

**VERIFICACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS DE CALIDAD
MICROBIOLÓGICA A LOS PROCESOS Y PRODUCTOS MANUFACTURADOS
EN EL LABORATORIO DE FARMACOLOGIA VEGETAL-LABFARVE.**

BORIS ALBERTO DE LA CRUZ ALDANA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA

2020

**VERIFICACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS DE CALIDAD
MICROBIOLÓGICA A LOS PROCESOS Y PRODUCTOS MANUFACTURADOS
EN EL LABORATORIO DE FARMACOLOGIA VEGETAL-LABFARVE.**

BORIS ALBERTO DE LA CRUZ ALDANA

PASANTÍA EMPRESARIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MICROBIÓLOGO

TUTORA

LEIDY BARAJAS VILLAMIZAR

TUTOR ACADEMICO

Ph. D. JOSÉ FÉLIX ORTIZ LEMUS

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA

2020

Nota de aceptación

Firma jurado

Firma jurado

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS	4
3.1. GENERAL.....	4
3.2. ESPECÍFICOS.....	4
4. MARCO REFERENCIAL	5
4.1. Laboratorio de Farmacología Vegetal e Investigaciones Asociadas (LABFARVE).	5
4.1.1. Referencia Doctor Jorge Piñeros Corpas.	5
4.2. Tipo de Productos Fabricados en LABFARVE.	6
4.2.1. Medicamentos fitoterapeuticos.	7
4.2.2. Cosméticos.	8
4.2.3. Fórmulas Magistrales.	9
4.3. MARCO LEGAL.....	9
5. METODOLOGÍA	12
5.1. DESCRIPCIÓN DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	14
5.2. Procesamiento de materias primas, productos en proceso y productos terminados para cosméticos, fitoterapéuticas y fórmulas magistrales.	15
5.2.1. Dilución de la muestra.....	16
5.2.2. Método de recuento en Placa de Aerobios Mesófilos.	16
5.2.3. Método de recuento en Placa de Mohos y Levaduras.	16
5.2.4. Método de Recuento en Placa de Coliformes Totales y/o <i>Escherichia coli</i> ..	17
5.2.5. Método de Ausencia / Presencia de <i>Escherichia coli</i>	17
5.2.6. Método de Ausencia / Presencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	17
5.2.7. Método de Ausencia / Presencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
5.2.8. Método de Ausencia / Presencia de <i>Salmonella</i> spp.	18
5.2.9. Método de Ausencia / Presencia de <i>Candida albicans</i>	19
5.2.10. Método de Ausencia / Presencia de Gram negativas tolerantes a la bilis.	19
5.3. Análisis microbiológico de Aguas potables, purificadas y tanque de almacenamiento.....	21
5.4. Análisis microbiológicos de uniformes.	22
5.5. Análisis microbiológico de Aires comprimidos.	23
5.6. Análisis microbiológico para envases y empaque.	24
5.7. Análisis microbiológicos de ambientes (planta de cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales).	25

5.8. Análisis microbiológicos de superficies y equipos (planta de cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales).....	27
5.9. Análisis microbiológico de manipuladores.	28
5.10. Análisis microbiológico para trazas a equipos.	29
5.11. Control microbiológico de la promoción del crecimiento.	30
6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	32
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS	33
7.1. Línea de procesos microbiológicos.	33
7.1.1. Cosméticos.	33
7.1.2. Fitoterapéuticos.	36
7.1.3. Magistrales.	40
7.2. Análisis Microbiológico de Uniformes.....	41
7.3. Análisis Microbiológico de ambientes.	37
7.4. Análisis microbiológico de equipos y superficies.	40
7.5. Análisis Microbiológico de manipuladores.	42
7.6. Análisis Microbiológico de trazas.	44
7.1. Promoción del crecimiento en medios de cultivo.	45
8. CONCLUSIONES	51
9. BIBLIOGRAFÍA	52
10. ANEXOS	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Periodicidad de los análisis microbiológicos efectuados a las plantas de producción.	14
Tabla 2. Diluyentes Utilizados.....	15
Tabla 3. Especificaciones microbiológicas de materias primas, material de envase y empaque y producto terminado y en proceso.	20
Tabla 4. Especificaciones microbiológicas para el agua.	22
Tabla 5. Especificaciones microbiológicas del Material de envase.	25
Tabla 6. Características macroscópicas y microscópicas de cepas.	31
Tabla 7. Resultados de los análisis microbiológicos a las posibles fuentes que afectan la calidad de un producto cosmético.....	35
Tabla 8. Resultados de los análisis microbiológicos a las posibles fuentes que afectan la calidad de un producto fitoterapéutico.	38
Tabla 9. Recuentos microbiológicos de tinturas usadas en fórmulas magistrales.	41
Tabla 10. Recuentos inóculo de inicio McFarland 0.5.....	45
Tabla 11. Recuento microbiano en Agar Casoy.....	46
Tabla 12. Crecimiento microbiano en Caldos nutricionales.	47
Tabla 13. Prueba de promoción del crecimiento para caldos y/o medios selectivos y/o diferenciales.....	48

LISTADO DE ILUSTRACIONES

Gráfico 1. Metodología aplicada.	13
Gráfico 2. Preparación del Inóculo.....	30
Gráfico 3. Resultados del análisis microbiológico para un producto cosmético LABFARVE.	34
Gráfico 4. Resultados del análisis microbiológico para un producto fitoterapéutico LABFARVE.	37
Gráfico 5. Recuento microbiológico de aerobios mesófilos para uniformes.	42
Gráfico 6. Recuento microbiológico de mohos y levaduras para uniformes.	42
Gráfico 7. Recuento microbiológico aerobios mesófilos para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos.	37
Gráfico 8. Recuento microbiológico aerobios mesófilos para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos una vez aplicada las medidas correctivas.	38
Gráfico 9. Recuento microbiológico Mohos y Levaduras para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos.	39
Gráfico 10. Recuento microbiológico Mohos y Levaduras para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos una vez aplicada las medidas correctivas.	39
Gráfico 11. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas para superficies....	41
Gráfico 12. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas en superficies del horno de secado de plantas una vez realizado el proceso correctivo.	42
Gráfico 13. Método microbiológico de presencia o ausencia <i>S. aureus</i> en manipuladores, donde 1 es igual a AUSENCIA y 2 es igual a PRESENCIA.....	43
Gráfico 14. Método microbiológico de presencia o ausencia para <i>E. coli</i> en manipuladores, donde 1 es igual a AUSENCIA y 2 es igual a PRESENCIA.....	43
Gráfico 15. Recuentos de bacterias aerobias mesófilas para cuatro trazas analizadas.	44
Gráfico 16. Recuento de Mohos y Levaduras para cuatro trazas analizadas.	44
Imagen 2. Promoción caldo Mossel.	56
Imagen 3. Promoción Caldo MacConkey.	57
Imagen 4. Siembras de cepas ATCC en agares selectivos y diferenciales.....	57
Imagen 5. Microscopia <i>B. subtilis</i> en objetivo de 100 X.	58
Imagen 6. Microscopia <i>S. aureus</i> en objetivo de 100 X.	59
Imagen 7. Microscopia <i>C. albicans</i> en objetivo de 100 X.....	59

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por permitirme la vida y en su plan de vida para mi llegar a conocer la Microbiología ese pequeño mundo microscópico tan grande y a su vez tan diminuto y hermoso.

A mis padres Nelsy Aldana Arrieta y Leonardo De La Cruz Moya, por ser mis grandes ejemplos de vida por ser mis maestros y enseñarme a siempre ser una mejor persona cada día, gracias por inculcar en mi ser mil valores que hacen de mi la persona que hoy en día puedo llegar a ser. A mis hermanos Javier De La Cruz Aldana y David De La Cruz Aldana por ser ese ejemplo a seguir y por ser mis guías al momento de formar mi vida.

A Laura Diaz por ser un ejemplo en mi vida laboral y personal, por ser el apoyo en todo mi proceso empresarial porque sin conocerme fuiste capaz de brindarme tu mano para salir adelante de cada uno de los tropiezos que se presentaron en el camino. GRACIAS.

Gracias a Angela Cajiao a Liliana Rojas por ser mis tutoras de carrera y de vida por sus mil consejos y enseñanzas. Gracias porque sin pedirlo siempre pude contar con ustedes cuando lo necesité porque más que mis docentes fueron las mejores amistades que pude cosechar en mi proceso de aprendizaje, por inculcar en mi ese hábito a la investigación y las ganas de querer conocer.

A mi tutor José Félix Ortiz porque es de los pocos docentes que en mi carrera de aprendizaje puedo catalogar como maestro y ejemplo a seguir como Microbiólogo.

Gracias a LABFARVE por permitirme llegar a sus instalaciones y desarrollar mis prácticas empresariales, gracias a su personal por acogerme en el modo tan caluroso que lo hicieron.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas son uno de los recursos naturales más abundantes en el planeta, proveyendo a la humanidad desde sus inicios, la misma que en su evolución descubrió que muchas de estas plantas podían ser usadas con fines medicinales. Hoy sabemos que todos los beneficios que se les atribuyen a las plantas medicinales, son resultado de un principio activo, el cual se obtiene químicamente mediante rutas metabólicas. La gran biodiversidad a nivel floral en Colombia ha permitido generar un proceso de aprovechamiento de sus principios activos conocidos de distintos géneros florales bien estudiados. La utilidad más alta de dichos principios activos está destinada al desarrollo de preparaciones farmacéuticas, las cuales son enfocadas al uso terapéutico alternativo y farmacología vegetal con un fin social.

A partir del siglo XXI, se ha despertado la conciencia colectiva de optimizar la utilización de los recursos naturales, debido a que se han presentado fenómenos de escases de recursos (agua, petróleo, gas entre otros) y se está siendo notable el calentamiento global, por tal motivo se está migrando a tecnologías más limpias y al empleo de las plantas, como materia prima para la producción de gran variedad de artículos o productos.

Gracias a la localización única en el planeta, Colombia es uno de los países de mayor diversidad biológica en el mundo. Con sólo 0.77% de la superficie terrestre emergida, cuenta con el 10% de las especies conocidas. Algunas de las especies vegetales que se destacan son las fanerógamas en número de 45 a 50 mil, un poco menos que Brasil que tiene 55.000 especies conocidas, pero su territorio es 7.45 veces mayor que el de Colombia. (Fonseca, 1990). El territorio colombiano es el habitat de 1750 especies de aves conocidas (19.40%) del total mundial, siendo sólo sobrepasados por Perú con 1790 (19.84%) del total.

El Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE) nace con el fin de utilizar la gran biodiversidad de flora colombiana en beneficio de la humanidad, con una trayectoria de más de 30 años en el mercado llevando alternativas saludables, a base de plantas medicinales, para el tratamiento alternativo de diferentes dolores y dentro de su portafolio tiene Productos Fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales.

Paralelo al despertar colectivo enfocado al mejoramiento de la utilización de recursos naturales, está el fenómeno de la globalización, el cual, ha traído consigo la necesidad de estandarizar procesos productivos, ya que de esta manera se busca obtener el mismo producto sin importar el sitio donde se elabore. Es por ello, que a lo largo de los años organismos internacionales como la Organización Mundial para la Salud (OMS) y entes regulatorios nacionales como el INVIMA para Colombia se han encargado de la elaboración de diferentes normas, en las cuales se parametrizan los estándares de calidad para un producto y/o servicio.

El empleo de materias primas de tipo vegetal para la elaboración de productos de uso personal conlleva a efectuar una serie de parámetros relacionados con la calidad con la finalidad de darle cumplimientos a los requisitos y normativas establecidas por los entes reguladores, todo ello con el objetivo de garantizar que un producto cumpla con las necesidades requeridas por el cliente y por el contrario no cause un efecto no deseado en él. El desarrollo de fármacos y cosméticos puede acarrear consigo la presencia de peligros de tipos microbiológicos, físicos y químicos cuando los procesos de su fabricación no cumplen los parámetros de calidad estipulados, en LABFARVE los procesos de fabricación están basados en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para garantizar la calidad y pureza de todos sus productos, además de la implementación de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el cultivo orgánico de plantas medicinales.

Adicionalmente, se debe cumplir con lo establecido en la Resolución 5107/2005 del Ministerio de la Protección Social para Productos Fitoterapéuticos, la decisión 516/2002 de la Comisión de la Comunidad Andina, la decisión 833/2018 de la Comisión de la Comunidad Andina y de la Resolución 2108/2019 de la secretaria General de la Comunidad Andina para Cosméticos, la Guía de Buenas Prácticas de Elaboración para Fórmulas Magistrales de la Red eami y finalmente la guía de Elaboración de *Cannabis sativa* del INVIMA.

El cumplimiento de la normatividad anteriormente mencionada, es de vital importancia para el funcionamiento de la organización, esto da garantía de la calidad de los productos elaborados, lo que traduce a la satisfacción del cliente, por lo tanto, trae su fidelización y por otro lado el empleo de menos recursos, ya que evita el reproceso o las destrucciones innecesarias.

2. JUSTIFICACIÓN

El laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE) es una organización dedicada a la elaboración, envasado, comercialización y distribución de productos fitoterapéuticos, cosméticos, fórmulas magistrales, entre otros, el cual para su funcionamiento debe cumplir la normativa establecida por los entes reguladores.

En el desarrollo de este trabajo se describen los procesos microbiológicos llevados a cabo por el Laboratorio de Microbiología, tales como análisis de recuento en placa para microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras y microorganismos específicos, los cuales pretenden tener control de las características de calidad de las materias primas, productos en proceso, productos terminados y materiales de envase. Así mismo, se detallan los controles microbiológicos semanales y mensuales de los procesos productivos, llevados a cabo para dar seguimiento a las posibles fallas que afectarían la calidad microbiológica de los productos

El control microbiológico realizado en LABFAVE pretende dar cumplimiento a las normas de calidad exigidas por el INVIMA y para ello la dirección técnica de la organización establece límites microbianos internos en los que se pueda realizar alguna acción correctiva en caso de ser necesario y poder seguir teniendo altos estándares de calidad.

El cumplimiento de la calidad es de vital importancia para el sostenimiento de LABFARVE, ya que asegura el cumplimiento de los estándares regulatorios y la satisfacción del cliente final, lo que conlleva a tener márgenes de ganancia estables por compras fijas del producto.

3. OBJETIVOS

3.1. GENERAL.

Verificar el cumplimiento de los parámetros de calidad microbiológica a los procesos y productos manufacturados en el laboratorio de farmacología vegetal-LABFARVE.

3.2. ESPECÍFICOS.

- Evaluar la calidad microbiológica de los productos fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales elaborados en LABFARVE.
- Determinar la presencia de microorganismos indicadores y patógenos en las fuentes externas al producto terminado, con el fin de determinar su impacto en el mismo.
- Comprobar la capacidad de recuperación microbiana de los medios de cultivo nutritivos y a su vez la propiedad de inhibición de los medios de cultivo selectivos y/o diferenciales.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1. Laboratorio de Farmacología Vegetal e Investigaciones Asociadas (LABFARVE).

LABFARVE fue fundada en 1984 por el Doctor Jorge Piñeros Corpas, creando un grupo multidisciplinario de profesionales, los cuales se dedicaron a la investigación y desarrollo de preparaciones farmacéuticas, las cuales tenían un principio activo a partir de plantas medicinales colombianas. Todo ello enfocado a la sociedad, aportándole una alternativa terapéutica basada en la farmacología vegetal; los costos de los medicamentos de síntesis química son cada vez mayores, mientras que los de los extractos vegetales impactan positivamente el precio final para el sistema de salud, siendo el paciente el principal beneficiado. El uso de preparaciones farmacéuticas a partir de plantas medicinales reduce significativamente la aparición de efectos secundarios además de reducir sustancialmente la posibilidad de toxicidad (LABFARVE, 2017).

En LABFARVE se aprovecha la gran biodiversidad de Colombia, catalogada en el 2016 como el segundo país más biodiverso del mundo, ubicándose entre las 12 naciones más megadiversas del planeta (MINCIENCIAS, 2016). Las plantas medicinales en Colombia ocupan una porción aproximadamente entre el 10% de la flora del país.

Para LABFARVE la calidad de sus productos y la satisfacción de los usuarios es lo más importante, por ello todos los productos son elaborados bajo controles estrictos de calidad, estudios de estabilidad y toxicidad, los cuales generan una eficiencia y un grado alto de seguridad al consumidor final. Todos los procesos conllevan a un seguimiento de su trazabilidad desde el cultivo de las plantas medicinales hasta la obtención del producto final. Los productos cuentan con el certificado de cumplimiento de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), además de la certificación que da garantía de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), las cuales son aplicadas en el cultivo de plantas medicinales de LABFARVE. Se tiene el reconocimiento como miembro de la Unión para el BioComercio ético (UEBT), que es una entidad internacional que promueve el biocomercio ético, así mismo la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) le da la autorización para la comercialización de los productos en Estados Unidos y en otros países.

4.1.1. Referencia Doctor Jorge Piñeros Corpas.

Médico, educador y visionario de profundos principios y gran compromiso social, quien se atrevió a soñar y a creer en la fuerza de sus sueños. El Doctor Piñeros Corpas nació el 12 de abril de 1927 en el municipio de Manta, Cundinamarca, y obtuvo su grado de Bachiller en 1942 en el Colegio Externado Nacional Camilo Torres. Posteriormente, estudió su

carrera de Medicina en la Universidad Nacional, culminándola con Tesis de Grado Laureada “La Dactiloscopia en Neurología” y obteniendo el Título de Médico Cirujano el 30 de noviembre de 1948.

En su desempeño profesional como docente, se destacó como profesor encargado de “Introducción a la Fisiología” en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional durante los años 1954 y 1955. Desde el año 1956 hasta el año 1964, fue profesor agregado de Clínica Semiológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional, Profesor Asociado de Medicina de la Universidad Nacional desde 1959 hasta 1964, Profesor de Farmacología en la Facultad de Medicina del Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario en los años 1966 y 1967. Director del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional en 1964, Jefe de Consulta Externa – Docente de la Facultad de Medicina del Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario en 1967, Coordinador científico del Instituto de Seguro Social entre los años 1954 - 1957, Miembro de la Academia Nacional de Medicina durante el período 1968 – 1972.

Durante su destacada trayectoria como profesional de la Medicina, el Dr. Piñeros publicó entre otras, las siguientes obras:

- La Historia Clínica (1952)
- Clínica Semiológica, Primera y Segunda edición (1956 y 1964)
- Medicina Interna. Compendio Práctico de Nosología (1967)
- Fisiología de los Sistemas de Regulación. Sistemas Reguladores de la Homeostasis (1962)
- Curso de Fisiología y Bioquímica (1971)
- Curso de Farmacología y numerosas Monografías de Revistas científicas de Colombia y el exterior.

Fundador también de la Fundación Clínica Hospital Juan N. Corpas y Centros Asistenciales Afines, de la Fundación Laboratorio de Farmacología Vegetal LABFARVE y de MEDICOR Ltda.

Dedicó su vida a promover una Educación Médica, con visión sistémica y enfoque integral, bio-psico-social y espiritual, enmarcado en el concepto de Medicina Social y en el modelo de Medicina Familiar, así como a la investigación de la Flora Medicinal Colombiana, en procura de un fármaco-economía con beneficio social, como del uso de las Terapéuticas Alternativas con rigor científico. Habiendo sido ejemplo para muchas generaciones de profesionales, falleció en la ciudad de Bogotá el 2 de diciembre del año 2012, dejando un gran legado que permanece y seguirá trascendiendo (LABFARVE. s. f).

