sí, sin embargo es necesario realizar un estudio donde se pueda establecer la repetibilidad y la reproducibilidad.

La tabla 18 reúne los datos del proceso de confirmación, donde se compara con respecto a los valores esperados según escala de MacFarland, a partir de dichos datos se construyó la gráfica 4.

Tabla 18. Resultados estandarización McFarland, Comparación de los promedios experimentales analista 1 y 2 Vs valor experimental.

| Escala MacFarland Teórica | | | | |
|---------------------------|---------------|----------------------------|--|--|
| Valor MacFarland | Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Teórico | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 1 | Log10 UFC/mL Valor Experimental Analista 2 |
| 0,50 | 15 | 1,18 | 1,21 | 1,17 |
| 1 | 30 | 1,48 | 1,43 | 1,51 |
| 2 | 60 | 1,78 | 1,79 | 1,77 |
| 3 | 90 | 1,95 | 1,97 | 1,97 |
| 4 | 120 | 2,08 | 2,08 | 2,08 |

Gráfica 4. Comparación resultados estandarización de inóculos experimentales Vs valor de referencia (teórico).



Al comparar la estandarización experimental con los valores teóricos esperados de la escala de McFarland se observó que el proceso de estandarización se realizó correctamente ya que los R^2 del analista 1 y 2 corresponden a 0.964 y a 0.963 respectivamente.

7. CONCLUSIONES

Durante el proceso comparativo de la resolución 3619 con respecto a la NTC ISO/IEC 17025:2005, se evidenció una clara similitud en cuanto a control de documentos, registros, equipos procesadores de datos y procedimientos de trabajo, lo que resulta ser una ventaja ya que al estar acreditados con esta última norma se cuenta con ciertos avances en el sistema de gestión de calidad en un 80%, facilitando la implementación de la resolución 3619 de 2013.

Haciendo principal énfasis en la calidad del ambiente del área donde se van a ejecutar los ensayos de productos tanto estériles y no estériles se cumple en un 60% aproximadamente con lo estipulado por la resolución 3619 ya que debe hacerse una reestructuración del laboratorio y contar con ciertos equipos que deben ser adquiridos para poder dar cumplimiento en su totalidad.

Priorizar el control de calidad analítico de los equipos como herramienta que soporte lo que se ha estado detallando anteriormente, ya que la buena trazabilidad y control de las actividades que se desempeñan al igual que contar con buenos equipos respectivamente calibrados, permite que se lleve a cabo cualquier análisis con la certeza en la obtención de resultados confiables. Para todo esto es necesario concientizar al personal de la importancia del buen manejo de los equipos e inspección del funcionamiento y realizar auditorías para evaluar la situación actual del mantenimiento que llevan los equipos.

Los resultados obtenidos fueron satisfactorios en un 100% por lo que se concluye que asegurando las condiciones externas se logra obtener resultados que sean confiables durante la realización de ensayos y llevando un buen control de los medios de cultivo utilizando controles de esterilidad en cada ensayo a realizar; dichos resultados entonces serán fundamentales al momento de evaluar y/o determinar el grado de competencia del analista, del método y de análisis de resultados obtenidos con muestras de naturaleza farmacéutica.

Estandarizar la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 hace posible proseguir con los estudios de validación y/o confirmación de métodos microbiológicos de productos farmacéuticos sirviendo como base y permitiendo que cada procedimiento esté orientado siempre en la obtención de datos reales que soporten cualquier etapa posterior como puede ser una certificación y/o acreditación ante un ente externo.

8. RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS

Una vez realizado y finalizado el proyecto se enumeran unas recomendaciones, las cuales además de mencionarse en este informe, se dieron a conocer al personal del área de Microbiología de Analtec Laboratorios S.A.S. sede Medellín y en especial al jefe del área con el fin de que esto fortaleciera la consecución de la mejora continua y la calidad de los procesos.

En cuanto a la prueba de control de calidad de medios de cultivos líquidos, para medir tanto productividad como selectividad del medio, se recomienda revisar la ISO/TS 11133-2003 microbiología de alimentos para consumo humano y animal – Guía para la preparación y producción de medios de cultivo – Parte 2: Guía práctica para los ensayos de rendimiento de medios de cultivo.

Al momento de procesar muestras en la zona de biomédico, se debe contar con personal en el laboratorio de microbiología que brinde apoyo al momento de necesitar algún medio de cultivo u otro insumo.

Este trabajo sentó las bases documentales de la proyección que el laboratorio desea conseguir en la implementación y certificación en BPL; se recomienda entonces, que este sirva como antecedente y/o referencia para comenzar con un proceso de validación que brinde soporte desde la praxis al momento de pensar en recibir la visita en miras de obtener una certificación.

9. GLOSARIO

CEPAS DE REFERENCIA: microorganismos definidos al menos a nivel de género y especie, catalogados y descritos de acuerdo a sus características e indicando preferiblemente su origen. Se obtienen normalmente de una colección nacional o internacional reconocida.

CERTIFICACIÓN: es la acción llevada a cabo por una entidad independiente de las partes interesadas mediante la que se manifiesta que una organización, producto, proceso o servicio, cumple los requisitos definidos en unas normas o especificaciones técnicas.

CONTROL DE CALIDAD: todas las medidas tomadas, incluyendo el establecimiento de especificaciones, muestreo, análisis e informe de análisis, para asegurar que las materias primas, productos intermedios, materiales de envase y productos farmacéuticos terminados cumplan con las especificaciones establecidas para identidad, contenido, pureza y otras características.

ENSAYO DE APTITUD DEL SISTEMA: un ensayo que se realiza para asegurar que el procedimiento analítico cumple con los criterios de aceptación que se establecieron durante la validación del procedimiento. Este ensayo se realiza antes de comenzar el procedimiento analítico y se repite regularmente, según corresponda, a lo largo del ensayo para asegurar que el desempeño del sistema es aceptable en el momento del ensayo.

ESTÉRIL: todo aquel objeto o sustancia que está libre de microorganismos y que es incapaz de producir cualquier forma de vida.

IMPLEMENTACIÓN: es la realización o la ejecución de un plan, idea, modelo científico, etc.

INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO (API, por sus siglas en inglés): cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a ser usadas en la fabricación de una forma farmacéutica, y que cuando se usa de esa manera, se transforma en un ingrediente activo de esa forma farmacéutica. Tales sustancias tienen por objeto suministrar actividad farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad o afectar la estructura y función del cuerpo.

INVIMA: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.

MANUAL DE CALIDAD: un manual que describe los diferentes elementos del sistema de gestión de calidad para asegurar la calidad de los resultados de los ensayos generados por el laboratorio.

