

**VERIFICACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS SANITIZANTES
AMBIENTALES UTILIZADOS EN LA ROTACIÓN DE DESINFECTANTES DEL
LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA VEGETAL-LABFARVE**

AUTOR

MICHEL STAIN MORENO BELTRÁN



UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA

2024

**VERIFICACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS SANITIZANTES
AMBIENTALES UTILIZADOS EN LA ROTACIÓN DE DESINFECTANTES DEL
LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA VEGETAL-LABFARVE**

MICHEL STAIN MORENO BELTRÁN

PASANTÍA PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MICROBIÓLOGO

FANNY HERRERA ARIAS

Tutor académico, Profesor titular, Departamento de Microbiología, Universidad de
Pamplona.

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA ACADEMICO DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA

2024

Dedicatoria

Principalmente, doy infinitas gracias a Dios por ser mi guía constante en todo momento, tanto en mi desarrollo personal como profesional. Cada paso, cada logro y cada sacrificio han sido posibles a su amor incondicional. Su mano siempre ha estado allí para sostenerme en momentos difíciles, dándome la fuerza y la motivación necesaria para seguir adelante.

A esa versión de mí que alguna vez soñó con llegar lejos, gracias por no rendirte, incluso cuando la vida, tan incomprensible, nos puso a prueba en cada paso y todo parecía desmoronarse. Hoy abrazo tus miedos, tus anhelos y tu lucha, y con este logro te digo que todo el esfuerzo y las lágrimas dieron fruto.

No te fallé.

¡Vamos por más!

Nota de Aceptación

Tutor Académico

Jurado

Jurado

Tabla de Contenido

1. Resumen	9
Abstract	10
2. Introducción.....	11
3. Justificación	12
4. Objetivos.....	14
4.1 General.....	14
4.2 Objetivos específicos	14
5. Antecedentes.....	15
6. Marco teórico.....	17
6.1 Definiciones	17
6.1.1 Limpieza.....	17
6.1.2 Antisépticos.....	17
6.1.3 Desinfección.....	17
6.1.4 Desinfectantes	18
6.1.5 Agente esporicida.....	18
6.2 Principales agentes de desinfección utilizados de manera rutinaria en el Laboratorio Farmacológico Vegetal - Labfarve:	20
6.2.1 Glutaraldehído al 2%.....	20
6.2.2 Glutaraldehído + Formaldehído al 2%.....	20
6.2.3 Hipoclorito de sodio al 0,5%.....	21
6.2.4 Alcohol Etílico al 70%	21
6.2.5 Rotación de agentes desinfectantes	22
6.2.6 Resistencia microbiana a los desinfectantes.....	22
6.2.7 Validación	23
6.2.8 Verificación.....	24
6.3 Pruebas de Verificación de la eficacia de los desinfectantes	24
6.3.1 Grupo de prueba	24

6.3.2	Grupo control (peptona):	24
6.3.3	Grupo de viabilidad:	24
6.3.4	Actividad antimicrobiana de los desinfectantes vs tiempo de contacto:	25
7.	Marco legal	26
7.1	Ministerio de la protección social. Decreto 2266 de 2004.....	26
7.2	Ministerio de la Protección Social. Resolución 5107 de 2005	26
7.3	Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 3619 de 2013	26
7.4	Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 1156 de 2018	26
7.5	Farmacopea de los Estados Unidos, USP <1072>	26
7.6	Farmacopea de los Estados Unidos, USP <1227>	26
7.7	Método AOAC 955.15	26
8.	Metodología.....	27
8.1	Enfoque	27
8.2	Monitoreo ambiental de la planta	27
8.3	Desinfectantes Evaluados	27
8.4	Microorganismos de prueba.....	29
8.5	Equipos e instrumentos	30
8.6	Procolo verificación de la recuperación microbiana bajo las condiciones de ensayo...	31
8.6.1	Preparación de la suspensión microbiana Inicial 10^8	31
8.6.2	Grupo de prueba.....	33
8.6.3	Grupo control	34
8.6.4	Grupo de viabilidad	35
9.	Cronograma de actividades	37
10.	Resultados	38
10.1	Monitoreo ambiental	38
10.2	Estandarización del inóculo	40
10.3	Verificación de la recuperación microbiana bajo las condiciones del ensayo.....	41
10.3.1	Grupo Prueba	43

10.3.2 Grupo Control	43
10.3.3 Grupo Viabilidad	43
10.3.4 Actividad antimicrobiana de los desinfectantes vs tiempo de contacto.....	43
10.3.4.1 Hipoclorito de Sodio	43
10.3.4.2. Glutaraldehído + Formaldehido	49
10.3.4.3 Etanol	52
11. Discusión de Resultados	55
12. Conclusiones	60
13. Referencias.....	62
14. Anexos	69

Lista de tablas

Tabla 1. Desinfectantes evaluados.....	28
Tabla 2. Volúmenes para la dilución del hipoclorito de sodio	28
Tabla 3. Volúmenes para la disolución del Etanol	29
Tabla 4. Cepas de referencia a prueba.....	30
Tabla 5. Equipos e instrumentos utilizados	31
Tabla 6. Medios de cultivo	31
Tabla 7. Cronograma de actividades	37
Tabla 8 . Identificación de cepas nativas.....	38
Tabla 9. Recuentos de diluciones iniciales de bacterias, mohos y levaduras.....	41
Tabla 10. Recuentos de los grupos de prueba, grupo de control y grupo viabilidad.....	42
Tabla 11. Acción del hipoclorito de sodio en Agar TSA	44
Tabla 12. Acción del hipoclorito de sodio en Agar Sabouraud.....	46
Tabla 13. Acción del glutaraldehido en Agar TSA	47
Tabla 14. Acción del glutaraldehido en Agar Sabouraud.....	49
Tabla 15. Acción del glutaraldehido + formaldehido en Agar TSA	49
Tabla 16. Acción del glutaraldehido + formaldehido en Agar Sabouraud	50

Tabla 17. Acción del etanol en Agar TSA.....	52
Tabla 17.1 Acción del etanol en Agar Sabouraud.....	53

Lista de figuras

Figura 1. Clasificación general de antisepticos, desinfectantes y agentes esporicidas.....	19
Figura 2. Resistencia de algunos microorganismos clínicamente importantes a los desinfectantes químicos	23
Figura 3. Estandarización del inóculo	31
Figura 4. Grupo de prueba, medio neutralizante (Caldo lecitina polisorbato (CLP))	33
Figura 5. Grupo de control: Medio con neutralizante CLP + inóculo.....	34
Figura 6. Grupo viabilidad (peptona como neutralizante).....	35
Figura 7. Actividad antimicrobiana de los desinfectantes	36

Lista de ecuaciones

EC 1. Fórmula Recuento en placa	40
---------------------------------------	----

Lista de siglas

LABFARVE: Laboratorio de Farmacología Vegetal.

USP: Farmacopea de los Estados Unidos.

ATCC: American Type Culture Collection.

AOAC: Association of Analytical Communities.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

INVIMA: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.

CLP: Caldo Lecitina Polisorbato.

1. Resumen

En este estudio se realizó la verificación de la efectividad del Hipoclorito de Sodio, glutaraldehído, glutaraldehído + formaldehído y alcohol en ambientes de procesamiento del laboratorio de farmacología vegetal LABFARVE. Para esto se siguieron las recomendaciones de la USP <1072>, 2023 y USP <1227>, 2023 y el método AOAC, evaluando los desinfectantes con cepas nativas de la planta de producción y cepas ATCC de *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus spizizenii*, *C. albicans*, *As. brasiliensis*. Para la obtención de las cepas nativas se tomaron muestras de los ambientes de las plantas de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales por medio del método de sedimentación en placa donde se aislaron y posteriormente se identificaron en un laboratorio externo. Los microorganismos nativos aislados correspondieron a *Bacillus subtilis* y *Penicillium marneffe*; estas cepas nativas evidenciaron mayor resistencia frente a los tratamientos de desinfectantes ensayados, resaltando que para Hipoclorito de Sodio al 1%, Glutaraldehído al 2%, glutaraldehído + formaldehído al 2% y etanol al 96%, se requirió de mayor tiempo para su eliminación en comparación con las cepas ATCC. Los resultados de este estudio destacan la necesidad de personalizar los protocolos de desinfección según las características de las cepas nativas presentes en los ambientes de procesamiento industrial.

Palabras clave: Contaminación ambiental, Desinfectantes, *Bacillus subtilis*, *Penicillium marneffe*

Abstract

In this study, the effectiveness of Sodium Hypochlorite, glutaraldehyde, glutaraldehyde + formaldehyde and alcohol was verified in processing environments of the LABFARVE plant pharmacology laboratory. For this, the recommendations of USP <1072>, 2023 and USP <1227>, 2023 and the AOAC method were followed, evaluating the disinfectants with native strains from the production plant and ATCC strains of *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus spizizenii*, *C. albicans*, *As. brasiliensis*. To obtain the native strains, samples were taken from the environments of the phytotherapeutic, cosmetic and master formula plants by means of the plate sedimentation method, where they were isolated and subsequently identified in an external laboratory. The isolated native microorganisms corresponded to *Bacillus subtilis* and *Penicillium marneffeii*; these native strains showed greater resistance to the disinfectant treatments tested, highlighting that for 1% Sodium Hypochlorite, 2% Glutaraldehyde, 2% Glutaraldehyde + Formaldehyde and 96% Ethanol, a longer time was required for their elimination compared to the ATCC strains. The results of this study highlight the need to customize disinfection protocols according to the characteristics of the native strains present in industrial processing environments.

Keywords: Environmental contamination, Disinfectants, *Bacillus subtilis*, *Penicillium marneffeii*

2. Introducción

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) constituyen un conjunto integral de estándares y pautas diseñadas para garantizar la producción de productos de alta calidad y una trazabilidad efectiva durante todo el proceso de fabricación. Estas pautas son fundamentales para garantizar que los procedimientos de fabricación se realicen de manera consistente y controlada, minimizando así el riesgo de contaminación, errores de producción y otros factores que pueden afectar la calidad final del producto.

Dentro de las BPM, los desinfectantes son componentes fundamentales en la prevención de la contaminación microbiológica en áreas de producción. La selección y el uso adecuado de los sanitizantes son aspectos fundamentales para garantizar la eficacia en la eliminación de microorganismos patógenos que puedan comprometer la calidad y seguridad de los productos manufacturados (USP <1072>, 2023).

Para asegurar que los desinfectantes funcionen de manera adecuada se debe realizar una verificación de estos a diferentes concentraciones y tiempos para determinar la efectividad en la destrucción de los microorganismos. La eficacia de estos desinfectantes es esencial para mantener los entornos de producción libres de microorganismos para reducir los posibles riesgos de contagio y salvaguardar la salud de las personas, además de proteger los entornos y los productos finales.

3. Justificación

En los últimos años, se ha venido presentando una tendencia creciente que ha ganado la atención y la confianza por parte de los consumidores de medicamentos o productos asociados al cuidado de la salud basados en ingredientes de origen natural. Por esto, los productos fitoterapéuticos se han convertido en una de las alternativas más utilizadas en para la prevención, alivio, diagnóstico, tratamiento, curación o rehabilitación de la enfermedad, en los diferentes ámbitos de prestación de servicios de salud (Ministerio de Salud y Protección Social, 2021).

LABFARVE, está comprometido con la producción de fitoterapéuticos no estériles, cosméticos y fórmulas magistrales, basados principalmente en materias primas de origen natural. Este proceso puede implicar mayor riesgo de contaminación microbiana en las instalaciones productivas y en los productos como tal. Por ello, para garantizar que los productos terminados cumplan con las especificaciones microbiológicas respectivas se debe implementar, entre otras cosas, el protocolo de validación y verificación de los desinfectantes empleados en la sanitización, evitando así la contaminación cruzada con superficies, equipos o ambientes de procesamiento.

Las implicaciones de un inadecuado proceso de limpieza y desinfección en la industria farmacéutica afectan la salud de los consumidores ya que puede favorecer el crecimiento de microorganismos patógenos (Colcha, 2016); además, la no planificación de un programa de rotación de desinfectantes puede generar resistencia en los microorganismos incluyendo patógenos como *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* y *Salmonella* spp. (Chacón y Rojas, 2020). La verificación de la acción de los desinfectantes garantiza entornos seguros en la producción de sus productos y el cumplimiento de los requisitos normativos que rigen la industria farmacéutica.

La Farmacopea de los Estados Unidos USP (<1072>, 2023) estipula la evaluación de la eficacia de los desinfectantes con bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras, mohos, junto con cepas silvestres. Este enfoque garantiza que los desinfectantes utilizados sean capaces de eliminar una amplia gama de microorganismos y determinar si cumple con los requisitos y estándares preestablecidos.

De acuerdo con lo anteriormente mencionado se evidencia la importancia de verificar la actividad antimicrobiana de los desinfectantes empleados en Labfarve en las áreas de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales con la finalidad de contribuir a proporcionar productos de calidad y seguros para los consumidores.

4. Objetivos

4.1 General

Verificar la eficacia de los desinfectantes empleados en los ambientes de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales del laboratorio de farmacología vegetal-LABFARVE.

4.2 Objetivos específicos

Establecer la microbiota nativa predominante de los ambientes de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales, mediante la técnica sedimentación en placa.

Verificar la recuperación preliminar de los microorganismos a evaluar, cepas de referencia y nativas, en presencia de desinfectantes y neutralizantes del ensayo, bajo un ambiente controlado de laboratorio de acuerdo con la USP 1227 del 2023.

Determinar la concentración y el tiempo de contacto más efectivo de cada desinfectante comparando cepas de referencia ATCC con cepas nativas, mediante el método de pruebas de dilución en tubo de acuerdo con la AOAC 955.15

5. Antecedentes

Con el fin de dar un panorama general, a continuación, se presentan dos estudios internacionales, uno nacional y uno al interior de la empresa LABFARVE.

A nivel internacional, Martínez (2019), evaluó la actividad biocida de seis desinfectantes utilizados; los resultados revelaron que el tiempo de contacto, el tipo de microorganismo y la eficiencia germicida fueron factores clave para determinar la efectividad de los desinfectantes. Además, el glutaraldehído y el vortexx tenían el espectro de acción más amplio y una mayor eficiencia, mientras que Saniclean y Saniquat fueron menos efectivos frente a *Bacillus* sp. El estudio concluyó que se debe implementar la rotación de desinfectantes, para mantener la inocuidad de las áreas productivas, asegurando su efectividad en la eliminación de microorganismos.

En complemento a lo expuesto anteriormente, otro antecedente internacional, Cardoza (2021), analiza la efectividad del ácido peracético como desinfectante in situ en equipos y superficies en áreas estériles utilizadas para empaquetar productos farmacéuticos, utilizando diferentes concentraciones de 0,6%, 1,2% y 1,8%. La actividad antimicrobiana se midió utilizando el método de hisopo y tiempos de contacto con placa de contacto de 5, 10 y 15 minutos. Los resultados mostraron que el ácido peracético al 0,6% mostró crecimiento bacteriano y fúngico en todo momento y una concentración del 1,2% eficaz a los 10 y 15 minutos. Elimina bacterias y hongos, pero no a los 5 minutos, mientras que la concentración del 1,8% eliminó consistentemente los microorganismos y redujo los microorganismos en superficies y equipos en un 99,999%. Se concluyó que el ácido peracético al 1,2% de concentración y tiempos de contacto de 10 y 15 minutos fue efectivo

como desinfectante, y el ácido peracético al 1,8% en cualquier momento fue efectivo como desinfectante.

A nivel nacional, Bedoya & Corredor (2013), realizaron la validación de la acción de diferentes desinfectantes (New Fagetrilal, New Desinfloor, Hipoclorito de Sodio y Tego 51) con el fin de garantizar su eficacia en la eliminación o reducción de la carga microbiana presentes en un laboratorio de control de calidad de aguas; los resultados revelaron que los desinfectantes New Fagetrilal y New Desinfloor, a la concentración del 0.50% , inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Penicillium* spp. y *Aspergillus flavus* con un porcentaje de inhibición igual o mayor al 90%. El hipoclorito de sodio al 6,25%, mostró una eficacia similar frente a todos los microorganismos. Por tanto, estos resultados indicaron que el hipoclorito de sodio fue el desinfectante más eficaz entre los evaluados en el estudio para combatir y reducir la carga microbiana en las áreas y superficies analizadas del laboratorio.