4.2. Tipo de Productos Fabricados en LABFARVE.

Los productos fitoterapéuticos y fórmulas magistrales de LABFARVE, tienen diferentes formas farmacéuticas, dentro de las que se encuentran: Capsulas, estas consisten en cubiertas de gelatina que se llenan con sustancias sólidas (povos o granulados) o líquidas

(soluciones o suspensiones) y se administran por vía oral; una vez en el tubo digestivo la cápsula se disuelve, liberando el principio activo junto con los excipientes; soluciones orales, las cuales son mezclas líquidas homogéneas obtenidas por disolución de un fármaco soluble en agua, destinadas al uso interno o externo, gotas, que vienen en frascos goteros de pequeño volumen y se suministran directamente sobre las mucosas o cavidad sublingual, y jarabes, que son soluciones que además contienen una buena proporción de azúcar con el fin de mejorar el sabor de los fármacos; usualmente se les adiciona además agentes saborizantes, por lo cual es necesario tener mucha precaución con los niños.

Los productos cosméticos elaborados en LABFARVE, tienen las siguientes formas farmacéuticas: Geles, que son preparaciones lavables transparentes y generalmente incoloros y cremas, las cuales, son suspensiones de aceite en agua y poseen acción secante, muy útiles en procesos húmedos (Bustamante, 2014).

4.2.1. Medicamentos fitoterapéuticos.

Los fitoterapéuticos son productos medicinales empacados y etiquetados, cuyas sustancias activas provienen de plantas medicinales o asociaciones de estas o de extractos, tinturas o aceites, presentado en estado bruto o en forma farmacéutica que se utiliza con fines terapéuticos. En su formulación, no pueden contener principios activos aislados y químicamente definidos (INVIMA, 2020).

4.2.1.1. Control de calidad a productos fitoterapéuticos.

La creciente demanda de productos medicinales elaborados a partir de materia prima vegetal proveniente de plantas medicinales, como sustituto de los medicamentos sintetizados a partir de una formulación química, genera la necesidad de implementar métodos para garantizar la calidad de estos productos, mediante el uso de técnicas microbiológicas, fisicoquímicas y organolépticas. Las plantas medicinales pueden sufrir deterioro o contaminarse fácilmente debido a su estado natural es susceptible al ataque de microorganismos que pueden afectar su naturaleza, por ende, es de gran importancia realizar el control de calidad a las materias primas vegetales.

La contaminación microbiológica principalmente puede llegar a afectar al usuario final una vez se presente debido a que se puede generar en la materia prima la aparición de microorganismos de tipo patógenos o generarse en la materia prima metabolitos secundarios de tipo tóxicos como las micotoxinas sintetizadas por algunos géneros fúngicos, la producción de endotoxinas de origen bacteriano, la transformación microbiana de compuestos propios de las plantas medicinales en compuestos de tipo tóxicos (Mora *et al* 2014).

4.2.2. Cosméticos.

Un producto de tipo cosmético es toda aquella sustancia o formulación cuya aplicación está dirigida a la superficie externas del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos o en los dientes y las mucosas bucales, con el fin de perfumarlos, limpiarlos, modificar el aspecto, proteger o mantener un estado bueno y prevenir olores de tipo corporal, según la Decisión 516 de 15 de marzo de 2002 Comisión de la Comunidad Andina.

4.2.2.1. Microbiota alterante y patógena de los productos cosméticos.

Dentro de los microorganismos patógenos que pueden afectar los productos cosméticos, se encuentran: *Pseudomonas aeruginosa*, esta es una bacteria Gram negativa patógena, responsable de una gran variedad de infecciones oftálmicas y de los tejidos circundantes (ulcera corneal, queratitis bacteriana). *Burkholderia cepacia*, un patógeno oportunista causante de infecciones en la población inmunosuprimida. *S. aureus* es un microorganismo Gram positivo y un patógeno humano potencial que puede causar infecciones en la piel (impetigo) y conjuntivitis. *S. marcescens*, causante de septicemia en bebés. *Klebsiella pneumoniae*, una bacteria Gram negativa de la familia de las Enterobacteriaceae, es un patógeno humano y puede causar neumonía fulminante grave (Neza and Centini, 2016).

Los mohos y las levaduras, estos pueden causar irritación, inflamación de la piel alrededor del ojo, infección respiratoria si se inhala o pérdida de la vista. *Candida albicans* produce candidiasis.

Los principales microorganismos patógenos asociados a contaminación de cosméticos son *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Burkholderia cepacia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Enterobacter gergoviae* y *Serratia marcescens* la presencia en el producto final de estos agentes patógenos se puede deber a que eran contaminantes presentes en las materias primas utilizadas para la elaboración de dicho producto final, afectando así la garantía del producto lo que podría conllevar a generar pérdidas de tipo económicas (Nagarnaik *et al.*, 2015). La pérdida de calidad no solo se puede dar debido a la presencia de patógenos en el cosmético final, si no que este puede ser alterado por microorganismos debido a que en el producto se les proporciona un medio óptimo para la contaminación microbiológica: Contienen proteínas, azúcares, vitaminas, aceites y agua, todo lo que los microorganismos necesitan para crecer. El pH neutro y otras características fisicoquímicas intrínsecas del producto general el habita ideal para las bacterias, mohos y levaduras (Stewart *et al.*, 2016).

4.2.3. Fórmulas Magistrales.

Se define como un medicamento destinado a un paciente individualizado, preparado por el farmacéutico, o bajo su dirección, para dar cumplimiento a una prescripción de un médico, la cual detallará las sustancias medicinales que incluye, según las normas técnicas y científicas del arte farmacéutico, dispensada en una oficina de farmacia o servicio farmacéutico y con la debida información para el usuario en los términos previstos por la ley (BOE, 1990; Red EAMI, 2016).

4.2.3.1. Calidad de las Fórmulas Magistrales.

La contaminación de formulaciones no estériles puede reducir o inactivar la actividad terapéutica del fármaco, o incluso provocar toxicidad del fármaco que puede afectar la salud del paciente. La ingesta de microorganismos patógenos podría originar infecciones particularmente graves en recién nacidos y pacientes inmunodeprimidos, además de afectar la calidad del formulado (Cabañas *et al.*, 2016).

Los criterios para la aceptación de la calidad microbiológica de las formulaciones magistrales orales acuosas no estériles son: 10^2 UFC en el recuento total de microorganismos aeróbicos (número máximo aceptable: 200) 10^1 UFC en el recuento total de levaduras y mohos (número máximo aceptable: 20) y la ausencia de *Escherichia coli* en 1 g o 1 mL del producto final (Cabañas *et al* 2016).

Los principales microorganismos contaminantes de las fórmulas magistrales son: *Salmonella* spp., que es una bacteria Gram negativa patógena, causante de infecciones, caracterizadas por fiebre, dolor abdominal y diarrea, que puede ser sanguinolenta y que ocurren entre 12 y 72 horas después de la ingesta de formulaciones magistrales orales. *Escherichia coli*, es una bacteria Gram negativa, produce una gastroenteritis caracterizada por: diarrea sanguinolenta, dolor abdominal y poca fiebre (Massoc, 2008).

4.3. MARCO LEGAL

La normatividad se define como un conjunto de leyes o reglamentos que rigen conductas y procedimientos según los criterios y lineamientos de una institución u organización privada o estatal (INVIMA, 2020). En la industria, se emplean para estandarizar conductas con el fin de asegurar la calidad de los productos y/o procesos.

LABFARVE al ser una empresa que elabora productos a base de plantas medicinales, dirigidos a seres humanos está regido por entes nacionales o gubernamentales, tales como la Secretaria de Salud, INVIMA y estupefacientes, entre otros. Los cuales mediante normas, decretos y decisiones evalúan la forma de desempeñar las actividades.

Decisiones:

Decisión 516 del 2002 de la Comisión de la Comunidad Andina. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos.

Decisión 833 del 2018 de la Comisión de la Comunidad Andina. Actualización de la Decisión 516 “Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos”.

Decisión 857 del 2020 de la Secretaria General de la Comunidad Andina. Modificatoria de las Decisiones 516 y 833 sobre la Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos.

Decretos:

Decreto 4927 de 2009 del Ministerio de la Protección Social. Por el cual se modifica el Decreto 2266 de 2004 y se dictan otras disposiciones.

Decreto 3553 de 2004 del Ministerio de la Protección Social. Por el cual se modifica el Decreto 2266 de 2004 y se dictan otras disposiciones.

Decreto 3554 de 2004 del Ministerio de la Protección Social. Por el cual se regula el régimen de registro sanitario, vigilancia y control sanitario de los medicamentos homeopáticos para uso humano y se dictan otras disposiciones.

Resoluciones:

Resolución 005107 del 2005 del Ministerio de la Protección Social. Por la cual se adopta el Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias para los Laboratorios que elaboren Productos Fitoterapéuticos.

Resolución 2108 de 2019 de la Secretaria General de la Comunidad Andina. Reglamento de la Decisión 833 "Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos".

Resolución 3665 de 2009 del Ministerio de la Protección Social. Por la cual se adopta la Guía de Verificación de Cumplimiento de Buenas Prácticas de Manufactura de Medicamentos Homeopáticos y se dictan otras disposiciones.

Resolución 1418 del 2011 de la Secretaria General de la Comunidad Andina. Adiciones a la Resolución 797 Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos.

Resolución 1482 del 2012 de la Secretaria General de la Comunidad Andina. Modificación de la resolución 1418: Límites de contenido microbiológicos de productos cosméticos.

Resolución 1319 del 2013 del Ministerio de Salud y Protección Social. 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 dictan otras disposiciones.

Resolución 2115 del 2007 del Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.

Norma Técnica Colombiana:

NTC 5230 del 2017. Microbiología de alimentos y alimento para animales. Método horizontal de técnicas de muestreo de superficies, ambientes y manos.

Organización Internacional de Normalización:

ISO 17516/2014. Cosméticos - Microbiología - Límites microbiológicos. Es aplicable a todos los cosméticos y ayuda a las partes interesadas en la evaluación de la calidad microbiológica de los productos.

Guías:

GUÍA DE BUENAS PRÁCTICAS de elaboración y control de calidad de preparaciones magistrales y oficinales, **Red de autoridades en medicamentos de Iberoamérica 2016.**

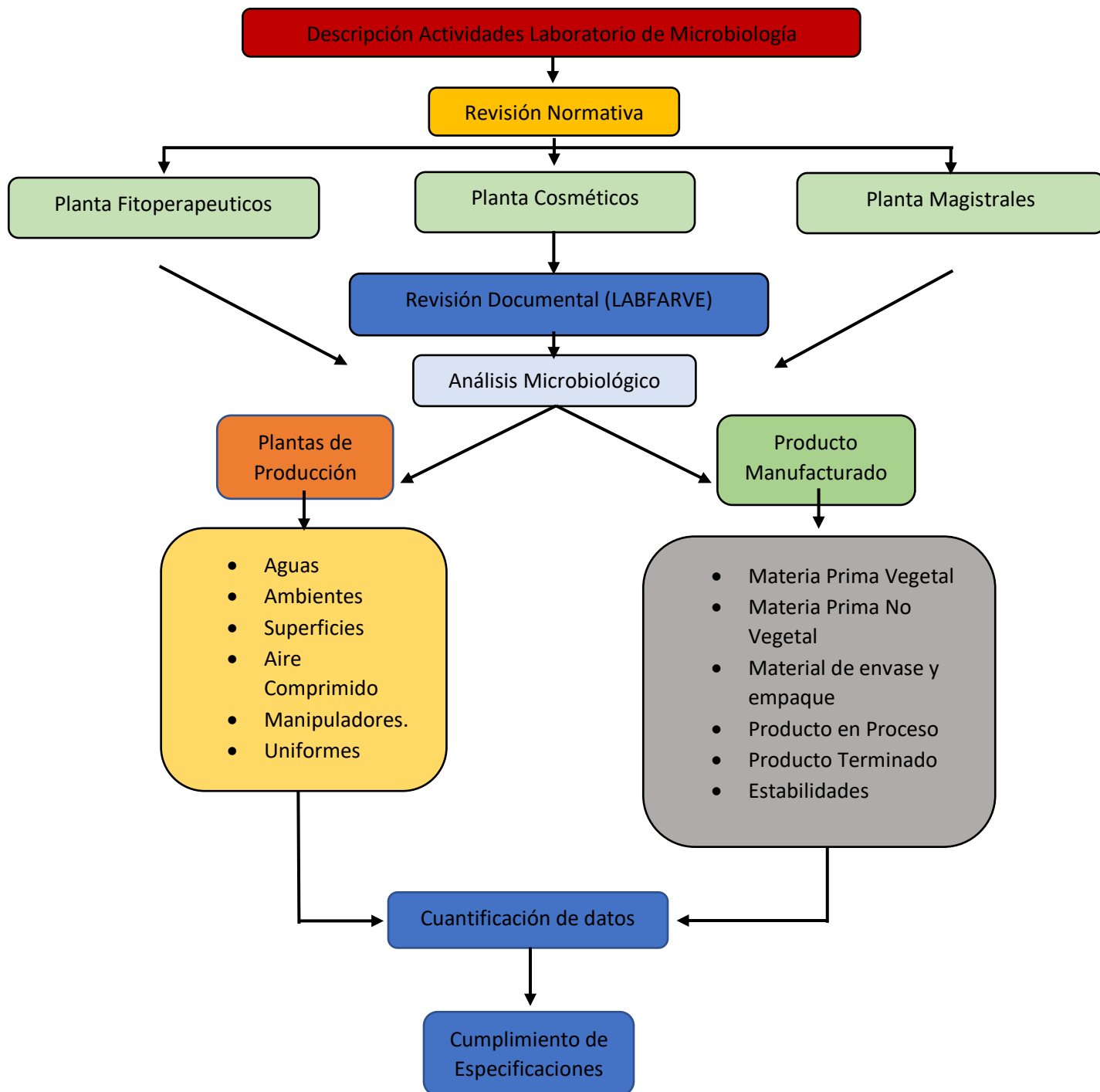
Guía para las visitas de BUENAS PRÁCTICAS DE ELABORACIÓN de preparaciones magistrales a base de cannabis, **INVIMA 2019.**

5. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del informe de pasantía se llevó a cabo una revisión documental de las especificaciones microbiológicas establecidas en el sistema de gestión de la calidad de LABFARVE, esto con la finalidad de poder comparar los resultados obtenidos mediante el estudio de muestras en el laboratorio de microbiología con los criterios de aceptación en cada uno de los análisis presentados a continuación.

En el gráfico 1 se da a conocer de forma esquemática los diferentes procesos llevados a cabo para el desarrollo del informe de pasantías.

Gráfico 1. Metodología aplicada.



Fuente: Autor, 2020.

5.1. DESCRIPCIÓN DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.

Con el fin de garantizar la calidad microbiológica de los productos, el laboratorio de Microbiología del Laboratorio de Farmacología Vegetal LABFAVE desarrolla controles microbiológicos a las plantas de producción, en la tabla 1 se describen la periodicidad de los análisis.

Tabla 1. Periodicidad de los análisis microbiológicos efectuados a las plantas de producción.

Análisis Microbiológicos		Planta		
Análisis	Tipo de muestra	Fitoterapéuticos	Cosméticos	Magistrales
Aguas	Purificada	Una vez a la Semana		
	Potable	Una vez al Mes por área específica		
	Tanque de Almacenamiento	Una vez al Mes		
Ambientes	Áreas Críticas	Dos veces a la Semana	Una vez al Mes	
	Áreas Aledañas	Una vez a la Semana		
Superficies	Áreas Críticas	Una vez a la Semana	Una vez al Mes	
	Áreas Aledañas	Una vez a la Semana		
Manipuladores		Una vez a la Semana		
Uniformes		Una vez a la Semana		
Aires Comprimido		Una vez a la Semana		
Trazas		Una vez al Mes		

Fuente: Autor, 2020.

Así mismo, se realizan análisis microbiológicos al material de envase y empaque primario, materias primas vegetales, materias primas no vegetales, producto a granel, producto terminado, materias primas y/o producto terminado proveniente de estudios de estabilidad, productos devueltos por quejas y reclamos, productos de investigación y desarrollo.

Según la planta de producción proveniente, la forma farmacéutica y el tipo de usuario, el Departamento de Aseguramiento de la Calidad le asigna unas especificaciones de calidad, dando cumplimiento a la normatividad vigente. Las especificaciones microbiológicas se enfocan en dos análisis:

1. Recuento en Placa.

2. Pruebas de Ausencia/Presencia.

5.2. Procesamiento de materias primas, productos en proceso y productos terminados para cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales.

Todas las muestras que ingresen al laboratorio de Microbiología, deben estar con su respectiva solicitud de análisis, en el que se encuentran datos como nombre del producto, lote, número de análisis, entre otros, una vez se halla verificado que la información de la solicitud coincida con la del rótulo del material a muestrear, se procede a ingresarlo al cuaderno de datos primarios.

En la cabina de flujo laminar, se procede a realizar el numeral 5.2.1 "Dilución de la Muestra", esto se debe realizar según lo indica la Tabla 2.

Tabla 2. Diluyentes Utilizados.

Tipo de Producto	Producto	Diluyente
Productos Solubles en Agua	<ul style="list-style-type: none">• Solución oral• Gotas• Baños Locales• Esencias florales• Lociones• Enjuagues bucales• Extractos frescos• Tinturas• Materias primas solubles en agua	Caldo de Trypticase de Soya
Productos No Grasos Insolubles en Agua	<ul style="list-style-type: none">• Cápsulas• Geles• Extractos secos• Polvos y Materias primas no grasas	Caldo Base de Caseína Lecitina y Polisorbato
Productos Grasos	<ul style="list-style-type: none">• Cremas• Shampoos• Aceites• Extractos Hidroglicólicos	Caldo base de Caseína Lecitina y Polisorbatos y calentamiento de la muestra a no más de 45° C.
Material Vegetal	Planta Pulverizada	Agua Peptona Tamponada

Fuente: IN-O10-39 INSTRUCTIVO LABFARVE.

5.2.1. Dilución de la muestra.

Pesar 10 g de la muestra haciendo uso de una balanza analítica, si esta se encuentra en un estado líquido hacer uso de un elemento volumétrico y medir 10 mL. Al obtener este peso o volumen la muestra pasará a una dilución 10^{-1} , disponer la cantidad de la muestra en frascos con 90 mL de caldo según se indique en la tabla 2.

Para las muestras de material vegetal (plantas pulverizadas) se realiza el procedimiento descrito anteriormente, con la diferenciación de que una vez pesada la muestra y homogenizada en agua peptonada tamponada se debe filtrar haciendo uso de un embudo y una gasa estéril. El filtrado se usará como muestra para los siguientes procesos microbiológicos (USP 42, 2017).

5.2.2. Método de recuento en Placa de Aerobios Mesófilos.

Se sugiere el procedimiento descrito en la USP. Farmacopea de los Estados Unidos volumen1, capítulo 61 Control microbiológico de productos No Estériles, recuento microbiano.

Tomar 10 gr o mL de la muestra y homogenizar en 90 mL del diluyente a usar según lo indique la naturaleza del producto tabla 2. Adicionar 1 mL del homogenizado en placas de Petri estériles, verter sobre la caja de 15 a 20 mL de agar Trypticase de Soya fundido a 45° C. Mezclar la muestra más el medio de forma homogénea, dejar solidificar e incubar de 30° C a 35° C por 24 a 48 horas (IN-O10-34, 2019).

Contar las UFC presentes en el medio del cultivo y multiplicar por el factor de dilución para su posterior informe.