MATERIAL DE REFERENCIA: material suficientemente homogéneo y estable con respecto a una o más de las propiedades especificadas, que se ha establecido que es apropiado para el uso para el cual está destinado en un proceso de medición.

MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO: material de referencia, caracterizado por un procedimiento válido desde el punto de vista metrológico para una o más de las propiedades especificadas, acompañado por un certificado que proporciona el valor de la propiedad especificada, su incertidumbre asociada y una declaración de la trazabilidad metrológica.

MUESTRA CONTROL: una muestra usada para analizar la continua exactitud y precisión del procedimiento. Debe tener una matriz similar a la de las muestras a ser analizadas.

NORMATIVIDAD: preceptos o reglas de naturaleza obligatoria cuya validez se fundamenta en una norma de carácter jurídico y que son creadas para establecer un orden en las relaciones sociales.

PRODUCTO FARMACÉUTICO: Cualquier material o producto destinado a uso humano o veterinario, presentado en su forma de dosificación final o como una materia prima para uso en esa forma farmacéutica, que está sujeto a control por la legislación farmacéutica del lugar de exportación y/o importación.

REGISTROS: es un término que se origina en el vocablo latino regestum. Se trata del accionar y de las consecuencias de registrar, un verbo que refiere a observar o inspeccionar algo con atención. Registrar también es anotar o consignar un cierto dato en un documento o papel.

RESOLUCIÓN: fundamento de todos los estereotipos con los que se establecen las leyes en cualquier tipo de organización.

SALA BLANCA: recinto en el cual la concentración de partículas es controlada y en su construcción y su uso se debe minimizar la introducción, generación y retención de partículas dentro de la sala y en el cual otros parámetros relevantes son controlados como por ejemplo la temperatura, la humedad y la presión diferencial entre salas.

SENSIBILIDAD: fracción del número total de cultivos o colonias positivos que son correctamente asignados en una presunta inspección.

SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD: una infraestructura apropiada, que abarca la estructura organizativa, los procedimientos, procesos y recursos, y las acciones sistemáticas necesarias para asegurar la confianza adecuada de que un producto o servicio satisface determinados requisitos de calidad.

VALIDACIÓN: acción de demostrar, de acuerdo con los principios de las guías y regulaciones de buenas prácticas de calidad (BPx, o GxP por sus siglas en inglés) que un procedimiento, proceso, equipo (incluyendo el software o hardware usado), material, actividad o sistema conduce en forma real y consistente a los resultados esperados.

VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO ANALÍTICO: proceso documentado por el cual un procedimiento analítico (o método) demuestra ser adecuado para el uso al que está destinado.

BIBLIOGRAFÍA

- Bucholtz Ehren C.*, French Lisa M., Lavoie Jaie P., and Gaebelin Claude J. Quality Control Analysis of Student-Generated Pharmaceutical Capsules. . En: J. Chem. Educ. August, 2010. 87 (10). p. 1108–1109.
- COPAN DIAGNOSTICS INC. CRYOBANK. Convenient bead system for storing and retrieving bacterial cultures. Disponible en: <http://www.copanusa.com/files/4414/2418/5736/CryoBank.pdf>.
- Gálvez M. Patricia, Clares Beatriz, Soria Bernat, Ruíz M^a Adolfin. Monitorización de partículas de una sala blanca: requerimientos normativos en terapias avanzadas. Disponible en: http://www.ugr.es/~sej03266/actividad/red_medicamentos/repositorio/l_symposium_internacional_regimen_juridico_del_medicamento_2010/Galvez_Normativa_contaje_particulas.pdf.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Microbiología de alimentos y alimento para animales. Método horizontal de técnicas de muestreo de superficies usando cajas de contacto y método de escobillón. NTC 5230. Bogotá D.C.: ICONTEC, 2003. 11 p.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo Y Calibración. Primera Actualización. NTC-ISO/IEC 17025. Bogotá D. C.: ICONTEC, 2005. 35 p.
- Mantilla Lara Cecilia, Mendoza Carmelo A, Oviedo Zumaqué Luis E. Productividad y selectividad del medio de cultivo a partir de guayaba agria (Psidium araca) en el crecimiento de levaduras nativas del género Candida sp. En: Rev. Colomb. Biotecnol. Diciembre, 2010. vol. XII No. 2. p. 116-123.
- Mendoza Ruiz Adriana, García Serpa Claudia. Medicamentos: hablando de calidad. 1. ed. Río de Janeiro: ABIA, 2009. 55 p. ISBN 978-85-88684-44-7.
- Merck Millipore, 2012. Disponible en: http://www.merckmillipore.com/CO/es/product/chemicals/sterikon-plusbioindicator,MDA_CHEM-110274.


- MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, se establece la guía de evaluación y se dictan otras disposiciones. Resolución 003619. Bogotá D.C.: MINSALUD, 2013. 95 p.
- Montero Ángel Luis Fernando. Estabilidad de las formulaciones farmacéuticas. Primera Edición. España: Depósito Legal, 2014. 240 p.
- Mossel, D.A. Microbiología de los alimentos. 2a edición. Zaragoza, España: Acribia, 2003. 703 p.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. Red PARF Documento Técnico N° 11. Washington, D.C.: OPS, 2013. 38 p.
- Osorio Colindres Claudia Beatriz. Validación de la prueba de endotoxina bacteriana (LAL) por el método gel – Clot utilizando el producto furosemida (20 mg) inyectable. Trabajo de grado Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia, 2011. 38 p.
- Rastogi Shruti , Kalaivani M, Bhatia Amandeep K, Prakash Jai, Singh G. N. Implementing the Principle of the 3Rs Through the Indian Pharmacopoeia. En: Therapeutic Innovation & Regulatory Science. Septiembre, 2015. vol. 49 no. 5750-755. p. 750-755.
- The United States Pharmacopeial (USP) Convention. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. Revisión 36. Baltimore, Maryland.: United Book Press, Inc, 2013. ISBN: 978-1-936424-15-3.
- The United States Pharmacopeial (USP) Convention. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA USP 38 - NF 33. Volumen 4. Rockville, MD.: United Book Press, Inc, 2015. ISBN: 978-3-7692-6315-2.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests. Disponible en:




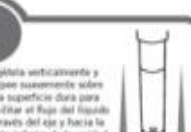





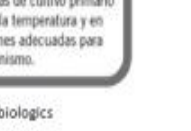
<https://mc.usp.org/sites/default/files/documents/GeneralChapterPDFs/c61%20USP36.pdf>.





- UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms. Disponible en: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/generalChapter62.pdf.
- Villalobos, L. Calderón, C Figueroa, J. Fierro, G. Otalora, R. Álvarez, B. Quevedo- Hidalgo, M. Mercado- Reyes, M. Huertas- Valero, A. Trespalacios Rangel. Evaluación por método ecométrico de agar obtenido de algas rojas colombiana. En: Universitas Scientiarum. Julio-diciembre, 2007. vol 12, edición especial III. p. 57-65.
- Wedlich Richard C. *, Pires Amanda, Fazzino Lisa , and Fransen Joseph M. Good Laboratory Practice. Part 3. Implementing Good Laboratory Practice in the Analytical. En: *J. Chem. Educ.* June, 2013, 90 (7). p 862–865.
- World Health Organization. Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. World Health Organization Forty-fifth report. Geneva, Suiza: WHO 2011. 440 p.

ANEXOS

Instructivo manejo del cepario

|  | | INSTRUCTIVO MANEJO DEL CEPARIO PROCEDIMIENTO MANEJO DE INSUMOS PARA ANÁLISIS | | Versión: 04 |
|---|---|--|----------------------------------|------------------------------------|
| | | | | Emisión: Julio 2015 |
| 1. OBJETIVO | | Describir las actividades que garanticen la viabilidad y trazabilidad de las cepas de referencia y de trabajo (Patrones), empleados en los procesos de calidad analíticos. | | |
| 2. ALCANCE | | Mantenimiento y Preservación de las cepas de referencia y de trabajo del laboratorio de microbiología. | | |
| 3. DESARROLLO | | | | |
| ITEM | ACTIVIDAD | DESCRIPCIÓN | RESPONSABLE | REGISTRO |
| 1. | REACTIVACIÓN CEPAS DE REFERENCIA CERTIFICADA | <p>a). Dejar que la bolsa de Lab-Elite™ (KWIK-STIK™) sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.</p> <p>b). Retirar la parte de la lengüeta de la etiqueta y péguela a la placa del cultivo primario o en la ficha de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.</p> <p>c). Pellizque (solo una vez) la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco del líquido de la ampolla) que se encuentra en la tapa para liberar el líquido hidratante.</p> <p>d). Sujetar verticalmente y golpear suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del bastoncillo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet.</p> <p>e). Pellizcar la parte inferior de la unidad, triture el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.</p> <p>f). Saturar a fondo INMEDIATAMENTE el mismo bastoncillo con el material hidratado y transfiera al medio de agar.</p> <p>g). Inocular la placa o placas de cultivo primario pasando suavemente el bastoncillo al tiempo que lo gira por un tercio de la placa.</p> <p>h). Formar estrías longitudinales con un asa estéril, para facilitar el aislamiento de las colonias.</p> <p>i). Desechar el KWIK-STIK™, cumpliendo las directrices de manejo y disposición de residuos peligrosos para materiales de riesgo biológico.</p> <p>j). Incubar INMEDIATAMENTE la placa o placas de cultivo primario inoculado a la temperatura y en las condiciones propias para el microorganismo.</p> | Analista de Microbiología | Control Cepas de Referencia |

| ITEM | ACTIVIDAD | DESCRIPCIÓN | RESPONSABLE | REGISTRO |
|------|--|--|-------------|----------|
| 2. | <p align="center">REPRESENTACIÓN DE LA ACTIVACIÓN</p> | <div style="display: flex; flex-wrap: wrap;"> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">1</p>  <p>Deje que la bolsa de Lab-Elite™ (KWIK-STIK™) sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">2</p>  <p>Atraseque la parte de la lengüeta de la etiqueta y pégala a la placa del cultivo primario o a la ficha de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">3</p>  <p>Percutane todo una vez la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK™ (ajuste por debajo del remisco del líquido de la ampolla que se encuentra en la tapa para liberar el líquido hidratante).</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">4</p>  <p>Sujete verticalmente y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet. Deje que el líquido hidratante fluya si inserta un eje con bastoncillo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">5</p>  <p>Percutane la parte inferior de la unidad, bórrele el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">6</p>  <p>Sature a fondo INMEDIATAMENTE el bastoncillo con el material hidratado y transfiera al medio de agar.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">7</p>  <p>Inocule la placa o placas de cultivo primario pasando suavemente el bastoncillo al tiempo que lo gira por un tercio de la placa.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">8</p>  <p>Con un lazo estéril, forme estrías longitudinales para facilitar el aislamiento de las colonias.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">9</p>  <p>Utilizando procedimientos de eliminación adecuados para materiales de riesgo biológico, deseché el KWIK-STIK™.</p> </div> <div style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;"> <p align="center">10</p>  <p>Incube INMEDIATAMENTE la placa o placas de cultivo primario inoculado a la temperatura y en las condiciones adecuadas para el microorganismo.</p> </div> </div> | | |

| ITEM | ACTIVIDAD | DESCRIPCIÓN | RESPONSABLE | REGISTRO |
|------|---|---|---------------------------|-----------------------------|
| 3. | CONSERVACIÓN Y REACTIVACIÓN DE CEPAS DE REFERENCIA DE TRABAJO | <p>k). Retirar una muestra concentrada de una placa que contenga un cultivo fresco (de no más de 18 horas) y disolver en el medio que contiene el tubo de Cryobank.</p>  <p align="center"><i>Fuente: Comapan USA</i></p> | Analista de Microbiología | Control Cepas de Referencia |
| | | <p>l). Agitar hasta incorporar completamente la muestra al medio invirtiendo el tubo, esto permitirá que las bacterias se adhieran a las perlas.</p>  | | |
| | | <p>m). Remover con una pipeta estéril del tubo, el medio de cultivo de Cryobank.</p>  | | |
| | | <p>n). Almacenar el tubo de Cryobank a la temperatura de preservación (-4°C, -20°C o -70°C), inmediatamente después.</p>  | | |