En LABFARVE, Ardila (2016), realizó una validación del proceso de limpieza y desinfección de diferentes superficies de los equipos de la planta de fitoterapéuticos del laboratorio LABFARVE, que incluyó pruebas para determinar la actividad antimicrobiana de los detergentes y desinfectantes, mediante métodos como el coeficiente fenólico y la técnica de difusión en agar (Técnica Kirby-Bauer). Los resultados demostraron que los métodos de limpieza y desinfección aplicados fueron efectivos en la mayoría de los casos; sin embargo, se observó un crecimiento persistente de la cepa nativa *Bacillus subtilis* en algunos equipos, lo que sugirió la necesidad de rotar desinfectantes para evitar la resistencia microbiana.

6. Marco teórico

6.1 Definiciones

6.1.1 Limpieza

Proceso mecánico que se encarga de eliminar los restos de residuos presentes en las superficies y equipos de procesamiento que podrían inactivar la efectividad de los desinfectantes o proporcionar un ambiente propicio para el crecimiento de microorganismos (USP <1072>, 2023).

Según una definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2022), la limpieza es una actividad que elimina los materiales orgánicos e inorgánicos o la suciedad que se encuentra en las superficies de los equipos con el objetivo principal de impedir que se den las condiciones que harían posible el crecimiento de microorganismos.

6.1.2 Antisépticos

Agente capaz de inhibir o eliminar microorganismos en superficies vivas, como la piel, la cavidad bucal o heridas abiertas (USP <1072>, 2023). Por tanto, se utilizan para prevenir o reducir la proliferación de microorganismos en tejidos vivos ayudando a reducir la carga microbiana en áreas vulnerables del cuerpo.

6.1.3 Desinfección

Es la destrucción de microorganismos (excepto esporas) de una superficie por medio de agentes químicos o físicos, destaca (Ministerio de la Protección Social, 2020).

De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (2008), la elección de estos productos se fundamenta en su capacidad para actuar a diferentes niveles. Se clasifican en tres categorías:

“La desinfección de alto nivel (DAN) se realiza mediante el uso de productos químicos líquidos o sólidos capaces de eliminar todo tipo de microorganismos.

Ejemplos de sustancias utilizadas incluyen glutaraldehído, ácido peracético, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, formaldehído y similares.

La desinfección intermedia (DNI) se realiza mediante agentes químicos que eliminan formas vegetativas de bacterias y algunas esporas bacterianas. Este grupo incluye sustancias como el fenol, el hipoclorito de sodio, la cetrimida y el cloruro de benzalconio.

La desinfección de bajo nivel (DBN) se logra mediante el uso de químicos capaces de eliminar formas vegetativas bacterianas, hongos y algunos virus en un corto período de tiempo (generalmente menos de 10 minutos). Un ejemplo de estos son los compuestos de amonio cuaternario”

6.1.4 Desinfectantes

Es toda aquella sustancia química o física cuando se aplica a una superficie tiene la capacidad de deshacer y destruir los microorganismos nocivos (USP <1072>, 2023). Es por esto que los desinfectantes ayudan a controlar la proliferación de microorganismos en entornos industriales, lo cual es fundamental para prevenir la contaminación de productos, equipos y superficies.

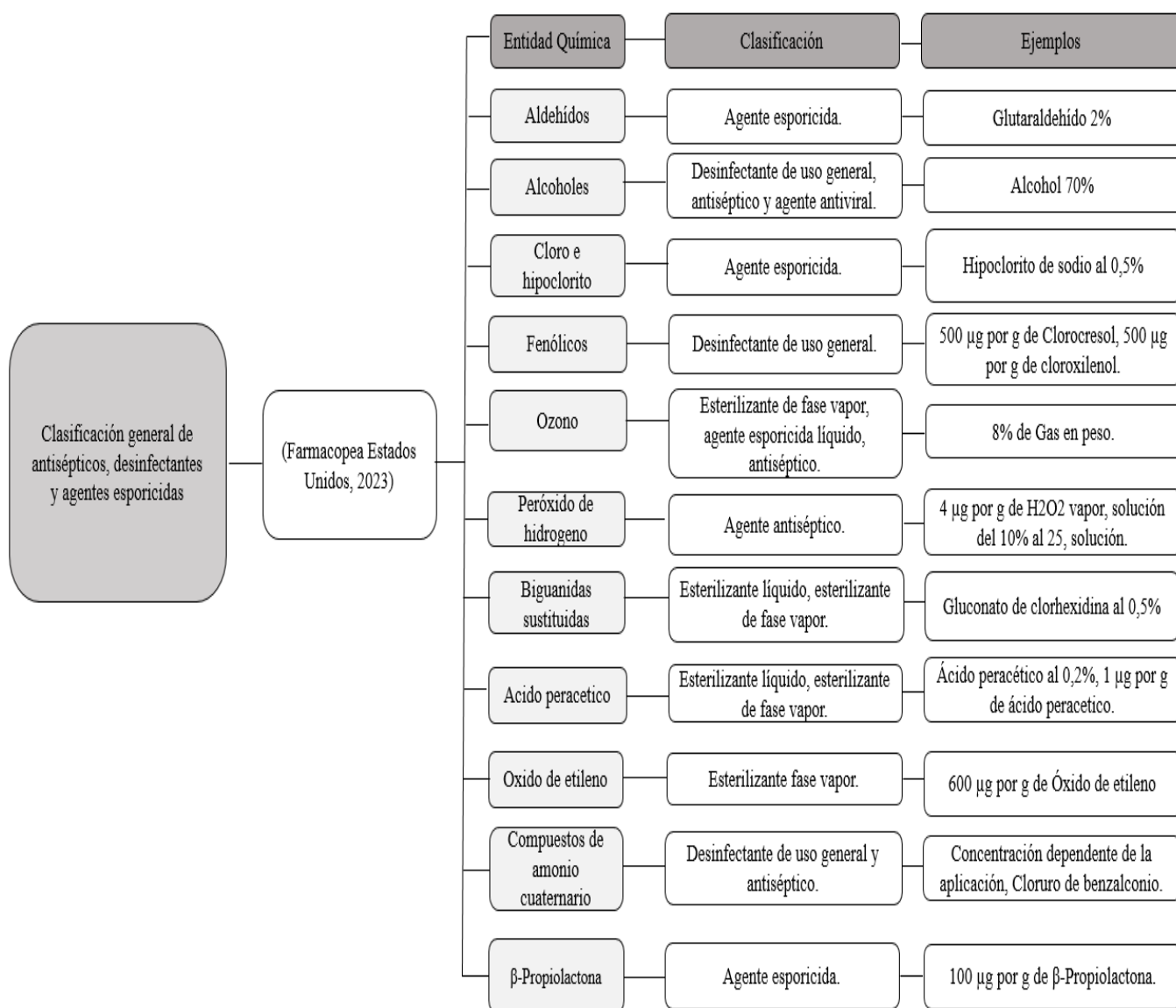
6.1.5 Agente esporicida

Agente que destruye esporas fúngicas y bacterianas cuando se usa en una concentración suficiente durante un tiempo de contacto específico. Se espera que destruya todo microorganismo vegetativo (USP <1072>, 2023).

La figura 1 evidencia la clasificación general de antisépticos, desinfectantes y agentes esporicidas:

Figura 1

Clasificación General de Antisépticos, Desinfectantes y Agentes Esporicidas



Fuente: (USP <1072>, 2023).

Es importante destacar que la eficacia de cada uno de estos agentes depende de sus entidades químicas y acciones específicas puesto que tienen diferente poder de eliminación de microorganismos, y se debe seleccionar el desinfectante adecuado en función de la aplicación específica.

6.2 Principales agentes de desinfección utilizados de manera rutinaria en el Laboratorio Farmacológico Vegetal - Labfarve:

6.2.1 Glutaraldehído al 2%

Su entidad química es la familia de los aldehídos. Afecta las lipoproteínas presentes en la membrana celular y el citoplasma de las bacterias en su fase vegetativa, alterando el sistema enzimático y ocasiona daños en la membrana bacteriana, lo que resulta en la liberación de compuestos intracelulares (Bustos y Gavelli, 2023). Por lo tanto, el glutaraldehído, ejerce un efecto letal directo dentro de las células y son muy eficaces frente a bacterias, virus y hongos (Maeso, 2018).

Este desinfectante se aplica por inmersión cada 15 días a los equipos por separado y se retira con agua. La persona responsable de aplicar el glutaraldehído al 2% debe tener overol, máscara para gases y vapores, guantes y gorro (LABFARVE, 2021).

6.2.2 Glutaraldehído + Formaldehído al 2%

Su entidad química es la familia de los aldehídos; la actividad del formaldehído y del glutaraldehído se debe a la alquilación de grupos sulfhidrilo y otros grupos que causan alteraciones en proteínas microbianas (Fraise, 1999).

“Se aplica por aspersión una vez al mes, (los cinco últimos días del mes en curso y/o los primeros cinco días del próximo mes), para ello las áreas deben estar

completamente despejadas y limpias. Durante la aplicación del desinfectante no se pueden realizar ninguna fabricación de productos ni controles. Una vez aplicado, se debe dejar actuar durante un lapso de 30 minutos y se lava con abundante agua potable.” (LABFARVE, 2021).

6.2.3 Hipoclorito de sodio al 0,5%

Su entidad química es el cloro e hipoclorito. El mecanismo de acción del hipoclorito se enfoca en atacar los ácidos nucleicos de los microorganismos (USP <1072>, 2023). Por tanto, al interferir con los ácidos nucleicos, se evidencia que puede provocar daños en el material genético de los microorganismos, lo que afecta su capacidad para replicarse y sobrevivir.

“Se aplica cada vez que se realice la limpieza de las áreas de la planta de producción de productos fitoterapéuticos, cosméticos y control de calidad. Luego de ser aplicado, se deja actuar por 10 minutos y se retira con agua potable” (LABFARVE, 2021).)

6.2.4 Alcohol Etilico al 70%

Su entidad química es la familia de los alcoholes. Los alcoholes son desinfectantes de nivel intermedio. El mecanismo principal de acción de los alcoholes es a nivel de la permeabilidad de la membrana, causando la destrucción de la célula microbiana (USP <1072>, 2023). Por consiguiente, se deduce que los alcoholes pueden desorganizar las estructuras lipídicas y proteicas, alterando la integridad de la membrana.

“El etanol se emplea como desinfectante en equipos, materiales y utensilios. La concentración en la cual se prepara es al 70% y se aplica por aspersión luego de

haber realizado la limpieza de los equipos, durante 15 días consecutivos y no se retira’’ (LABFARVE, 2021).

El uso regular de etanol ayuda a controlar y reducir la contaminación microbiana en superficies y equipos. Esto es particularmente importante en entornos de producción y fabricación donde la contaminación puede afectar la calidad del producto.

6.2.5 Rotación de agentes desinfectantes

La rotación de desinfectantes consiste en usar un tipo de compuesto por un tiempo determinado y luego de este, cambiar el principio activo y usarlo por otro tiempo (Jiménez, 2021); con esta práctica se busca evitar que las cepas de microorganismos desarrollen resistencia a un desinfectante específico.

6.2.6 Resistencia microbiana a los desinfectantes

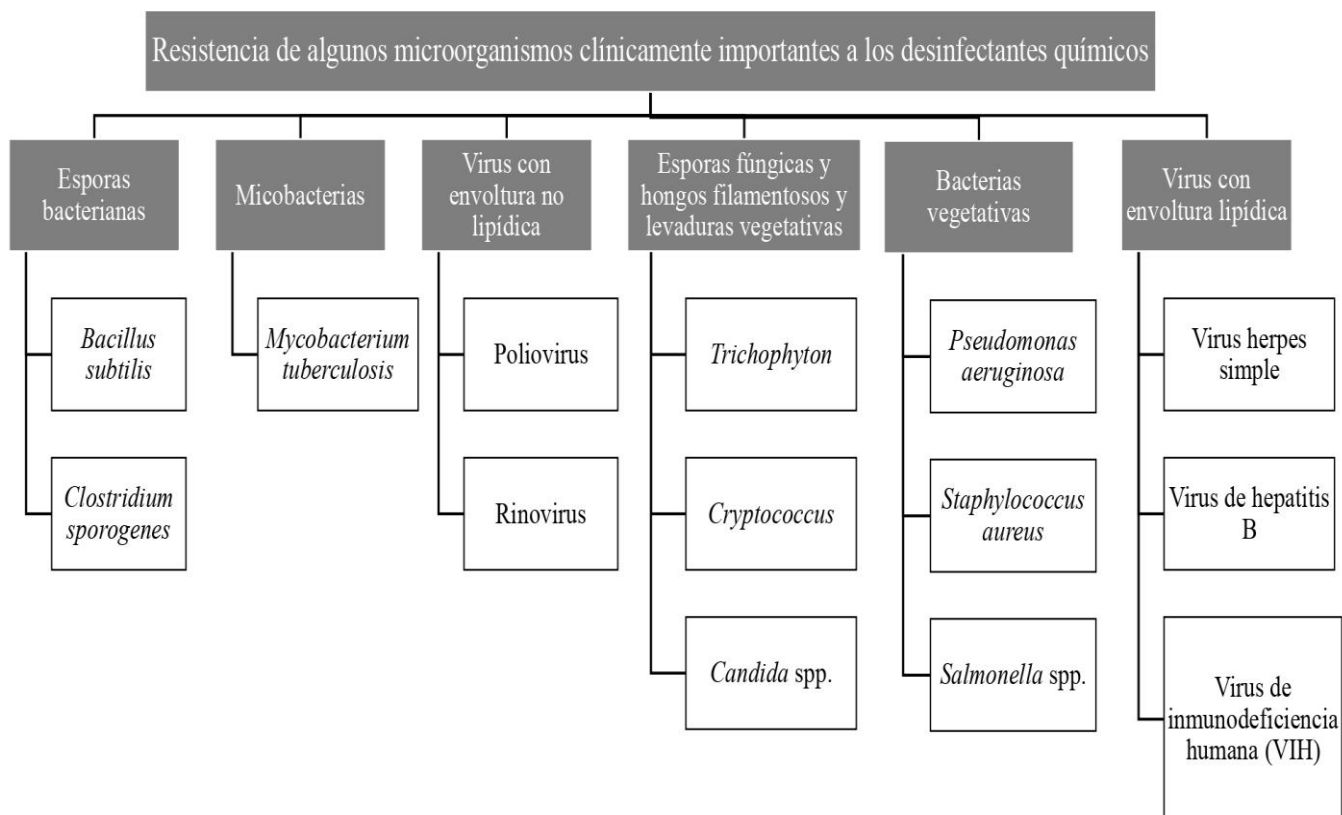
A lo largo de generaciones, las adaptaciones genéticas se han ido acumulando y van dando lugar a subpoblaciones de bacterias que tienen la capacidad para sobrevivir a diferentes presiones selectivas, incluida la presencia de desinfectantes (Noel, 2023).

En todo caso, la probabilidad de que los microorganismos desarrollen resistencia a los desinfectantes es baja debido a su mayor capacidad microbida y porque los desinfectantes se usan en concentraciones más altas, de tal manera que la presión selectiva para el desarrollo de resistencia es baja; además, es clave realizar pruebas de susceptibilidad a desinfectantes en los programas de control ambiental para evaluar la resistencia en especies nativas (USP <1072>, 2023).

En la figura 2 se presentan ejemplos de algunos microorganismos de importancia clínica que han adquirido resistencia a los desinfectantes químicos.

Figura 2

Resistencia de Algunos Microorganismos Clínicamente Importantes a los Desinfectantes Químicos.