5.2.3. Método de recuento en Placa de Mohos y Levaduras.

Tomar 10 g o mL de la muestra y homogenizar en 90 mL del diluyente a usar según lo indique la naturaleza del producto tabla 2. Adicionar 1 mL del homogenizado en placas de Petri estériles, verter sobre la caja de 15 a 20 mL de agar Sabouraud fundido a 45° C. Mezclar la muestra más el medio de forma homogénea, dejar solidificar e incubar de 20° C a 25° C por 5 días (IN-O10-35, 2019).

Contar las UFC presentes en el medio del cultivo y multiplicar por el factor de dilución para su posterior informe.

5.2.4. Método de Recuento en Placa de Coliformes Totales y/o *Escherichia coli*.

Tomar 10 g o mL de la muestra y homogenizar en 90 mL del diluyente a usar según lo indique la naturaleza del producto tabla 2. Adicionar 1 mL del homogenizado en placas de Petri estériles, verter sobre la caja de 15 a 20 mL de agar VRBA más MUG fundido a 45° C. Mezclar la muestra más el medio de forma homogénea, dejar solidificar e incubar a 35° C por 48 horas (IN-O10-36, 2019).

Según los indicadores del medio de cultivo en el agar VRBA con MUG, las colonias se observan color violeta con precipitado para coliformes totales y color violeta con producción de fluorescencia a la luz ultravioleta (366 nm) para *E. coli*.

5.2.5. Método de Ausencia / Presencia de *Escherichia coli*.

Enriquecimiento no selectivo se pesan 10 g muestra y se depositan en un frasco con 90mL de Caldo base Caseína Lecitina y Polisorbato (CLP) tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE MUESTRA se homogeniza la solución. Transferir 10 mL del caldo CLP a un frasco con 90 mL de caldo Tripticasa de Soya (TSB) e incubar a 35°C por 24 horas.

Enriquecimiento no selectivo, usando el caldo Mac Conkey, transferir 1 mL del enriquecimiento no selectivo en caldo TSB a caldo Mac Conkey, por duplicado. Incubar a temperatura de 42 a 44 °C por 24 a 48 horas. Siembra en agar selectivo y diferencial 0,1 mL del caldo Mac Conkey sobre el agar Mac Conkey, con ayuda de un asa de Hockey estéril sembrar masivamente. Incubar de 18 a 72 horas a temperatura de 30° C a 35° C (IN-O10-75, 2019).

El crecimiento de colonias rojas con halo turbio indicara la presencia presuntiva de *Escherichia coli*.

5.2.6. Método de Ausencia / Presencia de *Staphylococcus aureus*.

Enriquecimiento: se pesan 10 g muestra y se depositan en un frasco con 90 mL de Caldo base Caseína Lecitina y Polisorbato (CLP) tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE MUESTRA se homogeniza la solución. Transferir 10 mL del caldo CLP a un frasco con 90 mL de caldo Tripticasa de Soya (TSB) e incubar a 35°C por 24 horas.

Transferir con ayuda de asa redonda el inóculo de caldo TSB a la superficie de cajas de Petri con agar Salado Manitol, realizando siembra por agotamiento, incubar a temperatura de 30°C a 35°C por un periodo de tiempo de 18 a 72 horas USP 42.

El crecimiento de colonias amarillas redondas con una zona amarilla en la superficie del agar Salado Manitol, indican la presencia presuntiva de *Staphylococcus aureus* (IN-010-45, 2019).

5.2.7. Método de Ausencia / Presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

Este aislamiento se realiza en dos etapas, un enriquecimiento no selectivo y una siembra en agar selectivo y diferencial.

Enriquecimiento no selectivo se pesan 10 g muestra y se depositan en un frasco con 90mL de Caldo base Caseína Lecitina y Polisorbato (CLP) tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE MUESTRA se homogeniza la solución. Transferir 10 mL del caldo CLP a un frasco con 90 mL de caldo Tripticasa de Soya (TSB) e incubar a 35°C por 24 horas.

La siembra en agar selectivo y diferencial hace uso del medio de cultivo Cetrimide, transfiriendo una asada del caldo TSB y sembrando de forma masiva. Incubar a 35° C por 18 a 72 horas. Si el crecimiento de las colonias en el medio tiene un color ligeramente verde en la superficie, indicará la presencia presuntiva de *Pseudomonas aeruginosa* (IN-O10-43, 2019).

5.2.8. Método de Ausencia / Presencia de *Salmonella* spp.

Este método cuenta con tres etapas principales.

Enriquecimiento no selectivo se pesan 10 g muestra y se depositan en un frasco con 90mL de Caldo base Caseína Lecitina y Polisorbato (CLP) tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE MUESTRA se homogeniza la solución. Transferir 10 mL del caldo CLP a un frasco con 90 mL de caldo Tripticasa de Soya (TSB) e incubar a 35°C por 24 horas.

Transferir 0,1 mL del caldo TSB obtenido del enriquecimiento no selectivo a un tubo de ensayo con 10 mL de Caldo Rappaport vassiladis, incubar de 30° C a 35°C por 18 a 24 horas.

Realizar la transferencia con asa redonda de una alícuota del caldo Rappaport vassiladis a placas de agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), realizar siembra por aislamiento, incubar a 30°C a 35°C durante 18 a 48 horas.

El crecimiento de colonias de color rojo redondas, de diferente tamaño, brillantes con o sin un precipitado negro, con viraje del medio a un rosado intenso, indica la presencia presuntiva de *Salmonella* spp. (IN-O10-16, 2019).

5.2.9. Método de Ausencia / Presencia de *Candida albicans*.

Preparar la muestra en frascos que contengan 90 mL de Caldo base Lecitina Polisorbato tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE LA MUESTRA, homogenizar la solución. Transferir 10 mL de CLP a 90 mL de Caldo Sabouraud Dextrosa e incubar de 30° C -35°C por un periodo de 3 a 5 días.

Transferir 0,1 mL de Caldo Sabouraud Dextrosa a las placas de agar Sabouraud Dextrosa y realizar siembra masivamente empleando el asa de Hockey estéril. Incubar de 30°C a 35°C durante 24 a 48 horas.

El crecimiento de colonias de color blancas indica la presencia presuntiva de *Candida albicans* (IN-O10-104, 2019).

5.2.10. Método de Ausencia / Presencia de Gram negativas tolerantes a la bilis.

Preparar la muestra en frascos que contengan 90 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja (TSB) tal como se describe en el procedimiento IN-O10-39 PREPARACION Y DILUCIÓN DE LA MUESTRA, homogenizar la solución e incubar a 20°C a 25°C por 2 horas o más, pero menos de 5 horas.

Adicionar 1 mL de TSB incubado anteriormente en tubos con 10 mL de caldo Mossel para el enriquecimiento de Enterobacterias e incubar a una temperatura de 30°C a 35°C durante un periodo de 24 a 48 horas.

Subcultivar el tubo tomando una alícuota de 0,1 mL de Caldo Mossel para enriquecimiento de Enterobacterias con la micropipeta en placas de agar Violeta Rojo BILIS Glucosa (VRBG) y realizar siembra masiva haciendo uso de del asa de Hockey estéril. Incubar de 18 a 24 horas a temperatura de 30 °C a 35°C (IN-O12-12, 2019).

El crecimiento de colonias roja púrpura, rodeadas por un halo de precipitación rojizo será indicativo para bacterias fermentadoras de la glucosa. El crecimiento de bacterias con colonias incoloras o con la coloración propia del medio indicara que las bacterias no poseen la capacidad de fermentar la glucosa.

El control de calidad a las materias primas vegetales y no vegetales, del material de envase y empaque, de los productos en proceso y productos terminados de las plantas de producción de cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales, garantizan la calidad del producto comercializado, debido a que con estos análisis se evalúa la calidad microbiológica de las posibles fuentes de contaminación y de los procesos de manufactura. Según el tipo de material a analizar se evalúan los microorganismos indicados en la Tabla 3.

Tabla 3. Especificaciones microbiológicas de materias primas, material de envase y empaque y producto terminado y en proceso.

Tipo de Producto	Vía de Administración	Método	Especificación Interna
Producto Terminado y/o Producto a Granel	Oral	Mesófilos Aerobios Totales	10x10 ⁴ UFC/mL
		Mohos y Levaduras	10x10 ² UFC/mL
		Coliformes Totales	10 UFC/mL
		Coliformes Fecales	10 UFC/mL
		<i>Salmonella sp</i>	Ausencia en 10 mL
	Cutánea	Mesófilos Aerobios Totales	10x10 ⁴ UFC/g
		Mohos y Levaduras	10x10 ² UFC/g
		Coliformes Totales	10 UFC/g
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 10 mL
		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Cutánea zona Intima y/o bebes	Mesófilos Aerobios Totales	50x10 ¹ UFC/ g o mL
		Mohos y Levaduras	50x10 ¹ UFC/ g o mL
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 10 g o mL
		<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Candida albicans</i>			
Materia Prima	Materia Prima Cosméticos	Mesófilos Aerobios Totales	10 UFC/ g o mL
		Mohos y Levaduras	10 UFC/ g o mL
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 10 g o mL
		<i>Staphylococcus aureus</i>	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		Mesófilos Aerobios Totales	10x10 ⁴ UFC/ g

	Materia Prima Vegetal	Mohos y Levaduras	10x10 ² UFC/ g
		Coliformes Totales	10 UFC/ g
		Coliformes Fecales	10 UFC/ g
		Bacterias Tolerantes a la Bilis	10x10 ² UFC/ g
		Salmonella spp.	Ausencia en 10 g o mL
	Extracto seco	Mesófilos Aerobios Totales	10x10 ³ UFC/mL o gr
		Mohos y Levaduras	10x10 ² UFC/mL o gr
		Coliformes Totales	10 UFC/ g
		Coliformes Fecales	10 UFC/ g
		Salmonella spp.	Ausencia en 10 g o mL
	Tinturas	Mesófilos Aerobios Totales	10x10 ³ UFC/mL o gr
		Mohos y Levaduras	10x10 ² UFC/mL o gr
		Coliformes Totales	10 UFC/ mL
Coliformes Fecales		10 UFC/ mL	

Fuente: Autor, 2020.

5.3. Análisis microbiológico de Aguas potables, purificadas y tanque de almacenamiento.

Llevar el material previamente esterilizado a la cabina de flujo laminar (equipo de filtración, filtros, embudos, cajas de Petri y los medios de cultivo a usar). Para cada muestra de agua tomar una caja de Petri que contenga Agar Tripticasa de Soya para Mesófilos Aerobios, agar Sabouraud para mohos y levaduras, agar Cetrimide para Presencia/Ausencia de *Pseudomona* spp. y agar Cromogénico para presencia/ausencia de Coliformes y *E. coli*. Se tomó con pinzas previamente estériles la membrana, se colocó en la base del filtro, ajustó y tapó el filtro. Las pinzas se depositan en un frasco Schott que contenga etanol al 70% mientras no se estén usando. Se usarón unas pinzas para retirar la membrana nueva hacia el porta-filtro y otra distinta para retirar la membrana del porta filtro a la caja correspondiente, se tomó 100 mL de muestra para cada análisis y se hizo pasar por las membranas estériles mientras esté la bomba de vacío encendida para su succión. Luego de filtrada la muestra se desmontaron los vasos y se bajaron la membrana con las pinzas, se coló en la caja de Petri con el agar correspondiente al microorganismo a identificar.

Este análisis es de gran importancia para el laboratorio LABFARVE ya que, es la base de la mayoría de productos terminados, así mismo es necesario para el correcto funcionamiento de equipos de producción (Marmitas, Rotaevaporadores), se emplea para el lavado de áreas, superficies y equipos en todas las áreas de la organización. En el laboratorio de Microbiología es utilizado para la preparación de medios de cultivo y para el desarrollo de los análisis de control microbiológico.

Este análisis se realiza, al agua potable empleada para el lavado de equipos, la cual está ubicada en la planta de producción; al tanque de almacenamiento, a los puntos de uso de agua purificada de planta de productos Fitoterapéuticos nombrados como POU1, POU2, POU3 Y POU4, a los puntos del equipo de agua después de la osmosis inversa SP5, SP6, SP7 Y SP8 y a los puntos antes de la osmosis inversa SP1 y SP4, a cada uno de estos puntos nombrados se les realiza el análisis de recuentos aerobios mesófilos y coliformes totales y fecales, mohos y levaduras y *Pseudomonas aeruginosa*, según sea el caso. En la tabla 4, se muestran las especificaciones microbiológicas del agua.

Tabla 4. Especificaciones microbiológicas para el agua.

TIPO AGUA	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	ESPECIFICACIONES	NORMA
Purificada	Aerobios mesófilos	< 100 ufc/100 mL	RESOLUCIÓN MPS 2115 de 2007
	Mohos y Levaduras	< 1 ufc/100 mL	
	Coliformes totales y fecales	< 1 ufc/100 mL	USP 37 2014
		< 1 ufc/100 mL	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 1 ufc/100 mL		
Potable	Aerobios mesófilos	< 100 ufc/100 mL	RESOLUCIÓN MPS 2115 de 2007
	Coliformes totales y fecales	< 1 ufc/100 mL	
		< 1 ufc/100 mL	USP 37 2014
Tanque de almacenamiento	Aerobios mesófilos	< 100 ufc/100 mL	RESOLUCIÓN MPS 2115 de 2007
	Mohos y Levaduras	< 1 ufc/100 mL	
	Coliformes totales y fecales	< 1 ufc/100 mL	USP 37 2014
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Fuente: Autor, 2020.

5.4. Análisis microbiológicos de uniformes.

Este procesamiento de muestra se realiza a seis overoles blancos, lavados, planchados y empacados dispuestos para su uso, se realiza una recolección al azar teniendo en cuenta que de los seis uno debe ser de área de Microbiología, uno de la planta de cosméticos, uno de los utilizados por el personal de mantenimiento que entra a las diferentes plantas de producción y tres de los usados en la planta de Fitoterapéuticos, para un total de seis.

El paquete se debe abrir en el interior de la cabina de bioseguridad, sacar el uniforme y colocarlo en la superficie para su análisis microbiológico. Con un hisopo previamente humedecido en un tubo de ensayo con caldo base caseína lecitina y polisorbato, proceder

a realizar el frotis sobre las partes externas del uniforme, tomando cinco puntos como referencia: 1. Bolsillo, 2. Antebrazo, 3. Muñequera, 4. Pierna, 5. Bota.

Una vez obtenidos los hisopados se deben agitar los tubos de ensayo en una posición de 45 grados para ayudar a homogenizar las muestras. Proceder a realizar siembras por profundidad en cajas de Petri usando un volumen de 1 mL de muestra más 15 o 20 mL de agar TSA para el análisis de aerobios mesófilos y agar Sabouraud para Mohos y Levaduras. Incubar según especificaciones de cada microorganismo a evaluar (IN-O10-19, 2019).

Realizar lecturas de cajas para su posterior informe.

Según la USP 42 de 2019 los valores máximos permitidos en el recuento son las siguientes:

- Aerobios Mesófilos: 10 UFC/Uniforme.
- Mohos y Levaduras: 10 UFC/Uniforme.

Aunque la elaboración de fármacos no estériles permite la presencia de cierta cantidad de microorganismos (especificados en la tabla 3), esta se verá aumentada si se descuidan factores básicos como las prendas de vestir usadas en el proceso de elaboración, lo que se traduce en un foco de contaminación que terminará por afectar el producto final. En LABFARVE la calidad es lo más importante, por ello se tienen en cuenta, todas las variables que pueden afectar el proceso de producción, evaluando así la limpieza de los uniformes utilizados por el personal del área de producción, del área de control de calidad, de mantenimiento, entre otras. Todo este proceso sumado al control de otros factores permitirá la entrega al cliente de un producto con un sello de calidad.

5.5. Análisis microbiológico de Aires comprimidos.

Para la realización de este proceso se hace necesario la ayuda del flujómetro, el cual debe estar previamente esterilizado. Se adapta a una manguera del punto de aire comprimido, se procede a abrir la llave de paso permitiendo el flujo aproximado de 15 litros de aires y se desinfecta la boquilla de salida con alcohol al 70% y se cierra el paso. De nuevo se deja escapar el aire a presión de 15 litros por varios segundos (se realiza la purga).

Para la toma de la muestra se utiliza un frasco que contenga 100 mL de agua peptona. La muestra de aire comprimido para cada punto se realiza en tres tiempos para los cuales se acerca la boquilla de salida del aire al frasco teniendo la precaución de que esta no toque los frascos con el fin de evitar una posible contaminación ajena a la muestra deseada. Se deja correr 15 litros de aire sobre el agua peptona hasta producir burbujeo, repitiendo el proceso dos veces más hasta haber pasado 45 litros de aires sobre el agua peptona (Hargroves, 1998). Al momento de analizar la muestra en el laboratorio agitarla en posición de 45° de inclinación para ayudar a homogenizar.

Sembrar en cajas de Petri 1 mL de la muestra y adicionar agar Sabouraud para el recuento de Mohos y Levaduras, 1 mL en profundidad en agar TSA para recuento de Aerobios mesófilos y 1 mL en profundidad en agar VRBA con MUG para el recuento de coliformes totales y *Escherichia coli*. Incubación según especificación para cada microorganismo y realizar su lectura en función al tiempo de crecimiento de cada uno de ellos (IN-O10-32., 2019).

Las especificaciones para este análisis son las siguientes:

- Aerobios mesófilos: 10 UFC/45 Litros.
- Mohos y levaduras: 10 UFC/45 Litros.
- Coliformes totales: Ausencia.
- *Escherichia coli*: Ausencia.

Este análisis consta del muestreo y procesamiento de diez puntos específicos de la planta de producción de Fitoterapéuticos, en los cuales sea usada el sistema de aire comprimido como método para la limpieza de utensilios y espacios, así como el secado de estos, debido a que muchos de ellos no son fáciles de llevar al área de lavado. Entre las tareas más importantes de los aires comprimidos sobresale el uso de ellos para el soplado de los envases antes del proceso de llenado con el producto final.

La alteración de los aires comprimidos puede llegar a causar contaminación en el producto lo que conlleva a que este pierda su calidad, lo que se ve repercutido en pérdida de dinero, tiempo e insumos.

5.6. Análisis microbiológico para envases y empaque.

Este procedimiento está dispuesto para el uso de cinco muestras de envase por lote, para ellos se utiliza el caldo base de Lecitina caseína Polisorbato, se debe adicionar al envase hasta llenar, una vez lleno cerrar con su tapa y proceder a generar una agitación de forma vigorosa con la finalidad de la remoción de los microorganismos presentes en las paredes del envase. Retornar el caldo a su frasco original.

Proceder a realizar siembras por profundidad para los análisis microbiológicos de microorganismos Aerobios mesófilos, Mohos y Levaduras y Coliformes Totales y fecales, según especificaciones de medio, tiempo de incubación y temperatura para cada análisis específico.

Para el análisis de microorganismos específicos se realiza la búsqueda de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Realizar el procedimiento de aislamiento para cada uno de estos microorganismos según procesos y especificaciones descritas en los numerales 6.1.5., 6.1.6., 6.1.7. (Gaviria, 1998; IN-O10-10, 2019).

La calidad de los envases utilizados en la industria farmacéutica y alimenticia, reviste especial importancia desde el punto de vista del diseño, desarrollo, fabricación, distribución y venta de los productos a los cuales se destinan, así como para mantener su estabilidad a lo largo de toda su vida útil (Sierra *et al*, 2010). Los envases son una barrera de protección para el producto final separándolo del medio ambiente permitiendo así su conservación y estabilidad en el tiempo. Conocer la calidad microbiológica del envase en el cual se desea adicionar un producto final es de suma importancia debido a que esto permite evitar la pérdida de la calidad, la presencia de residuos físicos, químicos o microbiológicos afectará directamente el producto generando alteraciones en su composición o características organolépticas o en el peor de los casos la presencia de microorganismos de tipo patógenos podría llegar a causar complicaciones de salud al consumidor final. Las principales afectaciones al producto final son exposición a la luz, pérdida de disolventes, exposición a gases reactivos (oxígeno) absorción de vapor de agua, y contaminación microbiológica.