**INSTRUCTIVO MANEJO DEL CEPARIO
PROCEDIMIENTO MANEJO DE INSUMOS PARA ANÁLISIS**

Versión: 04

Emisión:
Julio 2015

4. NORMAS E INSTRUCCIONES A SEGUIR

1. **Uso previsto:** El Material de referencia certificado (MRC) de Lab-Elite™ es un preparado puro, homogéneo y estable de microorganismos liofilizados con características microscópicas, macroscópicas, fenotípicas y genotípicas bien caracterizadas.
2. **Principio:** El Material de referencia certificado de Lab-Elite™ incorpora un método de liofilización, propuesto por Obara y otros, que utiliza un medio de suspensión que consta de gelatina, leche descremada, ácido ascórbico, dextrosa y carbón. La gelatina actúa como portadora del microorganismo. La leche descremada, el ácido ascórbico y la dextrosa protegen al microorganismo al preservar la integridad de la pared celular durante la liofilización y la conservación. El carbón vegetal se incluye para neutralizar cualquier sustancia tóxica formada durante el proceso de liofilización.
3. **Conservación y caducidad:** Almacene el Material de referencia certificado de Lab-Elite™ a entre 2 °C y 8 °C en la bolsa original y sellada que contiene el desecador. Si se almacenan según las indicaciones, el preparado de microorganismos liofilizados conservará las especificaciones y funcionamiento hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del dispositivo, dentro de los límites indicados. No se usará el producto cuando:
 - Existe evidencia de excesiva exposición al calor o la humedad.
 - Ha pasado la fecha de caducidad.
 - Se conservan indebidamente.
4. **Descripción:** Los Cryobank están basados en un sistema de criovial, el cual comprende un pequeño vial que contiene unas perlas a las cuales los microorganismos pueden adherirse. Las perlas están inmersas en una solución hipertónica crio-preservante (trytone soy suplementado con glicerol y sucrosa). Una vez inoculadas, los viales pueden ser almacenados en un freezer con un rango de temperatura de -20°C a -80°C.
5. La información más detallada de las cepas de referencia certificada ATCC, está con las hojas de los productos suministradas por la American Type Culture Collection.

5. GLOSARIO

AEROBIO: Microorganismo capaz de usar el oxígeno en la respiración.

BACTERIA: Grupo de procariontes filogenéticamente relacionados y de distinto grupo.

CEPAS DE REFERENCIA: Son distribuidas y presentadas comercialmente liofilizadas; los organismos de acreditación son los encargados de considerar válida la fuente de procedencia de la cepa a fin de que se cumpla con el requisito de prevenir mutaciones, deterioro o alteración de las características típicas de las cepas.

CEPAS DE RESERVA: Son idénticas logradas mediante un solo subcultivo de una cepa de referencia.

CRECIMIENTO EXPONENCIAL: Crecimiento de un microorganismo en que el número de células se duplica en un periodo fijado de tiempo.

CULTIVO AXÉNICO: Es un cultivo que contiene una clase de microorganismos.

FASE ESTACIONARIA: Posterior a la fase exponencial, cuando la velocidad de crecimiento se hace cero.

FASE DE LATENCIA: Fase que precede a la exponencial de crecimiento cuando las células pueden estar metabolizando pero no están creciendo.

FASE EXPONENCIAL: Crecimiento de un microorganismo en que el número de células se duplica en un periodo fijado de tiempo.

6. ANEXOS

1. Formato No. 1 Control de cepas de Referencia.

Tabla 1: Inventario Cepario Analtec Laboratorios

| Cepas | # ATCC | Lote | # pase | Fecha de Reactivación | Fecha de Vencimiento | Responsable |
|---|--------|-----------|--------|-----------------------|----------------------|-------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 | 335-114-7 | 1 | 09/07/2014 | 09/07/2017 | G.Ospino |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. pneumoniae | 13883 | 351-37-4 | 1 | 15/07/2014 | 15/07/2016 | J. Muñoz |
| <i>Bacillus cereus</i> | 10876 | 998-99 | 1 | 05/08/2014 | 05/08/2017 | J. Muñoz |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6538 | 485-220-1 | 1 | 05/08/2014 | 05/08/2016 | J. Muñoz |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 29212 | 366-174-2 | 1 | 16/07/2014 | 16/07/2017 | G.Ospino |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | 353-150-5 | 1 | 05/08/2014 | 05/08/2016 | J. Muñoz |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 13525 | 241-24-5 | 2 | 21/05/2014 | 21/05/2016 | G.Ospino |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 13124 | 318-85-2 | 1 | 12/08/2014 | 12/08/2016 | J. Muñoz |
| <i>Salmonella</i> entérica subsp. Entericaserovar typhimurium | 14028 | 363-156-6 | 1 | 05/08/2014 | 05/08/2017 | G.Ospino |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 19111 | 277-40-1 | 1 | 05/08/2014 | 05/08/2017 | G.Ospino |
| <i>Candida albicans</i> | 10231 | 443-303-5 | 1 | 29/07/2014 | 29/01/2016 | J. Muñoz |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 16404 | 392-229-4 | 1 | 29/07/2014 | 29/01/2016 | J. Muñoz |

FUENTE: CRIOBANK/Copan Diagnostics Inc.

Tabla 2: Diagrama de conservación y reactivación




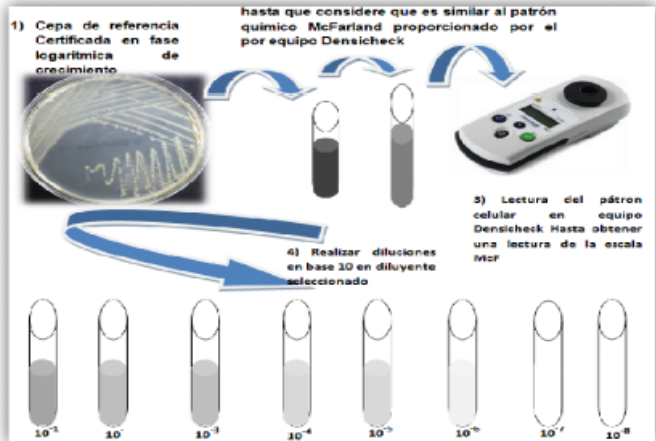
* Comprobaciones de pureza y paralelamente pruebas bioquímicas según corresponde
Todas las etapas del proceso deben estar plenamente documentadas y se debe mantenerse un registro detallado de cada una de las etapas.

Fuente:
European co-operation for accreditation, 2002

7. CONTROL DE CAMBIOS

| VERSIÓN | FECHA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---|--------|---|
| 2 | abr-14 | * Ajustar el Procedimiento a la nueva codificación y anclar los formatos que genera el procedimiento. |
| 3 | jul-14 | * Adición de tabla referenciando las existencias de las cepas para tener trazabilidad completa, se graficó en flujograma para facilitar la interpretación de la reactivación y conservación de las cepas de referencia certificada. |
| 4 | jul-15 | * Ajustar el Procedimiento a los cambios del Procedimiento Control Documentos, registros y datos. |
| ELABORADO POR | | REVISADO POR |
| Gabriel Ospino Torres Coordinador Microbiología | | Ana Mercedes Sánchez Director Técnico de Microbiología |
| APROBADO POR | | |
| Ana Mercedes Sánchez Director Técnico de Microbiología | | |