Fuente: (USP <1072>, 2023)

6.2.7 Validación

Es un proceso que “proporciona evidencia documentadas que garantizan de manera robusta que un proceso en particular generará de forma constante un producto que cumple con todas sus especificaciones y características de calidad” (INVIMA, 2019).

6.2.8 Verificación

La verificación “es una validación secundaria que se utiliza para demostración experimental que un método establecido funciona de acuerdo con las especificaciones en las manos del usuario” (Muñoz, 2016). Por tanto, se enfoca en confirmar que un método, producto o sistema está siendo implementado de acuerdo con los requisitos establecidos y las especificaciones previamente definidas.

6.3 Pruebas de verificación de la eficacia de los desinfectantes

La USP <1227> (2023), recomienda realizar las siguientes pruebas preliminares para verificar la eficacia de antimicrobianos:

6.3.1 Grupo de prueba: Se evalúa la eficacia de los desinfectantes en condiciones reales simuladas. Incluye la presencia de desinfectantes y neutralizantes, reflejando un escenario más cercano a la realidad. Determina la capacidad de un desinfectante para controlar la proliferación microbiana.

6.3.2 Grupo control (peptona): Actúa como referencia para evaluar el crecimiento normal de microorganismos en ausencia del desinfectante. La neutralización se realiza mediante diluciones empleando diluyentes apropiados. Sirve como punto de comparación para los resultados del grupo prueba y del grupo de viabilidad.

6.3.3 Grupo de viabilidad: Evalúa la viabilidad intrínseca de los microorganismos en ausencia de neutralizantes, en presencia del desinfectante. Proporciona una base de referencia para comparar la eficacia de los desinfectantes y garantiza que cualquier efecto observado en el grupo de prueba pueda

atribuirse al desinfectante y no a las condiciones inherentes del microorganismo.

6.3.4 Actividad antimicrobiana de los desinfectantes vs tiempo de contacto: Este dato permite determinar el tiempo necesario para que un desinfectante ejerza una actividad antimicrobiana eficaz, lo que es fundamental para desarrollar directrices sobre la duración de la aplicación en entornos del mundo real.

7. Marco legal

7.1 Ministerio de la protección social. Decreto 2266 de 2004

Por el cual se reglamentan los regímenes de registros sanitarios, y de vigilancia y control sanitario y publicidad de los productos Fitoterapéuticos (Ministerio de la protección social, 2004)

7.2 Ministerio de la Protección Social. Resolución 5107 de 2005

Por la cual se adopta el Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias para los Laboratorios que elaboren Productos Fitoterapéuticos (Ministerio de la Protección Social, 2005)

7.3 Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 3619 de 2013

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 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).

7.4 Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 1156 de 2018

Por el cual se reglamenta el régimen sanitario de productos fitoterapéuticos y se dictan otras disposiciones (Ministerio de Salud y Protección Social, 2018).

7.5 Farmacopea de los Estados Unidos, USP <1072> Este capítulo describe las definiciones, mecanismos de acción de desinfectantes y antisépticos.

7.6 Farmacopea de los Estados Unidos, USP <1227> Este capítulo proporciona directrices para la validación de métodos para la estimación del número de microbios viables.

7.7 Método AOAC 955.15 . Se utiliza para determinar la eficacia de los desinfectantes.

8. Metodología

8.1 Enfoque

La presente investigación se abordó un enfoque cuantitativo puesto que utiliza la recolección de datos para probar hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento (Hernández et al., 2014).

8.2 Monitoreo ambiental de la planta

Para la obtención de microorganismos se utilizó la técnica de sedimentación en placa, exponiendo cajas de Petri con agar TSA (Trypticase de Soja) para aerobios mesófilos y agar Sabouraud (para mohos y levaduras), en las áreas correspondientes (fitoterapéuticos, acondicionamiento, cosméticos, fórmula magistral). Las cajas se colocaron sobre una toalla con etanol abiertas un total de 4 horas, pasado este tiempo se cerraron y se llevaron a incubar en el agar TSA de 30-35°C durante 3 días y el agar Sabouraud de 20-25°C durante 5-7 días (LABFARVE, 2021).

Este monitoreo se realizó una vez a la semana, durante un mes, realizando la descripción de las colonias de los microorganismos más frecuentes, tomando en cuenta los siguientes criterios: forma de la colonia, color, borde y su morfología microscópica.

8.3 Desinfectantes Evaluados

El laboratorio de Microbiología realizó las respectivas diluciones de ensayo para cada desinfectante. La tabla 1, describe las distintas concentraciones de los desinfectantes utilizados.

Tabla 1.*Desinfectantes evaluados*

N°	Nombre	Concentración evaluada (%)	Efectividad teórica	Principio Activo
1	Hipoclorito de sodio	1	Bactericida	Hipoclorito de sodio
		0,5	Fungicida	
		0,2	Esporicida	
2	Glutaraldehído	2	Bactericida Fungicida Esporicida	Glutaraldehído
3	Glutaraldehído + Formaldehido	2	Bactericida Fungicida Esporicida	Formaldehído, Glutaraldehído.
5	Etanol (%v/v)	60	Bactericida	Alcohol
		70		
		96		

Fuente: Elaboracion propia.

A continuación se resumen los datos para la dilución del hipoclorito:

Tabla 2*Volumenes para la dilución del hipoclorito de sodio*

Concentracion inicial (%)	Concentracion Deseada (%)	Volumne de la solucion concentrada	Volumen de disolvente	Volumen final
13	1	76,92 mL	923,08 mL	1000 mL
13	0,5	38,46 mL	961,54 mL	1000 mL
13	0,2	15,38 mL	984,62mL	1000 mL

Fuente: Elaboración propia.

Los desinfectantes glutaraldehído y glutaraldehído + formaldehído, se utilizaron a una concentración del 2%, que es la concentración a la que se encuentran disponibles comercialmente. Esta selección se basó en recomendaciones dadas por el fabricante, que establece que estos productos no requieren dilución y deben usarse en su forma original certificada, además, no se recomiendan concentraciones inferiores al 2% (Instituto de Salud Pública, 2015). Por tanto, cualquier intento de reducir la concentración puede afectar negativamente su capacidad para realizar una desinfección completa y adecuada.

Para el caso del alcohol, la concentración mayor fue del 96%, la concentración de uso al 70% y la concentración menor del 60% (Tabla 3).

Tabla 3.

Volumenes para la disolucion del Etanol

Concentracion inicial	Concentracion Deseada	Volumen de la solucion concentrada	Volumen de disolvente	Volumen final
96%	70%	729,16 mL	270,83 mL	1000 mL
96%	60%	625 mL	375 mL	1000 mL

Fuente: Elaboración propia.

8.4 Microorganismos de prueba

La verificación se desarrolló con cepas de referencia ATCC (tabla 4) y cepas nativas aisladas del monitoreo ambiental de la planta de procesamiento de LABFARVE,

concretamente de los ambientes de las plantas de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales.

Tabla 4.

Cepas de referencia a prueba

Nº	Microorganismos	ATCC	Descripción microscópica	Medio de cultivo	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15442	Bacilos Gram Negativos	Agar TSA	30-35°C	2-3 días
2	<i>Escherichia coli</i>	11229	Bacilos Gram Negativos	Agar TSA	30-35°C	2-3 días
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	Cocos Gram Positivos	Agar TSA	30-35°C	2-3 días
4	<i>Bacillus spizizenii</i>	6633	Bacilos Gram Positivos Esporulados	Agar TSA	30-35°C	2-3 días
5	<i>Candida albicans</i>	10231	Levadura	Agar Sabouraud	20-25°C	5 – 10 días
6	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Hongo filamentoso	Agar Sabouraud	20-25°C	5 – 10 días

Fuente: Elaboracion propia

Para llevar a cabo este estudio, todos los equipos e instrumentos mencionados en la tabla 5 contaban con sus respectivos certificados de calibración. Este proceso se realizó para garantizar que estos dispositivos funcionen correctamente y que sus mediciones sean precisas y confiables.

8.5 Equipos e instrumentos

Tabla 5*Equipos e instrumentos utilizados*

Equipo	Códigos
Cabina Bioseguridad	412
Autoclave medios y materiales	876
Autoclave descontaminación	875
Baño maría	415
Incubadora (20-25 °C)	429
Incubadora (30-35 °C)	681
Vortex	601
Balanza triple brazo	467
Congelador (Manejo de cepas)	855
Refrigerador (Manejo de cepas)	844
Micropipeta 100-1000 µl (Manejo de cepas)	664

Fuente: Elaboracion propia

Los medios de cultivos descritos en la tabla 6 se encontraban vigentes garantizando las condiciones ideales para el crecimiento de los microorganismos.

Tabla 6.*Medios de cultivo*

Medio	Fabricante
Caldo Base Caseína Lecitina Polisorbato	Scharlau
Agar Trypticase de soya	Scharlau
Agar Sabouraud	Scharlau

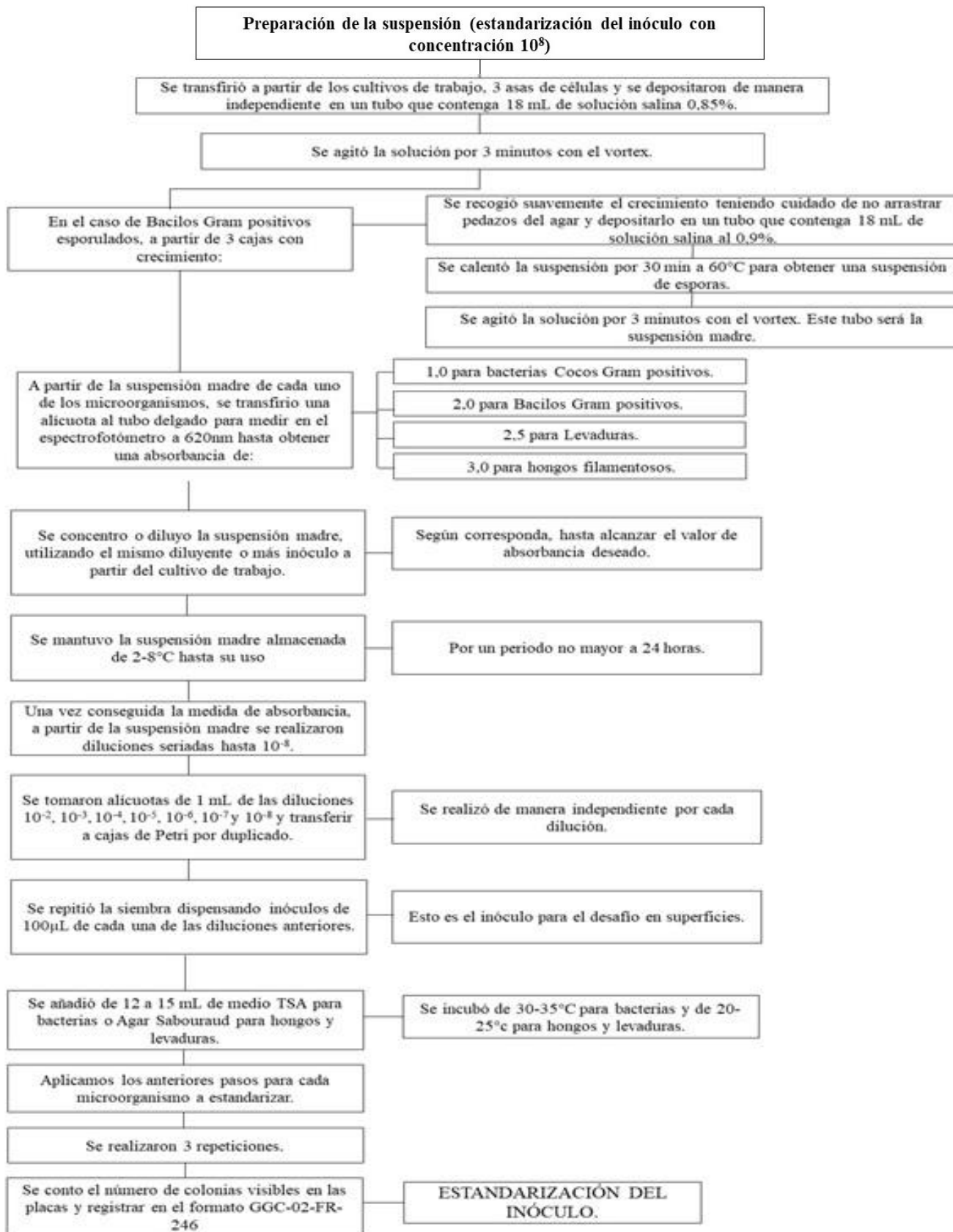
Fuente: Elaboracion propia

8.6 Procolo verificacion de la recuperación microbiana bajo las condicones de ensayo

8.6.1 Preparación de la suspensión microbiana Inicial 10⁸

Figura 3

Estandarización del inóculo

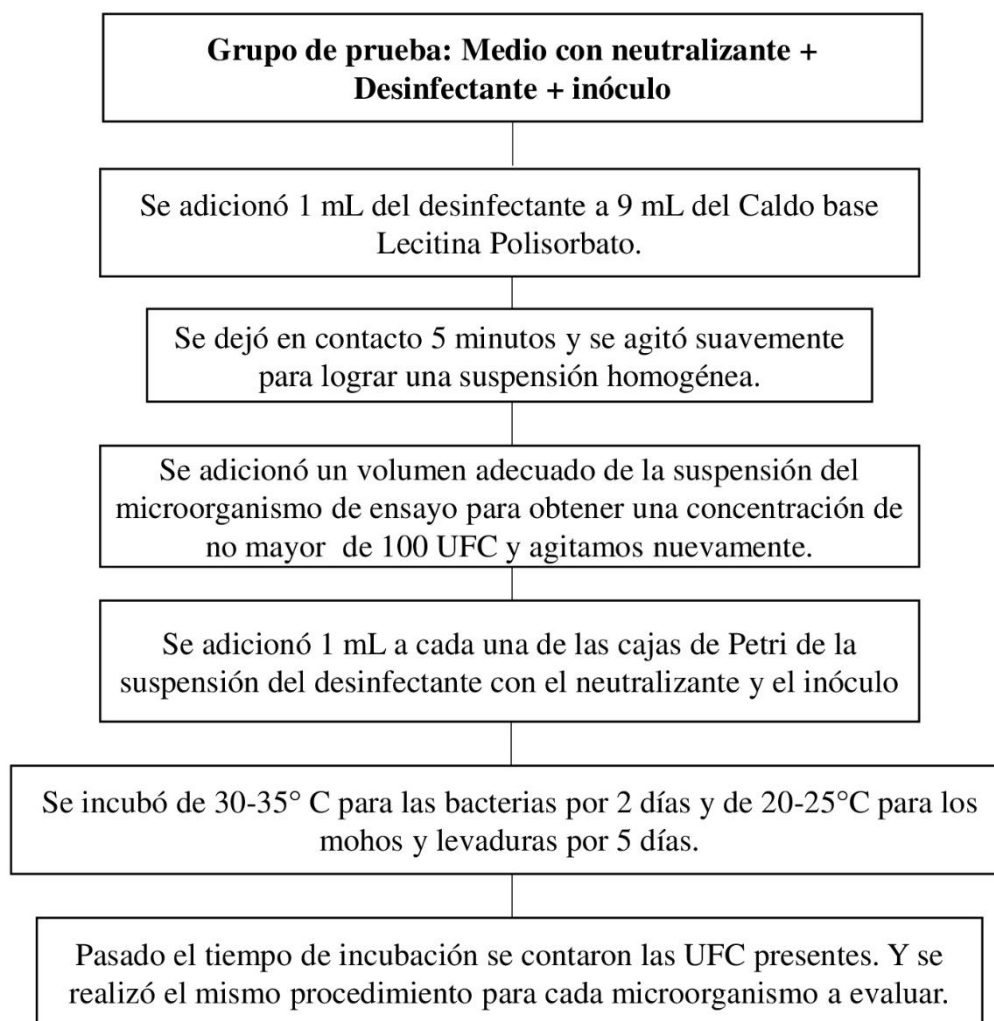


Nota: Basado de la USP <1227>, 2023

8.6.2 Grupo de prueba

Figura 4

Grupo de prueba, Medio Neutralizante (Caldo Lecitina Polisorbato (CLP))