La estabilidad de los materiales que componen el envase (incluidos adhesivos y selladuras), será lo que determinará el período de tiempo que funcione como barrera microbiana, mecánica y sin interacción con el producto médico (no tóxico), es de suma importancia contar con proveedores de envases con buenas calificaciones, para así no afectar la calidad del producto a empacar (Cerra *et al*, 2013).

En la tabla 5, se especifican las exigencias microbiológicas para el material de envase primario.

Tabla 5. Especificaciones microbiológicas del Material de envase.

Tipo de Producto	Método	Especificación
Envase Fitoterapéuticos	Mesofilos Aerobios Totales	50x10 ¹ UFC/ mL
	Hongos y Levaduras	10x10 ¹ UFC/ mL
	Coliformes Totales	10 UFC/ mL
	Coliformes Fecales	10 UFC/ mL
Envase Cosméticos	Mesófilos Aerobios Totales	50x10 ¹ UFC/ g ò mL
	Hongos y Levaduras	10x10 ¹ UFC/ g ò mL
	Coliformes Totales	10 UFC/ g ò mL
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 10 g ò mL

Fuente: Autor, 2020.

5.7. Análisis microbiológicos de ambientes (planta de cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales).

Se realizó mediante el método de sedimentación, ubicando el punto de muestreo asignado y colocando las cajas de Petri, una al lado de la otra, destapándolas y colocando la tapa debajo de la caja, se dejaron las cajas de Petri durante cuatro (4) horas a partir del momento

en que se destapan las cajas, durante este tiempo el personal que labora en estas áreas debe continuar su trabajo de manera normal teniendo cuidado de las cajas.

Cumplido el tiempo de exposición, tapar las cajas y llevarlas al área de Microbiología e incubar las Cajas de Agar Casoy a 32.5 +/- 2.5°C durante 2 días y las Cajas de Agar Sabouraud a 22.5 +/- 2.5 °C durante 5 días. Se puede hacer una prelectura de hongos al tercer día de incubación (72 horas).

Ambientes Grado D.

Mohos y Levaduras: <100 UFC/4 horas.

Bacterias Aerobias mesófilas: <100 UFC/4 horas.

Ambientes Grado C.

Mohos y Levaduras: <50 UFC/20 minutos.

Bacterias Aerobias mesófilas: <50 UFC/20 minutos.

Ambientes Grado A.

Mohos y Levaduras: <1 UFC/20 minutos.

Bacterias Aerobias mesófilas: <1UFC/20 minutos.

Los espacios limpios hacen referencia a la calidad del aire al interior de una planta de producción, se considera un área cerrada, especialmente construida; controlada con respecto a partículas del aire del medio ambiente, temperatura, humedad, patrones de flujo de aire, movimiento de aire, sonido, vibraciones e iluminación, como factores a controlar bajo los requerimientos de normas aplicables (García, 2014).

La normatividad vigente para la elaboración de productos farmacéuticos y cosméticos informa que estos se deben elaborar en áreas que deben tener sus características fisicoquímicas controladas, así como sus ambientes a nivel microbiológico, esto como finalidad de poder brindar un producto que cumpla con las especificaciones implícitas en las normas reguladoras.

La calidad microbiológica del ambiente de las plantas se puede evaluar mediante el análisis propuesto en la USP 42 del 2019 capítulo 1116 Evaluación Microbiológica de Cuarto Limpios y Otros Ambientes Controlados, en el cual dan a conocer pautas para este análisis.

Medir este parámetro es de gran importancia ya que indica que tan bien se están llevando a cabo los procesos de limpiezas en las plantas de producción y que tan capacitados se tiene al personal de limpieza, además permite medir el funcionamiento de los equipos de ventilación que controlan el flujo de las corrientes de aires en cada cuarto y en toda la planta, manteniendo la instalación sellada al paso de la contaminación del ambiente externo.

5.8. Análisis microbiológicos de superficies y equipos (planta de cosméticos, fitoterapéuticos y fórmulas magistrales).

Este procedimiento se realiza a todas las superficies y/o equipos empleados en las diferentes plantas de producción (Fitoterapéuticos, cosméticos y magistrales), para realizar el frotis a superficies planas, se debe tomar un hisopo, remojarlo en 10 mL de Caldo Caseína Lecitina Polisorbato, quitar el exceso de líquido sobre las superficies del frasco tapa rosca, subsecuentemente tomar una plantilla de 5 x 5 cm² y frotar el hisopo por la superficie demarcada por la plantilla, repetir dicha operación 5 veces, dejar el escobillón en el tubo cortando antes el extremo superior del hisopo.

Para el frotis de equipos y/o superficies irregulares se debe sacar el hisopo y mojarlo en 10 mL de Caldo Caseína Lecitina Polisorbato, retirar el exceso de líquido sobre las superficies del frasco, frotar con el hisopo el punto a muestrear, frotándolo lentamente en forma circular, Finalmente dejar el escobillón en el tubo cortado el extremo superior.

Las muestras anteriormente tomadas se siembran en el laboratorio de Microbiología, para ello agitar vigorosamente contra la palma de las manos los tubos con los hisopos, sembrar por profundidad, para ello tomar 1 mL de la muestra y adicionarlo en Agar Sabouraud para Mohos y Levaduras, 1 mL de la muestra y adicionarlo en Agar Tripticasa de Soya para Mesofilos y 1 mL de la muestra y adicionarlo en Agar VRBA + MUG para Coliformes totales y *Escherichia coli*.

Especificaciones:

Bacterias aerobias mesófilas: <50 UFC/cm².

Mohos y Levaduras: <50 UFC/cm².

Los métodos de limpieza de los utensilios y superficies además de permitir la visualización de los espacios agradables y estéticos se realizan porque solo así se pueden eliminar los residuos macroscópicos y microscópicos presentes (Barsotti, 2001).

Las superficies deberían considerarse como uno de los reservorios potenciales más importantes que albergan patógenos. Los equipos y utensilios al ser materiales que se encuentran en contacto directo con los productos han llamado la atención debido a que se convierten en un punto crítico y de un control alto para evitar la contaminación de los productos y así la pérdida de la inocuidad. En función a lo anteriormente mencionado, se han venido implementando directrices en Buenas Prácticas de Manufactura en equipos y utensilios con el fin de proteger al consumidor final. Para garantizar la buena limpieza de equipos y utensilios se dictan unas pautas normativas con respecto a los equipos, la posición en la cual se instalarán, las condiciones ambientales del área entre otras, así como los utensilios a usar deben cumplir algunas características normativas como el uso de

detergentes de pH neutro, materiales inoxidable y de más especificaciones, ya que la suma de la inocuidad con calidad dará al cliente un producto seguro.

5.9. Análisis microbiológico de manipuladores.

Para la realización de este análisis se utilizó un hisopo estéril, introduciéndolo de forma cuidadosa en un tubo de ensayo que contiene caldo Caseína Polisorbato, teniendo la precaución que la punta no tocarse las paredes o la boquilla del tubo para evitar falsos resultados debido a contaminación ajena a la muestra.

Con el hisopo una vez mojado se procede a realizar movimientos de barrido sobre la mano tratando de cubrir todas las superficies. Se debe empezar desde la punta de los dedos hasta la terminación de la palma, teniendo en cuenta que se debe realizar tanto en la parte externa como interna, así como en los lados de la mano y entre los dedos, haciendo énfasis en los espacios interdigitales. Realizar frotis sobre las uñas y la cavidad creada entre la piel y la uña. Por último, frotar el hisopo sobre la parte interna de la muñeca. Al cambiar de mano se debe realizar el cambio del hisopo teniendo en cuenta la rotulación para evitar errores al momento de procesar muestras.

Sembrar de forma masiva los hisopados sobre cajas de Petri con agar Salado manitol y Eosina azul de metileno (EMB), llevar a incubación a 30°C o 35°C durante 24 a 48 horas. Para el análisis de Mohos y Levaduras se realiza una siembra en profundidad de la muestra adicionando 1 mL en la caja de Petri y seguido a ello el agar Sabouraud en un volumen de 15 a 20 mL, homogenizar en forma de ocho e incubar a temperatura de 20°C a 25 °C por 5 días (IN-O10-12, 2019).

Crecimiento esperado en los medios de cultivo:

- *Staphylococcus aureus*: crece colonias amarillas pequeña o medianas, con zonas amarillas alrededor.
- *Escherichia coli*: colonias rojas con brillo metálico.
- Mohos: colonias en forma filamentosas típicas de cada uno de las especies micológicas con sus características macroscópicas bien visibles.
- Levaduras: levaduras convexas cremosas.

Las especificaciones para este muestreo son las siguientes:

- *Staphylococcus aureus*: Ausencia/mano.
- *Escherichia coli*: Ausencia/mano.
- Mohos y Levaduras: 0 UFC/mano.

La fabricación de medicamentos no estériles permite la presencia de cargas microbianas en los productos terminados (especificaciones en la tabla 3), con la excepción de aquellos que son patógenos como por ejemplo *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* spp., los cuales deben estar ausentes en todas las fórmulas elaboradas. Los manipuladores juegan un papel de gran importancia en la producción de productos farmacéuticos y cosméticos. Al ser ellos los que están en el proceso de manufactura de cada producto pueden llegar a ser un foco de contaminación si es que no se aplican las Buenas Prácticas de Manufactura. Estos productos llegan a contaminarse en etapas de la producción como lo son dispensación, pesado entre otras, siendo los principales contaminantes los microorganismos de tipo bacterias mesófilas, mohos y levaduras.

El análisis de manipuladores es un indicador como resultado a la implementación de procesos de capacitación en la empresa, aplicación de normatividad, así como procesos BPM, todo ellos con el fin de ofrecer un servicio que cumpla con la garantía de calidad propuesta por LABFARVE.

5.10. Análisis microbiológico para trazas a equipos.

Este procedimiento se realiza a los equipos de producción, tales como: dosificadora de cremas y líquidos, encapsuladora, molino extracto seco, percoladores, tanques de almacenamiento, mezclador de polvos y marmitas, también se les realiza a los puntos de uso de agua purificada de la planta de producción. Se toma el agua del último enjuague de lavado, a esta agua se le realizan análisis fisicoquímicos (pH y conductividad), microbiológicos (mesófilos aerobios totales, mohos y levaduras, coliformes totales y *Escherichia coli*) y análisis de carbón orgánico total (TOC).

El agua de enjuague se toma en un frasco Schott ámbar con volumen de 1 L para el análisis de TOC, y en un frasco Schott de 500 mL transparente para los otros análisis microbiológicos los cuales se realizan en el área de siembra, bajo cabina de Flujo laminar, siembra en profundidad, para lo cual se adiciona 1 mL del agua en cajas de Petri estériles previamente marcados. Adicionar el medio indicado según el microorganismo a evaluar: Agar Tripticasa de Soya para mesófilos aerobios totales, Agar Sabouraud para mohos y levaduras y Agar VRBA + MUG para coliformes totales y *Escherichia coli*. Incubar de 30°C-35°C para bacterias y de 20°C-25°C para hongos y levaduras.

Pasado el tiempo de incubación, realizar un conteo de unidades formadores de colonias (UFC) y dar el concepto según las siguientes especificaciones:

- Mesofilos aerobios totales: 100 UFC/mL.
- Mohos y Levaduras: 100 UFC/mL.
- Coliformes totales: Ausencia/mL.

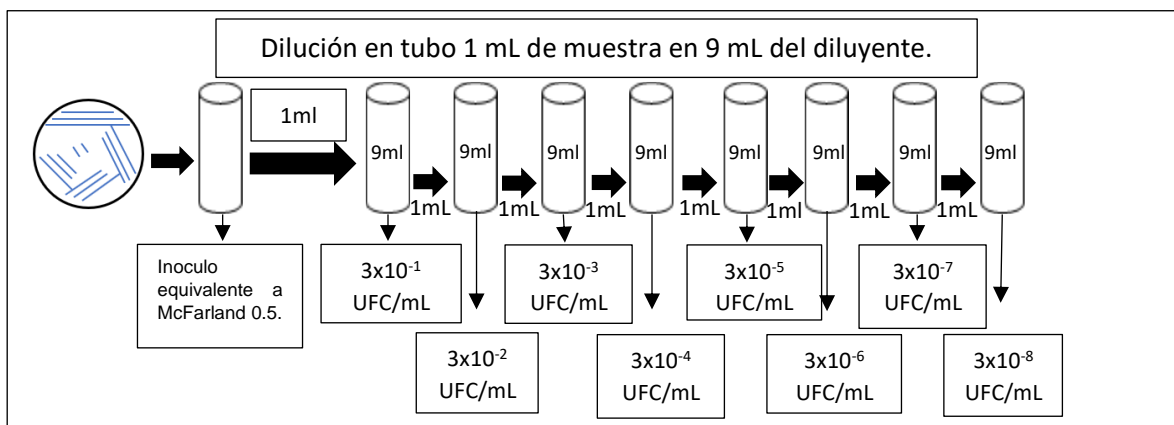
- *Escherichia coli*: Ausencia/mL.

Este análisis es de vital importancia, debido a que es un indicativo de los procesos de limpieza y desinfección de los equipos empleados en la fabricación de productos Fito terapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales, con este se garantiza que cada lote de producto nuevo solo contenga los componentes indicados en la fórmula maestra y no posea ninguna otra sustancia tal como restos de detergentes, desinfectantes y/o principios activos del producto anteriormente preparado.

5.11. Control microbiológico de la promoción del crecimiento.

Este análisis consta de dos pruebas: 1) Las pruebas indicadoras de los medios de cultivo y 2) las pruebas inhibitorias de los medios de cultivo, para su desarrollo se deben preparar las suspensiones de microorganismos, según el procedimiento descrito en el gráfico 2. Posteriormente en la cabina de seguridad biológica se inoculan por duplicado, con pipeta estéril, los medios selectivos con un máximo de 100 unidades formadoras de colonia (<100 UFC) de la suspensión de los microorganismos de desafío para la propiedad inhibitoria e indicadora. Para ello se procede a realizar la siembra de las tres últimas diluciones realizadas para obtener un recuento igual o inferior a 100 UFC/ml, partiendo de una solución de inicio realizada en función al McFarland escala 0.5 (1.5×10^8 UFC/ml). Inocular sobre las cajas de cada agar o en tubos e incubar según las especificaciones microbiológicas de cada cepa a ensayar.

Gráfico 2. Preparación del Inóculo.



Fuente: Autor, 2020.

Posteriormente al periodo de incubación se realizó una identificación macroscópica y microscópica de las cepas con el fin de observar sus características macroscópicas y microscópicas comparando los resultados obtenidos con lo establecido en la tabla 6.

Tabla 6. Características macroscópicas y microscópicas de cepas.

MICROORGANISMO	Medio de Cultivo	Características Macroscópicas	Características Microscópicas
<i>Bacillus subtilis</i> (<i>zpizizenii</i>)	Agar Casoy	Colonias redondas, lisas, de borde irregular, consistencia cremosa, de color blanco a amarillo	Bacilos Gram Positivos Esporulados (Anexo 3)
<i>Candida albicans</i>	Agar Sabouraud	Colonias lisas brillantes de color blanco a ligeramente beige	Levaduras Gram Positivas (Anexo 3)
<i>Escherichia coli</i>	Agar MacConkey	Colonias redondas rojas con halo turbio	Bacilos Gram Negativos
	VRBA con MUG	Colonias grandes con bordes irregulares de color rosado intenso. Presencia de fluorescencia bajo luz ultravioleta a longitud de onda de 366 nm.	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar Cetrimide	Colonias pequeñas verde-amarillentas con fluorescencia bajo luz UV	Bacilos Gram Negativos.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar Salado Manitol	Colonias amarillas, rodeadas de un halo amarillo, con viraje del medio a amarillo	Cocos Gram Positivos (Anexo 3)

Fuente: Autor, 2020.

Para las pruebas indicadores el crecimiento de los microorganismos indica que los medios tienen los nutrientes necesarios para el crecimiento del microorganismo y para las pruebas inhibitorias la ausencia de crecimiento evidencia que el medio de cultivo cumple su función de selectividad, porque solo permite el crecimiento específico de un microorganismo.

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Julio		Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Inducción																						
Preparación de Medios de cultivo																						
Montaje de Cepas																						
Análisis Microbiológico de Aguas																						
Análisis Microbiológico de Ambientes																						
Análisis Microbiológico de Superficies																						
Análisis Microbiológico de Aire Comprimido																						
Análisis Microbiológico de Manipuladores																						
Análisis Microbiológico de Uniformes																						
Análisis Microbiológico de Trazas																						
Procesamiento de Muestras																						
Desarrollo Informe de Pasantía																						
Entrega de Avance de Informes																						
Sustentación Proyecto Final																						

Fuente: Autor, 2020.

7. RESULTADOS Y ANÁLISIS

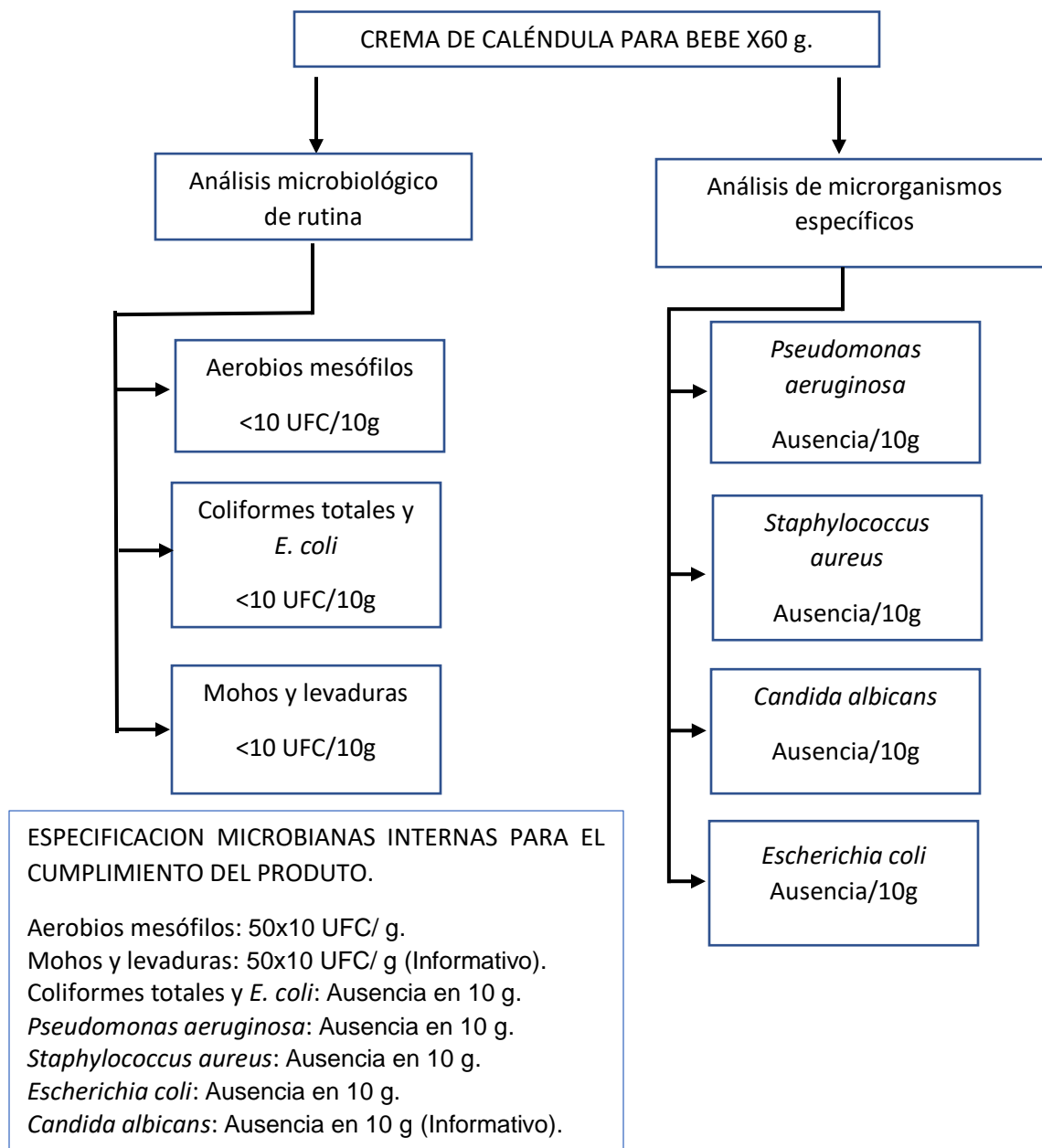
7.1. Línea de procesos microbiológicos.