“Confirmación estandarización, versión 1”

|  | | CONFIRMACIÓN DE ESTANDARIZACIÓN INSTRUCTIVO ESTÁNDARIZACIÓN DE INÓCULOS BACTERIANOS ANEXO 1 | | Versión: 01 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|--|-------------------------------|--|------------------|------------------|----------------------|-------------------------------|------------------|--|--|--|--|--|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------|------|-----|----|-----|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|------|-----|----|---|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|------|-----|----|---|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|------|-----|----|---|---|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|-------|------|-----|----|
| | | | | Emisión: Agosto 2015 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|  <p>Imagen 1. Estandarización inóculos bacterianos</p> | | <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">ESCALA McF</th> <th rowspan="2">CONCENTRACIÓN UFC/mL</th> <th colspan="8">DILUCIONES SERIADA EN BASE 10</th> </tr> <tr> <th>10⁻¹</th> <th>10⁻²</th> <th>10⁻³</th> <th>10⁻⁴</th> <th>10⁻⁵</th> <th>10⁻⁶</th> <th>10⁻⁷</th> <th>10⁻⁸</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,5</td> <td>15 x10⁷</td> <td>15 x10⁶</td> <td>15x10⁵</td> <td>15x10⁴</td> <td>15000</td> <td>1500</td> <td>150</td> <td>15</td> <td>1,5</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>30 x10⁷</td> <td>30 x10⁶</td> <td>30 x10⁵</td> <td>30 x10⁴</td> <td>30000</td> <td>3000</td> <td>300</td> <td>30</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>60 x10⁷</td> <td>60 x10⁶</td> <td>60 x10⁵</td> <td>60 x10⁴</td> <td>60000</td> <td>6000</td> <td>600</td> <td>60</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>90 x10⁷</td> <td>90 x10⁶</td> <td>90 x10⁵</td> <td>90 x10⁴</td> <td>90000</td> <td>9000</td> <td>900</td> <td>90</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>12 x10⁸</td> <td>12x10⁷</td> <td>12x10⁶</td> <td>12x10⁵</td> <td>120000</td> <td>12000</td> <td>1200</td> <td>120</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 3. Datos teóricos de los patrones McFarland con los respectivos recuento esperados al realizar diluciones en base 10.</p> | | | | ESCALA McF | CONCENTRACIÓN UFC/mL | DILUCIONES SERIADA EN BASE 10 | | | | | | | | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁸ | 0,5 | 15 x10 ⁷ | 15 x10 ⁶ | 15x10 ⁵ | 15x10 ⁴ | 15000 | 1500 | 150 | 15 | 1,5 | 1 | 30 x10 ⁷ | 30 x10 ⁶ | 30 x10 ⁵ | 30 x10 ⁴ | 30000 | 3000 | 300 | 30 | 3 | 2 | 60 x10 ⁷ | 60 x10 ⁶ | 60 x10 ⁵ | 60 x10 ⁴ | 60000 | 6000 | 600 | 60 | 6 | 3 | 90 x10 ⁷ | 90 x10 ⁶ | 90 x10 ⁵ | 90 x10 ⁴ | 90000 | 9000 | 900 | 90 | 9 | 4 | 12 x10 ⁸ | 12x10 ⁷ | 12x10 ⁶ | 12x10 ⁵ | 120000 | 12000 | 1200 | 120 | 12 |
| ESCALA McF | CONCENTRACIÓN UFC/mL | DILUCIONES SERIADA EN BASE 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁸ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0,5 | 15 x10 ⁷ | 15 x10 ⁶ | 15x10 ⁵ | 15x10 ⁴ | 15000 | 1500 | 150 | 15 | 1,5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 30 x10 ⁷ | 30 x10 ⁶ | 30 x10 ⁵ | 30 x10 ⁴ | 30000 | 3000 | 300 | 30 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 60 x10 ⁷ | 60 x10 ⁶ | 60 x10 ⁵ | 60 x10 ⁴ | 60000 | 6000 | 600 | 60 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 90 x10 ⁷ | 90 x10 ⁶ | 90 x10 ⁵ | 90 x10 ⁴ | 90000 | 9000 | 900 | 90 | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 12 x10 ⁸ | 12x10 ⁷ | 12x10 ⁶ | 12x10 ⁵ | 120000 | 12000 | 1200 | 120 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DESARROLLO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ITEM | ACTIVIDAD | DESCRIPCIÓN | RESPONSABLE | REGISTRO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. | CONFIRMAR LA ESTANDARIZACIÓN | <p>a). Preparar patrones bacterianos 0,5, 1, 2 y 3 escala McFarland.</p> <p>b). Realizar diluciones seriadas en base 10 hasta la dilución 10 e-7 (para cada patrón).</p> <p>c). Plaquear 10 e-7 5 veces en agares selectivos de acuerdo al microorganismo que se este estandarizando.</p> <p>d). Incubar a la temperatura y tiempo optimo del microorganismo.</p> <p>e). Realizar lecturas y registre los resultados "Dato primario de Validación".</p> <p>f). Suministrar datos al Coordinado MB.</p> <p>g). Ingresar los datos a los formatos digitales, que alimentara el los respectivos cálculos del formato "Confirmación de la estandarización".</p> | Analista MB Coordinador MB | CONTROL PATRÓN QUÍMICO E INÓCULO BACTERIANO DATO PRIMARIO DE VALIDACIÓN CONFIRMACIÓN DE LA ESTANDARIZACIÓN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Certificados de calibración balanza OHAUS y micropipeta digital 3 M

| Certificado de Calibración | |
|---|---|
| Calibration Certificate | |
|  | Número: 6554 M Number |
| LABORATORIO DE METROLOGÍA DETECTO DE COLOMBIA LTDA Detecto de Colombia Ltda. Metrology Lab. ÁREA DE MASA Mass Area | |
| INSTRUMENTO Instrument | BALANZA DIGITAL |
| FABRICANTE Manufacturer | OHAUS |
| MODELO Model | GALAXY 4000 |
| NÚMERO DE SERIE Serial Number | 2184 |
| RANGO DE CALIBRACIÓN Calibration Range | 2 g a 4000 g |
| SOLICITANTE Customer | ANALTEC LABORATORIOS S.A.S. |
| DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE Customer Address | AVENIDA 33 No. 74 B - 146 MEDELLÍN |
| FECHA RECEPCIÓN INSTRUMENTO Instrument reception date | 2015-08-18 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN Calibration date | 2015-08-18 |
| NÚMERO DE PÁGINAS DEL CERTIFICADO INCLUYENDO ANEXOS Number of pages of this certificate and documents attached | Seis (6) |
| FIRMA(S) AUTORIZADA(S) Authorized signature(s) |  Tec. Leiner Diaz Córdoba Calibrado por - Calibrated by:  Tec. Milton Cifuentes Revisado por - Checked by: |

Este certificado expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando se haya obtenido previamente permiso por escrito del laboratorio que lo emite.