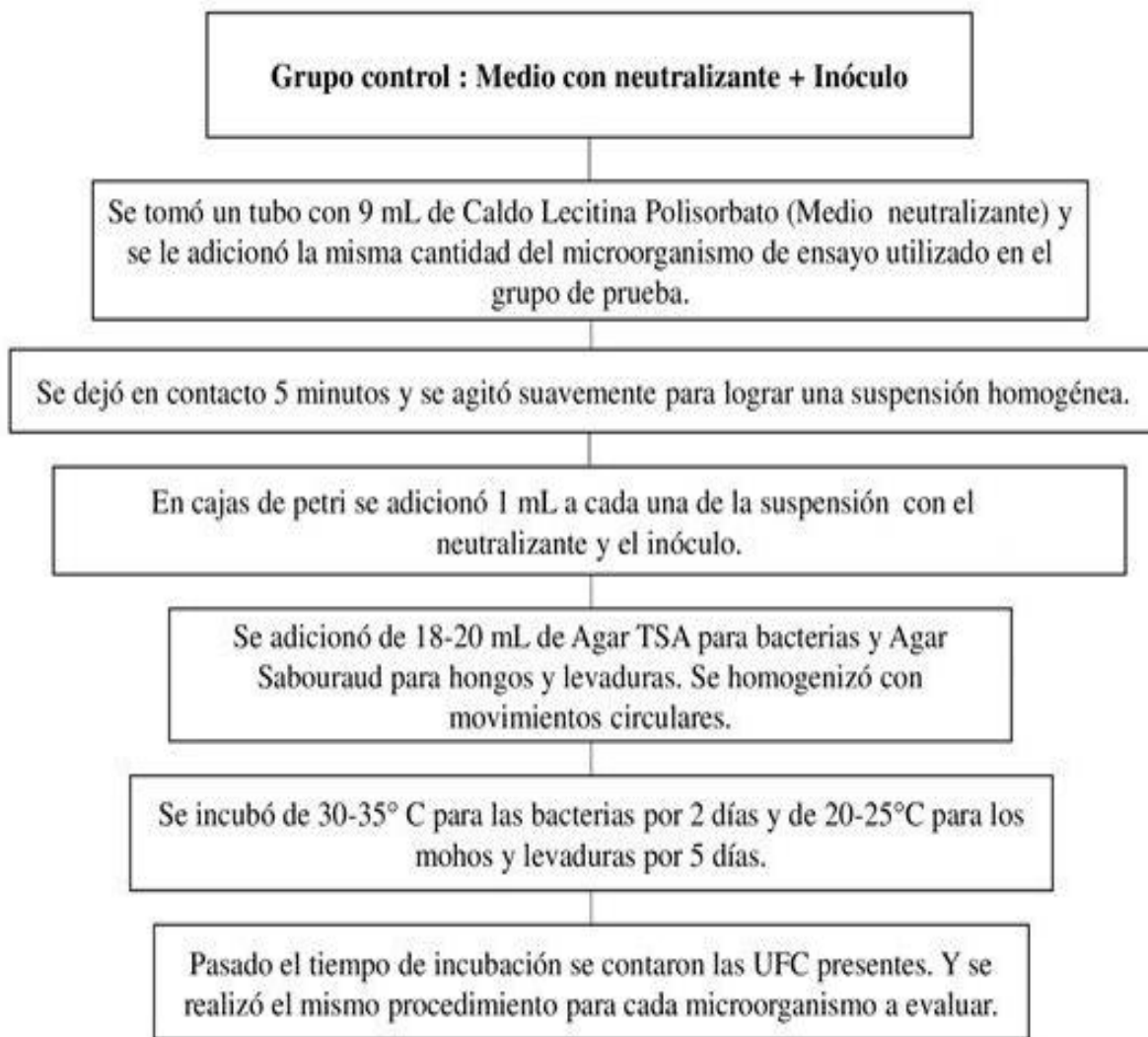


Fuente: Basado de la USP <1227>, 2023

8.6.3 Grupo control

Figura 5

Grupo control: Medio con neutralizante CLP + Inóculo

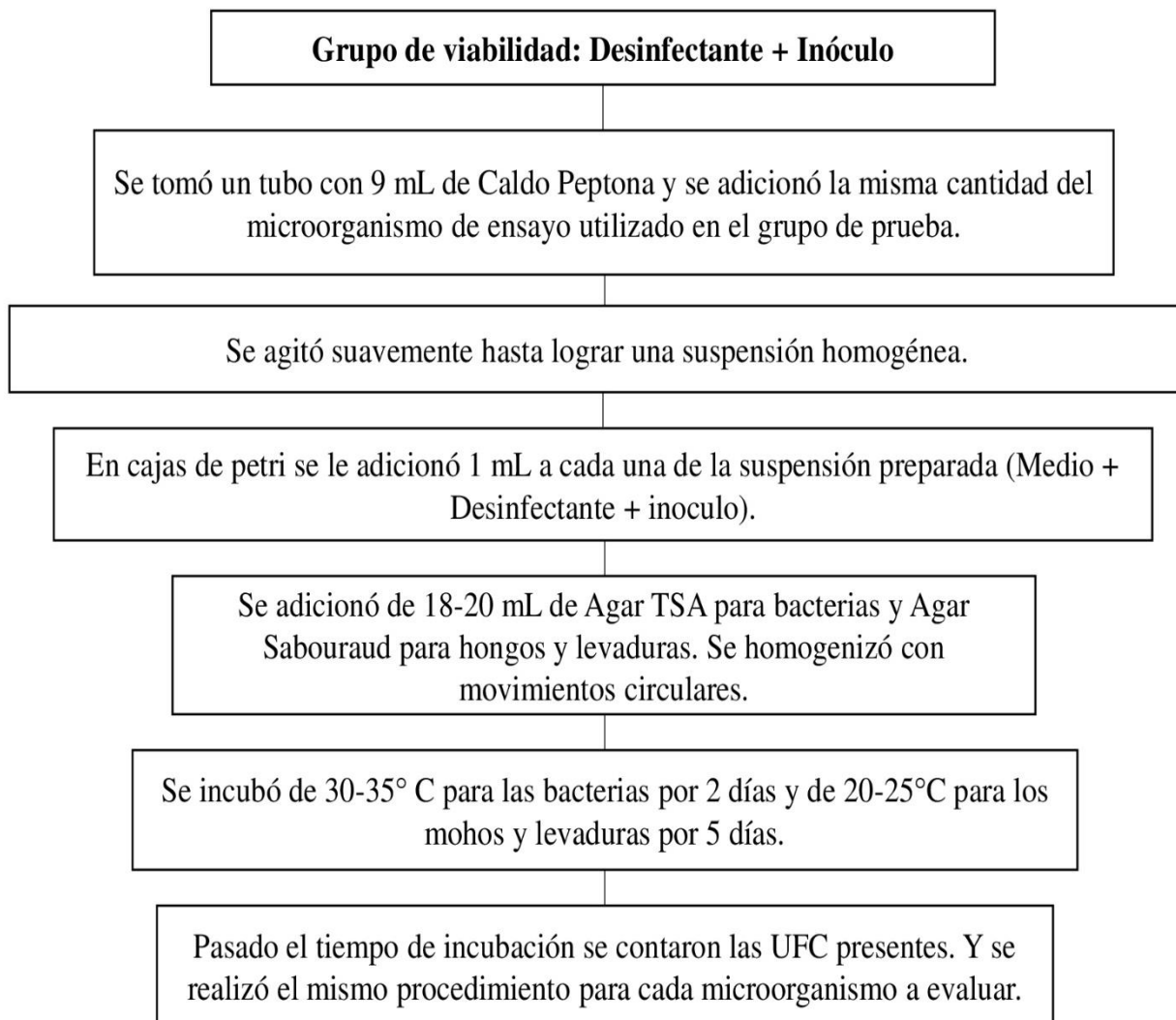


Nota: Basado de la USP <1227>,2023

8.6.4 Grupo de viabilidad

Figura 6.

Grupo viabilidad (Peptona como neutralizante)

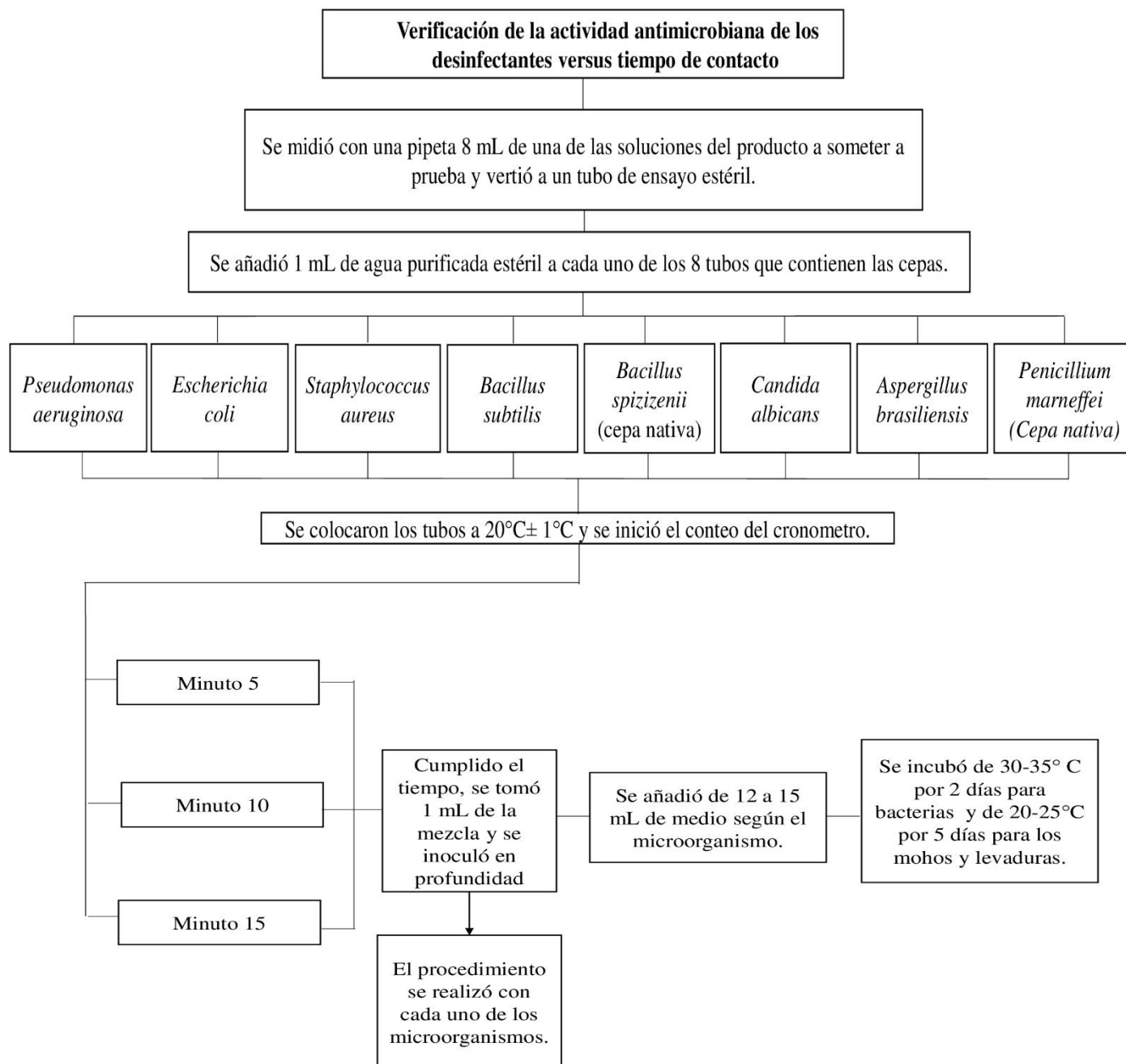


Nota: Basado de la USP <1227>,2023

8.6.5 Protocolo Actividad antimicrobiana de los desinfectantes vs tiempo de contacto:

Figura 7.

Actividad antimicrobiana de los desinfectantes



Nota: Basado de la USP <1227>, 2023.

9. Cronograma de actividades

Tabla 7.

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES DE PASANTIA																				
Actividades	Meses																			
	Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre			
Semanas	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Inducción a los procedimientos llevados a cabo en el laboratorio de microbiología																				
Diseño y socialización del proyecto a realizar.																				
Revisión bibliográfica																				
Análisis microbiológicos																				
Materias primas																				
Producto en proceso																				
Producto terminado																				
Envases																				
Aire comprimido																				
Uniformes																				
Agua purificada																				
Ambientes y superficies																				
Aislamiento de microorganismos																				
Evaluación de concentraciones																				
Elaboración de informe de pasantía																				
Avances de informes																				
Sustentación proyecto final																				

Fuente: Elaboración propia.

10. Resultados

10.1 Monitoreo ambiental

La Tabla 8 presentan los resultados del monitoreo ambiental realizado en las distintas áreas de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales, utilizando la técnica de sedimentación en placa.

Tabla 8 .

Identificación de cepas nativas

Área de muestreo	Semana	Descripción de las colonias	Identificación	Medio de cultivo	T° de incubación (°C)	Frecuencia de
Pasillo de cosméticos	1, 2 y 3	Colonias verdes, esporuladas.	<i>Penicillium marneffe</i>	Agar Sabouraud	25	3 de 4 muestreos
Extractos y tinturas	1	blancas aterciopeladas	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Preparación y envasado de emulsiones	3	Colonias cremas lisas.	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Preparación y envasado de sólidos	4	Colonias verdosas, lisas.	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Acondicionamiento y empaque	3	Colonia gris amarillas, brillante.	No identificada	Agar Sabouraud		No predominantes
Pasillo de Fórmulas Magistrales	1, 3 y 4	Colonias verdes, esporuladas.	<i>Penicillium marneffe</i>	Agar Sabouraud	25	3 de 4 muestreos
Pesado	1	Colonia gris pulverulenta	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes

Preparación	3	Colonia blanca, seca	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Acondicionamiento	2	Colonia amarillenta, rugosa	No identificada	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Pasillo Fitoterapéuticos	1 y 3	Colonias blanquecinas, opacas	<i>Bacillus subtilis</i>	Agar TSA	37	2 de 4 muestreos
Acondicionamiento 1	1	Colonias blancas, algodonosas; marrones, rugosas	No identificadas	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Acondicionamiento 2	1	Colonias blancas, algodonosas; marrones, rugosas	No identificadas	Agar Sabouraud	25	No predominantes
Mezclado	1, 2, 3 y 4	<1	No identificadas	Agar TSA y sabouraud	25 y 37	No predominantes
Soplado	1, 2, 3 y 4	<1	No identificadas	Agar TSA y sabouraud	25 y 37	No predominantes
Molido	1, 2, 3 y 4	<1	No identificadas	Agar TSA y sabouraud	25 y 37	No predominantes
Encapsulado	1, 2, 3 y 4	<1	No identificadas	Agar TSA y sabouraud	25 y 37	No predominantes

Fuente: Elaboración propia

La tabla 8 evidencia la presencia de *Penicillium marneffe* en los pasillos de cosméticos y fórmulas magistrales, en tres de los cuatro muestreos realizados en estas áreas. Además, se detectó *Bacillus subtilis* en la sección de fitoterapéuticos, encontrándose en dos de los cuatro muestreos realizados. Los resultados detallados se presentan en el anexo 1 y 2. Los demás microorganismos, con descripciones variadas de colonias, no fueron identificados puesto que no fueron predominantes debido a su baja frecuencia. En áreas críticas como mezclado, soplado, molido y encapsulado, se encontró <1 UFC, lo que indicó un ambiente controlado.

10.2 Estandarización del inóculo

Al realizar la estandarización del inóculo, el cual se hizo por triplicado, se muestra en la tabla 9 los resultados del recuento en placa obtenidos a partir de las diluciones, lo que permitió estimar la concentración inicial de los microorganismos. Para el caso de las bacterias se utilizó la dilución 10^{-7} . Para los mohos y levaduras se utilizó la dilución 10^{-6} .