En función a cada línea de producción se presenta el flujo del control de calidad microbiológica de un producto en elaboración.

7.1.1. Cosméticos.

En el gráfico 3 se observan los resultados microbiológicos de un producto cosmético elaborado en LABFARVE. Los resultados obtenidos permiten dar cumplimiento en un 100% a las especificaciones internas para este tipo de productos, a su vez, en la tabla 7 se dan a conocer los recuentos microbiológicos de los factores que se ven implícitos en la fabricación del producto, llegando a ser estos una posible fuente de contaminación.

Gráfico 3. Resultados del análisis microbiológico para un producto cosmético LABFARVE.



Fuente: Autor, 2020.

Los resultados obtenidos para el producto concuerdan con los resultados obtenidos por otros autores al evaluar productos a base caléndula (*Calendula officinalis*), Águila y colaboradores (2000) en un análisis farmacológico preliminar del extracto acuoso de caléndula, hallaron flavonoides, saponinas, aminoácidos, taninos y un efecto antimicótico sobre hongos dermatofitos (Aguilar et al 2000). Las saponinas poseen propiedades tenso-activas y muchas actúan como antimicrobianos o antifúngicos, espermicidas y citotóxicos. La cabezuela o flores de la caléndula cuenta con efectos bactericida contra *Staphylococcus*

aureus y *Streptococcus fecalis* (Acosta et al 2001). Ojeda (2017) informo el efecto inhibitorio que genera la calendula sobre el crecimiento de *B. cereus*, *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli* y *L. monocytogenes*, a su vez, indica que esta no afecta el crecimiento de *P. aeuroginosa* y *B. subtilis*.

En la tabla 7 se presentan los resultados en UFC para cada uno de los análisis microbiológicos que dan control de las variables que influyen en el proceso de producción de los cosméticos desarrollados en LABFARVE.

Tabla 7. Resultados de los análisis microbiológicos a las posibles fuentes que afectan la calidad de un producto cosmético.

Análisis		Recuentos		
Aguas	Potable	Aerobios mesófilos: 2 UFC/ 100 mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/100 mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Purificada	Aerobios mesófilos: 0 UFC/ 100 mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/100 mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
Uniformes	Cosmético	Aerobios mesófilos: 1 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
	Microbiología	Aerobios mesófilos: 0 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
Manipuladores	Persona preparación	<i>E. coli</i> : Ausencia		
		<i>Staphylococcus aureus</i> : Ausencia		
		Mohos y levaduras: 0 UFC		
	Persona envasado	<i>E. coli</i> : Ausencia		
		<i>Staphylococcus aureus</i> : Ausencia		
		Mohos y levaduras: 0 UFC		
Ambientes	Preparación y Envasado de solidos	Aerobios mesófilos:	P1	12 UFC/4 H
			P2	11 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras:	P1	13 UFC/4 H
			P2	8 UFC/4 H
	Área de procesamiento demuestras (Microbiología)	Aerobios mesófilos:	P1	4 UFC/4 H
			P2	1UFC/4 H
		Mohos y Levaduras:	P1	3 UFC/4 H
			P2	1 UFC/4 H
	Cabina de flujo laminar	Aerobios mesófilos:	P1	0 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras:	P1	0 UFC/4 H
Utensilios	Pote x 60 g.	Aerobios mesófilos: <10 UFC/mL		
		Mohos y Levaduras: <10 UFC/mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Tapa	Aerobios mesófilos: <10 UFC/mL		
		Mohos y Levaduras: <10 UFC/mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
Mesón	Aerobios mesófilos: 11 UFC/cm ²			
	Mohos y Levaduras: 2 UFC/ cm ²			

Superficies	Balanza	Coliformes totales y fecales: Ausencia
		Aerobios mesófilos: 5 UFC/ cm ²
		Mohos y Levaduras: 1 UFC/ cm ²
	Dosificadora de cremas	Coliformes totales y fecales: Ausencia
		Aerobios mesófilos: 5 UFC/ cm ²
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/ cm ²
Trazas Microbiológicas	Dosificadora de cremas	Coliformes totales y fecales: Ausencia
		Aerobios mesófilos: 8 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL
	Marmita	Coliformes totales y fecales: Ausencia
		Aerobios mesófilos: 11 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL
	POU 4	Coliformes totales y fecales: Ausencia
		Aerobios mesófilos: 0 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL
		Coliformes totales y fecales: Ausencia

Fuente: Autor, 2020.

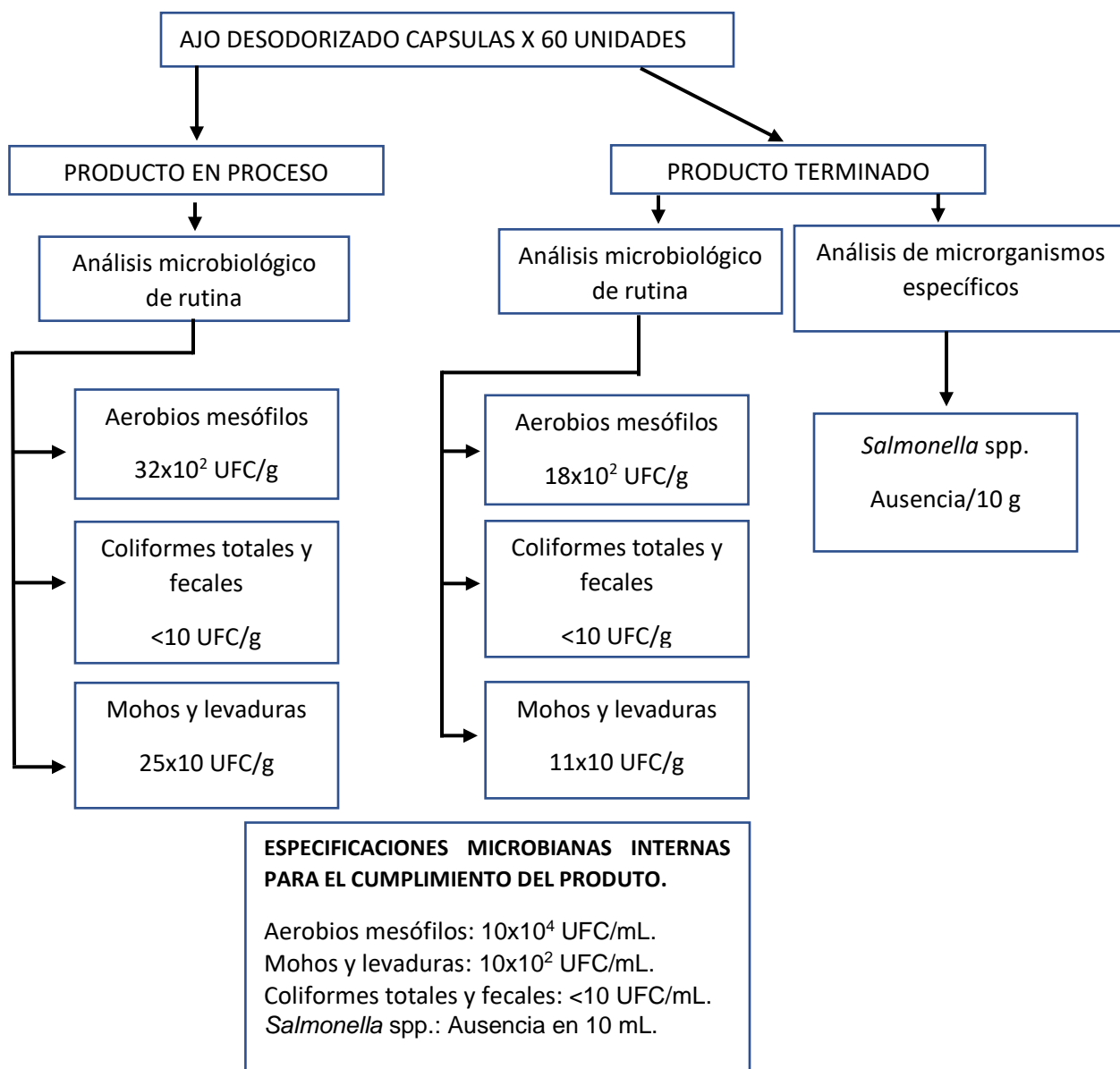
Se observa que el producto elaborado da cumplimiento a las especificaciones internas plasmadas en la tabla 3 para productos cutáneos, a su vez, estipuladas en el gráfico 3, las especificaciones internas presentadas son tomadas de la Resolución 1482 del 2012 de la Secretaria General de la Comunidad Andina, con la adición del análisis para la búsqueda de Mohos y Levaduras y la búsqueda de *Candida albicans*.

Los resultados presentados en la tabla 7 permiten dar conformidad a las especificaciones descritas en la metodología para cada proceso que se ve inmerso de forma directa e indirecta en la posible afección de la calidad del producto final. El agua es una materia prima importante para la elaboración de los productos, por ende, el control de ella es de suma importancia, las muestras analizadas implicadas en la elaboración de este producto cosmético presento recuento donde se evidencio la ausencia de coliformes totales, coliformes fecales y *P. aeruginosa* dando cumplimiento a lo establecido en la resolución 2115 del 2007 del ministerio de salud.

7.1.2. Fitoterapéuticos.

En el gráfico 4 se informan los resultados microbiológicos obtenidos del análisis de inspección microbiológico realizado a un producto de fabricación Fitoterapéuticos en LABFARVE. En la tabla 8 se presentan las actividades de rutina a controlar para garantizar la calidad microbiológica del producto a fabricar, dando cumplimiento a las especificaciones internas.

Gráfico 4. Resultados del análisis microbiológico para un producto fitoterapéutico LABFARVE.



Fuente: Autor, 2020.

Las propiedades antibacterianas del ajo (*Allium sativum*) han sido demostradas con varios preparados de ajo que exhiben un amplio espectro de actividad antibacteriana sobre bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo géneros patógenos como *Escherichia* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. y *Clostridium* spp. (Ankri and Mirelman, 1999). El efecto antimicrobiano del ajo se le atribuye a que en su composición química cuenta con la alicina que es un compuesto azufrado, el cual actúa contra bacterias Gram negativas y positivas, aunque

también se atribuye a los ajoenos y el trisulfuro de dialilo. Se le atribuye una actividad antifúngica demostrando su actividad frente a *Candida* sp. y otros mohos (López, 2007).

Los resultados informados en el gráfico 4 permiten dar cumplimiento a las especificaciones internas para el cumplimiento de la calidad microbiológica del Ajo Desodorizado cápsulas. Aunque el ajo posee propiedades antimicrobianas y antifúngicas los resultados obtenidos permiten informar una carga microbiana para aerobios mesófilos y mohos y levaduras, lo cual se puede deber a que en la formulación maestra de este producto se incluyen otras materias primas de tipo vegetal las cuales pueden aportar una carga microbiana, la misma que se disminuye en el proceso de producción.

Las capsulas en polvo son producto con bajo porcentaje de humedad y poca actividad del agua, factores fisicoquímicos de gran importancia para el desarrollo de los microorganismos, además de ello la encapsulación de los polvos permite generar ambientes con bajo flujo de aire. Todo lo anterior contribuye al cumplimiento microbiológico del producto.

Tabla 8. Resultados de los análisis microbiológicos a las posibles fuentes que afectan la calidad de un producto fitoterapéutico.

Análisis		Recuentos		
Aguas	Potable	Aerobios mesófilos: 2 UFC/ 100 mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/100 mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Purificada	Aerobios mesófilos: 2 UFC/ 100 mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/100 mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
Uniformes	Fitoterapéutico 1	Aerobios mesófilos: 1 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
	Fitoterapéutico 2	Aerobios mesófilos: 0 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
	Fitoterapéutico 3	Aerobios mesófilos: 2 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
	Microbiología	Aerobios mesófilos: 0 UFC/Uniforme		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/Uniforme		
Manipuladores	Persona preparación	<i>E. coli</i> : Ausencia		
		<i>Staphylococcus aureus</i> : Ausencia		
		Mohos y levaduras: 0 UFC		
	Encapsulador	<i>E. coli</i> : Ausencia		
		<i>Staphylococcus aureus</i> : Ausencia		
		Mohos y levaduras: 0 UFC		
	Persona envasado	<i>E. coli</i> : Ausencia		
		<i>Staphylococcus aureus</i> : Ausencia		
		Mohos y levaduras: 0 UFC		
		Aerobios mesófilos	P1	22 UFC/4 H

Ambientes	Secado y Molido		P2	29 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras	P1	9 UFC/4 H
	Encapsulación	Aerobios mesófilos	P2	14 UFC/4 H
			P1	172 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras	P2	322 UFC/4 H
			P1	88 UFC/4 H
		Aerobios mesófilos	P2	126 UFC/4 H
			P1	9 UFC/4 H
	Mohos y Levaduras	P2	2 UFC/4 H	
		P1	6 UFC/4 H	
	Preparación y envasado de solidos	Aerobios mesófilos	P2	6 UFC/4 H
			P1	23 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras	P2	18 UFC/4 H
			P1	12 UFC/4 H
	Área de procesamiento demuestras (Microbiología)	Aerobios mesófilos:	P2	12 UFC/4 H
			P1	3 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras:	P2	1 UFC/4 H
			P1	4 UFC/4 H
	Cabina de flujo laminar	Aerobios mesófilos:	P2	0 UFC/4 H
		Mohos y Levaduras:	P1	0 UFC/4 H
Utensilios	Frasco	Aerobios mesófilos: 0 UFC/mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Tapa	Aerobios mesófilos: 0 UFC/mL		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
Superficies	Mesón	Aerobios mesófilos: 4 UFC/cm ²		
		Mohos y Levaduras: 1 UFC/ cm ²		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Balanza	Aerobios mesófilos: 2 UFC/ cm ²		
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/ cm ²		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		
	Encapsuladora	Aerobios mesófilos: 17 UFC/ cm ²		
		Mohos y Levaduras: 7 UFC/ cm ²		
		Coliformes totales y fecales: Ausencia		

Aires comprimidos	Secado y molido	Aerobios mesófilos: 0 UFC/ 45 L
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/ 45 L
	Encapsulación	Aerobios mesófilos: 0 UFC/ 45 L
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/ 45 L
	Preparación y envasado de solidos	Aerobios mesófilos: 0 UFC/ 45 L
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/ 45 L
Lavado	Aerobios mesófilos: 11 UFC/ 45 L	
	Mohos y Levaduras: 0 UFC/ 45 L	
Trazas Microbiológicas	Encapsuladora	Aerobios mesófilos: 4 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL
		Coliformes totales y fecales: Ausencia
	Molino extracto seco	Aerobios mesófilos: 3 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 2 UFC/mL
		Coliformes totales y fecales: Ausencia
	POU 3	Aerobios mesófilos: 0 UFC/mL
		Mohos y Levaduras: 0 UFC/mL
		Coliformes totales y fecales: Ausencia

Fuente: Autor, 2020.

Se observa que el producto elaborado da cumplimiento a las especificaciones plasmadas en la tabla 3 para productos orales, a la par de este resultado también se puede evidenciar que las posibles variables que afectarían la calidad (ambientes, uniformes, manipuladores, entre otros) del proceso dan cumplimiento a las especificaciones internas para cada análisis en específicos las cuales se plasma en la metodología del trabajo.

7.1.3. Magistrales.

La producción de fórmulas magistrales, está sujeta a la combinación de diferentes materias primas para la obtención de un producto final, el análisis en el área de control de calidad de Microbiología, consiste en evaluar las diferentes materias primas empleadas en las elaboraciones. Para lo cual, se tienen en cuenta un control microbiológico de todo el proceso de producción de una formulación magistral, dicho control consta del análisis de ambientes, superficies, utensilios, manipuladores, uniformes y aguas. La inspección de todas estas variables combinadas con el uso de materias primas de buena calidad conlleva a la obtención de un producto que dará cumplimiento a las normativas aplicadas a su elaboración.

Los resultados obtenidos, dieron cumplimiento a las Buenas prácticas de Elaboración aplicadas a la planta de fórmulas magistrales de LABFARVE, ya que, los resultados de los recuentos para todos los parámetros de calidad microbiológica no superaron las especificaciones dispuestas en la USP 42 para estos productos, con la excepción de la Passiflora tintura, la cual se sometió a reproceso hasta entrar en especificaciones microbiológicas, los recuentos microbianos superaron las especificaciones internas establecidas en la tabla 3, casilla de extractos secos y tinturas, las cuales son basadas en

los métodos farmacopeicos, superando el límite de 10×10^3 UFC/mL para aerobios mesófilos y 10×10^2 UFC/mL para mohos y levaduras.

Lo anterior permite identificar que la calidad de las materias primas vegetales usadas en las fórmulas magistrales son óptimas para el uso debido a que en algunos casos los recuentos bacterianos son muy bajos y en otros ni siquiera se logra observar crecimiento en las placas de agar y los procesos que dan no conformidad entran en reproceso en función a la importancia hasta obtener conformidad en sus resultados.

En la tabla 9 se presentan los recuentos microbianos del análisis realizado a las principales tinturas usadas en las formulaciones magistrales en LABFARVE.

Tabla 9. Recuentos microbiológicos de tinturas usadas en fórmulas magistrales.

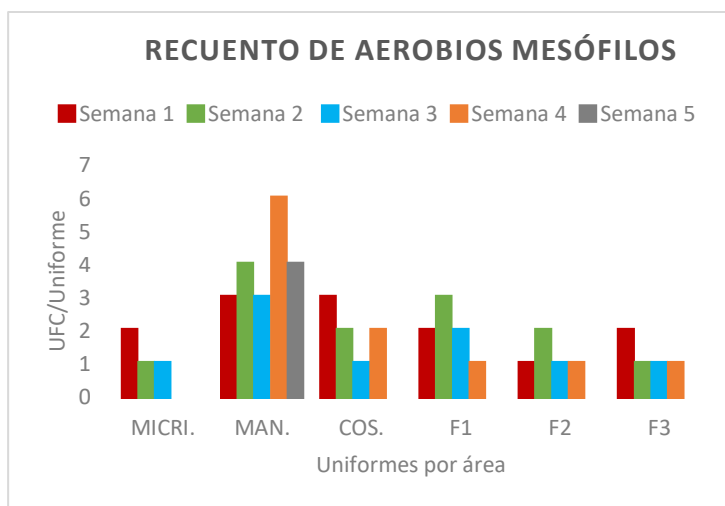
Tinturas	Recuento de aerobios mesófilos	Recuento de mohos y levaduras	Recuento de coliformes totales	Recuento de coliformes fecales
Higuerilla	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
Caléndula	32×10 UFC/mL	16×10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
Valeriana	11×10 UFC/mL	30 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
Passiflora	15×10^3 UFC/mL	34×10^2 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
Passiflora EN 1	90×10^2 UFC/mL	22×10^2 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL
Passiflora EN 2	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL	<10 UFC/mL

Fuente: Autor, 2020.