This certificate is an accurate report of the performed measurements. This certificate may not be totally or partially reproduced, except with the written permission of the issuing laboratory.

Los resultados contenidos en el presente certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados.

The results of this certificate refer to the time and conditions when the measurements were made. The issuing laboratory assumes no responsibility for damages resulting from improper use of the calibrated instruments.

Bogotá D.C. Calle 91 No. 49 A-24 B/, La Castellana PBX: 634 8182 Fax: 634 8173 E-mail: bogota@detectodecolombia.com
Cali Calle 5B4 No. 38-75 B/, San Fernando - PBX: 558 6960 Fax: 558 6161 E-mail: cali@detectodecolombia.com
Medellín Calle 60 Sur No. 44-51 Sabaneta - Antioquia PBX: 444 1490 E-mail: medellin@detectodecolombia.com
www.detectodecolombia.com

| Certificado de Calibración | |
|--|--|
| Calibration Certificate | |
|  | Número: 1808 M. V Number |
| LABORATORIO DE METROLOGÍA DETECTO DE COLOMBIA LTDA Detecto de Colombia Ltda. Metrology Lab. ÁREA DE VOLUMEN Volume Area | |
| INSTRUMENTO Instrument | MICROPIPETA |
| FABRICANTE Manufacturer | 3M |
| MODELO Model | GRADUADA |
| NÚMERO DE SERIE Serial Number | 13014078 |
| RANGO DE CALIBRACIÓN Calibration Range | 5 mL |
| SOLICITANTE Customer | ANALTEC LABORATORIOS S.A.S. |
| DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE Customer Address | LABORATORIO AVENIDA 33 N° 74 B - 146 MEDELLÍN |
| FECHA RECEPCIÓN INSTRUMENTO Instrument reception date | 2015-05-14 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN Date of Calibration | 2015-05-19 |
| NÚMERO DE PÁGINAS DEL CERTIFICADO INCLUYENDO ANEXOS Number of pages of this certificate and documents attached | Cinco (5) |
| FIRMA(S) AUTORIZADA(S) Authorized Signature(s) |  Tec. Leiner Diaz Córdoba Calibrado por - Calibrated by:  Tec. Milton Jairo Cifuentes Revisado por - Checked by: |

Este certificado expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando se haya obtenido previamente permiso por escrito del laboratorio que lo emite.

This certificate is an accurate report of the performed measurements. This certificate may not be totally or partially reproduced, except with the written permission of the issuing laboratory.

Los resultados contenidos en el presente certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados.


The results of this certificate refer to the time and conditions when the measurements were made. The issuing laboratory assumes no responsibility for damages resulting from improper use of the calibrated instruments.

Bogotá D.C. Calle 91 No. 49 A-24 B/, La Castellana PBX: 634 8182 Fax: 634 8173 E-mail: bogota@detectodecolombia.com
Cali Calle 5B4 No. 38-75 B/, San Fernando - PBX: 558 6960 Fax: 558 6161 E-mail: cali@detectodecolombia.com
Medellín Calle 60 Sur No. 44-51 Sabaneta - Antioquia PBX: 444 1490 E-mail: medellin@detectodecolombia.com
www.detectodecolombia.com

Certificado de calibración juego de pesas patrón e incubadora Memmert INE 500

Certificado de Calibración

Calibration Certificate

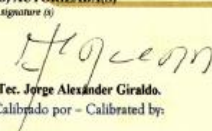


ACREDITADO ISO/IEC 17025:2005
12-LAC-048

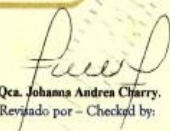
Número: 28341 C
Number

LABORATORIO DE METROLOGÍA DETECTO DE COLOMBIA LTDA
Detecko de Colombia Ltda. Metrology Lab.
ÁREA DE MASA
Mass Area

| | |
|--|----------------------------------|
| INSTRUMENTO <i>Instrument</i> | JUEGO DE PESAS |
| FABRICANTE <i>Manufacturer</i> | N.I |
| MODELO <i>Model</i> | CILÍNDRICAS |
| NÚMERO DE SERIE <i>Serial Number</i> | N.I |
| RANGO DE CALIBRACIÓN <i>Calibration Range</i> | 1 g a 100 g |
| SOLICITANTE <i>Customer</i> | ANALTEC LABORATORIOS S.A.S. |
| DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE <i>Customer address</i> | AVENIDA 33 Nº 74B - 146 MEDELLÍN |
| FECHA RECEPCIÓN INSTRUMENTO <i>Instrument reception date</i> | 2015-08-26 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Calibration date</i> | 2015-09-16 |
| NÚMERO DE PAGINAS DEL CERTIFICADO INCLUYENDO ANEXOS <i>Number of pages of this certificate and documents attached</i> | Cinco (5) |



Tec. Jorge Alexander Giraldo.
Calibrado por - Calibrated by:



Qca. Johanna Andrea Cherry.
Revisado por - Checked by:

Este certificado expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando haya obtenido previamente permiso por escrito del laboratorio que lo emite.
This certificate is an accurate report of the performed measurements. This certificate may not be totally or partially reproduced, except with the written permission of the issuing laboratory.

Los resultados contenidos en el presente certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados.
The results of this certificate refer to the time and conditions when the measurements were made. The issuing laboratory assumes no responsibility for damages resulting from improper use of the calibrated instruments.

Bogotá D.C. Calle 91 No. 49 A-24 B/ La Castellana PBX: 634 8182 Fax: 634 8173 E-mail: bogota@detectedecolombia.com
Call Calle 5B4 No. 38-75 B/ San Fernando - PBX: 558 6960 Fax: 558 6161 E-mail: cali@detectedecolombia.com
Medellin Calle 60 Sur No. 44-51 Sabaneta - Antioquia PBX: 444 1490 E-mail: medellin@detectedecolombia.com
www.detectedecolombia.com

METROLOGIC COLOMBIA S.A.S

Certificado de Calibración
Calibration Certificate



ACREDITADO ISO/IEC 17025:2005
12-LAC-069

Número: 2261 M
Number

| | |
|--|-------------------------------------|
| INSTRUMENTO <i>Apparatus</i> | : INCUBADORA CON INDICACIÓN DIGITAL |
| FABRICANTE <i>Manufacturer</i> | : MEMMERT |
| MODELO <i>Model</i> | : INE 500 |
| NÚMERO DE SERIE <i>Serial Number</i> | : E512.0332 |
| RANGO DE CALIBRACIÓN <i>Calibration Range</i> | : 35 °C |
| SOLICITANTE <i>Customer</i> | : ANALTEC LABORATORIOS S.A.S. |
| DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE <i>Address</i> | : CALLE 33 N° 74 B - 146 - MEDELLIN |
| FECHA RECEPCIÓN INSTRUMENTO <i>Date of instrument reception</i> | : 2015-04-15 |
| FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Date of calibration</i> | : 2015-04-15 |
| NÚMERO DE PAGINAS DEL CERTIFICADO INCLUYENDO ANEXOS <i>Number of pages of this certificate and documents attached</i> | : Seis (6) |
| FIRMA(S) AUTORIZADA(S) <i>Authorized signatory (ies)</i> | |



Holmer Escobar.
Tec. Holmer Escobar
Calibrado por - Calibrated by



Jhon H.
Ing. Jhon Harvey Muñoz
Revisado por - Checked by

Este certificado (informe/reporte) expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando se hayan obtenido previamente permiso por escrito del laboratorio que lo emite. This certificate (report/report) is an accurate record of the results of measurements performed. This Certificate may not be total or partially reproduced, except with prior written permission of the issuing laboratory.