Para la expresión de los resultados de recuento en placa se tuvo en cuenta la siguiente formula de conteo microbiano.

Fórmula de recuento en placa

EC. 1

$$UFC/mL = \text{Recuento en UFC} \times \frac{1}{Fd} \times \frac{1}{\text{Vol. sembrado}}$$

Nota: Recuento UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonias por mililitro; Fd: Factor de dilución; Vol. Sembrado: volumen de la muestra que se inoculó.

Tabla 9.*Recuentos de diluciones iniciales de bacterias, mohos y levaduras*

Bacterias	
Microorganismos	UFC/mL (10^{-7})
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$5,4 \times 10^8$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$6,9 \times 10^8$
<i>Escherichia coli</i>	$2,5 \times 10^8$
<i>Bacillus spizizenii</i>	$3,2 \times 10^8$
<i>Bacillus subtilis</i> (cepa nativa)	$5,9 \times 10^8$
Mohos y levaduras	
Microorganismos	UFC/mL (10^{-6})
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	$2,5 \times 10^7$
<i>Candida albicans</i>	$3,2 \times 10^7$
<i>Penicillium marneffe</i> (Cepa nativa)	$2,6 \times 10^7$

Fuente: Elaboración propia

Estos datos de recuento fueron importantes para garantizar que las concentraciones iniciales de los microorganismos fueran conocidas y reproducibles para la verificación de la eficacia de los desinfectantes.

10.3 Verificación de la recuperación microbiana bajo las condiciones del ensayo

La tabla 10, describe los recuentos obtenidos para el grupo de prueba, grupo control y el grupo de viabilidad para cada uno de los microorganismos evaluados.

Tabla 10.

Recuentos iniciales para los microorganismos ensayados en los grupos prueba, control y viabilidad.

Grupo prueba		Grupo control		Grupo viabilidad	
Bacterias		Bacterias		Bacterias	
Microorganismos	UFC/mL (10^{-7})	Microorganismos	UFC/mL (10^{-7})	Microorganismos	UFC/mL (10^{-7})
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,9x10 ⁸	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,7 x10 ⁸	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,4x10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,9x10 ⁸	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,7 x10 ⁸	<i>Staphylococcus aureus</i>	7,0x10 ⁸
<i>Escherichia coli</i>	3,0x10 ⁸	<i>Escherichia coli</i>	2,8 x10 ⁸	<i>Escherichia coli</i>	3,3x10 ⁸
<i>Bacillus spizizenii</i>	3,9x10 ⁸	<i>Bacillus spizizenii</i>	3,8 x10 ⁸	<i>Bacillus spizizenii</i>	3,3x10 ⁸
<i>Bacillus subtilis</i> (cepa nativa)	6,7x10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	6,5 x10 ⁸	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	7,1x10 ⁸
Mohos y levaduras		Mohos y Levaduras		Mohos y levaduras	
Microorganismos	UFC/mL (10^{-6})	Microorganismos	UFC/mL (10^{-6})	Microorganismos	UFC/mL (10^{-6})
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	2,0x10 ⁶	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,8 x10 ⁶	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	2,2x10 ⁶
<i>Candida albicans</i>	3,8x10 ⁶	<i>Candida albicans</i>	3,6 x10 ⁶	<i>Candida albicans</i>	3,5x10 ⁶
<i>Penicillium marneffeii</i> (Cepa nativa)	2,2x10 ⁶	<i>Penicillium marneffeii</i> (Cepa nativa)	2,1 x10 ⁶	<i>Penicillium marneffeii</i> (Cepa nativa)	2,0x10 ⁶

Nota: Elaboración propia. (Desinfectantes empleados: Glutaraldehído, glutaraldehído + formaldehido, Hipoclorito de sodio, Etanol)

10.3.1 Grupo Prueba

Los resultados de los recuentos para el grupo de prueba, proporcionan una evaluación de la capacidad de los desinfectantes (hipoclorito de sodio, glutaraldehído, glutaraldehído + formaldehído y etanol) para reducir la carga microbiana, puesto que implica la combinación de un desinfectante con un medio que contiene un agente neutralizante (Caldo Lecitina Polisorbato) seguido por la aplicación de esta mezcla a microorganismos en un ambiente controlado de laboratorio. Los recuentos bajos indicarían una alta eficacia del desinfectante para eliminar o reducir la cantidad de microorganismos presentes, en comparación con la carga microbiana inicial observada en la tabla 9.

10.3.2 Grupo Control

Se verificaron las condiciones experimentales sin la presencia del desinfectante, los recuentos en este grupo ofrecen una referencia sobre la carga microbiana inicial en ausencia de tratamiento con los desinfectantes evaluados (hipoclorito de sodio, glutaraldehído, glutaraldehído + formaldehído, etanol)

10.3.3 Grupo Viabilidad

Este grupo desempeña un papel fundamental al crear un entorno adecuado para el desarrollo y evaluación de la carga microbiana. El recuento entre el grupo de control peptona (donde la dilución con peptona actúa como neutralizante) es similar al recuento en el grupo de viabilidad (donde se aplicó el desinfectante).

10.3.4 Actividad antimicrobiana de los desinfectantes vs tiempo de contacto

10.3.4.1 Hipoclorito de Sodio

Tabla 11.*Acción del hipoclorito de sodio en Agar TSA*

Desinfectante	Microorganismo	Tiempo de contacto (min)	Concentraciones		
			0,2%	0,5%	1%
			UFC/mL	UFC/mL	UFC/mL
Hipoclorito de sodio	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2,3x10 ⁷	1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		10	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		15	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1,6x10 ⁷	1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		10	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		15	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
	<i>Escherichia coli</i>	5	2x10 ⁷	1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		10	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		15	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
	<i>Bacillus spizizenii</i>	5	2,6x10 ⁷	1x10 ⁷	<1x10 ⁷
		10	1x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1x10 ⁷
		15	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷
	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	5	2,3x10 ⁷	1 x10 ⁷	1 x10 ⁷
		10	1x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1x10 ⁷
		15	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷	<1x10 ⁷

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 11 describe la acción del hipoclorito de sodio en concentraciones del 0,2%, 0,5% y 1%, evaluados en tiempos de exposición de 5 minutos, 10 minutos y 15 minutos para cada una de las concentraciones mencionadas. Para *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* el hipoclorito de sodio al 1% demostró ser altamente efectivo en la eliminación de los microorganismos en un corto período de tiempo, mientras que concentraciones del 0,2% y 0,5% requirieron tiempos de exposición superior a los 5 minutos. En todos los casos, a los 10 y 15 minutos, no se detectó crecimiento microbiano, lo que sugiere una efectiva reducción de la carga bacteriana con el tiempo.

Para el caso de *Bacillus spizizenii*, una concentración del 1% logró su eliminación de manera rápida y efectiva, mientras que las concentraciones del 0,2% y 0,5% requirieron más de 5 minutos de exposición para alcanzar su eliminación; esto se atribuye a las características morfológicas del microorganismo, debido a que *Bacillus spizizenii* posee la capacidad de formar esporas (estructuras altamente resistentes a diversos agentes desinfectantes), incluidas las concentraciones de hipoclorito de sodio mencionadas (Severino, 2023). El hipoclorito de sodio en estas concentraciones podría no ser suficiente para penetrar y destruir la estructura protectora de las esporas, por lo que se requirió de más tiempo para su eliminación.

Para la cepa bacteriana nativa (*Bacillus subtilis*), se observaron resultados interesantes; a una concentración del 1% de hipoclorito de sodio, se registró un crecimiento inicial a los 5 minutos de 1×10^7 UFC/ml, lo cual podría deberse a una resistencia inicial del microorganismo, una inadecuada penetración del desinfectante en ese breve periodo, o a una posible adaptación fisiológica temporal que permitió su supervivencia antes de la

acción efectiva del desinfectante. Sin embargo, en los intervalos de 10 y 15 minutos para la misma concentración del 1%, no se detectaron unidades formadoras de colonias, reportando un resultado de $<1 \times 10^7$ UFC/ml, indicando que, en dichos tiempos, el desinfectante logró una reducción efectiva de la carga microbiana, demostrando su eficacia. Es muy importante destacar que se requirieron más de 10 minutos para eliminar completamente la cepa nativa, en comparación con las concentraciones del 0,2% y 0,5%, donde se necesitaron más de 15 minutos para alcanzar su eliminación.

Tabla 12.

Acción del hipoclorito de sodio en Agar Sabouraud

Desinfectante	Microorganismo	Tiempo de contacto (min)	Concentraciones		
			0,2%	0,5%	1%
			UFC/MI	UFC/mL	UFC/mL
Hipoclorito de sodio	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5	$2,3 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
		10	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$
	<i>Candida albicans</i>	5	$1,3 \times 10^6$	1×10^6	$<1 \times 10^6$
		10	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$
	<i>Penicillium marneffe</i> (Cepa nativa)	5	$2,3 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	1×10^6
		10	1×10^6	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$	$<1 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia.

Se observó en la tabla 12 que *Aspergillus brasiliensis* fue capaz de crecer en todas las concentraciones del hipoclorito (0,2%, 0,5% y 1%) a un tiempo de exposición de 5 minutos, pero a un tiempo de exposición de 10 y 15 minutos resultó en la eliminación

completa del moho. A pesar de presentar un crecimiento inicial a los 5 minutos con la concentración del 1%, este desaparece en los tiempos de contacto de 10 y 15 minutos, indicando una acción desinfectante efectiva partiendo de la concentración la cual ha mostrado que es efectiva en los tiempos mencionados. *Candida albicans* fue capaz de crecer a concentraciones de 0,2% y 0,5% de hipoclorito a un tiempo de contacto de 5 minutos, pasado este tiempo resultó ser efectivo y en concentraciones más altas fue más efectiva u eliminación. La cepa nativa *Penicillium marneffe*, resultó ser la más resistente que *Candida albicans* al hipoclorito de sodio puesto que pudo crecer a una concentración del 1% a los 5 minutos, pero a un tiempo de exposición de 10 y 15 minutos resultó en la eliminación completa de la cepa nativa.

10.3.4.2 Glutaraldehído

De acuerdo con la tabla 13, para *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Bacillus spizizenii* a los 5 minutos, hubo crecimiento, lo que sugiere que la bacteria pudo resistir inicialmente el efecto del glutaraldehído al 2% en cierta medida, la eficacia del desinfectante se evidenció por la falta de crecimiento microbiano a los 10 y 15 minutos. Para el caso de la cepa nativa *Bacillus subtilis*, no se presentó reducción significativa al aumentar el tiempo de exposición, debido a la resistencia de las esporas por lo que el glutaraldehído a una concentración del 2% necesitó un tiempo de contacto adecuado para ser efectivo (tiempo de contacto superior a 15 minutos).

Tabla 13.

Acción del Glutaraldehído en Agar TSA

Desinfectante	Microorganismo	Tiempo de contacto (min)	Concentración
			2%
			UFC/mL
Glutaraldehído	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2×10^7
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	$<1 \times 10^6$
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Escherichia Coli</i>	5	1×10^7
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Bacillus spizizenii</i>	5	1×10^7
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	5	4×10^7
		10	2×10^7
		15	1×10^7

Fuente: Elaboración propia.

En el caso de *Staphylococcus aureus* no se detectaron UFC/mL a una concentración del 2% de glutaraldehído ni en ninguno de los tiempos (5, 10 y 15 minutos). La ausencia total de crecimiento microbiano indicó que la acción desinfectante del Glutaraldehído al 2% es rápida y efectiva para eliminar el microorganismo en un corto período de tiempo, partiendo de una concentración inicial de 10^8 .

Tabla 14.*Acción del Glutaraldehído en Agar Sabouraud*

Desinfectante	Microorganismo	Tiempo de contacto (min)	Concentración
			2%
			UFC/mL
Glutaraldehído	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5	1×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Candida albicans</i>	5	2×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Penicillium marneffe</i> (Cepa nativa)	5	1×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 14 se aprecia que para *Aspergillus brasiliensis* y *Penicillium marneffe* (cepa nativa) el glutaraldehído al 2% a los 10 y 15 minutos fue efectivo para eliminar o inactivar los microorganismos; para *Candida albicans*, con 5 minutos el glutaraldehído no fue completamente efectivo para eliminar la levadura; a partir de los 10 minutos, la eficacia del glutaraldehído aumentó de forma notoria ya que no se detectaron UFC/mL.

10.3.4.3. Glutaraldehído + Formaldehído**Tabla 15.***Acción del Glutaraldehído + Formaldehído en Agar TSA*

Desinfectante	Microorganismo	Tiempo de contacto (min)	Concentración
			2%
			UFC/mL
Glutaraldehído + Formaldehído	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	1×10^7
		10	$<1 \times 10^7$
		15	$<1 \times 10^7$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	$<1 \times 10^7$
		10	$<1 \times 10^7$
		15	$<1 \times 10^7$
	<i>Escherichia coli</i>	5	1×10^7
		10	$<1 \times 10^7$
		15	$<1 \times 10^7$
	<i>Bacillus spizizenii</i>	5	1×10^7
		10	$<1 \times 10^7$
		15	$<1 \times 10^7$
	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	5	$1,3 \times 10^7$
		10	1×10^7
		15	$<1 \times 10^7$

Fuente: Elaboración propia.

La cepa nativa *Bacillus subtilis* fue el único microorganismo en el que se detectó crecimiento a los 5 y 10 minutos de actuación del tratamiento combinado de glutaraldehído + formaldehído, debido a la resistencia intrínseca de las esporas de *Bacillus subtilis*.

Tabla 16.

Acción del Glutaraldehído + formaldehído en agar Sabouraud

Desinfectante	Microorganismos	Tiempo de contacto (min)	Concentración
			2%
			UFC/mL
Glutaraldehído + Formaldehído	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5	1×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Candida albicans</i>	5	1×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$
	<i>Penicillium marneffeii</i> (Cepa nativa)	5	1×10^6
		10	$<1 \times 10^6$
		15	$<1 \times 10^6$

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 16 muestra que, durante los primeros 5 minutos de exposición a una concentración del 2% de (Glutaraldehído + formaldehído) hubo crecimiento microbiano para los tres microorganismos evaluados; sin embargo, a los 10 y 15 minutos de exposición, no hubo crecimiento observable de ninguno de ellos.

10.3.4.4 Etanol

Tabla 17.

Acción del Etanol en Agar TSA

Desinfectante	Microorganismos	Tiempo de contacto (min)	Concentraciones		
			60%	70%	96%
			UFC/mL	UFC /mL	UFC /mL
Etanol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	5 x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		10	1x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		15	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2 x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		10	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		15	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
	<i>Escherichia coli</i>	5	2,3 x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		10	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		15	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
	<i>Bacillus spizizenii</i>	5	2 x10 ⁷	1,3 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		10	1 x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		15	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
	<i>Bacillus subtilis</i> (Cepa nativa)	5	3,5 x10 ⁷	1,3x10 ⁷	1 x10 ⁷
		10	2 x10 ⁷	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷
		15	1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷	<1 x10 ⁷

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 17 .1

Acción del Etanol en Agar Sabouraud

Desinfectante	Microorganismos	Tiempo de contacto (min)	Concentraciones		
			60%	70%	96%
			UFC/mL	UFC /mL	UFC /mL
Etanol	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5	6,3 x10 ⁶	1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
		10	4 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
		15	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
	<i>Candida albicans</i>	5	6,6 x10 ⁶	2 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
		10	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
		15	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
	<i>Penicillium marneffei</i> (Cepa nativa)	5	2,3x10 ⁶	1 x10 ⁶	1 x10 ⁶
		10	2 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶
		15	1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶	<1 x10 ⁶

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 17, se puede apreciar que el Etanol al 96% fue efectivo para eliminar gran parte de las bacterias evaluadas, incluso desde el tiempo 5, siendo la cepa nativa la única que pudo presentar una resistencia a una concentración al 96% a los cinco minutos. En general, la aplicación de Etanol al 96% fue altamente eficaz, resultando ventajoso en situaciones donde se requiere una acción rápida y eficiente para controlar la propagación de microorganismos patógenos o para mantener altos estándares de higiene en entornos críticos.

Del mismo modo, en la tabla 17.1 el tratamiento con el desinfectante Etanol al 96% el agente desinfectante fue efectivo para eliminar gran parte de los hongos evaluados, incluso desde el tiempo 5, haciendo una exclusión para la cepa nativa *Penicillium marneffe*, la cual reportó un valor de 1×10^6 correspondiente a los cinco minutos de evaluación del etanol al 96%.

11. Discusión de Resultados

Los microorganismos nativos predominantes en los ambientes de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales del laboratorio de LABFARVE, obtenidos mediante la técnica sedimentación en placa, fueron *Bacillus subtilis* y *Penicillium marneffe*. Lo anterior, es similar a los resultados obtenidos en la investigación realizada por El-Din *et al.*, (2011), quienes en un monitoreo microbiológico realizado en instalaciones farmacéuticas, encontraron bacterias pertenecientes al género *Bacillus* representando el 35% de las especies aisladas; esto se puede explicar debido a que, como es bien sabido todos los *Bacillus*, incluyendo *Bacillus subtilis*, son bacterias formadoras de endosporas lo que aumenta su supervivencia bajo diferentes condiciones ambientales poco favorables (bajas concentraciones de humedad, de nutrientes, altas temperaturas o presencia de agentes antimicrobianos) (El-Din *et al.*, 2011), lo que puede explicar su distribución en ambientes farmacéuticos incluso en áreas en donde se ejecutan actividades periódicas que disminuyen la carga microbiológica ambiental para garantizar la calidad de los productos farmacéuticos. Así mismo, Akinnola, *et al.*, (2022) llevaron a cabo el aislamiento de diversas especies bacterianas procedentes de distintas áreas de una instalación farmacéutica ubicada al suroeste de Nigeria, en donde se observó una predominancia de bacterias pertenecientes a los géneros *Micrococcus* (50%), *Bacillus* (37,5%) y *Staphylococcus* (12,5%); de los microorganismos aislados, se encontraron entre las especies predominantes *Bacillus subtilis* y *Bacillus badius*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, y *Micrococcus* spp.; los autores de esta investigación indicaron que, al igual que en el presente estudio, las bacterias Gram positivas se aislaron con mayor frecuencia en las áreas blancas y del entorno de la planta, indicando la posibilidad de su presencia en estos

ambientes por diferentes causas como un alto flujo de personal en ambientes reducidos o controles ineficientes en los sistemas de apoyo crítico (por ejemplo, sistemas de aire controlado).

En otro estudio llevado a cabo por Martín *et al.*, (2012), relacionado con la caracterización de la contaminación ambiental bacteriana y fúngica en una unidad farmacéutica, se identificaron géneros de mohos como *Aspergillus* predominando en un 56%, seguido por *Penicillium* en un 25%, y *Cladosporium* en un 18%; estos resultados son comparables con los obtenidos en nuestro estudio donde, como fue mencionado anteriormente, se encontró que *Penicillium marneffe* se presentaba con mayor frecuencia en los monitoreos ambientales realizados. Respecto a esto, Samamé y Samalvides, (2014) indicaron que encontrar especies de estos géneros (que se encuentran comúnmente en el microbiota del suelo y en el medio ambiente), puede esperarse en estos ambientes controlados debido a su capacidad de crecer en condiciones de baja humedad, y al igual que Akinola *et al.*, (2022) señalaron que su presencia puede deberse a la circulación del personal o por un manejo inadecuado de desechos; sin embargo, es necesario monitorear su presencia en los ambientes debido a que este moho dimórfico es un patógeno oportunista causante de la peniciliosis, pudiendo causar anemia, linfadenopatía y lesiones cutáneas en personas inmunosuprimidas (Setyowati *et al.*, 2020).

Con respecto al segundo objetivo específico de este estudio, que buscó asegurar la recuperación preliminar de las cepas a evaluar en los diferentes ensayos, en primer lugar se llevó a cabo la estandarización de los inóculos microbianos, lo que permitió tener un valor de referencia para calcular la dilución que se utilizaría en cada ensayo (Tabla 9 y Tabla 10), esto con el fin de recuperar una concentración de microorganismos no mayor a 100 UFC

como lo estipula la USP 1227; seguido a esto se realizó el ensayo con el grupo de viabilidad, en el que se utilizó el inóculo microbiano sin someterlo al esquema de neutralización (USP <1227>, 2023); de esta prueba se pudo evidenciar que tanto las bacterias como los hongos crecieron adecuadamente según lo proyectado desde la estandarización del inóculo, obteniendo valores similares en los recuentos realizados e incluso se registraron resultados mayores en el grupo de viabilidad que en la estandarización del inóculo, como en el caso de *E. coli* ($3,3 \times 10^8$ UFC/mL en el ensayo de viabilidad vs. $2,5 \times 10^8$ UFC/mL) y *Bacillus subtilis* – cepa nativa ($7,1 \times 10^8$ UFC/mL en el ensayo de viabilidad vs. $5,9 \times 10^8$ UFC/mL).

Posteriormente, con el ensayo con el grupo de prueba, se evaluó si la solución neutralizante (Caldo Lecitina Polisorbato, CLP) cumplía con la función deseada frente al desinfectante a evaluar, lo que se pudo constatar mediante el crecimiento de los microorganismos debido a que, posterior al contacto de la solución de CLP y desinfectante con el inóculo, se logró la recuperación de los microorganismos en valores similares a los observados en la estandarización del inóculo.

Con respecto al tercer objetivo, que establece la concentración y el tiempo de contacto más efectivo de cada desinfectante comparando cepas de referencia con cepas nativas, es clave destacar la resistencia demostrada de las cepas nativas. El Glutaraldehído al 2%, con la cepa nativa *Bacillus subtilis* demostró no ser eficaz en reducir su crecimiento bacteriano, lo que puede deberse a la resistencia intrínseca (especialmente esporas), la robustez de sus estructuras celulares, la eficacia y penetración de los desinfectantes, y posibles adaptaciones específicas a su entorno (Demera *et al.*, 2022)

El glutaraldehído y formaldehído al 2% demostró altos niveles de eficacia frente a las cepas de referencia *Bacillus subtilis* y *Penicillium marneffe* eliminando o reduciendo el crecimiento microbiano a partir de los 10 min. La combinación de los dos desinfectantes demostró ser eficiente al momento de evidenciar la eliminación de los microorganismos, a diferencia de utilizar solamente glutaraldehído al 2% con el que las cepas nativas fueron más resistentes. Esto es respaldado por una investigación realizada por Demera *et al.*, (2022) con un biocida a base de formaldehído y el glutaraldehído, demostrando que posee un amplio espectro de actividad contra *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. y otros aerobios mesófilos.

Penicillium marneffe es un hongo dimórfico que se ha convertido en un microorganismo de importancia en esta investigación debido a su resistencia a los tratamientos ensayados y respectivos tiempos de exposición, en este estudio solo se inactivó con hipoclorito de sodio al 1% en 15 minutos, demostrando su resistencia a tiempos inferiores de exposición bajo la misma concentración evaluada. Un estudio realizado por Colcha, (2016), reveló que el hipoclorito de sodio al 1% fue capaz de inactivar *P. marneffe* en periodos de tiempo superior a 13 minutos. Esta relativa resistencia puede explicarse por varias razones; en primer lugar, las paredes celulares de los hongos son robustas y pueden proteger a los organismos de agentes desinfectantes (Colcha, 2016); además, *P. marneffe* posee características de supervivencia que le permiten tolerar condiciones adversas, como la exposición a productos químicos (Serrat *et al.*, s.f.).

Cabe resaltar que, *P. marneffe* contiene en su pared celular quitina y glucanos (Cao et al., 1999), polímeros que pueden proporcionar resistencia y una barrera efectiva contra el ingreso de agentes antimicrobianos (Klis, et al., 2002).

Por otro lado, el hipoclorito de sodio es un desinfectante potente, pero su efectividad puede variar según la concentración y el tiempo de exposición, como se observó durante este experimento. A concentraciones más bajas, como 1%, puede ser insuficiente para destruir eficientemente ciertos tipos de esporas o estructuras celulares que podrían requerir un tratamiento más prolongado o mayor concentración para alcanzar niveles de inactivación más efectivos (Bedoya y Corredor, 2013) .

Por su parte, el etanol disuelve los lípidos presentes en la membrana celular, aumentando la permeabilidad de la membrana y provocando una pérdida de integridad estructural, lo que facilita la salida de componentes celulares y lleva a la lisis celular, de forma óptima en el rango del 60 al 90%, (McDonnell y Russell, 2001). Por esta razón este desinfectante a concentraciones del 96%, mostró una alta capacidad para eliminar el crecimiento microbiano en todos los microorganismos evaluados; sin embargo la cepa nativa *Bacillus subtilis* presentó resistencia a los 15 minutos, lo que pudo deberse a su estructura de resistencia (esporas) (Maillard, 2018).

12. Conclusiones

Los microorganismos nativos aislados e identificados en los ambientes de procesamiento de fitoterapéuticos, cosméticos y fórmulas magistrales en la planta de producción de LABFARVE correspondieron a *Bacillus subtilis* y *Penicillium marneffe* las cuales demostraron, en general, mayor resistencia a los desinfectantes ensayados comparadas con las cepas ATCC.

La cepa nativa de *Bacillus subtilis* requirió más de 5 minutos para su eliminación con Hipoclorito de Sodio al 1%; por su parte la cepa nativa *Penicillium marneffe* sólo se inactivó con hipoclorito de sodio al 1% en 15 minutos.

La combinación Glutaraldehído + Formaldehído a una concentración del 2% v/v resultó ser más efectiva en la eliminación de los microorganismos ensayados; sin embargo, la cepa nativa *B.subtilis* evidenció resistencia al glutaraldehído al 2% a los 5 y 10 minutos de exposición ensayados.

El etanol al 96% fue muy eficaz para reducir todas las cepas ensayadas, aunque para la cepa nativa *Bacillus subtilis* se requirió mayor tiempo de contacto en todas las concentraciones, para su eliminación; la cepa nativa *Penicillium marneffe*, reportó crecimiento observable a los cinco minutos de evaluación con este desinfectante.

Finalmente, la resistencia inicial de ciertos microorganismos, como la formación de esporas en *Bacillus subtilis* o las complejas estructuras celulares de *Penicillium marneffe*, refuerza el hecho que la naturaleza estructural de los microorganismos desempeña un papel fundamental en su capacidad para resistir agentes desinfectantes, destacando la necesidad

de personalizar los protocolos de desinfección según las características de las cepas microbianas presentes.

13. Referencias

- Akinnola, O., Adeduro, M., & Mmadu, C. (2022). Microbiological evaluation of the environmental quality of a pharmaceutical plant in Lagos, Southwest Nigeria. *World Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, 2(2), 063–069. <https://doi.org/10.53346/wjbpr.2022.2.2.0031>
- AOAC 955.15, (n.d). AOAC 955.15 . Is utilized for determining the efficacy of disinfectants. *In Oficial Methods of analysis of AOAC international*, Chapter 6- Desinfectants. USA. Edición actual.
<https://www.situbiosciences.com/product/aoac-use-dilution-test-955-11-955-14-964-02-disinfectants/>
- Ardila, E. (2016). Validación del proceso de limpieza y desinfección de equipos de la planta de fitoterapéuticos del laboratorio LABFARVE.
<http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/1212>
- Bedoya, L., & Corredor, L. (2013). Validación concurrente de cuatro desinfectantes utilizados en el Laboratorio de Indicadores de Calidad de Aguas y Lodos de la Pontificia Universidad Javeriana.
<https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/11846>
- Bustos, C., & Gavelli, M. (2023). Antisépticos, detergentes, desinfectantes.
<https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/548329/MANUAL%20Antis%C3%A9pticos%20y%20Desinfectantes%20HNC%20versi%C3%B3n%202020RDU.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Cao, L., Chan, K. M., Chen, D., Vanittanakom, N., Lee, C., Chan, C. M., Sirisanthana, T., Tsang, D. N., & Yuen, K. Y. (1999). Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffe* and in sera of penicilliosis patients. *Journal of clinical microbiology*, 37(4), 981–986.
<https://doi.org/10.1128/JCM.37.4.981-986.1999>
- Cardoza, V. (2021). Eficacia del ácido peracético para la desinfección in situ en el área de envasado de formas farmacéuticas estériles en un laboratorio de industria farmacéutica, lima, septiembre-2019 a septiembre 2020.
<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/5672>
- Chacon, L., & Rojas, K (2020). Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022020000100007
- Colcha, J. (2016). Evaluación microbiológica de la eficacia del desinfectante tego 51 empleado en el proceso de limpieza y desinfección de la sacheteadora effytec en Ginsberg Ecuador. Escuela superior politécnica de Chimborazo.
<Http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5730/1/56t00658.pdf>
- Demera, F., Macías, E., Rivadeneira, R., Zambrano, L., Cevallos, K., María del Pilar Quiñonez, M. del P., & Montesdeoca, R. (2022). Biocidas eficientes para control de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* y aerobios mesófilos en huevos de gallina comerciales.

<https://revistaecuadorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/download/305/238>

El-Din, M., Mansy, M., & Eissa, M. (2011). Microbiological Environmental Monitoring in Pharmaceutical Facility.

https://journals.ekb.eg/article_16696_c359ea025d99c01ebf590f61fa99e2dc.pdf

Fraise, A. (1999). Choosing disinfectants. *Journal of Hospital Infection*,

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670199904218>

Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación (Sexta edición).

https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf

Instituto de Salud Pública. (2015). Consideraciones importantes en el uso de desinfectantes.

https://www.ispch.cl/sites/default/files/Nota_Tecnica_N_025_Consideraciones_Importantes_en_el_Uso_de_Desinfectantes.pdf

INVIMA. (2019). Guía de validación de procesos. [https://www.qbd.lat/wp-](https://www.qbd.lat/wp-content/uploads/Guia-Valida%C3%A7%C3%A3o-de-processo-INVIMA-fev2019.pdf)

[content/uploads/Guia-Valida%C3%A7%C3%A3o-de-processo-INVIMA-fev2019.pdf](https://www.qbd.lat/wp-content/uploads/Guia-Valida%C3%A7%C3%A3o-de-processo-INVIMA-fev2019.pdf)

Klis, F. M., Mol, P., Hellingwerf, K., & Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(3), 239–256.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x>

LABFARVE, (2021). Manual de Rotación de Desinfectantes.

- Maeso, G. (2018). Desinfectantes en la clínica dental. https://www.gacetadental.com/wp-content/uploads/2018/09/305_INFORME_Desinfectantes.pdf
- Maillard J. Y. (2018). Resistance of Bacteria to Biocides. *Microbiology spectrum*, 6(2), 10.1128/microbiolspec.ARBA-0006-2017.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0006-2017>
- Martín, P. G., González, M. B., Martínez, A. R., Lara, V. G., & Naveros, B. C. (2012). Isolation and characterization of the environmental bacterial and fungi contamination in a pharmaceutical unit of mesenchymal stem cell for clinical use. *Biologicals*, 40(5), 330-337. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2012.06.002>
- Martínez, J. (2019). Validación de la actividad biocida de seis desinfectantes, utilizados para mantener la inocuidad de la planta de una industria farmacéutica
<http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/14338>
- McDonnell, G., & Russell, A. (2001). Erratum: Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance (*Clinical Microbiology Reviews* (1999) 12:1 (147-179)). *Clinical Microbiology Reviews*.
- Ministerio de la Protección Social. (2004). Decreto número 2266 de 2004. Obtenido de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Decreto-2266-de-2004>.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). Resolución número. 003619. DE 2013. Por la cual se expide el Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio de Control de Calidad de. Productos Farmacéuticos. Obtenido de

https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%203619%20de%202013.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2018). Decreto 1156 de 2018.

<https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=87281pdf>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2020) Limpieza y Desinfección en Servicios de Salud ante la introducción del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) a Colombia.

<https://www.minsalud.gov.co/Ministerio/Institucional/Procesos%20y%20procedimientos/GIPS07.pdf>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2021). Análisis de Impacto Normativo Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Fitoterapéuticos.

https://www.minsalud.gov.co/Anexos_Normatividad_Nuevo/Analisis-Impacto-Productos-Fitoterapeuticos.pdf

Ministro de la Protección Social. (2005). Resolución número 005107 de 2005. Adopta el Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias para los Laboratorios que elaboren Productos Fitoterapéuticos. Obtenido de

https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/RESOLUCI%C3%93N%205107%20DE%202005.pdf

Muñoz, A. (2016). Validación de métodos microbiológicos.

<https://web.invima.gov.co/documents/20143/1433420/Validaci%C3%B3n+cualitativa+Microbiolog%C3%ADa.pdf>

- Noel, D. (2023) The Antibacterial Efficacy of Disinfectants used for Infection Control. https://eprints.soton.ac.uk/476264/1/The_Antibacterial_Efficacy_of_Disinfectants_used_for_Infection_Control.pdf
- Organización Mundial de la Salud. (2022). Cuidado, limpieza, desinfección y esterilización de dispositivos respiratorios. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/care-cleaning-disinfection-and-sterilization-es.pdf?sfvrsn=c2b0d672_7&download=true
- Organización Panamericana de la Salud. (2008). Manual de esterilización para centros de salud. https://www1.paho.org/PAHO-USAID/dmdocuments/AMR-Manual_Esterilizacion_Centros_Salud_2008.pdf
- Samamé, L., & Samalvides, F. (2014). Eficacia del proceso de limpieza y desinfección de los endoscopios en un hospital de nivel III. *Revista Médica Herediana*, Vol.25(4), 208. <https://doi.org/10.20453/rmh.v25i4.2179>
- Serrat, C., Magraner, J., Guna, R., & Domínguez, V. (s.f.). *Penicillium marneffe* y Peniciliosis. *Control Calidad SEIMC*, 1–6. Retrieved from <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/Pmarneff.pdf>
- Setyowati, T., Carissa, II, Anom, B, et al (2020). Identification and functional characterization of *Penicillium marneffe* major facilitator superfamily (MFS) transporters, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol.84(7), pp. 1373-1383. DOI: 10.1080/09168451.2020.1732185

Severino, C. (2023). Eficiencia germicida y coeficiente de dilución del Ácido Hipocloroso in vitro frente a cepas bacterianas potencialmente frecuentes en la Industria Alimentaria. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/195138/Eficiencia-germicida-y-coeficiente-de-dilucion-del-acido-hipocloroso-in-vitro.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

USP 1072. Farmacopea de Estados Unidos (2023). Desinfectantes y Antisépticos

USP 1227. Farmacopea de Estados Unidos (2023). Validación de Recuperación Microbiana.

14. Anexos

Anexo 1.

Resultados laboratorio externo. Identificación de cepa nativa Bacillus subtilis

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 1 de 8

1. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

MUESTRA: Crecimiento suministrado en una caja de agar por LABFARVE.

CLIENTE: LABFARVE

NUMERO DE ANÁLISIS: MTE23-87.

ORIGEN DE LA MUESTRA: Repique del microorganismo identificado como “*Bacillus repique*”.

2. OBJETIVO.

Realizar identificación y tipificación de los repiques suministrados por LABFARVE

3. FECHA DE ANÁLISIS.

Inicio: 230810

Finalización: 230815.

4. MATERIALES Y EQUIPOS.

Tabla1. Instrumentos y equipos

EQUIPO	MARCA	SERIE	CODIGO SAP / METROLOGÍA	Estado metrológico última fecha de ejecución		Estado metrológico próxima fecha de ejecución	
				Calificación	Calibración	Calificación	Calibración
Incubadora 33 ± 2°C	POL-EKO	CLW10 210008	2109	DIC/2022	N/A	DIC/2023	N/A
Cabina de Flujo Laminar Horizontal	Sterilof Modelo CFBS400 0	004/120 4	2009	DIC/2022	N/A	DIC/2023	N/A
Vortex	SCIEN TI FIC	140316	2048	N/A	N/A	N/A	N/A
Microscopio	Tecnivasc ulas y balanzas	N/A	2073	N/A	N/A	N/A	N/A
Vitek 2 Compact	Biomerieu x	YLXZC 23619	2113	N/A	N/A	N/A	N/A

Tabla 2. Medios de cultivo y/o reactivos.

 SFC LABORATORIOS SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD - LTDA.	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 2 de 8

REACTIVO	MARCA	CÓDIGO	LOTE	FECHA VENCIMIENTO
Agar Casoy	Scharlau	MR - 9	137714	270731
VITEK 2 BCL	Biomerieux	MR-61	2392286203	240229
Cristal Violeta	Biopharchem	MR-4	23152	250331
Fuscina de Gram	Biopharchem	MR-2	23173	250331
Lugol de Gram	Biopharchem	MR-3	23116	250228
Alcohol acetona	Biopharchem	MR-5	23129	250228
Aceite de inmersión	Biopharchem	MR-1	23037	250131

5. TRAZABILIDAD DE MEDIO DE CULTIVO

Tabla 3. Trazabilidad de medio de cultivo

Medio de cultivo	Lote proveedor	Lote interno	Fecha de Preparación	Promoción y crecimiento	
				Cepas	Resultado
Agar Casoy	137714	MC23-31	230804	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.03
				<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1.02
				<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.03
				<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	1.02
				<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.03
				<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	1.03

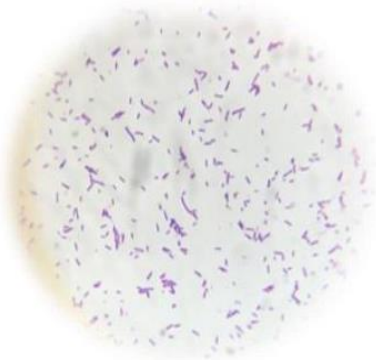
 SFC LABORATORIOS SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD LTDA.	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 3 de 8

6. IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA

Se realizó un pase para el aislamiento y posterior identificación de la cepa.

6.1 Morfología macro y microscópica.

Tabla 4. Identificación macro y microscópica de *Bacillus subtilis*

TIPIFICACION CEPA	<i>Bacillus subtilis</i>
MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA	 Colonias cremosas, correosas e irregulares
MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA	 Bacilos Gram Positivos

 SFC LABORATORIOS SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD LTDA.	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 4 de 8

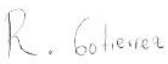
6.2 Descripción /características de la cepa

Es un microorganismo Gram positivo, con forma de bastón, anaerobio facultativo y esporoformador. Por tinción de Gram se observan bacilos positivos grandes de extremos rectos, aislados, en pares o cadenas, la mayoría móvil por flagelos peritricos. Las condiciones óptimas para su crecimiento son de 30°C a 40°C, con un rango de crecimiento entre 4°C y 55°C. Es mesófilo, pero existen cepas psicrótrofas. El pH óptimo para el desarrollo es entre 6.0 y 7.0, con un mínimo de 5.0 y un máximo de 8.8. La actividad acuosa (aw) mínima para su desarrollo es 0.93 (1). La capacidad de esporular es una característica importante, porque estas estructuras confieren a la bacteria resistencia a condiciones adversas, de esta manera pueden seguir viables a pesar de que las células vegetativas hayan sido destruidas. Luego, si las condiciones son las apropiadas, la espora germina y el microorganismo puede crecer. La espora se desarrolla en forma central o subterminal sin deformación del esporangio. Para la germinación de las esporas, algunas cepas necesitan activación por calor (shock térmico), una opción es por calentamiento a 80°C durante 10 minutos. Esta propiedad es utilizada en algunas técnicas analíticas y es de importancia a la hora de establecer el origen de algunos brotes de ETA causados por este microorganismo. Es resistente a la penicilina y más resistente que otros microorganismos esporulados al tratamiento con ácido peracético, el cual se usa como alternativa al peróxido de hidrógeno en el tratamiento de los envases para envasado aséptico de alimentos.

REFERENCIAS

Claus, D., Berkeley, R.C.W., 1986. Genus Bacillus. En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. Pág: 1105-1139.

RESPONSABLES

ACTIVIDAD	ELABORACIÓN	REVISIÓN	APROBACIÓN
RESPONSABLE	Rouwan José Gutierrez Patemina	Julián Camargo	Carlos Romero
CARGO	Analista de Microbiología Senior	Coordinador de Microbiología	Jefe de microbiología
FIRMA			
FECHA	230816	230816	230816

		LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD	
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 5 de 8

ANEXO 1: Hoja de datos primarios VITEK.

Cliente de bioMérieux: Equipo N°: Última actualización: 15-ago-2023 10:21 COT Por: AnalistaMicro Aislamiento: MTE23-87-1 (Aprobado) Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392320203498745 Prueba de instrumento: 00001DAEF897 (23619-LAB.SFC) Técnico de preparación: Santiago Acosta(S.Acosta)		Informe de examen Editado por: CoordinadorMicro Revisión n°: 4 de 4															
Bionúmero: 1060170515447260 Cantidad de organismo:		Organismo seleccionado: Bacillus subtilis															
<table border="1"> <tr> <td rowspan="4">Comentarios:</td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> </tr> </table>				Comentarios:													
Comentarios:																	
Patrón McFarland:																	
<table border="1"> <tr> <td>Información de identificación</td> <td> Tarjeta: BCL Estado: Final </td> <td> N° de lote: 2392320203 Tiempo de análisis: 13,90 horas </td> <td> Fecha caduc.: 03-abr-2024 12:00 COT Finalizado: 15-ago-2023 06:14 COT </td> </tr> </table>		Información de identificación	Tarjeta: BCL Estado: Final	N° de lote: 2392320203 Tiempo de análisis: 13,90 horas	Fecha caduc.: 03-abr-2024 12:00 COT Finalizado: 15-ago-2023 06:14 COT												
Información de identificación	Tarjeta: BCL Estado: Final	N° de lote: 2392320203 Tiempo de análisis: 13,90 horas	Fecha caduc.: 03-abr-2024 12:00 COT Finalizado: 15-ago-2023 06:14 COT														
Origen del organismo		VITEK 2															
Organismo seleccionado		85% Probabilidad Bacillus subtilis Bionúmero: 1060170515447260 Nivel de confianza: Identificación aceptable															
Organismo SRF																	
Organismos de análisis y pruebas a separar: Bacillus subtilis/amy loliquefaciens/ atrophaceus Bacillus amy loliquefaciens BrownBlack(10),INULIN(11),CellChains(84), Bacillus atrophaceus BrownBlack(90),CellChains(20), Bacillus subtilis BrownBlack(10),INULIN(83),CellChains(22),																	
Mensajes análisis: Véanse datos adicionales en la información sobre el producto.																	
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Bacillus subtilis/amy loliquefaciens/ PheA(97),LeuA(93),ELLM(76),BGAL(75),TyrA(97),AGLU(99),GlyA(87), atrophaceus																	
Detalles bioquímicos																	
1	BXYL	+	3	LysA	-	4	AspA	-	5	LeuA	-	7	PheA	-	8	ProA	-
9	BGAL	-	10	PyrA	+	11	AGAL	+	12	AlaA	-	13	TyrA	-	14	BNAG	-
15	APPA	(+)	18	CDEX	-	19	dGAL	-	21	GLYG	+	22	INO	+	24	MdG	+
25	ELLM	-	26	MdX	-	27	AMAN	-	29	MTE	+	30	GlyA	-	31	dMAN	+
32	dMNE	+	34	dMLZ	-	36	NAG	-	37	PLE	+	39	IRHA	-	41	BGLU	+
43	BMAN	-	44	PHC	-	45	PVATE	+	46	AGLU	-	47	dTAG	-	48	dTRE	+
50	INU	+	53	dGLU	+	54	dRIB	+	56	PSCNa	-	58	NaCl 6.5%	+	59	KAN	-
60	OLD	-	61	ESC	+	62	TTZ	+	63	POLYB I	-						

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02
 Guía de interpretación de CMI:
 Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:
 Última modificación de parámetros de AES:
 Página 1 de 2

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 6 de 8

Cliente de bioMérieux:

Informe de examen

Editado por: CoordinadorMicro

Equipo N°:

Revisión n°: 4 de 4

Última actualización: 15-ago-2023 10:21 COT Por: AnalistaMicro

Aislamiento: MTE23-87-1 (Aprobado)

Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392320203498745 Prueba de instrumento: 00001 DAEF897 (23619-LAB.SFC)

Técnico de preparación: Santiago Acosta(S.Acosta)

Bionúmero: 1060170515447260

Organismo seleccionado: Bacillus subtilis

Cantidad de organismo:

Acción	Nombre (ID de usuario)	Fecha/Hora	Comentario
Revisado por:	Rouwan Gutierrez (AnalistaMicro)	15-ago-2023 10:26 COT	
Validado por:	Carlos Romero (CoordinadorMicro)	15-ago-2023 12:01 COT	

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI:

Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:

Última modificación de parámetros de AES:

Página 2 de 2

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
	INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE		
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 7 de 8

ANEXO 2: Hoja datos primarios Promoción y Crecimiento

	LABORATORIOS S.F.C.LTDA																																						
	SERVICIOS FARMACEUTICOS DE CALIDAD																																						
RESULTADOS PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO E INHIBITORIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO																																							
CÓDIGO: CT-26F1	VERSIÓN: No. 10	FECHA DE EMISIÓN: 221130	PÁGINA: 1 de 2																																				
FECHA DE PREPARACIÓN: 230801	FECHA DE PROMOCIÓN: 230804	LOTE PROVEEDOR: 137714																																					
MEDIO DE CULTIVO: Agar Casoy (TSA)	LOTE INTERNO: MR-9/MC23-31																																						
CANTIDAD DE MEDIO PREPARADO: 2693.04 g	VOLUMEN PREPARADO: 65000 mL																																						
DATOS ADICIONALES																																							
Color	Deseado																																						
Apariencia	Deseada																																						
pH	7.24																																						
Frascos X 500mL	130																																						
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CEPA DE REFERENCIA</th> <th>LOTE INTERNO</th> <th>LOTE PROVEEDOR</th> <th>TEMPERATURA DE INCUBACIÓN</th> <th>TIEMPO DE INCUBACIÓN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A. brasiliensis ATCC 16404</td> <td>Ab/230729-10</td> <td>392-1204-2</td> <td>23°C</td> <td>5 Días</td> </tr> <tr> <td>B. subtilis ATCC 6633</td> <td>Bs/230803-04</td> <td>486-1275-1</td> <td>33°C</td> <td>24 Horas</td> </tr> <tr> <td>C. albicans ATCC 10231</td> <td>Ca/230802-10</td> <td>443-1429-2</td> <td>23°C</td> <td>72 Horas</td> </tr> <tr> <td>C. sporogenes ATCC 19404</td> <td>Cs/230802-50</td> <td>317-348-2</td> <td>33°C</td> <td>48 a 72 Horas</td> </tr> <tr> <td>P. aeruginosa ATCC 9027</td> <td>Pa/230803-10</td> <td>484-1417-1</td> <td>33°C</td> <td>24 Horas</td> </tr> <tr> <td>S. aureus ATCC 6538</td> <td>Sa/230803-10</td> <td>485-1025-3</td> <td>33°C</td> <td>24 Horas</td> </tr> </tbody> </table>					CEPA DE REFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN	A. brasiliensis ATCC 16404	Ab/230729-10	392-1204-2	23°C	5 Días	B. subtilis ATCC 6633	Bs/230803-04	486-1275-1	33°C	24 Horas	C. albicans ATCC 10231	Ca/230802-10	443-1429-2	23°C	72 Horas	C. sporogenes ATCC 19404	Cs/230802-50	317-348-2	33°C	48 a 72 Horas	P. aeruginosa ATCC 9027	Pa/230803-10	484-1417-1	33°C	24 Horas	S. aureus ATCC 6538	Sa/230803-10	485-1025-3	33°C	24 Horas
CEPA DE REFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN																																			
A. brasiliensis ATCC 16404	Ab/230729-10	392-1204-2	23°C	5 Días																																			
B. subtilis ATCC 6633	Bs/230803-04	486-1275-1	33°C	24 Horas																																			
C. albicans ATCC 10231	Ca/230802-10	443-1429-2	23°C	72 Horas																																			
C. sporogenes ATCC 19404	Cs/230802-50	317-348-2	33°C	48 a 72 Horas																																			
P. aeruginosa ATCC 9027	Pa/230803-10	484-1417-1	33°C	24 Horas																																			
S. aureus ATCC 6538	Sa/230803-10	485-1025-3	33°C	24 Horas																																			
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CEPA DE INTERFERENCIA</th> <th>LOTE INTERNO</th> <th>LOTE PROVEEDOR</th> <th>TEMPERATURA DE INCUBACIÓN</th> <th>TIEMPO DE INCUBACIÓN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="5"> </td> </tr> </tbody> </table>					CEPA DE INTERFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN																														
CEPA DE INTERFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN																																			
CONTROL DE ESTERILIZACIÓN: Positivo																																							
Productividad (P*)																																							
CEPA	RTO Medio referencia (***)(50 a 200 UFC/mL)		RTO Medio analizado (***)(50 a 200 UFC/mL)		Resultado ($\geq 0,6$) ó Turbidez media/alta	Microscopía																																	
	R1	R2	R1	R2																																			
A. brasiliensis ATCC 16404	54	58	57	59	1.0357142857143	Conidos																																	
B. subtilis ATCC 6633	74	75	78	74	1.0201342281879	Bacilos Gram Positivos																																	
C. albicans ATCC 10231	65	66	69	68	1.0300751879699	Levaduras																																	
C. sporogenes ATCC 19404	65	68	69	68	1.0300751879699	Bacilos Gram Positivos																																	
P. aeruginosa ATCC 9027	74	75	78	74	1.0201342281879	Bacilos Gram Negativos																																	

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
	INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE		
Código: CT-12I6-23INF088	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230815	Página 8 de 8

	LABORATORIOS S.F.C.LTDA					
	SERVICIOS FARMACEUTICOS DE CALIDAD					
RESULTADOS PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO E INHIBITORIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO						
CÓDIGO: CT-26F1		VERSIÓN: No. 10		FECHA DE EMISIÓN: 221130		PÁGINA: 2 de 2
S. aureus ATCC 6538	65	68	69	68	1.0300751879699	Cocos Gram Positivos
Selectividad (Se^{***})						
CEPA	RTO Medio referencia (****) (50 a 200 UFC/mL)		RTO Medio analizado (****) (50UFC/mL)		Resultado (>= 70%) o Turbidez nula	Microscopia
	R1	R2	R1	R2		
Analista	Fecha	Verificado	Concepto			
Por Poder Rouwan José Gutierrez Paternina	230809	Julian David Camargo	Cumple			
EQUIPO		MARCA	SERIE	TEMPERATURA		
INCUBADORA N°10		POL-EKO	CLW10210008	33°C ±2°C		
INCUBADORA N°9		POL-EKO	ST 122110013	23°C ±2°C		
Anexos						
1) *P=Re/Ro			6) Turbidez alta: +++		10) Inóculo no más de 100ufc/mL.	
2) **Se=(Ro-Re)x Ro /100			7) Turbidez media: ++		El crecimiento obtenido no debe diferir	
3) Re= Recuento medio analizado			8) Turbidez baja: +		en un factor mayor de 2 del valor	
4) Ro= Recuento medio referencia			9) Turbidez nula: -		calculado para un inóculo estandarizado.	
5) ***RTO= (R1+R2/2)						
Nota 1: La productividad debe ser igual o mayor al 0,5.						
Nota 2: La selectividad debe ser igual o mayor al 70%.						

Anexo 2.

Resultados laboratorio externo. Identificación de cepa nativa *Penicillium marneffe*

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 1 de 7

1. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

MUESTRA: Repique de cepa suministrada por LABFARVE

CLIENTE: LABFARVE

NÚMERO DE ANÁLISIS: MTE23-86

ORIGEN DE LA MUESTRA: Repique del microorganismo identificado como “Repike Maicol H”.

2. OBJETIVO.

Realizar identificación y tipificación del microorganismo suministrado por LABFARVE.

3. FECHA DE ANÁLISIS.

Inicio: 230810.

Finalización: 230816.

4. MATERIALES Y EQUIPOS.

Tabla1. Instrumentos y equipos

EQUIPO	MARCA	SERIE	CODIGO SAP / METROLOGÍA	Estado metrológico última fecha de ejecución		Estado metrológico próxima fecha de ejecución	
				Calificación	Calibración	Calificación	Calibración
Incubadora 23 ± 2°C	SANYO MIR-252	4010058 2	2015	DIC/2022	N/A	DIC/2023	N/A
Cabina de Flujo Laminar Horizontal	Sterilof Modelo CFBS400 0	004/120 4	2009	DIC/2022	N/A	DIC/2023	N/A
Vortex	SCIEN- TIFIC	140316	2048	N/A	N/A	N/A	N/A
Microscopio	Tecnivasc ulas y balanzas	N/A	2073	N/A	N/A	N/A	N/A

 SFC LABORATORIOS SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD - LTDA.	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 2 de 7

Tabla 2. Medios de cultivo y/o reactivos.

REACTIVO	MARCA	CÓDIGO	LOTE	FECHA VENCIMIENTO
Agar Sabouraud	Scharlau	MR - 15	VM10377138	271231
Azul de Lactofenol	Biopharchem	MR-21	23039	250131
Aceite de inmersión	Biopharchem	MR-1	23037	250131

5. TRAZABILIDAD DE MEDIO DE CULTIVO

Tabla 3. Trazabilidad de medio de cultivo

Medio de cultivo	Lote proveedor	Lote interno	Fecha de Preparación	Promoción y crecimiento	
				Cepas	Resultado
Agar Sabouraud	VM10377138	MC23-31	230803	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1,03
				<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.03

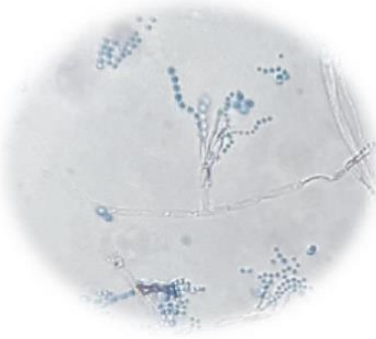
	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 3 de 7

6. IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA

Se realizó un pase para el aislamiento y posterior identificación de la cepa.

6.1 Morfología macro y microscópica.

Tabla 4. Identificación macro y microscópica de *Penicillium* sp.

TIPIFICACIÓN CEPA	<i>Penicillium</i> sp.		
MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA		Colonias en agar Sabouraud de color blanca con esporulación verde o azulada y textura aterciopelada.	
MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA		Conidióforos ramificados (penicilados), con métula y ramas. Conidios globosos a subglobosos formando cadenas basipétalas. Hifas hialinas y septadas.	

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-1216-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 4 de 7

6.3 Descripción /características de la cepa

Penicillium es un género de hongos saprobios ubicuos con más de 300 especies conocidas, pero pocas son reconocidas como patógenos de animales o personas [1]. Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido; al principio de color blanco y con el tiempo adquieren color azul, azul verdoso, verde, gris oliva o tonos rosados, con reverso amarillo cremoso. La textura puede ser plana, filamentosa, aterciopelada o algodonosa dependiendo de la especie. Microscópicamente presenta hifas hialinas septadas. Los conidióforos tienen ramas secundarias, denominadas métulas [2]. *Penicillium marneffei*, el único miembro dimórfico del género, es un patógeno emergente de humanos inmunocomprometidos, y también se han informado infecciones de pacientes inmunocompetentes [3].

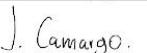
REFERENCIAS

[1] Watt, P. R., Robins, G. M., Galloway, A. M., & O'boyle, D. A. (1995). Disseminated opportunistic fungal disease in dogs: 10 cases (1982-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(1), 67-70.

[2] Pitt, J. I. (1994). The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *Journal of medical and veterinary mycology*, 32(sup1), 17-32.

[3] Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., ... & Frisvad, J. C. (2005). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 53(1), 1-27.

RESPONSABLES

ACTIVIDAD	ELABORACIÓN	REVISIÓN	APROBACIÓN
RESPONSABLE	Rouwan José Gutierrez Patemina	Julián Camargo	Carlos Romero
CARGO	Analista de Microbiología Senior	Coordinador de Microbiología	Jefe de microbiología
FIRMA			
FECHA	230816	230816	230816

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE			
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 5 de 7

ANEXO 1: Clave Taxonómica.

De acuerdo a las claves taxonómicas para la identificación de hongos se siguieron los siguientes pasos para la identificación de este hongo:

- 1) Colonias con micelio vegetativo abundante, esporas o conidios originados dentro o en estructuras o células especiales.
- 2) Micelio regularmente septado, propágulos de origen sexual o asexual no originados en esporangios.
- 3) Propágulos asexuales (conidios) producidos en células especiales (células conidiogénicas)..... “DEUTEROMYCOTA”.
- 4) Micelio regularmente septado. Conidios presentes en conidiomas o en conidióforos formados directamente del micelio.
- 5) Conidios no originados en picnidios, pero si directamente de la hifa, en conidióforos, esporodoquios o sinemas.
- 6) Conidios en cadenas secas o adherentes formadas en sucesiones basipétala a partir de células conidiogénicas especiales (fiálides, anélidos), formando cadenas o cabezas mucilaginosas, o conidios formados en células conidiogénicas retrogresivas o por fragmentación de la hifa fértil en cuartetos.
- 7) Conidios en cadenas secas o adherentes formadas en sucesiones basipétalas. Conidios de 1 (ameroconidios) o 2 células (didimoconidios).
- 8) Conidios siempre unicelulares, originados en células conidiogénicas en forma de botella o cilíndrica, en cadenas, colonias de varios colores.
- 9) Colonias usualmente no restringidas, excepto en especies osmofílicas de *Aspergillus*. Colonias no marrón-rojizas. Los conidios no se forman por fragmentación de las hifas.
- 10) Conidióforos sin hinchamiento apical.
- 11) Células conidiogénicas en fiálide. Conidios sin una base truncada amplia.
- 12) Colonias a menudo verdosas (algunas especies regularmente blancas a crema con esporulación verde azulado). Fiálides con cuello corto originadas en conidióforos.
- 13) Conidióforos simples o ramificados (penicilados), con métula y ramas. Conidios globosos a subglobosos formando cadenas basipétalas. Generalmente con textura aterciopelada..... ***Penicillium sp.***

Clave taxonómica recuperada de: Correa, M; Bocanegra, M.X. (2020). Guías de trabajo experimental en micología. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana.

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
	INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE		
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 6 de 7

ANEXO 2: Hoja datos primarios Promoción y Crecimiento

	LABORATORIOS S.F.C.LTDA																		
	SERVICIOS FARMACEUTICOS DE CALIDAD																		
RESULTADOS PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO E INHIBITORIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO																			
CÓDIGO: CT-26F1	VERSIÓN: No. 10	FECHA DE EMISIÓN: 221130	PÁGINA: 1 de 2																
FECHA DE PREPARACIÓN: 230803	FECHA DE PROMOCIÓN: 230804	LOTE PROVEEDOR: VM1037138																	
MEDIO DE CULTIVO: Agar Sabouraud (SB)	LOTE INTERNO: MR-15/MC23-31																		
CANTIDAD DE MEDIO PREPARADO: 4225.37 g	VOLUMEN PREPARADO: 65000 mL																		
DATOS ADICIONALES																			
Color	Deseado																		
Apariencia	Deseada																		
pH	5.62																		
Frascos X 500mL	130																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CEPA DE REFERENCIA</th> <th>LOTE INTERNO</th> <th>LOTE PROVEEDOR</th> <th>TEMPERATURA DE INCUBACIÓN</th> <th>TIEMPO DE INCUBACIÓN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A. brasiliensis ATCC 16404</td> <td>Ab/230729-10</td> <td>392-1204-2</td> <td>23°C</td> <td>5 Días</td> </tr> <tr> <td>C. albicans ATCC 10231</td> <td>Ca/230802-10</td> <td>443-1429-2</td> <td>23°C</td> <td>72 Horas</td> </tr> </tbody> </table>					CEPA DE REFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN	A. brasiliensis ATCC 16404	Ab/230729-10	392-1204-2	23°C	5 Días	C. albicans ATCC 10231	Ca/230802-10	443-1429-2	23°C	72 Horas
CEPA DE REFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN															
A. brasiliensis ATCC 16404	Ab/230729-10	392-1204-2	23°C	5 Días															
C. albicans ATCC 10231	Ca/230802-10	443-1429-2	23°C	72 Horas															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>CEPA DE INTERFERENCIA</th> <th>LOTE INTERNO</th> <th>LOTE PROVEEDOR</th> <th>TEMPERATURA DE INCUBACIÓN</th> <th>TIEMPO DE INCUBACIÓN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					CEPA DE INTERFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN										
CEPA DE INTERFERENCIA	LOTE INTERNO	LOTE PROVEEDOR	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN															
CONTROL DE ESTERILIZACIÓN: Positivo																			
Productividad (P*)																			
CEPA	RTO Medio referencia (***)(50 a 200 UFC/mL)		RTO Medio analizado (***)(50 a 200 UFC/mL)		Resultado (>= 0,5) ó Turbidez media/alta	Microscopia													
	R1	R2	R1	R2															
A. brasiliensis ATCC 16404	54	58	57	59	1.0357142857143	Conidos													
C. albicans ATCC 10231	65	68	69	68	1.0300751879699	Levaduras													
Selectividad (Se**)																			
CEPA	RTO Medio referencia (***)(50 a 200 UFC/mL)		RTO Medio analizado (***)(0UFC/mL)		Resultado (>= 70%) ó Turbidez nula	Microscopia													
	R1	R2	R1	R2															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Analista</th> <th>Fecha</th> <th>Verificado</th> <th>Concepto</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Por Poder Rouwan José Gutierrez Paternina</td> <td>230809</td> <td>Julian David Camargo</td> <td>Cumple</td> </tr> </tbody> </table>							Analista	Fecha	Verificado	Concepto	Por Poder Rouwan José Gutierrez Paternina	230809	Julian David Camargo	Cumple					
Analista	Fecha	Verificado	Concepto																
Por Poder Rouwan José Gutierrez Paternina	230809	Julian David Camargo	Cumple																

	LABORATORIOS S.F.C. LTDA. SERVICIOS FARMACÉUTICOS DE CALIDAD		
	INFORME DE TIPIFICACIÓN DE LABFARVE		
Código: CT-12I6-23INF080	Versión: 1	Fecha de Emisión: 230816	Página 7 de 7

	LABORATORIOS S.F.C.LTDA		
	SERVICIOS FARMACEUTICOS DE CALIDAD		
RESULTADOS PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO E INHIBITORIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO			
CÓDIGO: CT-26F1	VERSIÓN: No. 10	FECHA DE EMISIÓN: 221130	PÁGINA: 2 de 2
EQUIPO	MARCA	SERIE	TEMPERATURA
INCUBADORA N°9	POL-EKO	ST 122110013	23°C ±2°C

Anexos		
1) *P=Re/Ro	6) Turbidez alta: +++	10) Inóculo no más de 100ufc/mL
2) **Se=(Ro-Re)x Ro /100	7) Turbidez media: ++	El crecimiento obtenido no debe diferir
3) Re= Recuento medio analizado	8) Turbidez baja: +	en un factor mayor de 2 del valor
4) Ro= Recuento medio referencia	9) Turbidez nula: -	calculado para un inóculo estandarizado.
5) ***RTO= (R1+R2/2)		
Nota 1: La productividad debe ser igual o mayor al 0,5.		
Nota 2: La selectividad debe ser igual o mayor al 70%.		