7.2. Análisis Microbiológico de Uniformes.

Este análisis se lleva a cabo una vez por semana, realizándose a seis diferentes uniformes: uno del área de microbiología, uno para el área de mantenimiento, uno para el área de cosméticos y tres del área de Fitoterapéuticos. En las gráficas 5 y 6 se presentan los resultados obtenidos para este análisis.

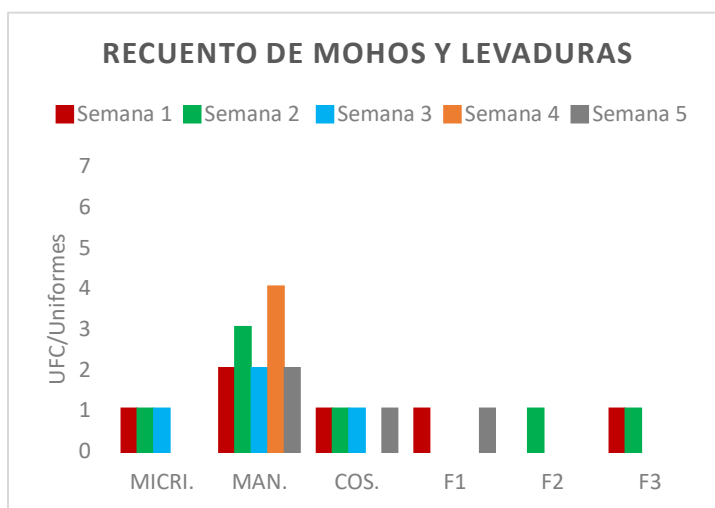
Gráfico 5. Recuento microbiológico de aerobios mesófilos para uniformes.



MICRI: Microbiología, MAN: Mantenimiento, COS: Cosméticos, F1, F2 y F3: Fitoterapéuticos

Fuente: Autor, 2020.

Gráfico 6. Recuento microbiológico de mohos y levaduras para uniformes.



MICRI: Microbiología, MAN: Mantenimiento, COS: Cosméticos, F1, F2 y F3: Fitoterapéuticos

Fuente: Autor, 2020.

Los resultados obtenidos durante el tiempo de análisis fueron conformes con las especificaciones internas del laboratorio, las cuales están basadas en requerimiento farmacopeicos (USP vigente). La exigencia es de 10 UFC por uniforme lo que permite estimar que las vestimentas de los trabajadores cumplen con la norma interna.

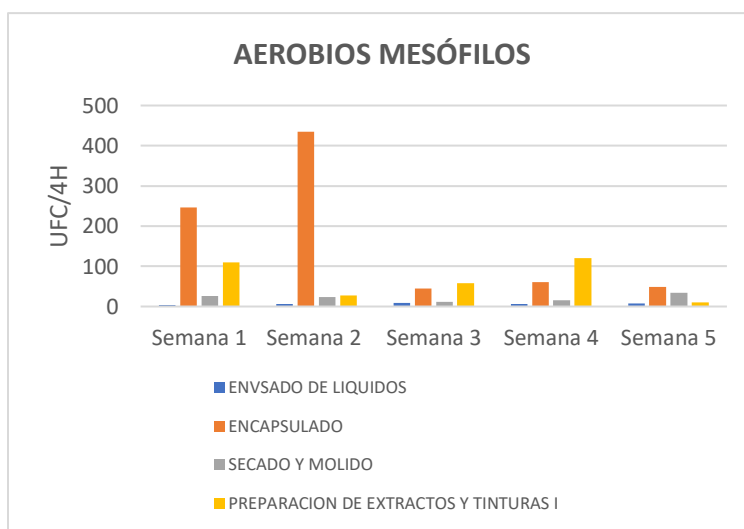
El análisis de este proceso es de suma importancia debido a que el uniforme es la barrera que separa el manipulador y el producto a elaborar, por ello es de gran necesidad conocer el estado microbiológico de éstos. Una posible contaminación a raíz de cargas microbianas altas en los uniformes puede llegar a alterar de forma negativa los procesos productivos y

por ende la calidad del producto final, adicionalmente es un indicador de higiene del personal y de buenas prácticas de conducta dentro de las plantas de producción. Un estado óptimo de las vestimentas usadas por el personal permite informar que los procesos estipulados en la empresa para la limpieza de éstos se dan en forma confiable.

7.3. Análisis Microbiológico de ambientes.

Este análisis es realizado dos veces a la semana para áreas en las cuales el producto se encuentra totalmente expuesto (áreas críticas) a las condiciones ambientales y una vez a la semana a las áreas aledañas a las críticas. En el gráfico 7 se dan a conocer los resultados microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas para algunas áreas de la planta de productos Fitoterapéuticos. Los resultados presentados se comparan con la normatividad interna para ambientes de Grado D según la USP 42 con límite superior de 100 UFC/4 horas para aerobios mesófilos.

Gráfico 7. Recuento microbiológico aerobios mesófilos para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos.

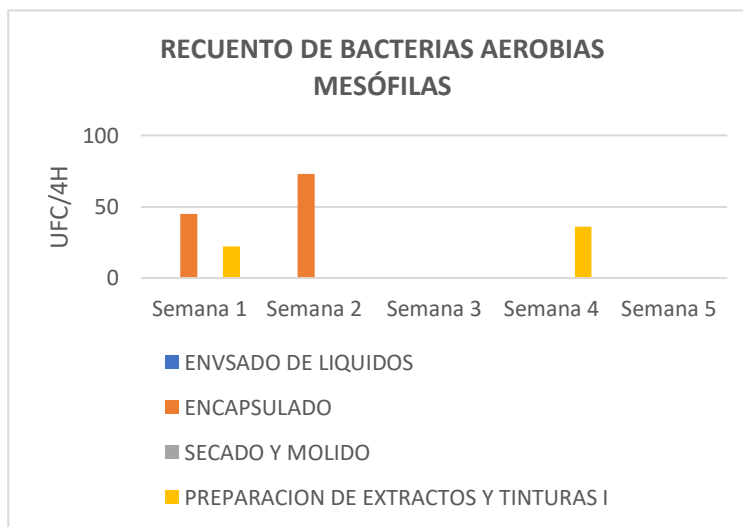


Fuente: Autor, 2020.

En el gráfico 7 se presentan los resultados en unidades formadoras de colonias para los ambientes de cuatro de las áreas principales de los procesos productivos en la planta de Fitoterapéuticos. En estos se puede observar que en la semana 1 y 2 se presentan, recuentos por fuera de la norma interna para el área de Encapsulado, así mismo para la semana 1 y 4 del área de preparación de extractos y tinturas I, al presentarse dichos resultados se realizó un trabajo investigativo de las posibles causas por las cuales se presentó un alto recuento de microorganismo, y a partir de ello se dio una acción correctiva, la cual consistió en detener los procesos que se llevaban a cabo en estas áreas y aplicar nuevamente un proceso de limpieza y desinfección.

Una vez aplicadas las medidas correctivas descritas anteriormente se procedió nuevamente a realizar el análisis de ambientes, obteniendo una disminución de las unidades formadoras de colonias de mesófilos aerobios totales en las áreas, en la gráfica 8 se evidencia el número de microorganismos por aérea.

Gráfico 8. Recuento microbiológico aerobios mesófilos para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos una vez aplicada las medidas correctivas.

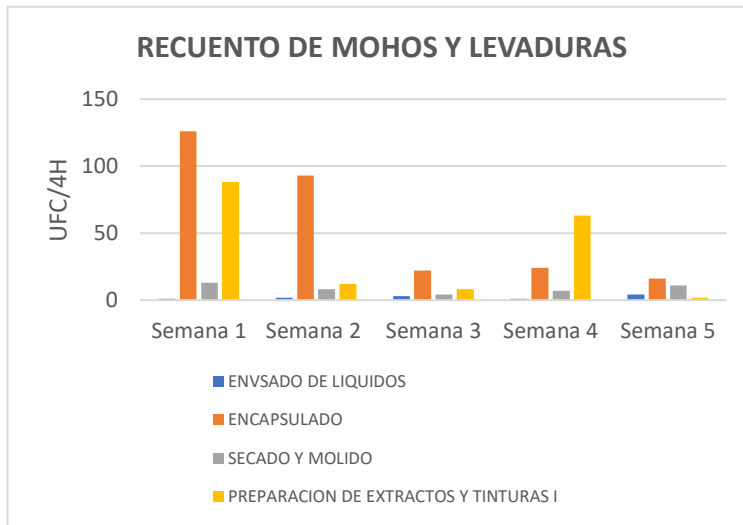


Fuente: Autor, 2020.

Se puede observar que hubo una disminución considerable del recuento microbiano para bacterias aerobias mesófilas, lo que conlleva a que estas áreas de producción den cumplimiento a la normatividad interna, permitiendo así el uso de las áreas en los procesos siguientes.

Adicional al análisis de bacterias aerobias mesófilas se realiza el análisis para mohos y levaduras debido a que estos son contaminantes propios de los ambientes, su presencia en productos que brinde las condiciones de desarrollo implica una posible afectación en la calidad. En el gráfico 9 se presentan los resultados para este análisis.

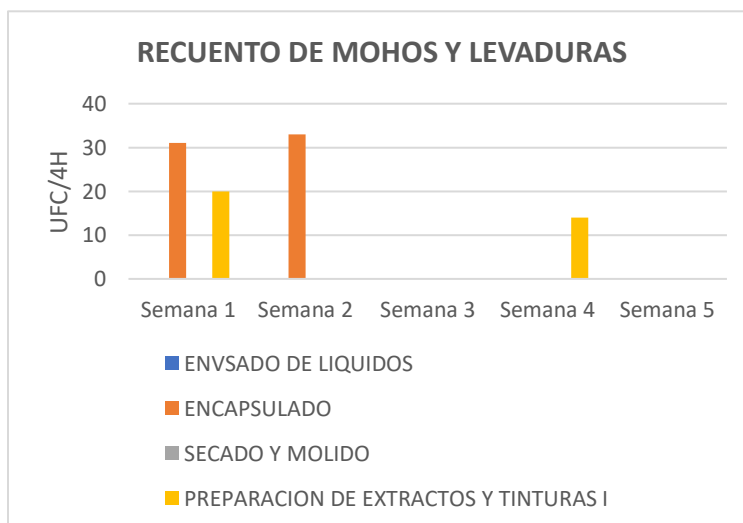
Gráfico 9. Recuento microbiológico Mohos y Levaduras para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos.



Fuente: Autor, 2020.

Al contrastar con la norma interna para este recuento se observa que de las cuatro áreas presentadas solo una de ellas da no conformidad en la semana 1, la cual hace referencia al ambiente de Encapsulado, por tal motivo se aplica la medida correctiva anteriormente descrita presentándose los resultados posteriores a la medida en el gráfico 10.

Gráfico 10. Recuento microbiológico Mohos y Levaduras para ambientes grado D de la planta de Fitoterapéuticos una vez aplicada las medidas correctivas.



Fuente: Autor, 2020.

En la gráfica 10 se presentan los recuentos obtenidos después de la medida correctiva, siendo de clara visibilidad la disminución de las UFC de esta área entrando en especificaciones. Se puede ver que las medidas correctivas aplicadas principalmente a la disminución del recuento de bacterias mesófilas para las semanas uno, dos y cuatro, también tuvieron efecto directo sobre el conteo de hongos disminuyendo aún más la carga fúngica y de levaduras del área de encapsulado y preparación de extractos y tinturas I.

Se presentan los resultados de cuatro de las áreas de mayor importancia para los procesos productivos de la planta de productos Fitoterapéuticos debido a que las otras áreas de producción, durante las semanas del estudio presentaron valor por debajo del límite máximo permitido según especificaciones internas, dando cumplimiento a lo exigido para este análisis.

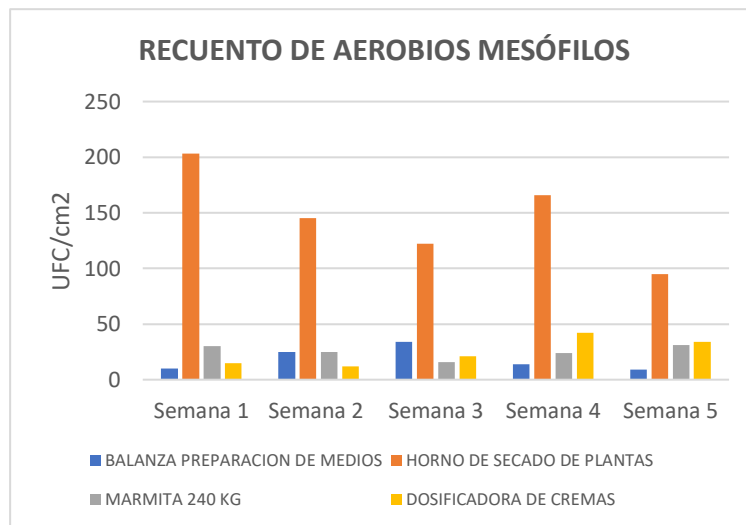
El área de control de calidad de Microbiología presenta ambientes de grado C en el cuarto de siembra debido a que en esta área los niveles ambientales de microorganismos deben ser bajos para evitar la contaminación de las muestras por analizar, la norma interna para esta área permite el recuento de hasta 50 UFC/ 20 minutos para aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras. Los resultados de esta área no son presentados debido a que no generan inconsistencias en los recuentos microbianos, estando así por debajo del límite máximo permitido por la normatividad interna dando un cumplimiento del 100%, este cumplimiento también se puede deber a que el área cuenta con dos filtros HEPA los cuales mantienen el aire recirculante en un proceso de limpieza a la para la esclusa que antecede la entrada al cuarto tiene una presión positiva lo que impide el paso de aire de las otras áreas del laboratorio al cuarto de siembra.

Adicional a las áreas de grado D y C, se hace uso de la cabina de flujo laminar para el proceso de sembrado de muestras. Esta cabina cuenta con un grado ambiental A, el cual según normatividad interna basada en los parámetros de la USP 42 da rango de <1 UFC/20 minutos. Los controles ambientales a esta área se realizan cada vez que se proceda a manipular muestras (productos terminados, productos en proceso, materias primas, embaces entre otros procedimientos), ya que con ellos se garantiza que los resultados obtenidos son netamente propios de las muestras analizadas y no por el contrario provienen del ambiente de la cabina de flujo laminar. Además, el control del ambiente de la cabina da información sobre el estado de ésta y su óptimo funcionamiento. Los resultados para esta área durante el tiempo de ensayo aportaron un cumplimiento del 100% según especificaciones internas debido a que la cabina de flujo laminar cuenta con un filtro HEPA el cual garantiza la filtración del aire recirculante en un grado del 99,99%, a su vez, el cuarto donde está la cabina de siembra tiene dos filtros HEPA para el control del ambiente lo que permite en gran manera la disminución de contaminantes en el aire.

7.4. Análisis microbiológico de equipos y superficies.

Los análisis microbiológicos de equipos y las superficies de producción permiten tener control de los procesos de limpieza y desinfección de los mismos, garantizando de esta manera la disminución de posibles focos de contaminación al producto final, en el siguiente gráfico se dan a conocer los estados a nivel microbiano de cuatro superficies de equipos utilizados en la planta de productos Fitoterapéuticos.

Gráfico 11. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas para superficies.



Fuente: Autor, 2020.

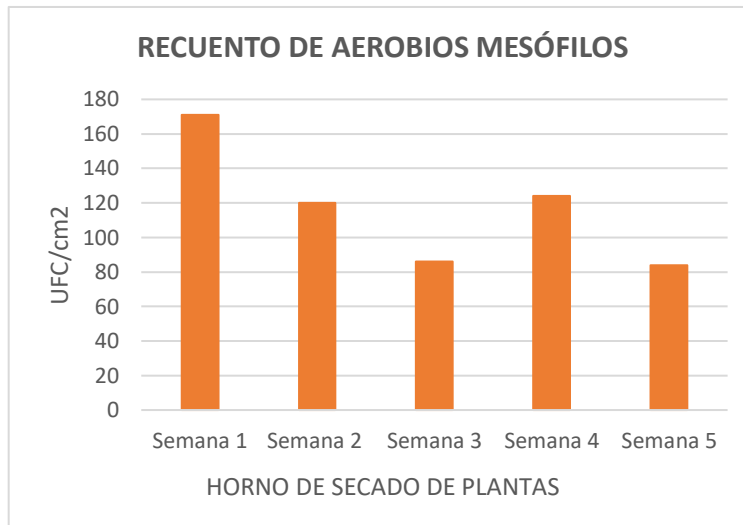
En el gráfico 11 se presentan los resultados microbiológicos de aerobios mesófilos totales del análisis de superficies de equipos de producción, los resultados son expresados en UFC/cm² y son tomados una vez a la semana, las especificaciones microbiológicas son <50 UFC/cm², estas son una norma interna de LABFARVE basada en requerimientos farmacopeicos vigentes <797>.

Se evidencia un recuento alto de Aerobios mesófilos para la superficie del horno de secado, ya que, durante el periodo de análisis presenta recuentos microbiológicos por encima de las 50 UFC/cm², al obtener estos resultados se procede a informar al jefe de control de calidad y jefe de producción, para que ellos dirijan las acciones de mejora necesarias para mitigar la contaminación en el producto final y disminuir el recuento microbiano.

Adicionalmente, al análisis de superficies de equipos, también se realiza el análisis de superficies planas, dentro de las que se encuentran: paredes, pisos, mesones de las plantas de producción, este análisis no se muestra en el presente trabajo, debido a que para este análisis se evidenció cumplimiento total de los parámetros microbiológicos evaluados.

En el gráfico 12, se presentan los resultados en UFC/cm² de Aerobios mesófilos para los análisis microbiológicos de las superficies del horno de secado, tras un re-proceso de limpieza y desinfección, realizado con el fin de disminuir la cantidad de microorganismos presentes en este equipo.

Gráfico 12. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas en superficies del horno de secado de plantas una vez realizado el proceso correctivo.



Fuente: Autor, 2020.

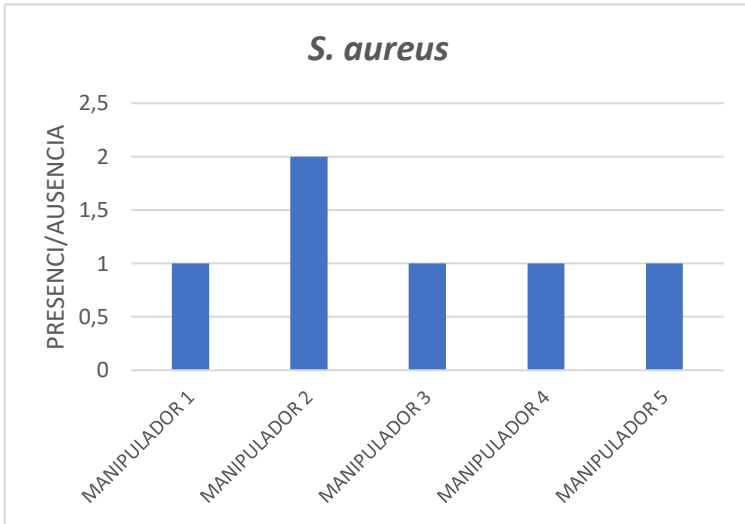
En el gráfico 12 se observa que a pesar de haber realizado acciones correctivas, dentro de las que se encuentran: reprocesos de limpieza y desinfección, empleo de otros agentes desinfectantes, entre otros, no se pudo disminuir el número de unidades formadoras de colonias para dicho análisis, es por ello que este proceso entra al programa de mejoramiento continuo del sistema de Gestión de la calidad de LABFARVE, en el que se realizan reuniones cooperativas con diferentes entes de la organización, tales como Director Técnico, departamento de mantenimiento, compras, control de calidad, entre otras, para llegar a un acuerdo acerca de la posible solución a los resultados obtenidos.

Dentro de las estrategias planteadas se han realizado nuevamente los procesos de limpieza y desinfección, se ha realizado limpieza con agentes desinfectantes como el ozono, hipoclorito de sodio, entre otros. Adicionalmente, se realizó una identificación externa del microorganismo encontrado, debido a que el Laboratorio de Microbiología no cuenta con los reactivos para realizar una identificación exhaustiva.

7.5. Análisis Microbiológico de manipuladores.

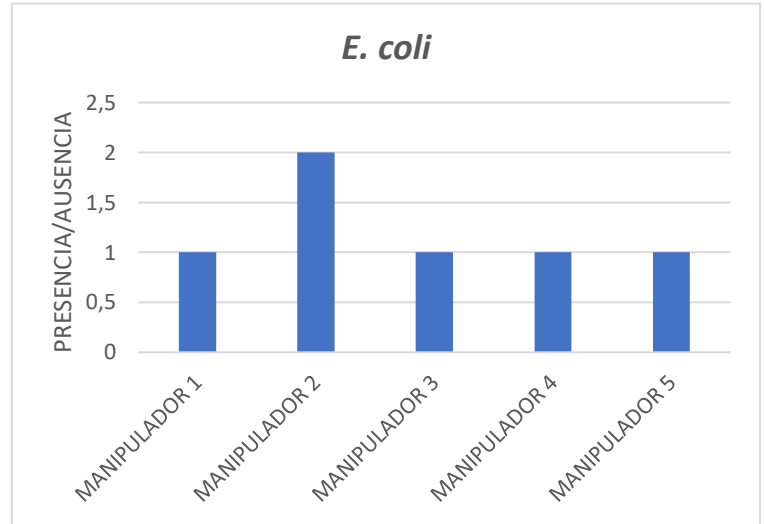
El control microbiológico a manipuladores tiene un papel fundamental en la industria de manufactura de fármacos ya que son ellos los que tienen el contacto directo con la elaboración, dispensación y empaque del producto a usar. En la gráfica 13 se presentan los resultados microbiológicos para *S. aureus* y en la gráfica 14 los resultados para *E. coli* en manipuladores, los resultados se especifican en presencia o ausencia de los microorganismos al ser del tipo patógenos.

Gráfico 13. Método microbiológico de presencia o ausencia *S. aureus* en manipuladores, donde 1 es igual a AUSENCIA y 2 es igual a PRESENCIA.



Fuente: Autor, 2020.

Gráfico 14. Método microbiológico de presencia o ausencia para *E. coli* en manipuladores, donde 1 es igual a AUSENCIA y 2 es igual a PRESENCIA.



Fuente: Autor, 2020.

El análisis de la semana presentada en las gráficas da un resultado positivo para *S. aureus* y *E. coli* en el manipulador 2. Dando una no conformidad al cumplimiento de los requisitos expuestos en la NTC 5230 la cual es la norma referente usada para este análisis en LABFARVE de manipuladores. La norma exige para su cumplimiento la ausencia de *S. aureus*, *E. coli* y un recuento de 0 UFC/mano para hongos y levaduras, los resultados de éstos últimos mencionados no se presentan debido a que el cumplimiento es del 100% (0 UFC/mano) para los cinco manipuladores. Las siguientes semanas restantes del proceso de la elaboración del informe de pasantías dieron un cumplimiento del 100% de la exigencia normativa para los manipuladores a los cuales se les realizó en análisis por ello no se presentan los resultados.

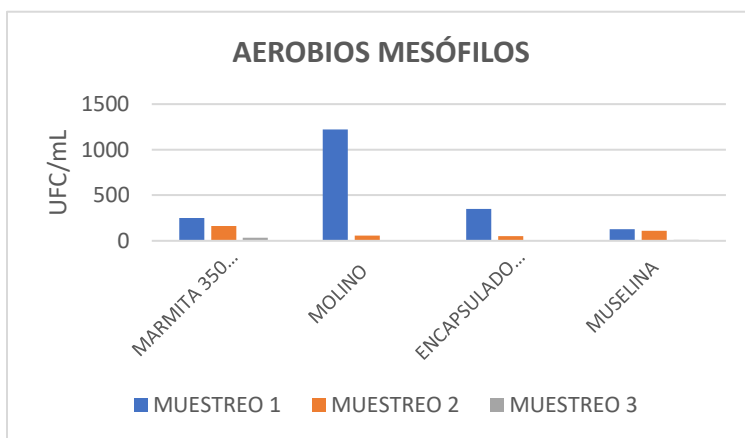
Como medida correctiva el manipulador que dio no conformidad a los parámetros microbiológicos expresados por la NTC 5230 para manipuladores, se debió someter a una visita médica y aun tratamiento farmacológico destinado principalmente a l control de la flora intestinal además de su retiro del área crítica de producción y posterior traslado a un área de bajo riesgo de contaminación del producto final (codificado o acondicionamiento). Con respecto a las medidas tomadas por el área de control de calidad de Microbiología el manipulador 2 se sometió a tres muestreos con una separación de 24 horas entre cada muestreo, los cuales deben dar un resultado negativo para cada muestreo en los tres ítems de análisis (*S. aureus*, *E. coli* y mohos y levaduras). Una vez se dé cumplimiento a los requisitos microbiológicos exigidos en la NTC 5230 y estos resultados tenga el mismo resultado en un consecutivo de tres muestreos se procede a informar que la persona regrese a un área cítrica.

El cumplimiento de este análisis permite informar que por parte del personal se le da cumplimiento a las exigencias de higiene personal y la buena aplicación de los métodos de aseo personal, a la par de dar a conocer un buen estado de salud del manipulador.

7.6. Análisis Microbiológico de trazas.

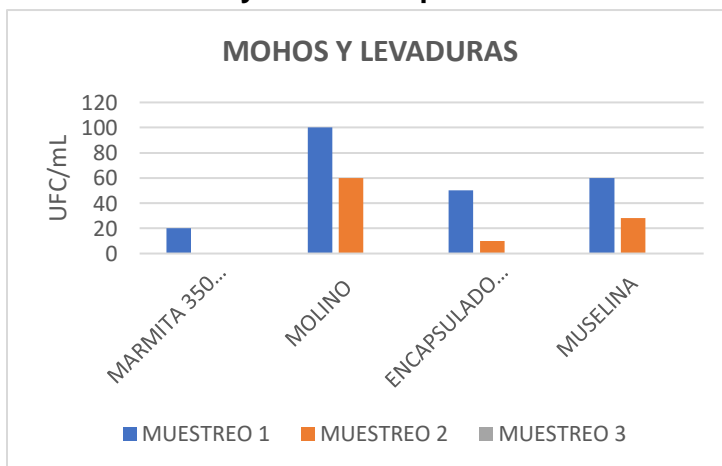
El seguimiento al estado microbiológico de los equipos usados en los procesos de elaboración es algo que permite evaluar a nivel microbiano el efecto de los métodos de limpieza y los compuestos usados para su efecto. En los gráficos 15 y 16 se presentan los resultados obtenidos al evaluar 4 equipos de suma importancia en los procesos productivos de LABFARVE, a su vez en las gráficas se presentan el recuento de UFC de bacterias y hongos en tres muestreos realizados.

Gráfico 15. Recuentos de bacterias aerobias mesófilas para cuatro trazas analizadas.



Fuente: Autor, 2020.

Gráfico 16. Recuento de Mohos y Levaduras para cuatro trazas analizadas.



Fuente: Autor, 2020.

En la gráfica 15 se presentan los resultados de Mesófilos aerobios totales del análisis de trazas microbiológicas tomados para algunos equipos de producción, para este análisis las especificaciones microbiológicas son: <100 UFC/mL, y es una norma interna LABFARVE. Como se observa en la gráfica en el primer muestreo de equipos las unidades formadoras de colonia superan el número de microorganismos permitidos, por lo tanto se tiene que realizar un re proceso de la limpieza y desinfección del equipo y se toma una muestra nuevamente, este procedimiento se repite hasta que las unidades formadoras de colonias cumplan con las especificaciones internas, mientras tanto los procesos donde están involucrados los equipos, son parados, hasta que no haya una liberación del mismo.

Este análisis es muy importante, ya que permite evaluar la efectividad del proceso de lavado y desinfección de equipos y utensilios de las plantas de producción, además asegura que no haya contaminación cruzada entre diferentes lotes de producción, por presencia de otros componentes, ajenos a las fórmulas a preparar.

En la gráfica 16 se observan los resultados microbiológicos de Mohos y Levaduras para el análisis de trazas microbiológicas, en él se observa desviación en el molino extracto seco, lo cual se normalizo al realizar nuevamente un lavado dando así un control. La presencia de Hongos y levaduras dentro de los equipos es debido a que estos quedan húmedos, lo cual favorece su crecimiento, por ello dentro del proceso de lavado y desinfección es importante secarlos muy bien con trapos que no desprendan partículas, además del uso de aires comprimidos para su secado, entre otras medidas.

7.1. Promoción del crecimiento en medios de cultivo.

Los resultados obtenidos una vez verificado el recuento de los inóculos bacterianos realizados a partir del McFarland 0.5 se presentan en la tabla 10, evidenciándose que los recuentos inferiores a 100 UFC/ml para el uso en la prueba de promoción se logran con la dilución $10X^{-8}$, por ello esta fue la dilución de trabajo.

Tabla 10. Recuentos inóculo de inicio McFarland 0.5.

MICROORGANISMOS	Cajas	UFC/ml Recuperados		
		$10X^{-6}$	$10X^{-7}$	$10X^{-8}$
<i>E. coli</i>	1	1015	136	84
	2	1026	143	86
	Promedio	1020	139	85
<i>S. aureus</i>	1	1226	204	90
	2	1245	216	92
	Promedio	1235	210	91
	1	1068	168	72

<i>P. aeruginosa</i>	2	1036	184	84
	Promedio	1052	176	78
<i>B. subtilis</i>	1	1160	123	84
	2	1142	137	90
	Promedio	1151	130	87
<i>C. albicans</i>	1	1442	368	76
	2	1430	365	84
	Promedio	1436	366	80

Fuente: Autor, 2020.

En la tabla 11 se presenta las concentraciones de los microorganismos inoculados en el agar Casoy y sus respectivos recuentos una vez cumplido el periodo de incubación, a su vez, se dan a conocer los porcentajes de recuperación de las cepas en el agar.

Tabla 11. Recuento microbiano en Agar Casoy.

MICROORGANISMOS	Cajas	UFC/ml inoculadas	UFC/ml Recuperados	% Recuperación
<i>E. coli</i>	1	84	83	98.8
	2	86	81	94.2
	Promedio	85	82	96.5
<i>S. aureus</i>	1	90	89	98.9
	2	92	91	98.9
	Promedio	91	90	98.9
<i>P. aeruginosa</i>	1	72	68	94.4
	2	84	82	97.6
	Promedio	78	75	96.2
<i>B. subtilis</i>	1	84	79	94.0
	2	90	87	96.7
	Promedio	87	83	95.4
<i>C. albicans</i>	1	76	74	97.4
	2	84	80	95.2
	Promedio	80	77	96.3

Fuente: Autor, 2020.

Los resultados obtenidos en el medio de cultivo son buenos debido a que la recuperación para cada cepa se encuentra por encima del 90%, según la USP porcentajes por encima del 70% informan que el método utilizado es exacto y genera una recuperación óptima de los microorganismos en el medio ensayado.

En la tabla 12 se presenta los resultados obtenidos para la prueba de promoción del crecimiento para los caldos usados como diluyentes en el laboratorio de microbiología de control de calidad de LABFARVE. Los resultados se presentan para los caldos con la simbología de signos, donde un (+) es igual a turbidez baja, (++) turbidez medio y (+++) turbidez alta en el tubo de ensayo.

Tabla 12. Crecimiento microbiano en Caldos nutricionales.

MICROORGANISMOS	Tubos	UFC/ml inoculadas	Turbidez caldo CLP	Turbidez en caldo TSB
<i>E. coli</i>	1	84	++	+
	2	86	++	+
	Promedio	85	N/A	N/A
<i>S. aureus</i>	1	90	+	+
	2	92	+	+
	Promedio	91	N/A	N/A
<i>P. aeruginosa</i>	1	72	+++	+
	2	84	+++	+
	Promedio	78	N/A	N/A
<i>B. subtilis</i>	1	84	+	+
	2	90	+	+
	Promedio	87	N/A	N/A
<i>C. albicans</i>	1	76	+	+
	2	84	+	+
	Promedio	80	N/A	N/A

Fuente: Autor, 2020.

Como su nombre lo dice, los medios de cultivo nutritivos, son aquellos que cuentan con una gran suma de componentes básicos para el desarrollo de los microorganismos sin hacer excepción de género o especie, dentro de estos se encuentra el Caldo Lecitina Polisorbato, este es fundamental en la industria farmacéutica debido a que sus componentes neutralizan compuestos como fenoles, formalina, hexaclorofen (Polisorbato) y su mezcla neutraliza etanol (Tween 20 con la lecitina), Adicionalmente todos estos compuestos mencionados pueden llegar a ser antimicrobianos (Britania, 2015).

Los caldos nutritivos tienen fuentes de carbono y de nitrógeno apropiados para el crecimiento de los microorganismos, específicamente el Caldo Lecitina polisorbato está compuesto por: peptona, el extracto de carne y lecitina de soya, los cuales aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo óptimo de los microorganismos. En general, la peptona de soya contiene un amplio rango de nutrientes como son proteínas, carbohidratos y vitaminas, por lo que constituye una excelente base nutritiva para el cultivo de los microorganismos contaminantes (Zhurbenko *et al*, 2006).

La baja turbidez evidenciada para algunas de las cepas evaluadas se puede deber a los niveles de estrés que manejan las cepas debido a que son sometidas a tiempos largo a temperaturas bajo cero, lo que disminuye su recuperación, pero aun así permite darle cumplimiento al proceso de promoción para los medios y caldos de cultivo.

En la tabla 13 se presentan los resultados microbiológicos para la promoción del crecimiento de microorganismos en caldos y/o medios selectivos y/o diferenciales.

El análisis de promoción de crecimiento hace referencia a que los medios de cultivo tienen los nutrientes necesarios para permitir el crecimiento de los microorganismos, en este análisis se desarrollan pruebas indicadoras e inhibitorias de los medios de cultivo, las pruebas indicadoras permiten evidenciar el crecimiento selectivo del microorganismo especial en el medio específico y las pruebas inhibitorias permiten demostrar la selectividad

que ejerce la composición del medio de cultivo evidenciado en la ausencia de crecimiento de algunos microorganismos sobre las placas de agar.

Tabla 13. Prueba de promoción del crecimiento para caldos y/o medios selectivos y/o diferenciales.

MEDIO Y/O CALDO	Microorganismo	UFC/mL Inoculadas		UFC/mL Recuperados y/o Turbidez	% Recuperación
Pruebas para bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis					
Caldo Mosel (Anexo 2)	<i>E. coli</i>	Tubo 1	84	+++	N/A
		Tubo 2	86	+++	N/A
		Promedio	85	N/A	N/A
	<i>S. aureus</i>	Tubo 1	90	-	N/A
		Tubo 2	92	-	N/A
		Promedio	91	N/A	N/A
Agar violeta rojo bilis glucosa	<i>E. coli</i>	Caja 1	84	83	98.8
		Caja 2	86	85	98.8
		Promedio	85	84	98.8
	<i>P. aeruginosa</i>	Caja 1	72	70	97.2
		Caja 2	84	82	97.6
		Promedio	78	76	97.4
Prueba de <i>Escherichia coli</i>					
Caldo MacConkey (Anexo 2)	<i>E. coli</i>		84	+++	N/A
			86	+++	N/A
			85	N/A	N/A
	<i>S. aureus</i>		90	-	N/A
			92	-	N/A
			91	N/A	N/A
	<i>E. coli</i>		84	83	98.8
			86	84	97.7

Agar Macconkey		85	83	98.2
	<i>S. aureus</i>	90	0	0
		92	0	0
		91	0	0
Prueba de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Agar cetrimide	<i>P. aeruginosa</i>	72	68	94.4
		84	76	90.5
		78	72	92.3
	<i>E. coli</i>	84	0	0
		86	0	0
		85	0	0
Prueba de <i>Staphylococcus aureus</i>				
Agar Salado Manitol	<i>S. aureus</i>	90	86	95.6
		92	88	95.7
		91	87	95.6
	<i>E. coli</i>	84	0	0
		86	0	0
		85	0	0
Prueba de <i>Candida albicans</i>				
Caldo Sabouraud Dextrosa	<i>C. albicans</i>	76	+++	N/A
		84	+++	N/A
		80	N/A	N/A
Agar Sabouraud Dextrosa	<i>C. albicans</i>	76	68	89.5
		84	82	97.6
		80	75	93.8

Fuente: Autor, 2020.

Con las pruebas indicadoras se evidencia que el medio de cultivo empleado tiene los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos específicos, es decir que componentes y condiciones específicas de estos permiten solo el crecimiento de un tipo de microorganismo, condiciones como altos niveles de sal (8.5%) en el Agar Salado Manitol

para *Staphylococcus aureus*, ceftrimide y glicerina para *Pseudomonas aeruginosa*, degradación de lactosa de 40°C- 44°C para *Escherichia coli* entre otros.

Los resultados de recuperación en el medio del cultivo arrojaron valores por encima del 90% para las cepas evaluadas en el medio específico para cada una de ellas, por el contrario, las cepas que no crecen en el medio por el efecto inhibitorio propio de los componentes, permiten evidenciar recuento en 0 UFC/mL en el medio.

Como se observa en el anexo 2, las pruebas inhibitorias permiten evidenciar el poder selectivo de los medios de cultivo, es decir, la inhibición del crecimiento de microorganismos no deseados en los medios de cultivos, que, por lo general son de diferentes características celulares, ya que de esta manera se garantiza el crecimiento de un microorganismo específico.

Se puede observar que las características macroscópicas y microscópicas descritas para cada uno de los microorganismos específicos evaluados corresponden a la información teórica recopilada en la Farmacopea vigente (USP 42) y los certificados de análisis de los medios de cultivos empleados en la prueba de promoción de crecimiento. Estos métodos no son validados debido a que los entes reguladores en la normatividad solo hacen el requerimiento de verificaciones de los controles positivos y negativos de los medios a emplear en los análisis microbiológicos.

Al observar congruencia entre las características macroscópicas observadas y la información teórica, se puede concluir que los caldos de preenriquecimiento empleados (Caldo Rappaport, Caldo Mossel, Caldo MacConkey), permiten la restauración del microorganismo evaluado y que los medios de cultivo selectivos poseen todos los nutrientes necesarios para el crecimiento del microorganismo. Un ejemplo del cumplimiento de estos métodos se presenta en el Anexo 2 imagen 3 caldo MacConkey donde se prueban tres microorganismos *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, la presencia de lactosa en medio como fuente de carbono, los coliformes al utilizar la lactosa acidifican el medio lo que induce al medio de cultivo a cambiar de color debido al indicador de pH el cual en este caso es el púrpura de bromocresol, la presencia de la bilis de buey inhibe los microorganismos Gram positivos en este caso *S. aureus* (Condalab, 2019).

Al evidenciar que los caldos y los medios de cultivo empleados en el control microbiológico de LABFARVE permiten el crecimiento de los microorganismos, se garantiza la recuperación de microorganismos contaminantes, en caso tal que estuvieran en las materias primas, material de envase y empaque, producto en proceso y producto terminado.

8. CONCLUSIONES

Se evaluó la calidad microbiológica de los productos Fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales elaborados en LABFARVE, evidenciando el cumplimiento de las especificaciones de calidad establecidas en el sistema de gestión de la calidad de la organización, lo que se traduce en la conformidad a los requisitos establecidos en la normatividad nacional vigente.

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados a muestras de ambientes, superficie de equipos, manipuladores, uniformes y trazas son menores a los límites establecidos por el sistema de gestión de calidad de LABFARVE, por lo tanto, se da cumplimiento a los parámetros de control microbiológico establecidos.

Las medidas correctivas aplicadas en factores externos como ambientes, manipuladores y trazas de equipos fueron efectivas, debido a que se obtuvo una disminución del recuento microbiano inicial, esta reducción permitió el cumplimiento de los parámetros de calidad establecidos por la Empresa.

Las acciones correctivas implementadas en superficies de equipos no fueron efectivas, debido a que, a pesar de implementar diferentes procesos correctivos, no se evidenció una disminución significativa del recuento microbiano obtenido, por lo tanto, no se da cumplimiento a las especificaciones de calidad, por lo tanto, entra a un programa de mejora continua.

Se verificó la capacidad de recuperación microbiana y productividad de los medios de cultivo, obteniendo valores superiores al 90% de recuperación en los medios de cultivo nutritivos; adicionalmente, en los medios de cultivo selectivos y/o diferenciales se comprobó la inhibición de las cepas no deseadas.

9. BIBLIOGRAFÍA

Acosta, L., Rodríguez, C., Sánchez, E. 2001. Instructivo técnico de *Calendula officinalis*. Rev Cubana Plant Med v.2001 n.1 Ciudad de la Habana.

Águila, B., Menéndez, R., González, C., Fernández, D. 2000. Extracto acuoso de *Calendula officinalis*. Estudio preliminar de sus propiedades. Rev Cubana Plant Med v.5 n.1 Ciudad de la Habana.

Ankri, S. Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Department of Biological Chemistry, Weizmann Institute of Science, Rehovot 76100, Israel. *Microbes and Infection*, 125-129.

Barsotii, L., Cheftel, J. 2001. Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non porous Surface test for the evaluation of bactericidal and or fungicidal activity of chemical disinfectants use in food, industrial, domestic and institutional áreas. Test method and requeriments and whitout mechanical actions. *Science des aliments* 19:3-33.

BOE. 1990. Ley 25 / 1990, de 20 de diciembre, del Medicamento. BOE núm. 306, de 22 de diciembre de 1990.

Britania. LABORATORIOS BRITANIA S.A. 2015. Lethen Caldo. {13 de septiembre del 2020}. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a282cc0dde66.pdf

Britania. LABORATORIOS BRITANIA S.A. 2015. Sabouraud Glucosado Caldo. {13 de septiembre del 2020}. Recuperado de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a29723f2bacf.pdf

Bustamante, C. 2014. VIAS DE ADMINISTRACION y FORMAS FARMACEUTICAS. {14 de octubre del 2020}. Disponible en: <http://clinicalevidence.pbworks.com/w/file/fetch/67704949/formasfarmus.pdf>

Cabañas, M., Cañete C., Cañete, C., González, S., Rodríguez, V., Roig, R., Fernández, A., Clemente, S. 2016. Microbiological quality of pediatric oral liquid formulations. *Farm Hosp.* 2016; 40(5):427-435.

Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G., Zarankin, E. 2013. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA APLICADA A LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y DE PRODUCTOS MÉDICOS. ASOCIACION ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA. División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos Subcomisión de Buenas Prácticas.

Comunidad Andina. Resolución 1418 del 2011. {12 de octubre del 2020}. Recuperado de: <http://www.comunidadandina.org/StaticFiles/DocOf/RESO1418.pdf>

Condalab. 2019. Caldo MacConkey. {01 de octubre del 2020}. Recuperado de: <https://www.condalab.com/int/en/>

García, J. 2014. DISEÑO DE UN SISTEMA DE ACONDICIONAMIENTO DE AIRE PARA LA PREPARACIÓN DE MEDICAMENTOS ESPECIALES PARA UNA EMPRESA FARMACEUTICA. UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL CARIBE FACULTAD DE INGENIERÍA PROGRAMA DE INGENIERÍA MECÁNICA BARRANQUILLA

Gaviria, C. 1998. MANUAL DE PRÁCTICAS, CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LA INDUSTRIA. Pontificia Universidad Javeriana.

Hargroves, J. 1998. Validation of Process Gas Systems. Reprinted from the Journal of Validation Technology. VOLUME 4 - NUMBER 2 - FEBRERO 1998.

IN-O10-10. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE ENVASES. LABFARVE.

IN-O10-12. 2019. TOMA DE MUESTRAS DE FROTIS DE MANOS. LABFARVE.

IN-O10-16. 2019. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA AUSENCIA O PRESENCIA DE *Salmonella* spp. LABFARVE.

IN-O10-19. 2019. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE UNIFORMES DEL PERSONAL. LABFARVE.

IN-O10-32. 2019. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AIRES COMPRIMIDOS. LABFARVE.

IN-O10-34. 2019. RECUENTO DE AEROBIOS MESOFILOS. LABFARVE.

IN-O10-35. 2019. RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS. LABFARVE.

IN-O10-36. 2019. RECUENTO EN PLACA DE COLIFORMES TOTALES Y/O *Escherichia coli*. LABFARVE.

IN-O10-43. 2019. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA AUSENCIA O PRESENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa*. LABFARVE.

IN-O10-45. 2019. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA AUSENCIA O PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus*. LABFARVE.

IN-O10-75. 2019. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA AUSENCIA O PRESENCIA DE *Escherichia coli*. LABFARVE.

IN-O10-104. 2019. DETERMINACION DE *Candida albicans*. LABFARVE.

IN-O12-12. 2019. DETERMINACION DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS TOLERANTES A LA BILIS. LABFARVE.

INVIMA. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. 2020. Medicamentos Homeopáticos, Fitoterapéuticos y suplementos dietarios. {06 de septiembre del 2020}. Recuperado de: <https://www.invima.gov.co/homeopaticos-fitoterapeuticos-y-suplementos-dietarios>.

LABFARVE. Laboratorio de farmacología vegetal. 2017. {25 de agosto del 2020}. Recuperado de: <https://labfarve.vive.expert/es>

LABFARVE. Laboratorio de farmacología vegetal. Nuestra Historia. Disponible {09 de agosto del 2020}. Recuperado de: <https://labfarve.vive.expert/es/servicios/nuestra-historia>

López, T. 2007. El ajo Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Ámbito farmacéutico Fitoterapéutico. VOL 26 NUM 1.

Massoc, A. 2008. Enfermedades asociadas a los alimentos. Foodborne illness. Pigott DC. Emerg Med Clin North Am 2008 (May); 26: 475-97.

MINCIENCIAS. Ministerio de ciencias tecnología e innovación.2016. {25 de agosto del 2020} Colombia, el segundo país más biodiverso del mundo. Recuperado de: https://minciencias.gov.co/sala_de_prensa/colombia-el-segundo-pais-mas-biodiverso-del-mundo

Mora, C., Sirias, A., Octavio, L., Baca, F. 2014. Evaluación de la calidad microbiológica de cuatro formas fitoterapéuticas que se expenden en los diferentes centros botánicos de la ciudad de León. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

Nagarnaik, M., Sarjoshi, A., Linge, P., Bhore, S., Pandya, G. 2015. A microbial study of some cosmetics and raw materials used in personal care products in urban area. Res. J. Top. Cosmet. Sci.; 6:48. doi: 10.5958/2321-5844.2015.00008.4.

Neza, E. and Centini, M. 2016. Microbiologically Contaminated and Over-Preserved Cosmetic Products According Rapex 2008–2014. Department of Biotechnologies, Chemistry and Pharmacy, University of Siena. Cosmetics 2016, 3, 3; doi:103390/cosmetics3010003.

Ojeda, J. 2017. Evaluación farmacológica del extracto de *Calendula officinalis*. Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Ciudad de México.

Red EAMI. Red de Autoridades en Medicamentos de Iberoamerica. 2016. GUÍA DE BUENAS PRÁCTICAS de elaboración y control de calidad de preparaciones magistrales y oficinales. {06 de septiembre del 2020}. Red EAMI Disponible en: www.redeami.net

Sierra, N., Plazas C., Guillén, L., Rodríguez, P. 2010. Protocolo para el control de calidad de envases de plástico, utilizados en la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. Vol. 39 (2), 149-167, 2010.

Stewart, S., Parker, M., Amézquita, A., Pitt, T. 2016. Microbiological risk assessment for personal care products. *Int J Cosmet Sci.*; 38(6):634-645. url :10.1111/ics.12338

USP 42. 2017. Farmacopea de los Estados Unidos. Volumen 1, capítulo 61, control microbiológico de productos No estériles. Página 57. Capítulo 1111, suplementos Nutricionales: Extractos Botánicos. Recuentos Microbianos.

USP 42. 2017. Farmacopea de los Estados Unidos. Volumen 1, capítulo 1116 Evaluación Microbiológica de cuartos limpios y otros ambientes controlados.

Zhurbenko, R., Rodríguez, C., Díaz, M., Durán, A., López, D., Viera D. 2006. Caracterización de la peptona de soya para el cultivo de microorganismos. Centro Nacional de Biopreparados. *Rev Cubana Med Trop* v.58 n.2 Ciudad de la Habana.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Tabla de aceptación/rechazo de lotes cosméticos según ISO 17516:2014.

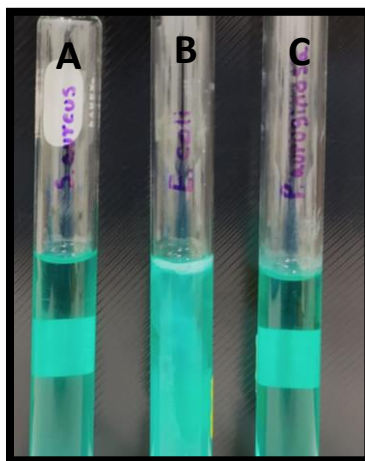
Tipos de microorganismos	Productos específicamente destinados para niños, menores de tres años de edad, área ocular o membranas mucosas	Otros productos
Microorganismos totales aerobios mesófilos (bacterias, mohos y levaduras)	$\leq 1 \times 10^2$ UFC por g o ml ^a	$\leq 1 \times 10^3$ UFC por g o ml ^b
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Candida albicans</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml

Debido a la variabilidad inherente en el método de recuento en placa, según el Capítulo 61 de la USP o el capítulo 2.6.12 de la EP. Interpretación de resultados, los resultados se consideran fuera del límite si a > 200 UFC/g o ml b > 2000 UFC/g o ml

NOTA: Cuando se detectan colonias de bacterias en agar Saboraud Dextrosa se puede usar Agar Saboraud Dextrosa con antibióticos

ANEXO 2. Imágenes promoción del crecimiento medios selectivos y/o diferenciales.

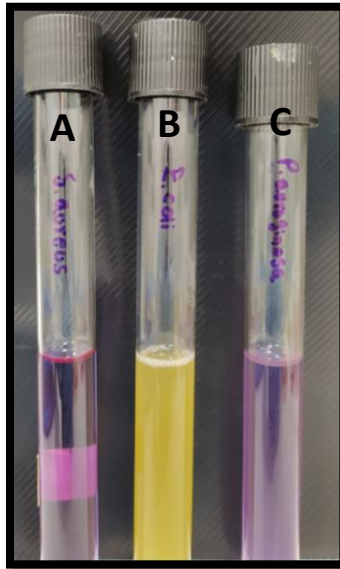
Imagen 2. Promoción caldo Mossel.



Fuente: Autor, 2020.

En la imagen se presentan tubos con Caldo Mossel, inoculación de cepas ATCC, **tubo A** *S. aureus*, **tubo B** *E. coli* y **tubo C** *P. ueruginosa*. Crecimiento positivo para el tubo de *E. coli* (presencia de turbidez en el caldo).

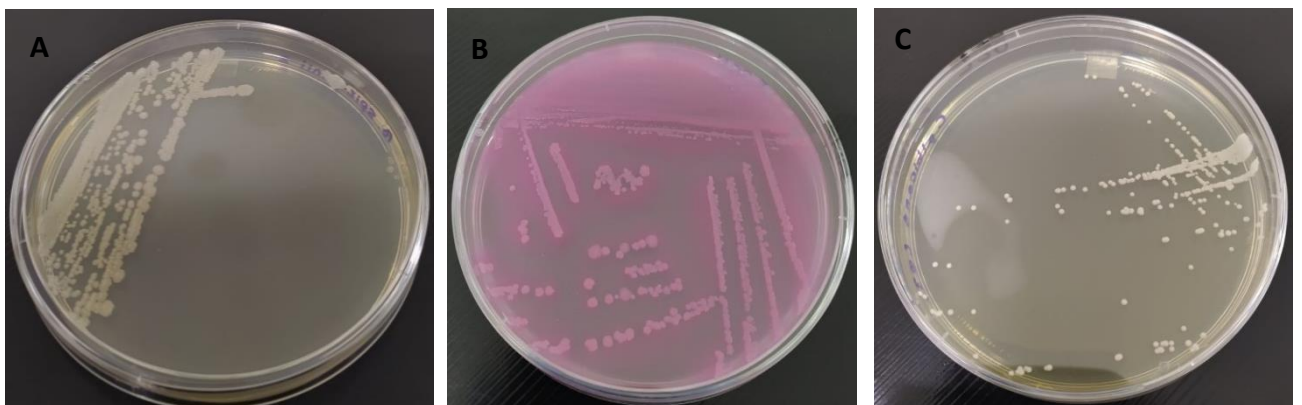
Imagen 3. Promoción Caldo MacConkey.

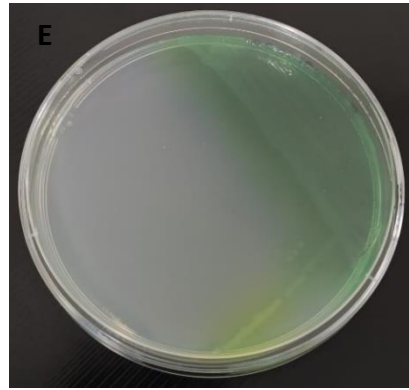
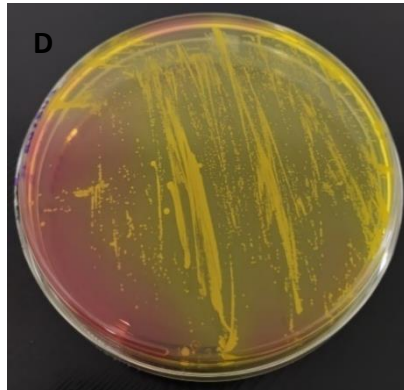


Fuente: Autor, 2020.

Imagen se presentan los tubos con Caldo MacConkey, inoculación de bacterias de izquierda a derecha *S. aureus* (tubo A), *E. coli* (tubo B) y *P. aeruginosa* (tubo C). Crecimiento positivo para el tubo de *E. coli* (presencia de turbidez en el caldo y cambio de color del caldo debido al el indicador de pH que es el purpura de bromocresol. Control negativo para *S. aureus* crecimiento de *P. aeruginosa*, sin acidificación del medio debido a que no es capaz de degradar la lactosa y así acidificar el caldo.

Imagen 4. Siembras de cepas ATCC en agares selectivos y diferenciales.



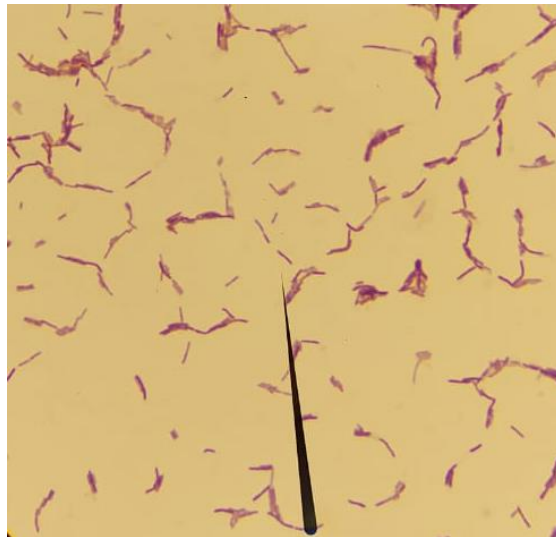


Fuente: Autor, 2020.

En la imagen A. se observa el crecimiento de *Bacillus subtilis* (*spizizenii*) ATCC 6633 en agar Casoy, Imagen B. *Escherichia coli* ATCC 8739 en agar VRBA más MUG, imagen C. *Candida albicans* ATCC 10231 en agar Sabouraud, imagen D. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en agar Salado Manitol, imagen E. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 en agar Cetrimide.

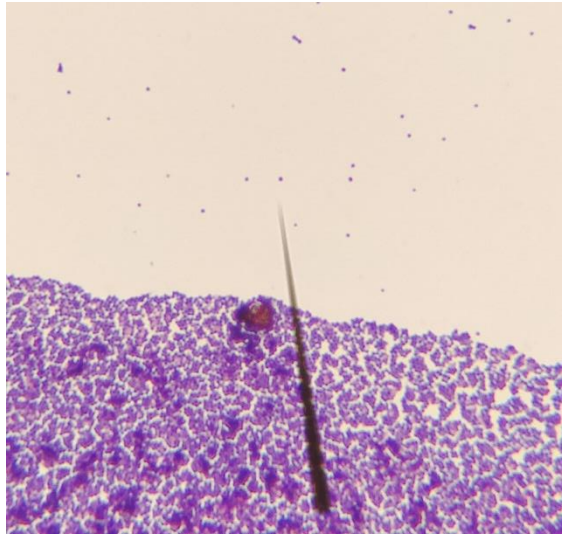
ANEXO 3. Microscopias obtenidas para algunas cepas ATCC.

Imagen 5. Microscopia *B. subtilis* en objetivo de 100 X.



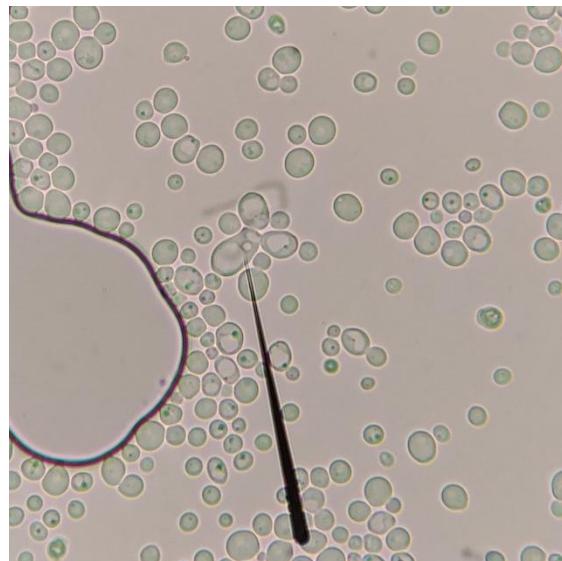
Fuente: Autor, 2020.

Imagen 6. Microscopia *S. aureus* en objetivo de 100 X.



Fuente: Autor, 2020.

Imagen 7. Microscopia *C. albicans* en objetivo de 100 X.



Fuente: Autor, 2020.