Los resultados contenidos en el presente certificado (reporte/informe) se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se hace responsable de los perjuicios que pueden derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados. The results of this certificate refer to the moment and conditions in which measurement were made. The issuing laboratory assumes no responsibility for damages arising misuse of the calibrated instruments.

Cra. 32A No. 10A - 97 Cali - Valle PBX: 524 24 39 E-mail: cali@metrologiccolombia.com
Calle 60 Sur No. 44 - 51 Sabaneta Antioquia PBX: 444 14 17 E-mail: medellin@metrologiccolombia.com
www.metrologiccolombia.com

Laboratorio de Temperatura

Laboratory of Temperature



RGM Lab 03 A

Certificado material de referencia certificado *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

| Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-114 Reference Number: ATCC® 25922™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 1 | | Expiration Date: 2015/01 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2013/4/2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|--|--|--------------|---------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------------------------|-------------------------|---|--|----------|---|---|-----------------------------|---|---|------------|---|--|--------------|---|--|--------------------|---|--|----------------|---|--|-------------------------------|---|--|--------------------------|---|--|-----------|---|--|----------------------------|---|--|----------------------|---|--|------------------|---|--|------------|---|--|------------|---|--|-----------|---|--|-----------------|---|--|------------------------------|---|--|-----------------------|---|--|--------|---|--|------------|---|--|----------------------|---|--|--------|---|--|------------|---|--|--------------------|---|--|------------|---|--|-------------|---|--|------------------|---|--|----------|---|--|--------------------|---|--|------------------------|---|--|-------------------|---|--|------------------------|---|--|---------------------------------|---|--|---------------------|---|--|-------------|---|--|---------------------|---|--|-------------------------|---|--|----------------------|---|--|--------------------------|---|--|------------|---|--|--------------------|---|--|---------------------------------|---|--|-------------------------|---|--|-----------------------|---|--|--------|---|--|------------------------|---|--|
| Performance | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough | | Medium: SBAP | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Microscopic Features: Gram negative straight rod | | Method: Gram Stain (1) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 60%;">Vitek GN (1)</th> <th style="width: 20%;">Results</th> <th style="width: 20%;">Other Features/ Challenges: Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Phenotypic Features</td> <td></td> <td>(1) Oxidase (Kovacs): negative</td> </tr> <tr> <td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td>Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive</td> </tr> <tr> <td>ADONITOL</td> <td>-</td> <td>(1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm</td> </tr> <tr> <td>L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td>(1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm</td> </tr> <tr> <td>L-ARABITOL</td> <td>-</td> <td>(1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</td> </tr> <tr> <td>D-CELLOBIOSE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GALACTOSIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>H2S PRODUCTION</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Glutaryl Arylamidase pNA</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-GLUCOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>FERMENTATION/GLUCOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GLUCOSIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-VALTOS-E</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-MANNITOL</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-MANNOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-XYLOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-Alanine arylamidase pNA</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-Proline ARYLAMIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>LIPASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PALATINOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UREASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-SORBITOL</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SACCHAROSE/SUCROSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-TAGATOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-TREHALOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>CITRATE (SODIUM)</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MALONATE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5-KETO-D-GLUCONATE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-LACTATE alkalization</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SUCCINATE alkalization</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PHOSPHATASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Glycine ARYLAMIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ORNITHINE DECARBOXYLASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>LYSINE DECARBOXYLASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-HISTIDINE assimilation</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>COURMARATE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GLUCORONIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-MALATE assimilation</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ELLMAN</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-LACTATE assimilation</td> <td>-</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | | Vitek GN (1) | Results | Other Features/ Challenges: Results | Phenotypic Features | | (1) Oxidase (Kovacs): negative | Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE | - | Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive | ADONITOL | - | (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm | L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE | - | (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm | L-ARABITOL | - | (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm | D-CELLOBIOSE | - | | BETA-GALACTOSIDASE | + | | H2S PRODUCTION | - | | BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE | - | | Glutaryl Arylamidase pNA | - | | D-GLUCOSE | + | | GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE | + | | FERMENTATION/GLUCOSE | + | | BETA-GLUCOSIDASE | + | | D-VALTOS-E | + | | D-MANNITOL | + | | D-MANNOSE | + | | BETA-XYLOSIDASE | - | | BETA-Alanine arylamidase pNA | - | | L-Proline ARYLAMIDASE | + | | LIPASE | - | | PALATINOSE | + | | Tyrosine ARYLAMIDASE | + | | UREASE | + | | D-SORBITOL | + | | SACCHAROSE/SUCROSE | + | | D-TAGATOSE | + | | D-TREHALOSE | + | | CITRATE (SODIUM) | - | | MALONATE | - | | 5-KETO-D-GLUCONATE | - | | L-LACTATE alkalization | + | | ALPHA-GLUCOSIDASE | + | | SUCCINATE alkalization | + | | BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE | + | | ALPHA-GALACTOSIDASE | + | | PHOSPHATASE | + | | Glycine ARYLAMIDASE | + | | ORNITHINE DECARBOXYLASE | + | | LYSINE DECARBOXYLASE | + | | L-HISTIDINE assimilation | + | | COURMARATE | + | | BETA-GLUCORONIDASE | + | | O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.) | - | | Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE | - | | L-MALATE assimilation | + | | ELLMAN | + | | L-LACTATE assimilation | - | |
| Vitek GN (1) | Results | Other Features/ Challenges: Results | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Phenotypic Features | | (1) Oxidase (Kovacs): negative | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE | - | Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ADONITOL | - | (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE | - | (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-ARABITOL | - | (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-CELLOBIOSE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GALACTOSIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| H2S PRODUCTION | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glutaryl Arylamidase pNA | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-GLUCOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FERMENTATION/GLUCOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GLUCOSIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-VALTOS-E | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-MANNITOL | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-MANNOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-XYLOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-Alanine arylamidase pNA | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-Proline ARYLAMIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LIPASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PALATINOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tyrosine ARYLAMIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| UREASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-SORBITOL | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SACCHAROSE/SUCROSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-TAGATOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-TREHALOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CITRATE (SODIUM) | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MALONATE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5-KETO-D-GLUCONATE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-LACTATE alkalization | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALPHA-GLUCOSIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SUCCINATE alkalization | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALPHA-GALACTOSIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PHOSPHATASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glycine ARYLAMIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ORNITHINE DECARBOXYLASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LYSINE DECARBOXYLASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-HISTIDINE assimilation | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| COURMARATE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GLUCORONIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.) | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-MALATE assimilation | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ELLMAN | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-LACTATE assimilation | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

| Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-220 Reference Number: ATCC® 6538™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 1 | | Expiration Date: 2016/01 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A Blenker Release Date: 2014/2/24 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|--|--|--------------|---------|-------------------------------------|----------------------------|--|---|-------------|---|--|--------------------------------------|---|--|----------|---|--|------------------------|---|--|--------------------|---|--|-------------------|---|--|-------------------------|---|--|--------------|---|--|-------------------------|---|--|--------------------------|---|--|-------------------|---|--|-------------|---|--|---------------------|---|--|-----------------------|---|--|--------------------|---|--|---------------------|---|--|-----------------------------|---|--|--------------------|---|--|---------------------|---|--|----------------------|---|--|------------|---|--|--------|---|--|-----------------------|---|--|-------------|---|--|----------|---|--|------------------------|---|--|---------|---|--|------------------------|---|--|-----------|---|--|-----------------------|---|--|-----------------------|---|--|---------------------|---|--|------------|---|--|-----------|---|--|----------------------------|---|--|----------|---|--|-------------|---|--|---------------------------------|---|--|---------|---|--|--------------------|---|--|-------------|---|--|------------------------|---|--|---------------------|---|--|
| Performance | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Macroscopic Features: Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light SBAP gold and darker gold colonies may be present. | | Medium: SBAP | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters. | | Method: Gram Stain (1) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 60%;">Vitek GP (1)</th> <th style="width: 20%;">Results</th> <th style="width: 20%;">Other Features/ Challenges: Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Phenotypic Features</td> <td></td> <td>(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive</td> </tr> <tr> <td>D-AMYGDALIN</td> <td>-</td> <td>(1) Coagulase (rabbit plasma-tube): positive</td> </tr> <tr> <td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td> <td>-</td> <td>(1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative</td> </tr> <tr> <td>D-XYLOSE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ARGININE DIHYDROLASE 1</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GALACTOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>CYCLODEXTRIN</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA GALACTOPYRANOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ALPHA-MANNOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PHOSPHATASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Leucine ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-Proline ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GLUCURONIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ALPHA-D-LACTOSIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BETA-GLUCORONIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Aianine ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-SORBITOL</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UREASE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>POLYMXIN B RESISTANCE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-GALACTOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-RIBOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-LACTATE alkalization</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>LACTOSE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-MALTOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BACITRACIN RESISTANCE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-MANNITOL</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-MANNOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PULLULAN</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-RAFFINOSE</td> <td>-</td> <td></td> </tr> <tr> <td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SALICIN</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SACCHAROSE/SUCROSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D-TREHALOSE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>ARGININE DIHYDROLASE 2</td> <td>+</td> <td></td> </tr> <tr> <td>OPTOCHIN RESISTANCE</td> <td>+</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | | Vitek GP (1) | Results | Other Features/ Challenges: Results | Phenotypic Features | | (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive | D-AMYGDALIN | - | (1) Coagulase (rabbit plasma-tube): positive | PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C | - | (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative | D-XYLOSE | - | | ARGININE DIHYDROLASE 1 | + | | BETA-GALACTOSIDASE | - | | ALPHA-GLUCOSIDASE | - | | Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE | - | | CYCLODEXTRIN | - | | L-Aspartate ARYLAMIDASE | - | | BETA GALACTOPYRANOSIDASE | - | | ALPHA-MANNOSIDASE | - | | PHOSPHATASE | + | | Leucine ARYLAMIDASE | - | | L-Proline ARYLAMIDASE | - | | BETA-GLUCURONIDASE | - | | ALPHA-D-LACTOSIDASE | - | | L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE | + | | BETA-GLUCORONIDASE | - | | Aianine ARYLAMIDASE | - | | Tyrosine ARYLAMIDASE | - | | D-SORBITOL | - | | UREASE | - | | POLYMXIN B RESISTANCE | + | | D-GALACTOSE | + | | D-RIBOSE | + | | L-LACTATE alkalization | + | | LACTOSE | - | | N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE | - | | D-MALTOSE | + | | BACITRACIN RESISTANCE | + | | NOVOBIOCIN RESISTANCE | + | | GROWTH IN 6.5% NaCl | + | | D-MANNITOL | + | | D-MANNOSE | + | | METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE | + | | PULLULAN | - | | D-RAFFINOSE | - | | O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.) | + | | SALICIN | + | | SACCHAROSE/SUCROSE | + | | D-TREHALOSE | + | | ARGININE DIHYDROLASE 2 | + | | OPTOCHIN RESISTANCE | + | |
| Vitek GP (1) | Results | Other Features/ Challenges: Results | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Phenotypic Features | | (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-AMYGDALIN | - | (1) Coagulase (rabbit plasma-tube): positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C | - | (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-XYLOSE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ARGININE DIHYDROLASE 1 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GALACTOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALPHA-GLUCOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CYCLODEXTRIN | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-Aspartate ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA GALACTOPYRANOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALPHA-MANNOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PHOSPHATASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Leucine ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-Proline ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GLUCURONIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ALPHA-D-LACTOSIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-Pyruvoyldonyl-ARYLAMIDASE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BETA-GLUCORONIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Aianine ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tyrosine ARYLAMIDASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-SORBITOL | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| UREASE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| POLYMXIN B RESISTANCE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-GALACTOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-RIBOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L-LACTATE alkalization | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LACTOSE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-MALTOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BACITRACIN RESISTANCE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOVOBIOCIN RESISTANCE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GROWTH IN 6.5% NaCl | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-MANNITOL | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-MANNOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PULLULAN | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-RAFFINOSE | - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.) | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SALICIN | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SACCHAROSE/SUCROSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| D-TREHALOSE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ARGININE DIHYDROLASE 2 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OPTOCHIN RESISTANCE | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |