

**ELABORACIÓN DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS
MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS DE USO
ORAL Y SU MATERIA PRIMA DE LABORATORIO JOHNVERY
SINCELEJO (SUCRE)**

EMIRO JOSÉ MULETT FLÓREZ

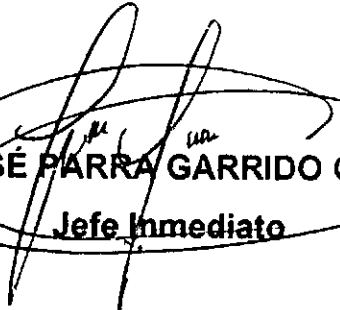
**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
CARTAGENA DE INDIAS D.T. Y C.**

2005

**ELABORACIÓN DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS
MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS DE USO
ORAL Y SU MATERIA PRIMA DE LABORATORIO JOHNVERY
SINCELEJO (SUCRE)**

EMIRO JOSÉ MULETT FLÓREZ
Informe final de pasantia presentado como requisito parcial para
obtener el titulo de químico farmacéutico


BERNARDA CUADRADO M.sc.
Asesora del proyecto


JOSÉ PARRA GARRIDO Q.F.
Jefe Inmediato

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
CARTAGENA DE INDIAS D.T. Y C.**

2005

Jueves / 2 pm


B.S.
T.
615.32
M954

3

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA	
CENTRO DE INFORMACION Y DOCUMENTACION	
FORMA DE ADQUISICION	
Compra _____ Donación _____ Cargos _____ de C. <input checked="" type="checkbox"/>	
Precio \$ <u>10.000</u>	Proveedor: <u>Fe. Quim. Farm</u>
No. de Acceso <u>98992</u>	No. _____
Fecha de ingreso: DD <u>23</u> MM <u>01</u> AA <u>06</u>	

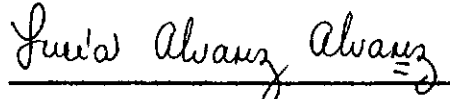
NOTA DE ACEPTACIÓN

PRESIDENTE DEL JURADO



Prisciliano Martínez Q.F.

JURADO



Lucia Álvarez Q.F.

JURADO



Erika Rodríguez Q.F.

Cartagena de Indias, Noviembre 17 del 2005

A MIS PADRES POR SU GRAN
ESFUERZO, APOYO Y FORMACIÓN
PERSONAL Y ACADÉMICA QUE ME
DIERON. A DIOS POR ESTAR
SIEMPRE JUNTO A MI.

GRACIAS

AGRADECIMIENTOS

A mi Familia, por creer en mí, por darme todo el apoyo y el ánimo suficiente en los momentos más difíciles.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena por su formación académica, la experiencia a nivel industrial me ha comprobado su excelente labor.

A mi novia Jesi, mis hermanos Oscar, Mayito y Johana, mis amigos Alexander, Hannia, Paula, Dinora, Patricia, Marcel, Hamilton.... por soportarme.

A la profesora Bernarda, por creer en mí y brindarme su apoyo. Al profesor Julian Martínez y la Profesora Mary Fortich.

A todo el personal administrativo y operativo de LABORATORIO JOHNVERY, en especial a José Parra por darme acogida y por brindarme la oportunidad de realizar mi trabajo de grado con ustedes.

GRACIAS.

TABLA DE CONTENIDO

	Pagina
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	13
RESULTADOS	19
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	34

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 MANUAL DE PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA.	36
Anexo 2 CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN LAS MATERIAS PRIMAS DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS; RECUENTO EN PLACA.	37
Anexo 3 CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN LAS MATERIAS PRIMAS; PRUEBA DE PRESENCIA – AUSENCIA.	38
Anexo 4 CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD MICROBIOLÓGICA APLICADOS A LOS PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS TERMINADO.	39
Anexo 5 ETIQUETA PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO.	40
Anexo 6 ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	41
Anexo 7 ETIQUETA PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO EN PROCESO	42
Anexo 8 ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN PARA LAS MUESTRAS DE RETENCIÓN	43
Anexo 9 ETIQUETA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TANQUES LIMPIOS	44
Anexo 10 ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS LIMPIOS.	45
Anexo 11 ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE ÁREAS LIMPIAS.	46
Anexo 12 PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTANDARIZADO P.O.E.	47

Anexo 13	FORMATO DE REPORTE FINAL DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MATERIA PRIMA	48
Anexo 14	FORMATO DE REPORTE FINAL DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO FITOTERAPÉUTICO TERMINADO	49
Anexo 15	FORMATO DE REPORTE FINAL DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO EN PROCESO	50
Anexo 16	ORGANIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS DE SELECCIÓN DE MUESTRAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO FITOTERAPÉUTICO	51
Anexo 17	DEMARCACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS ÁREAS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO, ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y FITOTERAPÉUTICO	52

LISTA DE ABREVIATURAS

BPMRN: Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos con Base en Recursos Naturales vigentes.

POE: Procedimientos Operativos Estandarizados.

INVIMA: Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

BPM: Buenas Prácticas de Manufacturas.

PAL: Practicas Adecuadas de Laboratorio.

Pb: Plomo

Hg: Mercurio

Mn: Manganeso

Ni: Niquel

Cr: Cromo

spp: Especie

UFC: Unidad Formadora de Colonia

g: Gramo

ICONTEC: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación Colombianas

°C: Grados Centígrados

pH: Potencial de Hidrogeno

GLOSARIO

Aseguramiento de la Calidad: Conjunto de acciones planificadas y sistemáticas que son necesarias para proporcionar la confianza adecuada de que un producto o servicio cumple con los requisitos de calidad establecidos.

Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Fitoterapéutico: Son el conjunto de normas, procesos y procedimientos técnicos, cuya aplicación debe garantizar la producción uniforme y controlada de cada lote de productos fitoterapéuticos, de conformidad con las normas de calidad y los requisitos exigidos para su comercialización.

Calidad: Conjunto de propiedades o características de un producto o servicio, que le confiere su aptitud para satisfacer necesidades expresadas o implícitas.

Control de Calidad: Es el conjunto de operaciones destinadas a garantizar la producción uniforme de lotes de productos fitoterapéuticos, que satisfagan las normas de identidad, actividad, pureza e integridad dentro de los parámetros establecidos.

Control de la calidad: Es la parte de las Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos con Base en Recursos Naturales vigentes (BPMRN) que se refiere al muestreo, inspecciones en proceso, especificaciones, y ensayos cuando sea el caso, como también a los procedimientos de organización, documentación y autorización que asegure que los ensayos e inspecciones necesarios y pertinentes realmente se efectúen, y que no se permita la circulación de los materiales, ni se autorice la venta o suministro de los productos, hasta que su calidad haya sido aprobada como satisfactoria.

Control en proceso: Verificaciones que se ejecutan durante la producción para asegurar que un producto y el proceso que se realiza, están de acuerdo con especificaciones predeterminadas.

Criterio de Aceptación o Rechazo: Juicio tomado con base en especificaciones preestablecidas, con plan de muestreo incluido, para la disposición o no de una materia prima, de un producto o de un material en general analizado.

Droga vegetal: Es el órgano de la planta fresco, desecado o sometido a un tratamiento tradicional.

Estabilidad: Aptitud de un producto fitoterapéutico de mantener en el tiempo sus propiedades originales dentro de las especificaciones establecidas, en relación a su identidad, concentración o potencia, calidad, pureza y apariencia física.

Estado bruto: Aquel en que el material proveniente de la planta medicinal no ha sufrido transformaciones físicas ni químicas.

Fabricación: Son todas las operaciones que comprenden la adquisición de materiales y productos, producción, inspección y control de calidad, autorización de circulación o comercialización, almacenamiento, distribución de productos terminados, y los controles relacionados con estas operaciones.

Fitofármacos: Principio activo de origen natural de un producto fitoterapéutico.

Garantía de la Calidad: Es el sistema por el cual, se asegura que los productos de la empresa tienen la identidad, concentración, calidad y pureza y eficacia que ofrecen tener.

Insumos: Son todos los materiales utilizados en la producción de productos fitoterapéuticos, incluye tanto a las materias primas como a los materiales de envase y empaque.

Lote: Cantidad definida de materia prima, material de envasado, producto elaborado en un solo proceso o en una serie de procesos, que puede esperarse sea homogéneo.

Materia prima: Todo componente de calidad definida empleado en la manufactura de un producto fitoterapéutico, excluyendo los materiales de envase.

Medicamento fitoterapéutico: Son aquellos cuyos ingredientes activos están constituidos exclusivamente por productos de origen vegetal, dando lugar a la forma farmacéutica más adecuada para su administración al paciente.

Planta medicinal: Es la planta entera, fresca o desecada, incluyendo talofitas, especialmente líquenes, hongos superiores y algas, partes o productos de dicha planta; también se consideran ciertos exudados que no han sido sometidos a un tratamiento específico, que no generan riesgos para la salud y el medio ambiente y que se utiliza para la elaboración de productos fitoterapéuticos. A dicho material se le han atribuido y comprobado actividad terapéutica mediante el conocimiento tradicional, estudios científicos, literatura científica o evaluación clínica.

Procedimiento de operación normalizado o estandarizado: Procedimiento escrito que contiene instrucciones para realizar operaciones que no necesariamente son específicas para un producto o material determinado, sino de naturaleza más general (por ejemplo, manejo, mantenimiento, y limpieza de equipos; comprobación; limpieza de instalaciones, y control ambiental; muestreo, e inspección). Algunos procedimientos de esta naturaleza pueden utilizarse como complemento de la documentación específica para un producto, sea ésta una documentación maestra o referente a la producción de lotes.

Producto en proceso o semielaborado: Producto detenido en una etapa definida de su producción.

Producto terminado: Producto que ha sido sometido a todas las etapas de producción, incluyendo el envasado en el contenedor final y el etiquetado.

Protocolo analítico: Certificación emitida por Control de Calidad por la cual se informa el cumplimiento o no de las respectivas especificaciones de una materia prima activa, de un producto o de un material en general, como consecuencia de su análisis.

RESUMEN

LABORATORIO JOHNVERY es una empresa que se dedica a la fabricación y venta de productos cosméticos a nivel nacional. A través de los años, ha desarrollado muchos productos, nuevos procesos y además con la calidad de los mismos ha logrado exportarlo al vecino país de Venezuela, forjando cada día más la incursión a otras regiones del mundo.

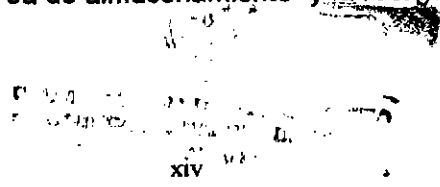
Posee en sus instalaciones un laboratorio microbiológico de control de calidad, con el cual presta servicios de análisis microbiológico de agua, alimentos y cosméticos a terceros y pretende en un futuro cercano abordar, el campo del control de calidad de los productos fitoterapéuticos, con la validación y puesta en marcha del Manual de Procedimientos Microbiológicos de productos fitoterapéuticos de uso oral y su materia prima.

El Manual de Procedimientos Microbiológicos, fue elaborado durante la pasantía, como inicio de las actividades destinadas a la prestación del servicio de análisis microbiológico a los laboratorios fabricantes de productos fitoterapéuticos así como de su materia prima.

Además fue necesario realizar Procedimientos Operativos Estandarizados como pieza fundamental y elemento clave para la implementación del Manual de Procedimientos, Constituyéndose a la vez en una herramienta indispensable que le permitirá al personal del Departamento de Control de Calidad evitar errores y tomar decisiones que influyan directamente en la calidad de los análisis que ofrezca.

Aparte de las actividades mencionadas, se llevo a cabo la elaboración y estructuración de etiquetas para la identificación de producto terminado, materias primas, etc. Así como los formatos de reporte final de los Análisis microbiológicos realizado a muestras de terceros al igual que los controles de los procesos de producción.

Las actividades de elaboración y estructuración de etiquetas permitieron la identificación de las materias primas en el área de almacenamiento y la reorganización de cada una de estas áreas.



Todas estas actividades, contribuyen a la empresa *LABORATORIO JOHNVERY*, incursionar en el campo de análisis de los productos fitoterapéuticos; con el control de calidad microbiológico de los mismos, esperando ofrecer dichos servicios a las empresas que lo soliciten.

1. INTRODUCCION

LABORATORIOS JOHNVERY es una empresa dedicada a la fabricación y comercialización de productos cosméticos en forma sólida, semisólida y líquida, legalmente registrados ante el INVIMA. En sus inicios se dedicaron a la comercialización de productos cosméticos y con el pasar de los tiempos y al ver la demanda y aceptación, optaron e incursionaron en producción y elaboración de los mismos. A través de los años, ha desarrollado muchos productos, nuevos procesos y además con la calidad de sus productos, ha logrado exportar al vecino país de Venezuela, forjando cada día más la incursión de la empresa a otras regiones del mundo.

Desde entonces el espíritu de crecimiento y de vanguardia les ha permitido desarrollar e implantar una infraestructura adecuada con buenos niveles de producción y técnicas de análisis físicoquímicos y microbiológicos para realizar el control de los productos que elaboran, lo que le han dado reconocimiento y credibilidad en el sector cosmético, siendo fundamental para sostenerse en el mercado y competir con productos de calidad y buenos precios.

LABORATORIOS JOHNVERY está constituida legalmente y autorizado por el Ministerio de Salud para realizar sus actividades en la ciudad de Sincelejo (Cra 25 N° 22-48, Avenida Las Peñitas) a través de la Licencia Nacional de Funcionamiento No. 535 otorgada por Resolución No. 11214 del 24 de Julio de 1989, ampliada por resolución N° 013861 del 4 de Octubre de 1995 y registrado ante la Cámara de Comercio de Sincelejo con matrícula mercantil N° 4675 y NIT 6.815.552-4.

La empresa está conformada por un equipo de 21 trabajadores, 3 en la parte administrativa, los cuales son profesionales calificados para su cargo así:

Subgerente: John Jairo Ospina Sánchez, Administrador de Empresas de la Universidad Cooperativa de Colombia; Director técnico: José Ignacio Parra Garrido,

Químico Farmacéutico de la Universidad de Cartagena; Gabiris Aguas, Contador de la Corporación Universitaria del Caribe, "CECAR", y 18 personas en el ámbito operativo.

El Ministerio de la Protección Social, reglamenta los regímenes de vigilancia y control sanitario de los productos fitoterapéuticos. Estas normas especifican que los laboratorios que elaboran este tipo de productos, deben implementar, desarrollar y aplicar Buenas Prácticas de Manufactura y cumplir una serie de controles de calidad; todos estos vigilados por el Instituto de Vigilancia de Medicamentos y alimentos INVIMA.¹

Pero se logra ver que estas reglas no se controlan ni se hacen cumplir, observándose por el alto número de laboratorios de garajes que, sin la adecuada preparación, practican la fitoterapia con ninguno o muy poco control de parte de las autoridades sanitarias.

A raíz de todo estos parámetros de vigilancia y de obligatorio cumplimiento por parte de los entes reguladores de salud para los Productos Fitoterapéuticos; se hizo necesario montar en el Laboratorio de Análisis y Control de Calidad de *LABORATORIO JOHNVERY* las técnicas y/o ensayos, para ofrecer a las empresas productoras y distribuidoras de productos fitoterapéuticos, el servicio de evaluación de todo lo referente a la calidad microbiológica de sus productos y materias primas.

Es por lo anterior que se llegó al punto de plantear en la empresa la elaboración de un manual, ya que se poseen las instalaciones, infraestructura y equipos adecuados para realizar dicha actividad y aprovechando que los Laboratorios fabricantes de Fitoterápicos solicitan estos análisis microbiológicos a particulares.

En la actualidad el objetivo primordial de muchas industrias es la certificación de las Buenas Prácticas de Manufactura para la fabricación y comercialización de los productos fitoterapéuticos. Estas normas¹ especifican que los laboratorios que elaboran este tipo de productos, deben implementar, desarrollar y aplicar Buenas

Prácticas de Manufactura y cumplir una serie de controles de calidad; todos estos bajo la supervisión del Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA.¹

El impacto que tienen los productos fitoterapéuticos sobre la comunidad son cada vez mayores, debido a la facilidad de adquisición, costos y sus propiedades terapéuticas. El uso en terapéutica de los productos de origen natural, se ha visto favorecido por:

- El descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos de síntesis.
- Un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados.
- El desarrollo de nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y sus extractos.
- El desarrollo de métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad.
- El aumento de la automedicación, ya que las personas piensan y creen que los productos fitoterapéuticos, suelen tener menos efectos adversos.

Muchos productos medicinales tradicionales o alternativos son de venta libre. En una encuesta realizada por la OMS en 142 países, 99 de ellos respondieron que la mayoría de esos productos podían adquirirse sin prescripción médica. En 39 países, muchos de estos productos se utilizan para la automedicación y son comprados o preparados por el propio paciente. Esas tendencias plantean dudas acerca de la calidad de los productos utilizados, su idoneidad terapéutica en cada caso, y la falta de seguimiento médico.²

El Decreto N° 677 de 1995 en su título V, artículo 90, reglamenta el control de calidad de las materias primas, producto en proceso y producto terminado de las preparaciones farmacéuticas a base de recursos naturales.³

El Ministerio de la Protección Social, reglamenta los regímenes de vigilancia y control sanitario de los productos fitoterapéuticos. Estas normas especifican que los laboratorios que elaboran este tipo de productos, deben implementar, desarrollar y aplicar Buenas Prácticas de Manufactura y cumplir una serie de controles de calidad; todos estos vigilados por el Instituto de Vigilancia de Medicamentos y alimentos INVIMA.¹

El decreto 2266 de 2004¹, define en su Artículo 2 a los Productos Fitoterapéuticos.

Un Producto Fitoterapéutico es el producto medicinal empacado y etiquetado, cuyas sustancias activas provienen de material de la planta medicinal o asociaciones de estas, presentado en estado bruto o en forma farmacéutica que se utiliza con fines terapéuticos. También puede provenir de extractos, tinturas o aceites. No podrá contener en su formulación principios activos aislados y químicamente definidos. Los productos obtenidos de material de la planta medicinal que haya sido procesado y obtenido en forma pura no serán clasificados como producto fitoterapéutico.¹

Ese mismo decreto¹ en su capítulo II artículo 4 considera productos fitoterapéuticos a los siguientes productos:

1. Preparaciones farmacéuticas con base en plantas medicinales.
2. Producto fitoterapéutico tradicional.
3. Producto fitoterapéutico de uso tradicional importado.

Las exigencias concernientes al control de la calidad de las drogas vegetales vendrán dadas, principalmente pero no exclusivamente por las prescripciones de las farmacopeas, el Vademécum Colombiano de plantas medicinales, las Farmacopeas British Herbal Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, Real Farmacopea Española, o

las que rijan para la Unión Europea, USP, Brasileira, Mexicana, el Codex Francés, métodos de control de calidad para materiales de plantas medicinales. El texto de Plantas Medicinales Iberoamericanas-Gupta M.P. -Cytel, WHO Monographs On Selected Medicinal Plants, Plant Drug Análisis - Wagner, en sus ediciones vigentes.⁴

En este tipo de productos, adquiere especial importancia el concepto de la calidad global cuyo control comienza en el proceso de recolección o incluso antes cuando las plantas son cultivadas, y continúa a lo largo de todo el proceso de fabricación y es también en esta parte donde el control de calidad tiene una importancia especial en el grupo de los productos fitoterapéuticos, ya que es la base para garantizar la reproducibilidad de la seguridad y la eficacia de los mismos.

Dentro del concepto de garantía o aseguramiento de la calidad, las BPM constituyen el factor que asegura la fabricación en forma uniforme y controlada, y conforme a condiciones exigidas para su comercialización, asegurando⁵:

1. Que estos productos estén diseñados y elaborados de tal forma que se tengan en cuenta los requisitos de las BPM y otros conceptos relacionados, tales como la práctica adecuada de laboratorio (PAL).
2. Que las operaciones de producción y control se definan detalladamente, se revisen a la luz de la experiencia, y se compruebe que son el medio seguro de fabricar fitoterápicos, además de que estén claramente especificadas por escrito, y que se adopten los requisitos de las BPM.
3. Que se tomen las medidas necesarias para la fabricación, provisión, y uso de materia prima y actividades de envasado adecuadas.
4. Que se efectúen todos los controles necesarios de las materias primas, productos intermedios, y productos terminados; y otros controles y comprobaciones durante el proceso.

5. Que el producto terminado sea el resultado de un proceso controlado correctamente y de acuerdo con los procedimientos definidos.⁵

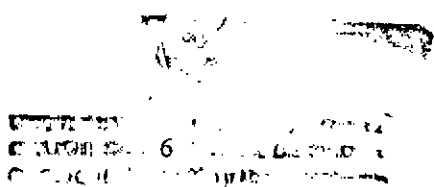
Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son pautas universales aplicadas en la producción farmacéutica, y que en los fitofármacos no tienen consideraciones especiales; pero existen algunas peculiaridades en el complejo de la producción y del control de calidad de los mismos. Al igual que en los medicamentos, también en estos productos es necesario garantizar su calidad, seguridad y eficacia.⁶

Como elemento fundamental en las BPM se encuentra la desinfección y dentro de ellas, la correspondiente a la de las Plantas Medicinales. Esta surge como una necesidad de proveer insumos terapéuticos microbiológicamente seguros, con los requisitos exigidos para su comercialización y empleo por la población ya sea como droga seca o como materia prima para la elaboración de fitofármacos libres de impurezas y microorganismos patógenos que aseguren su calidad higiénico-sanitaria.⁷

Estudios han reflejado alta contaminación microbiana en las drogas vegetales, destacándose la presencia de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*, igualmente la existencia de levaduras y de hongos filamentosos, con frecuencia se ha detectado la aparición de *Aspergillus* y *Penicillium*. Respecto a los hongos, éstos pueden reproducirse antes o durante el secado, el almacenamiento o el envío de los productos.⁷

Por lo general, la mayoría de microorganismos de crecimiento activo son formas vegetativas con escasa resistencia al calor y a los desinfectantes. Algunas formas de bacterias entre ellas las que producen el carbunco, tétanos y gangrena gaseosa tienen la capacidad de producir esporas.⁷

Es importante que las materias primas y el producto terminado antes de su utilización y comercialización deban ser sometidas a estrictos controles físicos y fisicoquímicos que detecte y elimine posibles falsificaciones y alteraciones y



garantice su identidad. Siendo también de mucha importancia como es en este caso el control de calidad microbiológico.⁸

El control de calidad microbiológico se debe realizar durante todo el proceso de fabricación, es decir partiendo de la materia prima, continuando con proceso y finalizando con producto terminado, estableciendo aquellos puntos donde la materia prima tenga mayores posibilidades de contaminación (puntos críticos). Es usual hacer el control microbiológico en producto terminado únicamente, para ello se recomienda utilizar una o varias muestras del mismo lote de producto.⁹

La información idónea que se tiene en cuenta para realizar la actividad de documentación de estos procedimientos debe estar relacionada con:¹⁰

1.1. ESPECIFICACIONES Y PROCEDIMIENTOS DE PRUEBA

- Los procedimientos de prueba descritos en los documentos deben ser comprobados en el contexto de las instalaciones disponibles antes de que sean adoptados para las pruebas correspondientes.
- Se establecerán especificaciones adecuadas y autorizadas, tanto para materia prima, producto intermedio y producto terminado.
- Cada especificación deberá ser aprobada y mantenida por la unidad de control de calidad.
- Las especificaciones se revisarán en forma periódica para actualizarlas de acuerdo con las normas oficiales en Colombia.
- En el laboratorio de control de calidad deben estar a disposición farmacopeas, sustancias de referencia, patrones y otros materiales de referencia.

1.1.1. Especificaciones para las Materias Primas

Las especificaciones para las materias primas deberán contener cuando sea pertinente, una descripción de estos materiales, incluyendo:¹¹

- El nombre botánico y el código de referencia interno.
- Detalles de la fuente de la planta (lugar de origen, fecha de cosecha, método de cosecha, pesticidas empleados, etc.), parte de la planta utilizada y descripción macro y micromorfológica.
- La referencia, si la hay, o una monografía de la Farmacopea.
- Normas de Calidad y cantidad, con los límites de aceptación.
- Pueden agregarse otros datos a las especificaciones, tales como: Datos referentes al proveedor o productor original de los materiales cuando sea factible.
- Instrucciones para el muestreo y las pruebas o una referencia de los procedimientos, condiciones de almacenamiento y precauciones que deban tomarse.
- El tiempo máximo de almacenamiento permitido antes de un nuevo examen.
- Fecha de ingreso.
- En los documentos que describen los procedimientos de pruebas se debe indicar la frecuencia exigida para la revaloración de cada uno de las materias primas, según lo determine su estabilidad.¹¹

1.1.2. Especificaciones para Productos Intermedios

Se debe contar con especificaciones para los productos intermedios en caso de que estos sean comercializados, o si los datos obtenidos de los productos intermedios se utilizan en la evaluación del producto final. Dichas especificaciones deben ser similares a las especificaciones para los productos terminados, como corresponda.

1.1.3. Especificaciones para Productos Terminados

Las especificaciones para producto terminado deben incluir:

- El nombre designado del producto y el código de referencia, si corresponde.
- La fórmula o una referencia a la fórmula.
- Instrucciones para efectuar el muestreo y las pruebas, o una referencia a estos procedimientos.
- Las normas de calidad incluyendo los límites de aceptación.
- Condiciones de almacenamiento y precauciones cuando sea aplicable.
- Tiempo de vida útil.¹¹

1.2. PROCEDIMIENTOS DE OPERACIÓN NORMALIZADO O ESTANDARIZADOS (P.O.E.) Y REGISTROS

Para poder garantizar la reproducibilidad, consistencia y uniformidad de los distintos procesos en una empresa es necesario el adecuado ordenamiento del personal mediante Procedimientos Operativos Estándar (P.O.E.s), en donde se detallan funciones y responsabilidades.¹²

Los beneficios que se obtienen por la elaboración de P.O.E.s son muchas. Entre esos beneficios se tiene que:

- Los procedimientos son las primeras herramientas en el entrenamiento del nuevo personal.
- Garantizan la realización de las tareas siempre de la misma forma.
- Sirven para evaluar al personal y conocer su desempeño.
- Al ser de revisión periódica, sirven para verificar su actualidad y como reentrenamiento del personal con experiencia.
- Promueven la comunicación entre los distintos sectores de una empresa.
- Son útiles para el desarrollo de auto inspecciones y auditorias.

Un P.O.E. se diseñará de la siguiente manera¹²:

Título de POE (Mayúscula)

- Número de página
- Número de POE
- Espacios donde firman los encargados de los sectores intervinientes.
- Quién y cuándo se genera.
- Quién y cuándo se revisa.
- Quién y cuándo se aprueba.
- Propósito: Indica el porqué existe el procedimiento.
- Alcance: Describe las operaciones que abarca el procedimiento.
- Responsabilidad: Indica el sector o la persona responsable de la ejecución del POE.
- Información general: Aquí se detallan los conceptos teóricos que se deben o son útiles de conocer.

- Información de seguridad: En el caso que el procedimiento alcance a operaciones técnicas deberán incluirse las precauciones a tener en cuenta, los elementos de seguridad a utilizar; así como también la protección al medio ambiente.
- Procedimiento (o Desarrollo): Es la descripción paso a paso de la tarea de alcance del POE.
- Anexos.¹²

La elaboración e implementación de Procedimientos Operativos Estandarizados y de Especificaciones, son una herramienta básica para garantizar un producto con alta calidad y también para permitir evaluar actividades estimulando el perfeccionamiento. Inclusive inducen al personal, cualquiera que sea su jerarquía, a sentirse parte, proponiendo procedimientos nuevos o mejorando los existentes, es decir, estimula las iniciativas y no las resta, obligando a fundamentarlas.¹³

LABORATORIO JOHNVERY posee un manual conocido como norma fundamental donde se dan las instrucciones para la elaboración de la documentación del Departamento de Control de Calidad con el fin de que ésta sea un Informe en contenido y presentación, por lo que para la elaboración del manual de procedimientos microbiológicos, aplicado a los productos fitoterapéuticos de uso oral, se tomará como referencia este.

De acuerdo con la Norma Fundamental, un manual de procedimientos en la empresa debe contener:

- a) Introducción.
- b) Objeto.
- c) Alcance.
- d) Frecuencia.
- e) Responsables.
- f) Referencias.
- g) Equipos, materiales, medios de cultivos y reactivos.

- h) Recomendaciones.
- i) Procedimiento.
- j) Anexos, información para formatos de reporte, información fichas técnicas y formatos para los anexos.¹⁴

El objetivo principal de la realización de la Pasantía en las instalaciones de la empresa *LABORATORIO JOHNVERY* fué la de poner en practica los conceptos y conocimientos adquiridos durante la carrera, y a la vez la obtención de nuevos saberes y el enriquecimientos de los ya logrados con nuevas ideas durante todo este tiempo de duración de dicho proceso de entrenamiento. A raíz de todo y su aplicación se tiene como recompensa el diseño y la elaboración del Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos de Uso oral y su Materia Prima.

2. METODOLOGÍA

La pasantía se desarrolló en las instalaciones de *LABORATORIO JOHNVERY*, en el Laboratorio de Control de Calidad, con una intensidad de 48 horas semanales, durante 7 meses, tiempo en el cual se realizaron actividades de competencia del Químico Farmacéutico y bajo la supervisión del Director Técnico.

Durante ese tiempo se llevaron a cabo diferentes actividades, las cuales fueron:

- a. Elaboración del Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos de Uso Oral.
- b. Actividades complementarias. Tales como:
 - Diseño y estructuración de las etiquetas de equipos limpios, áreas limpias, tanques limpios, etiquetas de identificación de la materia prima, producto en proceso, producto terminado y etiquetas de identificación de las muestras a realizar análisis microbiológicos.
 - Elaboración de Procedimientos Operativos Estandarizados para el Control Microbiológico de Productos Fitoterapéuticos de Uso Oral.
 - Elaboración de los formatos de reporte final de análisis microbiológicos de materia prima, producto en proceso y producto terminado.
 - Identificación de los puntos de selección de toma de muestras que serán recogidas durante el proceso de elaboración de un producto fitoterapéutico.

- Organización de las necesidades de insumos de reactivos, vidriería y espacio para la realización de los análisis microbiológicos a los productos fitoterapéuticos.

c. Otras actividades como:

- Realización de los controles en los procesos de producción de los productos cosméticos de la empresa.
- Realización de análisis microbiológicos de muestras (alimentos, agua subterráneas, agua potable, cosméticos) a terceros

2.1. ELABORACIÓN DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

Para la elaboración del manual de procedimientos microbiológicos de productos fitoterapéuticos de uso oral, que fue el objetivo primordial de la pasantía, se tuvieron en cuenta los siguientes puntos:

- Procesos de manipulación de las materias primas.
- Técnicas de desinfección utilizadas.
- Procesos de elaboración de los productos y almacenamiento de los mismos.

Para ello se realizaron visitas a los Laboratorios fabricantes de productos fitoterapéuticos existentes en la ciudad de Sincelejo haciendo reconocimientos a cada una de las áreas que hacen parte del proceso de producción; como son el área de almacenamiento, área de materias primas, área de pesada, área de preparación y área de envasado.

En estas áreas se verificaron las condiciones de asepsia, el estado de las mismas, el entorno, la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufacturas Fitosanitarias, la manipulación de los operarios a las materias primas. También se verificaron las condiciones de almacenamiento de las materias primas en las bodegas y se tuvo en

cuenta el estado de los procesos de elaboración de los productos tomando como base lo expresado en la Resolución 03131.

Se evaluó la existencia en estos Laboratorios, de los manuales empleados como protocolos en los que establecen los controles y procedimientos que se deben llevar a cabo en sus procesos productivos; así como los parámetros que tienen en cuenta para la selección de toma de muestras para análisis y de retención o cuarentena. Dichos parámetros fueron los siguientes:

- En que punto durante el proceso de producción se recogen las muestras.
- En que estado y condición se toman.
- La forma de selección de las mismas.
- El tamaño de las muestras.

Para la elaboración de los procedimientos así como en la revisión de las empresas, se tuvieron en cuenta las políticas de calidad de las mismas, las Normas Fundamentales para la elaboración de manuales. En él se definen los parámetros que se deben llevar a cabo para la redacción, elaboración, distribución y divulgación de cualquier documento del Departamento de Control de Calidad; así como la descripción de cualquier proceso, llámese procedimiento, formato o norma. Teniendo también en cuenta los lineamientos dados por las Buenas Prácticas Fitosanitarias; en su Artículo 2° de la resolución número 03131 de 1998, por la cual se adopta el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos con base en Recursos Naturales Vigentes.

Se hizo una revisión a nivel bibliográfico en libros, U.S.P 26 NF 21, Internet y revistas de todos los elementos constitutivos de las Especificaciones y parámetros Microbiológicos a nivel Nacional e Internacional de los Productos Fitoterapéuticos, para consignarlos en el Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos de uso oral.

De conformidad a los lineamientos de calidad y con base a las Normas fundamentales manejadas al interior de la empresa a lo largo de todos sus manuales de procedimientos, se desarrollaron los siguientes puntos:

- Objetivo: Se consignó el objetivo de cada especificación.
- Alcance: Se definió a que producto abarca cada especificación.
- Frecuencia: Se determinó la frecuencia de utilización de cada especificación.
- Definiciones: Se definieron todos los términos necesarios para el buen funcionamiento y utilización de las especificaciones.
- Materiales: Se especificaron los materiales, equipos, reactivos y medios de cultivos a utilizar por parte del personal que utilizará el manual.
- Responsabilidad: Se asignó quien o quienes dentro del organigrama de la empresa deben dar aplicación a las especificaciones consignadas en la metodología.
- Referencia procedimiento de muestreo: En esta parte se recomienda revisar POEs para Toma de Muestra.
- Ensayos realizados: Fueron tomados de los lineamientos, especificaciones y parámetros asignados por el INVIMA, USP, el Instituto Nacional de Salud INS y el ICONTEC; con sus Normas Técnicas Colombianas sobre qué aspectos se deben tener presentes para los análisis microbiológicos aplicados a los productos fitoterapéuticos; así como de referencias internacionales.
- Normas de calidad: La actividad anterior generó datos que conllevaron a identificar los límites de aceptación, así como a estipular el valor estándar de cada característica de calidad. Para la determinación de estos límites de aceptación se llegó mediante la búsqueda bibliográfica de Normas nacionales e internacionales.
- Anexos: En esta parte se encuentran las tablas de los límites microbiológico para las materias primas, producto en proceso y producto terminado; los formatos de reporte final de análisis microbiológicos de producto en proceso, producto terminado y la materia prima.

2.2. DISEÑO DE ETIQUETAS

Se diseñaron, rediseñaron y estructuraron etiquetas de identificación de materia prima, producto en proceso y producto terminado, muestras de retención, equipos limpios, áreas limpias y tanques limpios; Tanto para los procesos de la empresa como para el Laboratorio en sí. De las etiquetas existentes en la empresa se evaluó cada uno de los puntos que se tenían para su identificación; eliminando datos y a la vez adicionándole nuevos ítems. A partir de estos cambios se optó por seleccionar etiquetas tanto para cada uno de los procesos internos manejados en la empresa, así como cada una de las etiquetas necesarias para la total identificación de las muestras; materia prima, producto en proceso y producto terminado, equipos al interior del Laboratorio de Control de Calidad.

El diseño y estructuración de las etiquetas se estableció partiendo del punto de lograr la diferenciación y evitar la confusión de los tanques y de los equipos en cada una de las áreas utilizadas para almacenamiento, áreas de pesada, áreas de producción y elaboración de productos, así como la identificación de las materias primas en el área de almacenamiento.

Toda esta parte se llevaba con formatos de registros, en los que se controlaba y se hacía el seguimiento de cada una de las modificaciones y estructuraciones, actividades realizadas, observaciones, realizado por y verificado por, incluyendo la fecha en que se llevaron a cabo.

2.3. ELABORACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ESTANDARIZADOS

Para la elaboración de los procedimientos se tuvieron en cuenta las políticas de calidad de la empresa, la Norma Fundamental para la elaboración de manuales en *LABORATORIO JOHNVERY* así como los lineamientos dados por las Buenas Prácticas Fitosanitarias.

2.4. ELABORACIÓN DE LOS FORMATOS DE REPORTE FINAL DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se diseñaron y estructuraron los formatos de reporte final de análisis microbiológicos para la materia prima, producto en proceso y producto terminado.

De los formatos existentes en la empresa se evaluó cada uno de los puntos que se tenían para su identificación; eliminando datos e incorporando los referentes para los productos fitoterapéuticos.

2.5. IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS DE SELECCIÓN DE TOMA DE MUESTRAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO FITOTERAPÉUTICO.

Se realizaron visitas a los Laboratorios fabricantes de productos fitoterapéuticos haciendo reconocimientos a cada una de las áreas que hacen parte del proceso de producción; como son el área de almacenamiento, área de materias primas, área de pesada, área de preparación, área de envasado y acondicionamiento.

En estas áreas se verificaron las condiciones de asepsia, el estado de las mismas, el entorno, la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura, la manipulación de los operarios a las materias primas. También se verificaron las condiciones de almacenamiento de las materias primas en las bodegas y se tuvo en cuenta el estado de los procesos de elaboración de los productos.

2.6. ORGANIZACIÓN DE LOS REACTIVOS E INSUMOS EN EL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

La organización de las necesidades de insumos de reactivos, vidrieria y espacio, se llevó a cabo con la realización de un inventario de los reactivos y medios de cultivos existentes en los estantes del laboratorio de control de calidad.


3. RESULTADOS

3.1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS

Utilizando el formato y los parámetros de la Norma Fundamental que se siguen en *LABORATORIO JOHNVERY* se elaboró el manual. El formato para la elaboración de este se explica a continuación:

Posee una introducción, la cual habla sobre la importancia de las Buenas Prácticas de Manufactura Fitosanitarias (BPMF). Además se hace alusión al contenido que tiene el manual.

El cuerpo del manual se halla en el siguiente recuadro detallado a continuación:

	NOMBRE					Página X de Y
	Código:					
	Localización del Sector:					
	Sector:					
Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha	
Cargo		Cargo		Cargo		

El recuadro contiene la siguiente información:

- El nombre y logo de la empresa.
- Nombre del manual.

- Numeración de paginas (pagina X de y).
- Código alfanumérico para la identificación del manual, explicado a continuación:

NI – TP – A – 000 – V00

NI = Nivel de Información ; **G** = Información General.

TP = Tipo de Documento ; **MA** = Manual de Análisis; **FR** = Formato de Reporte.

A = Área = **ACM** = Aseguramiento de Calidad Microbiológica.

000 = Número asignado al documento.

V00 = Volumen asignado al documento.

No se hizo descripción por separado de cada una de las técnicas, debido a que se siguieron los lineamientos establecidos en la empresa.

- Localización del sector (hace referencia al Departamento interno de la empresa al que pertenece el manual).
- Sector (se refiere al área operativa que pertenece al Departamento).
- Elaborado por, Revisado por, Aprobado por (contiene los nombres, cargos y fechas de las personas que elaboraron, revisaron y aprobaron el manual de procedimientos respectivamente).

El cuerpo del manual esta formado por: (ANEXO 1)

- Objetivo
- Alcance
- Frecuencia
- Responsables
- Referencias
- Definiciones
- Materiales, equipos y reactivos
- Recomendaciones
- Metodología

- Material de consulta o apoyo
- Anexos.

Dentro del manual podemos encontrar plasmado todo lo referente a los ensayos microbiológicos que se deben realizar a los productos fitoterapéuticos de uso oral y su materia prima. Además de cada uno de los microorganismos que se pueden hallar presentes en estos productos; así como las técnicas (Recuento en placa y Prueba de presencia -- ausencia) que se establecen para el conteo de estos microorganismos, las pruebas Bioquímicas, pruebas serológicas y pruebas de identificación específicas para los mismos. Los límites, parámetros y especificaciones microbiológicas para los productos terminados y para la materia prima.

Se establece todo lo referente a la preparación de las muestras, sea esta líquida o sólida; así como la preparación de los diluyentes empleados para la investigación de microorganismos patógenos y las diluciones manejadas en el recuento de bacterias.

El manual incluye ensayos de análisis microbiológicos para *Aerobios mesófilos*, Hongos y Levaduras y microorganismos patógenos como *Salmonella spp*, *Coliformes fecales* y *Coliformes Totales*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y esporas de *Clostridium Sulfito Reductor*.

Para la determinación de *Aerobios mesófilos*, Hongos y Levaduras, Esporas de *Clostridium Sulfito reductor*, *Coliformes totales* y *Coliformes fecales*, se emplea la técnica de Recuento en placa. Y para la identificación de *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* la Prueba de Presencia – Ausencia se pone en práctica.

Los ensayos y análisis a tener en cuenta para las materias primas por la técnica de Recuento en placa son Recuento de *Aerobios mesófilos*, Hongos y Levaduras, *Coliformes Totales* y *Coliformes fecales*. (ANEXO 2)

Y por la prueba de Presencia – Ausencia en la materia prima se determinan e identifican los microorganismos patógenos como *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. Incluyéndose además cada uno de los límites y las especificaciones a considerar en la materia prima, tanto por la técnica de recuento en placa como por la prueba de presencia-ausencia (ANEXO 3), y a la vez se incluyen las pruebas Bioquímicas específicas para cada microorganismo en caso de que halla presencia de alguno de estos.

Por ultimo se incluyen los microorganismos a tener en cuenta para los productos fitoterapéuticos terminado, acompañado de sus límites y especificaciones. (ANEXO 4)

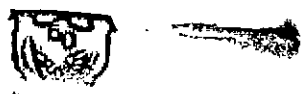
3.2. DISEÑO DE ETIQUETAS

Con el diseño de etiquetas se buscó la identificación, de los contenedores, ¿que productos se almacenan?, ¿en qué etapa del proceso se encuentran?, la identificación del producto terminado, las muestras de retención, las materias primas. Todo esto para poder llevar una identificación adecuada de cada muestra a analizar.

3.2.1. Etiquetas de Identificación de producto terminado

Esta etiqueta fué rediseñada e incluye lo referente a:

1. Nombre y/o código del producto.
2. Número de lote interno.
3. Fecha de elaboración.
4. Fecha de vencimiento.
5. Fecha de recibido.
6. Cantidad. (ANEXO 5)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
BIBLIOTECA
22 DE MARZO DE 2011
CATEDRA DE... y Documentación

3.2.2. Etiquetas de identificación de materias primas

Esta etiqueta incluye los siguientes aspectos:

1. Nombre y/o código.
2. Número de lote interno.
3. Fecha de vencimiento.
4. Fecha de recibido.
5. Cantidad aprobada.
6. Responsable. (ANEXO 6)

3.2.3. Etiquetas de Identificación de Producto en proceso

Esta etiqueta fue diseñada y elaborada, para identificar el producto que hay en los contenedores, y en que estado se encuentra. Estas etiquetas son de fácil manejo. Poseen los siguientes numerales:

1. Nombre del producto.
2. Lote N°.
3. Fecha de elaboración.
4. Fecha de vencimiento.
5. Fecha de recibo en el laboratorio.
6. Cantidad. (ANEXO 7)

3.2.4 Etiquetas de identificación de Muestras de retención

Se diseñó la etiqueta para identificar las muestras de retención que serán dejadas en el laboratorio de control de calidad. En ella se incluye lo siguiente:

1. Nombre del producto.
2. Numero de lote interno.
3. Fecha de elaboración.
4. Fecha de vencimiento.

- 5. Cantidad.
- 6. Responsable. (ANEXO 8)

3.2.5 Etiquetas de identificación de tanques limpios

Esta etiqueta incluye lo siguiente:

- 1. Producto anterior.
- 2. Producto actual.
- 3. Estado del proceso.
- 4. Fecha. (ANEXO 9)

3.2.6 Etiqueta de identificación de Equipos limpios

Esta etiqueta fué rediseñada e incluye lo referente a:

- 1. Nombre del equipo.
- 2. Producto anterior.
- 3. Fecha de limpieza.
- 4. Responsable.
- 5. Producto actual. (ANEXO 10)

3.2.7 Etiqueta de identificación de Áreas limpias

Se rediseño esta etiqueta para lograr identificar y establecer el estado de asepsia en el que se encuentran. Estas incluyen:

- 1. Tipo de área.
- 2. Producto anterior.
- 3. Fecha de limpieza.
- 4. Responsable.
- 5. Producto actual. (ANEXO 11)

3.3. PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS PARA CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS DE USO ORAL

Se elaboró el P.O.E. de procedimientos microbiológicos de producto fitoterapéutico de uso oral, redactado sobre las bases de la Norma Fundamental, en las que se incluye los ensayos, técnicas a aplicar y los microorganismos a determinar. Además del control higiénico que se le debe realizar a los productos de uso oral no estériles, la preparación de la muestra, preparación de cada una de las diluciones necesarias para llevar a cabo los ensayos de recuento, así como la preparación de la muestra con sus respectivos diluyentes. Y las especificaciones microbiológicas permitidas en cada caso. (ANEXO 12)

En este P.O.E. se incluyó lo siguiente:

- 1. Objetivos
- 2. Alcance
- 3. Frecuencia
- 4. Definiciones
- 5. Materiales y equipos
- 6. Responsables
- 7. Recomendaciones
- 8. Procedimientos
- 9. Anexos

3.4. FORMATOS PARA REPORTE DE ANÁLISIS

Se diseñaron y estructuraron los Formatos para el reporte final de los análisis microbiológicos de las materias primas, (ANEXO 13); producto terminado, (ANEXO 14) y el producto en proceso, (ANEXO 15), en los que se plasmaron los microorganismos, los medios de cultivo y los reactivos específicos empleados para su posterior identificación, así como las especificaciones y/o límites microbiológicos para cada una de las muestras.

3.5. IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

Los procedimientos de recolección de las muestras de materia prima, producto en proceso y producto terminado a lo largo del proceso de producción serán llevados teniendo en cuenta la identificación de cada uno de los puntos de selección de estas. Se hace necesario este seguimiento para seleccionar muestras representativas con condiciones óptimas que favorezcan la realización de los análisis microbiológicos.

La identificación y organización de los puntos de selección de las muestras se estableció, con base a cada uno de los procesos que conlleva a la elaboración de un producto, partiendo desde el momento que llega la materia prima a la empresa hasta que sale el producto, en este caso un producto fitoterapéutico.

Todos estos puntos son los más vulnerables a contaminación microbiológica; es por eso que con este seguimiento se busca obtener muestras representativas para la realización de los ensayos. (ANEXO 16)

3.6. ORGANIZACIÓN DE INSUMOS

La organización de las necesidades de insumos de reactivos, vidrieria y espacio, se cumplió mediante la realización de un inventario. En lo que se refiere a reactivos y medios de cultivos necesarios, las existencias encontradas en el laboratorio de control de calidad se consideraron adecuadas y suficientes para tenerlas presentes en el momento de la puesta en marcha y validación del manual de procedimientos microbiológicos de productos fitoterapéuticos de uso oral y su materia prima.

En cuanto a la distribución del espacio; se organizaron y acondicionaron los estantes, asignándoles identificación referente a la sección que pertenecen.

El acondicionamiento de la área de fitoterápicos con las áreas análisis fisicoquímico y análisis microbiológico, estas ya existentes; se realizó con una esquematización y

demarcación independiente al interior del laboratorio de control de calidad.
(ANEXO17)

3.6. OTRAS ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE LA PASANTIA

3.6.1. Control de los procesos de producción

Se realizó el control y seguimiento de los procesos de producción de los productos cosméticos llevados al interior de la empresa, haciendo presencia en cada uno de estos, y velando que los pasos establecidos en la metodología se cumplieran a cabalidad. Se controlaban los tiempos de mezclado en coordinación por supuesto del operario encargado para esta tarea.

3.6.2. Análisis a terceros

Los análisis realizados a particulares correspondieron a análisis fisicoquímicos y análisis microbiológicos; ambos aplicados a muestras de agua potable, subterránea. De la misma manera se hizo con el agua desionizada de la empresa destinada para la elaboración de los productos cosméticos.

También se analizaron los productos del *LABORATORIO JOHNVERY*, como Talcos, champús, Crema dental, repelente, gel capilar, crema capilar, rinses, etc y sus materias primas.

En los análisis fisicoquímicos; los parámetros que se manejaron y determinaron fueron los siguientes: pH in situ, Temperatura in situ, sólidos suspendidos totales, sólidos disueltos totales, cloruros, cloro libre residual total, Dureza total como CaCO₃, sulfitos, alcalinidad total (CaCO₃), dureza cálcica (Ca⁺⁺), dureza Magnésica (Mg⁺⁺) y alcalinidad P.

Para los análisis microbiológicos, los microorganismos tenidos en cuenta fueron: Aerobios *mesófilos*, Mohos y levaduras, *Escherichia coli*, Coliformes fecales y

coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Pseudomonas aeruginosa*.

4. CONCLUSIONES

Luego de haber desarrollado las pasantías en *LABORATORIO JOHNVERY*, se puede concluir:

- * Con la elaboración del Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos y su Materia Prima, el laboratorio de análisis y control de calidad de *LABORATORIO JOHNVERY*, incursionará en el campo de los productos fitoterapéuticos; considerado en estos momentos como virgen.
- * Se lograron identificar y plasmar los límites y especificaciones microbiológicos permitidos para el producto terminado como para la materia prima de los productos fitoterapéuticos de uso oral; gracias a una ardua documentación y revisión bibliográfica.
- * Con la Implementación del manual se podrá evaluar a las empresas productoras y distribuidoras de productos fitoterapéuticos, lo referente a la calidad microbiológica de los productos y materias primas; así como las condiciones sanitarias que poseen. Debido a que existen parámetros, reglamentaciones y control llevados a cabo por entes reguladores.

- * Los procedimientos operativos estandarizados son una guía primordial para garantizar la uniformidad, reproducibilidad y consistencia de un método, proceso y sistema.

- * Es altamente probable la posible venta de servicios en análisis de productos fitoterapéuticos, una idea y concepto importante a los laboratorios fabricantes de dichos productos, en especial en estos instantes que el INVIMA es exigente con todas las reglamentaciones, requisitos y documentos que deben poseer estos productos para la solicitud del Registro Sanitario.

5. RECOMENDACIONES

LABORATORIO JOHNVERY deberá proceder con la implementación y validación del Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos y su Materia prima; para así poder ofrecer y brindar la prestación de servicio de análisis microbiológico a los Laboratorios fabricantes de Productos Fitoterapéuticos y lograr de alguna forma que se mejore la calidad de estos productos y que sean más competitivos.

Con la ejecución y puesta en marcha de los diferentes procesos de análisis microbiológico, que se encuentran plasmados en el manual; se podrán llevar acabo todos los requerimientos exigidos por el INVIMA, para obtener los Registros Sanitarios de estos productos, ya que es exigido por la normatividad para la evaluación de la calidad de los productos, la cual se surtirá mediante la verificación en las instalaciones de los laboratorios o establecimientos fabricantes, del cumplimiento de la información técnica presentada para el registro sanitario y confrontándola con la documentación técnica que el fabricante deberá tener para cada producto.

Es imperioso mejorar el sistema de evaluación del plan de trabajo para la realización de pasantías, pues este plan de trabajo depende de la política de la empresa y está sujeto a cambios en la asignación de funciones, es decir, que se incluyen actividades que no se puedan llegar a realizar y otras no predeterminadas que se reportan en el

informe final. Además se debe tener en cuenta que en una pasantía el Químico Farmacéutico cumple funciones que incluyen desde las áreas de producción hasta áreas administrativas en el proceso de documentación.

Es necesario incluir y/o profundizar en la formación académica impartida en el programa de Química Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, a sabiendas de que se manejan asignaturas como Farmacognosia y Productos Naturales; conceptos y teorías relacionados con la Fitoterapia y el gran impacto y acogida que tiene en estos momentos los productos o medicamentos con base en plantas medicinales.

Aunque la empresa maneja sus propias políticas en cuanto al diseño de los manuales de procedimientos, sería conveniente evaluarlas a fin de volverlas acordes con los lineamientos que exigen el INVIMA en cuanto a la elaboración de dichos manuales.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Decreto número 2266 de 2004. Diario oficial 45.610 del 15 de Julio de 2004. Por el cual se elaboran las disposiciones que regulan control de calidad, buenas prácticas de manufactura, régimen de vigilancia y control sanitario de los productos fitoterapéuticos.
2. LEE JONG-wook. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. OMS, 22 de Junio de 2004.
3. Decreto número 677 de abril 26 de 1995. MINISTERIO DE LA SALUD. Por el cual se elaboran las disposiciones que reglamentan y regulan el control de calidad y vigilancia sanitaria de preparaciones farmacéuticas a base de recursos naturales así como de la materia prima.
4. Decreto número 3553 de 28 de Octubre de 2004. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Por el cual se modifica el Decreto 2266 de 2004 y se dictan otras disposiciones en los artículos 1º, 2º y 5º.
5. INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS (INVIMA). Anexo técnico de Buenas Prácticas de Manufactura para Productos Farmacéuticos con base en recursos naturales. Bogota D.C. 2001.
6. ACOSTA DE LA LUZ, Lérica A. Ingeniera Agrónoma, Dra. en Ciencias Agrícolas. Desinfección de plantas medicinales – principios básicos. CUBA. 2002. Disponible en internet: <http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-004>.
7. GENNARO Alfonso R. Farmacia Remington. Editorial Medica Panamericana S.A. 19ª Edición. BUENOS AIRES. 1998. Tomo II. Pag 2244
8. MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA. Resolución número 03131 de 1998. Por el cual se adoptan las Buenas Prácticas de Manufactura de productos farmacéuticos con base en recursos naturales vigentes.
9. VANEGAS Danilo. Cosmética y Microbiología. Informaciones Químicas MERCK. Número 60. BOGOTA. julio de 1998.
10. ELSY Reino. Análisis de puntos críticos y control de calidad. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. BOGOTA. 2002.
11. MENÉNDEZ Castillo Rosa. Acerca de las buenas prácticas de manufactura fitofármacos. Revista Cubana de Plantas Medicinales. volumen 2001. Nº2.

Ciudad de la Habana. Mayo-Agosto. 2001. Disponible en Internet en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962001000200001&script=sci_arttex&lng=es

12. <http://www.pharmaportal.com.ar/areagmo01.htm>. Procedimiento Operativo Estandarizado.
13. ACCEYTEC. Manual de Buenas Practicas de manufactura Cosmética. pag 3. 1995.
14. LABORATORIOS JOHNVERY. Norma Fundamental. Sincelejo 2001. Instrucciones para la elaboración de la documentación del departamento de control de calidad de LABORATORIO JOHNVERY.

ANEXOS

ANEXO 1
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS



UNIVERSIDAD DE CHIAPAS
BIBLIOTECA DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERAS DE BIODIVERSIDAD Y DE INGENIERÍA BIOLÓGICA

Laboratorio Johnvery

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS
MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTOS
FITOTERAPÉUTICOS DE USO ORAL Y SU
MATERIA PRIMA**

SINCELEJO

2005

*EL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA ES PATRIMONIO DE **LABORATORIO JOHNVERY**, COMO TAL DEBE PRESERVARSE Y ADMINISTRARSE CON CARACTER CONFIDENCIAL.*

INTRODUCCIÓN

La contaminación microbiana es un factor que puede alterar tanto las materias primas como el producto terminado o aparecer en cualquier momento durante el proceso de manufactura, ocasionando grandes daños a la salud de los operarios, consumidores y un gran declive en la economía de la empresa.

Esta posible contaminación puede ser detectada, iniciando con el análisis de control microbiológico a materias primas y al área en general, la cual, es quizás la parte más relevante durante el proceso de manufactura.

Este manual de normas y especificaciones microbiológicas de productos fitoterapéuticos, se constituye en una herramienta indispensable que le permitirá una vez implementado, al personal del Departamento de Control de Calidad evitar errores y tomar decisiones que influyan directamente en la calidad de los preparados fitoterapéuticos, garantizando que cada producto terminado cumpla con las características a las cuales fue designado.

Para estos análisis microbiológicos se hace necesario determinar las características sanitarias con el control higiénico de cada uno de los componentes de las áreas, el personal, ambiente, equipos, utensilios y superficies; para poder así evaluar y garantizar un proceso óptimo de manufactura de los productos y la calidad de los mismos.

TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVOS
2. ALCANCE
3. FRECUENCIA
4. DEFINICION
- 4.1 MATERIA PRIMA
- 4.2 CONTROL DE CALIDAD
5. MATERIALES Y EQUIPOS
6. RESPONSABLES
7. RECOMENDACIONES
8. METODOLOGIA
- 8.1. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA
- 8.2. PREPARACION DE LAS MUESTRAS PARA EL ANALISIS MICROBIOLÓGICO
9. ENSAYOS MICROBIOLÓGICO A LOS PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL
- 9.1. TECNICA DE RECuento EN PLACA
- 9.1.1. RECuento DE AEROBIOS MESÒFILOS
- 9.1.2. RECuento DE MOHOS Y LEVADURA
- 9.1.3. RECuento EN PLACA DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES
- 9.1.3.1. RECuento DE COLIFORMES TOTALES
- 9.1.3.4. RECuento COILIFORMES FECALES
- 9.2.4. RECuento DE ESPORAS CLOSTRIDIUM SULFITO REDUCTOR
- 9.2. PRUEBA DE PRESENCIA AUSENCIA
- 9.2.1. *Staphylococcus aureus* COAGULASA POSITIVA
- 9.2.2. PRESENCIA AUSENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa*
- 9.2.3. PRUEBA DE PRESENCIA AUSENCIA *Salmonella spp*
- 9.2.4. *Escherichia coli*
10. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS APLICADOS A LA MATERIA PRIMA

10.1. RECUESTO EN PLACA


- 10.1.1. Recuento de *aerobios mesófilos*
- 10.1.2. Recuento de Mohos y Levaduras
- 10.1.3. Coliformes totales
- 10.1.4. Coliformes fecales
- 10.1.5. Otras *Enterobacterias*
- 10.1.6. ESPORAS DE *Clostridium Sulfito Reductor*

10.2. PRUEBA DE PRESENCIA AUSENCIA

- 10.2.1. *Staphylococcus aureus*
- 10.2.2. *Pseudomonas aeruginosas*
- 10.2.3. *Salmonella spp*
- 10.2.4. *Escherichia coli*

11. PROCEDIMIENTO PARA EL CONTEO DE COLONIAS

- 11.1. Conteo Estándar
- 11.2. Conteo Estimado

Laboratorio  Johnson	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 1 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

1. OBJETIVOS:

Esta norma tiene por objeto establecer los métodos de ensayo para determinar el nivel y tipo de contaminación microbiológica en las materias primas, productos en proceso y producto fitoterapéutico terminado, y establecer por medio de análisis microbiológicos cualitativos y cuantitativos la presencia o ausencia de microorganismos tales como bacterias, hongos y levaduras, y microorganismos patógenos que puedan ocasionar algún tipo de contaminación en los productos fitoterapéuticos y su materia prima.

2. ALCANCE:

Aplica a todas las materias primas para productos fitoterapéutico, producto en proceso y producto terminado de uso oral.


3. FRECUENCIA:


Aplicar este procedimiento cada vez que se analicen materias primas, producto en proceso y producto terminado fitoterapéutico en el Laboratorio de Control de Calidad.

4. DEFINICIONES:

4.1. MATERIA PRIMA: Toda sustancia con una Calidad definida, que es utilizada para la fabricación de Productos Cosméticos, excluyendo los materiales de envasado.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johoverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA				
	Página 2 de 32				
	Código: GPGACM001 – V01				
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad				
Sector: Área de Control de Calidad					
<p>4.2. CONTROL DE CALIDAD: Técnicas y actividades de carácter operativo utilizadas para satisfacer los requisitos relativos a calidad, sea esta de materias primas, producto en proceso y producto terminado.</p>					
<p>5. MATERIALES Y EQUIPOS</p>					
<p>5.1. Bata blanca</p>					
<p>5.2. Gorro</p>					
<p>5.3. Gafas</p>					
<p>5.4. Tapa boca</p>					
<p>5.5. Equipos de precisión (Balanza digital, Densímetro)</p>					
<p>5.6. Nevera.</p>					
<p>5.7. Material de vidrio usual de un laboratorio microbiológico. (SCOTCH).</p>					
<p>5.8. Equipo de esterilización en seco (horno) o esterilización en húmedo (autoclave).</p>					
<p>5.9. Incubadora con capacidad de operar de 35°-37°C.</p>					
<p>5.10. Cajas de petri de vidrio estériles de 15x100mm.</p>					
<p>5.11. Pipetas con capacidad nominal de 0.1 y 1 mL.</p>					
<p>5.12. Baño serológico.</p>					
<p>5.13. Asas de inoculación.</p>					
<p>5.14. Tubos de ensayo 180 x 15 mm</p>					
<p>5.15. Equipo para recuento de colonias.</p>					
<p>5.16. Medidor de pH.</p>					
<p>5.17. Pipetas estériles graduadas de 1 mL, 5 mL y 10mL.</p>					
<p>5.18. Instrumentos estériles pinzas, tijeras, espátulas, gradillas, etc.</p>					
<p>5.19. Frascos de dilución de 100 mL con tapa rosca.</p>					
Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 3 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		


6. RESPONSABLES

Es responsabilidad del analista encargado del Laboratorio de Control de Calidad microbiológico llevar a cabo los procedimientos y análisis, bajo la supervisión del jefe de control de calidad.

7. RECOMENDACIONES:

- 7.1. Tener en cuenta la forma de selección y recolección de las muestras. Ver P.O.E. Toma de muestras.
- 7.2. Realizar el muestreo de la materia prima, producto en proceso y producto terminado siguiendo las instrucciones del P.O.E. Toma de muestra.
- 7.3. Limpiar y desinfectar con alcohol al 70 % todo el material utilizado para el control de calidad de las materias primas.
- 7.4. Cuando se analicen sustancias diferentes, limpiar con alcohol y luego con agua destilada el equipo que se este utilizando en el momento.
- 7.5. Los resultados deben expresarse en su formato respectivo, en forma clara y confiable por encima la honestidad, si hay duda del dato a reportar, consultar con su superior o repetir el análisis, hasta cuando este completamente seguro.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 4 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

8. METODOLOGIA:

8.1. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA SIGUIENDO EL PROCEDIMIENTO:

Preparar 90 mL de matriz diluyente (agua peptonada al 1%, o Caldo Caseina Soya, o Buffer de fosfato pH 7.2, o Caldo Lactosado, o Caldo diluido de digerido de harina de soja caseina polisorbato 20), en frasco de dilución, y esterilizar.


Los medios deshidratados que tienen la forma de polvos o gránulos desecados, están listos para ser preparados como medios líquidos o sólidos con solo restaurar la humedad con agua destilada, desionizada o esterilizada si así se requiere

Pesar o medir, dependiendo del estado de la muestra 10 g o mL de la misma (materia prima, producto en proceso y producto terminado).

Adicionar la muestra (10 g o mL) en los 90 mL de matriz estéril y agitar vigorosamente por 2 minutos aproximadamente.

- ◆ **MUESTRAS LIQUIDAS:** Tome 10 mL de la muestra y adicione en 90 mL de matriz diluyente, primera dilución.
- ◆ **MUESTRAS SÓLIDAS Y POLVOS:** Pese 10 g de la muestra y macere en un mortero estéril, adicione lentamente, con agitación permanente y en pequeñas porciones a 90 mL de matriz diluyente. Mezcle hasta obtener una suspensión homogénea.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico


Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 5 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

8.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Hacer diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , o más si la muestra lo requiere. Esta parte será ejecutada cuando se trabaje con la técnica de Recuento en placa.

- ◆ Dilución 10^{-1} : Tome 10 mL de la muestra y adiciónela en un frasco de dilución que contiene 90 mL de Caldo Caseina Soya o agua peptonada 1%; previamente preparado y esterilizado, obteniendo de esta forma la primera dilución.
- ◆ Dilución 10^{-2} : Tome 1 mL de la dilución anterior y agréguela en un tubo de ensayo contenido con 9 mL de agua destilada estéril, para obtener la dilución 10^{-2} .
- ◆ Dilución 10^{-3} : Del tubo anterior tome 1 mL y adiciónelo en 9 mL de agua destilada estéril, obteniendo la dilución 10^{-3} .

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johoery	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 6 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

9. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS A PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS DE USO ORAL

9.1. TECNICA DE RECuento EN PLACA


9.1.1. RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS

El recuento de este grupo incluye a las bacterias que crecen en aerobiosis, con temperaturas de incubación entre 15 y 40°C pudiendo detectar su presencia después de incubar a 35°C ± 2°C por 48 horas en un agar de recuento. En conjunto, esta flora incluye gémenes patógenos y no patógenos.

Procedimiento:

- ◆ Tomar 10 g o mL dependiendo del estado físico de la muestra y disolver en 90 mL de matriz (Buffer de fosfato pH 7.2 o Caldo diluido de digerido de harina de soja caseína polisorbato 20), previamente preparada y esterilizada;
- ◆ A partir de esta primera dilución prepare un mínimo de dos diluciones de la muestra y transfiera 1 mL de cada dilución a las cajas de petri estériles, previamente marcadas. Todo por duplicado.
- ◆ Agregue ± 15 mL de Agar Caseína Soya fundido y mantenido a 45°C, a cada una de las cajas de petri, teniendo cuidado de no permitir un tiempo mayor de 15 minutos después de la siembra.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo PASANTE		Cargo ASESOR		Cargo Director Técnico	

Laboratorio  Johnvegg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 7 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

- ◆ Coloque una caja con medio de cultivo sin inocular y otra con diluyente sin muestra, como control de esterilidad.
- ◆ Deje solidificar el agar. Invierta las cajas e incube a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

Lectura:

Transcurrido las 24 horas, revise las cajas, marque las colonias existentes, descarte las cajas con un número de colonias mayor del rango superior e incube el resto de cajas.

La lectura una vez transcurrido el tiempo de incubación se hace de la siguiente manera:


Seleccione las dos cajas correspondientes a la misma dilución que presenten entre 30 y 300 colonias por caja, y proceda a realizar el recuento. De acuerdo a los procedimientos establecido para el conteo de colonias.

Para calcular el número de UFC/g o mL, se multiplica el número de colonias obtenidas por el inverso de la dilución correspondiente a las placas elegidas para el recuento. Reportando los dos primeros dígitos.

Si no existe crecimiento de colonias en las cajas de petri, exprese los resultados como menos de 10 UFC/g o mL.

Remitirse para el conteo al Conteo de colonias. (Anexos).

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 8 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

9.1.2. RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS

Son microorganismos que alteran los productos, crecen favorablemente cuando el pH es de 5 o inferior. Se reproducen por gemación, pueden transformar el azúcar en alcohol y CO₂. Su presencia indica malas condiciones de almacenamiento o inadecuados métodos de conservación.

Procedimiento:

- ◆ Seleccione un mínimo de tres diluciones de la muestra y transfiera 1 mL de cada dilución a las cajas de petri estériles, previamente marcadas.
- ◆ Agregue ± 15 mL de Agar Saboureaud 2% fundido y mantenido a 45°C, a cada una de las cajas de petri.
- ◆ Deje solidificar el agar, invierta e incube las cajas a temperatura entre 20 a 25°C de 5 a 7 días.


Lectura:

Transcurrido el período de incubación, seleccione las cajas que presenten entre 30-300 colonias de mohos y levaduras ó 10-100 colonias de mohos y proceder a realizar el conteo de las colonias de acuerdo a las reglas indicadas para ello.

Calcule el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de mohos y levaduras viables en gramos (g) o mililitros (mL) de muestra, multiplicando el número de colonias por el inverso de la dilución.

Remitirse para el conteo, al Conteo de colonias. (Anexos).

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA
	Página 9 de 32
	Código: GPGACM001 – V01
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad
	Sector: Área de Control de Calidad

9.1.3. RECUENTO EN PLACA DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES Y FECALES

9.1.3.1. COLIFORMES TOTALES


Son microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriáceae* que se caracterizan por su capacidad de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas a 30 – 37°C en incubación por 48 horas.


Son bacilos Gram negativos, no esporulados, anaerobios facultativos, habitantes del intestino del hombre y animales con un potencial patógeno limitado; también pueden encontrarse en ciertos ambientes como suelo, plantas, etc.

Procedimiento:

- ◆ Siembre por duplicado 1 mL de las diluciones seleccionadas en cajas de petri.
- ◆ Adicione a las cajas \pm 15 mL de Agar VRBA (Agar Violeta Cristal Rojo Neutro Bilis) y homogenice.
- ◆ Una vez solidificado sobre una superficie horizontal, vierta sobre cada placa de 3-4 mL del mismo medio estéril formando una capa que evita el excesivo crecimiento y la extensión de las colonias, facilitando así la numeración de las mismas.
- ◆ Deje solidificar e invierta las cajas incubándolas a 35°C por 24-48 horas.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnvegg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA				
	Página 10 de 32				
	Código: GPGACM001 – V01				
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad				
Sector: Área de Control de Calidad					
<p>Lectura:</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ Contar las colonias rojo púrpura ◆ Para el recuento elija las placas que contengan entre 25 y 50 colonias características. El número de estas colonias, multiplicado por el factor de la dilución de la placa elegida, da como resultado el número total de coliformes totales o fecales por gramo o mililitro de producto. ◆ Remitirse para el conteo, al Conteo de colonias. (anexos). 					
Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 11 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

9.1.3.2. COLIFORMES FECALES

Poseen características propias de los coliformes totales a diferencia que estos son huéspedes constantes del intestino humano y animal, crecen en medio Lactosado biliado, producen indol.


Procedimiento:

- ◆ Siembre por duplicado 1 mL de las diluciones seleccionadas en cajas de petri.
- ◆ Adicione Agar VRBA (Cristal Violeta Rojo Neutro Bilis).
- ◆ Deje solidificar e invierta las cajas incubándolas a 45°C por 24 horas.

Lectura:

- ◆ Para el recuento elija las placas que contengan entre 25 y 50 colonias características. El número de estas colonias, multiplicado por el factor de la dilución de la placa elegida, da como resultado el número total de coliformes totales o fecales por gramo o mililitro de producto.
- ◆ Confirme las colonias por placa, subcultivando en tubos con caldo Brilla al 2%, incubando a 45°C por 24-48 horas.
- ◆ Considerando positivas aquellas colonias que den reacción de indol y fermenten la lactosa bajo esas condiciones.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johaverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA
	Página 12 de 32
	Código: GPGACM001 - V01
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad
	Sector: Área de Control de Calidad

9.1.4. RECUENTO DE ESPORAS *Clostridium* SULFITO REDUCTOR

Pertenece al género *Clostridium*; reduce el ión sulfito a sulfuro y en presencia de citrato férrico u otras sales de metales pesados produce colonias negras.

Las esporas de *Clostridium* sulfito reductor tienen considerable resistencia en medios naturales. Su capacidad para esporular les confiere gran resistencia. El cultivo de esta bacteria exige una atmósfera libre de oxígeno. Su presencia es indicio de contaminación fecal, sobre la calidad de productos de origen vegetal

Procedimiento:

Pipetee 1 mL de cada una de las diluciones previamente preparadas, en tubos de ensayo estériles.

Caliente los tubos con las diluciones a 80°C por 15 minutos. Y enfríe rápidamente en agua fría. (Choque Térmico).

Adicione de 10 a 12 mL de Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS). Deje solidificar. Y vuelva a adicionar una segunda capa de 2 mL.


Incube a 35°C ± 2°C por 3 a 5 días.

Lectura:

Transcurrido el período de incubación hacer la lectura con base en los tubos que presenten entre 5-50 colonias de color negro. Calcule el número de UFC/g o mL multiplicándolo por el inverso de la dilución.

Remitirse para el conteo, al Conteo de colonias. (Anexos).

Elaborado por.	Fecha	Revisado por.	Fecha	Aprobado por.	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnvegg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 13 de 32
	Código: GPGACM001 - V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		


9.1.5. ENTEROBACTERIÁCEAE

Todas las Enterobacterias, son bacilos Gram negativos, no esporulados, anaerobios facultativos. Un número considerable de estas bacterias indica; tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior, multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos, por deficiente higiene y desinfección de los manipuladores.

Procedimiento:

- ◆ Transferir 1 g o mL de cada una de las diluciones ya preparadas a erlenmeyer de 100 mL que contienen 10 mL de Caldo Tripticasa Soya.
- ◆ Incubar los erlenmeyer durante 2 horas a 20 - 25 °C. Acompañado de agitación cada 15 minutos durante 30 segundos.
- ◆ Después de la incubación, agregar a los erlenmeyer 10 mL de Caldo de Enriquecimiento (EEB) a doble concentración.
- ◆ Incubar durante 20 - 24 horas a una temperatura de 30 - 37 °C.
- ◆ Los erlenmeyer que presenten crecimiento microbiano, realizar siembra por estría en placas de Agar bilis-lactosa-glucosa-rojo neutro-cristal violeta (Agar VRBA). Incubar a 35 - 37 °C durante 20 -24 horas.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johoverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 14 de 32
	Código: GPGACM001 - V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

Lectura:

Si se observan colonias rodeadas de un halo púrpura se considera como positiva.

Seleccionar colonias típicas y sembrar por estría en tubos con Agar Nutritivo inclinado y por picadura en tubos con Agar glucosa-sal. Incubar a 35 - 37 °C durante 24 horas.

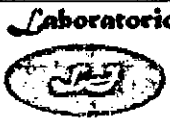
Realizar la prueba de la oxidasa al cultivo de Agar inclinado.

Observar si hay cambio de color en el cultivo de Agar glucosa-sal (amarillo).

Tomar una muestra del Agar inclinado y extender sobre un papel de filtro impregnado con 3 gotas de solución acuosa al 1% de dihidro cloruro de tetrametil parafenilen diamina, el cual tomara un color púrpura a los 5-10 segundos si es oxidasa positiva; o Prueba de la Oxidasa - Bactident Oxidasa.

Si el Agar glucosa-sal cambia a amarillo y la prueba de oxidasa es negativa. Hay presencia de *Enterobacterias*.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 15 de 32	
	Código: GPGACM001 - V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

9.2. PRUEBA DE PRESENCIA - AUSENCIA

9.2.1. *Staphylococcus aureus* COAGULASA POSITIVA

Los *Staphylococcus* son cocos Gram (+), aerobios o anaerobios facultativos, catalasa positiva, citocromo - oxidasa negativos. Su hábitat normal es en la piel, nasofaringe del hombre y algunos animales, también en el aire, polvo y algunos alimentos.

La temperatura óptima de crecimiento es de 30 a 37°C. El pH óptimo de crecimiento es entre 7 y 7.5; es relativamente resistente a la desecación y congelación, es sensible a pH bajos (2 a 3).

Los *Staphylococcus aureus* patógenos están capacitados para producir ciertas enzimas y toxinas, cuya demostración constituye un proceso fundamental en la caracterización del microorganismo como patógeno. Entre las enzimas más importantes están la coagulasa y la desoxirribonucleasa (DNAsa).

Procedimiento:

- ◆ Tome 10 g o mL de muestra, y adicione a 90 mL de Caldo Caseína Soya; mezcle e incube a 35°C por 24 horas.
- ◆ Seguida la incubación examine el medio en busca de crecimiento; si este se presenta tome con un asa curva una porción e inocule por estría en la superficie de Agar Vogel Jonson, o Agar Baird Parker, o Agar Sal Manitol e incube.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 16 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en los medios de agar selectivos

AGAR VOGEL JOHNSON

- ◆ Después del tiempo de incubación, si se observa la formación de colonias pequeñas, negras con halo amarillo. Es prueba positiva.

AGAR BAIRD PARKER

- ◆ Después del tiempo de incubación, si se observa la formación de colonias negras y brillantes con halo claro. Es prueba positiva.

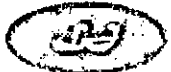
AGAR SAL MANITOL

- ◆ Después del tiempo de incubación, si se observa la formación de colonias amarillas. Es prueba positiva.

PRUEBA DE LA COAGULASA

- ◆ Tome mínimo tres (3) colonias de cada caja sospechosa.
- ◆ Transfiera las colonias a confirmar de cada caja a un número igual de tubos que contengan 5 mL de Caldo BHI (Infusión Cerebre Corazon).
- ◆ Incube a 35°C durante 18 a 24 horas.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 17 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

- ◆ A un tubo que contenga 0.3 mL de Plasma de Conejo Deshidratado EDTA, agregue 0.3 mL del cultivo obtenido en el Caldo BHI.
- ◆ Incube a 35°C por 4 horas. Haga observaciones cada hora. En caso negativo prolongue la incubación hasta las 24 horas.
- ◆ Finalizado el tiempo de incubación hacer lectura en base a los tubos que presenten coagulación del plasma. Si no se observa coagulación la prueba es negativa.

Lectura:

Sobre el número total de colonias después de las 48 horas de incubación y la proporción de colonias confirmadas por la prueba de la coagulasa, hacer el cálculo de *S.aureus* coagulasa positiva utilizando como factor de corrección.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 18 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		


9.2.2. PRESENCIA – AUSENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo Gram negativo que tiene la particularidad de producir ulceración de la cornea por acción de sus factores de virulencia, exotoxinas, hemolisinas etc.

Procedimiento:

- ◆ Preparar la muestra a examinar, 10 g o mL en 90 mL de Caldo Caseina Soya.
- ◆ Incubar a una temperatura de 35°C por 24 horas.
- ◆ Pasado el tiempo de incubación, si se observa crecimiento tomar con la ayuda de un asa curva una cantidad para inocular por estría en Agar Cetrimida; cubra invierta e incube a 35°C por 24 horas.
- ◆ Si se presenta crecimiento o colonias sospechosas, seleccione con un asa curva una cantidad de la superficie del Agar Cetrimide e inocular por estría en cajas con Agar Fluoresceina y Agar Pseudomonas P.
- ◆ Cubra, invierta e incube las cajas a 35 °C por no menos de 3 días.
- ◆ Examinar la superficie de los medios a luz ultravioleta a 365 nm.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 19 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

Características morfológicas sobre los agares selectivos

AGAR CETRIMIDA: Presencia de colonias verdes.

AGAR FLUORESCIN: Colonias amarillentas en presencia de luz UV.


AGAR PSEUDOMONAS P: Crecimiento de colonias azul, bajo luz ultra violeta.

Confirmar las colonias sospechosas de cualquiera de los agares; con la prueba de oxidasa, usar el reactivo de oxidasa (tetrametil parafenilen diamina al 1% o empleando tiras de Bactident® oxidasa la cual se utiliza siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Después del crecimiento transfiera las colonias a tiras de papel filtro impregnados con N,N-dimetil-p-fenilendiamina dihidroclorato.

Si no hay presencia de un cambio de color rosado a púrpura, se considera prueba negativa; Ausencia de *Pseudomonas aeruginosas*.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 20 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

9.2.3. PRUEBA DE PRESENCIA – AUSENCIA DE *Salmonella spp.*

Microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriáceae, integrado por gérmenes de forma bacilar no esporulados, móvil. Gram negativo; lactosa y sacarosa negativa, fermenta la glucosa con producción de ácidos y gases. La temperatura óptima de crecimiento es 37°C, su pH óptimo es de 6.5 - 7.5.

Para la búsqueda e identificación de *Salmonella spp* se deben considerar 5 etapas:


- ◆ Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo.
- ◆ Enriquecimiento en medio líquido selectivo.
- ◆ Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos.
- ◆ Confirmación bioquímica de las colonias sospechosas.
- ◆ Confirmación serológica de las colonias sospechosas.

Procedimiento:

◆ **PREENRIQUECIMIENTO NO SELECTIVO**

- ◆ Mezcle 10 g de la muestra con 90 mL de Caldo Lactosado.
- ◆ Incube a 35°C durante 24 horas.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 21 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

◆ **ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO**

- ◆ Transfiera 1 mL del caldo de preenriquecimiento no selectivo a un tubo que contenga 10 mL de Caldo Selenito - Cistina.
- ◆ Transfiera 1 mL de caldo de preenriquecimiento no selectivo a un tubo que contenga 10 mL de Caldo Tetrionato.
- ◆ Incube a 43°C durante 12 a 24 horas.

Aunque esta parte puede ser reemplazada por tabletas de Salmosyst; tomando 10 mL del cultivo y se adiciona en un tubo esteril, seguido se le adiciona una tableta dejando en reposo por 30 minutos, homogenizar e incubar a 35 °C por 24 horas.

Paralelamente siembre por aislamiento una asada del cultivo de preenriquecimiento en Agar BPLS, Agar XLD y Agar SS e incube a 35°C durante 24 horas.

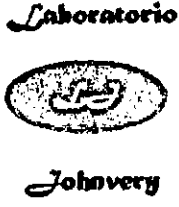
◆ **SIEMBRA EN PLACA CON AGAR SELECTIVO**

A partir de los tubos de enriquecimiento selectivo, siembre por agotamiento una asada en placas con Agar BPLS, SS, RAMBACH, BS y XLD. Incube a 35°C por 24 a 48 horas. Seleccione las colonias sospechosas de *Salmonella* así:

Lectura:

AGAR BPLS (Verde brillante-rojo de fenol-lactosa-sacarosa): Colonias incoloras, rosa o fucsia, el medio que las rodea de color rosa o rojo.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 22 de 32
	Código: GPGACM001 - V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

AGAR BS (Bismuto sulfito): Colonias negras o verdes, a veces con brillo metálico, bordes claros, ("ojo de conejo", "ojo de pez").

AGAR XLD (Xilosa-lisina-desoxicolato): Colonias rojas; con o sin centro negro.

AGAR SS (Salmonella shigella): Colonias incoloras, transparentes y algunas con centro negro.

AGAR RAMBACH: Colonias rojas.


◆ **PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

Siembre en cajas con agar nutritivo las colonias sospechosas e incube a 35 °C por 24 horas.

A partir de las cajas con agar nutritivo realice las siguientes pruebas:

- ◆ Tinción de Gram: Se observara bacilos Gram negativos no esporulados.
- ◆ Oxidasa: Extender con un palillo una porción de la colonia en la tirilla de Bactident® oxidasa. Se observa cambio de color a los 10 segundos.


Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johoverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 23 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

- ◆ Agar hierro triple azúcar (TSI): Inocule por punción y por estrías tubos inclinados con agar. Incube a 35°C por 24-48 horas. La reacción es positiva para *Salmonella* si:
 - ◆ La parte inclinada es de color roja (reacción alcalina) y el fondo del tubo de color amarillo (reacción acida) con o sin producción de H₂S.
 - ◆ Hidrólisis de la urea: Sembrar por asada en caldo urea, incube a 35°C por 24-48 horas. Reacción positiva: coloración rosa-rojo. Reacción negativa: coloración amarillo-naranja. La *Salmonella* es ureasa negativa.
 - ◆ Agar Lisina hierro: Inocule por punción y por estría tubos con agar. Incube a 35°C por 24 - 48 horas. La prueba es positiva si el medio es de color púrpura con o sin producción de H₂S. La *Salmonella* es Lisina descarboxilasa positiva.
 - ◆ Agar Citrato de Simmons: Inocular por estría tubos con agar. Incube a 35°C por 24-48 horas. La prueba es positiva cuando hay coloración azul intensa en el medio, y negativa si no hay cambio de color. La *Salmonella* es Citrato positiva.

PRUEBA API 20 E: Tomar una colonia de 24 horas, en Agar Nutritivo, empleando para ello una suspensión de la misma en solución salina al 0.85% y una tirilla de API 20 E y seguir instrucciones del fabricante.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 24 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

Resultados:

- ◆ Si después de cultivar no se obtienen colonias sospechosas en agar selectivo, la búsqueda es **NEGATIVA** en 10 g o mL.
- ◆ Si resultan colonias sospechosas y respuestas positivas para *Salmonella* en las pruebas bioquímicas, se informa **POSITIVA** en 10 g o mL y confirmar el diagnóstico por serología.

◆ **TIPIFICACIÓN SEROLÓGICA**

Una vez confirmadas bioquímicamente las colonias sospechosas de ser *Salmonella*, se sigue con la identificación serológica con ayuda de antisueros específicos para ello y a partir de cultivos recientes de 24 horas y en Agar nutritivo.


Aglutinación con antisueros polivalentes somáticos (O):

Sobre un porta de vidrio colocar una gota de antisuero polivalente somático (O).

En otra parte del porta. Poner una gota de solución salina que será control negativo.

Con asa de siembra tomar una porción de cultivo reciente de la cepa sobre agar nutritivo y mezclar con la solución salina. Y otra muestra del cultivo se mezcla con la gota del antisuero.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 25 de 32	
	Código: GPGACM001 - V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Area de Control de Calidad		

Mover el porta durante un minuto y observar si hay aglutinación; en caso de que la cepa de reacción, el control negativo permanecerá sin aglutinación.

Aglutinación con antisueros flagelares (H).

Sobre un porta de vidrio colocar una gota de antisuero polivalente somático (H).

En otra parte del porta. Poner una gota de solución salina que será control negativo.

Con asa de siembra tomar una porción de cultivo reciente de la cepa sobre Agar nutritivo y mezclar con la solución salina. Y otra muestra del cultivo se mezcla con la gota del antisuero.

Mover el porta durante un minuto y observar si hay aglutinación; en caso de que la cepa de reacción, el control negativo permanecerá sin aglutinación.


Interpretación de las pruebas bioquímicas y serológicas.

Los cultivos que dan reacción típica en 2 pruebas bioquímicas y reacción serológica negativa, no son *Salmonella*.

Los cultivos que dan reacción típica en 2 pruebas bioquímicas y reacción serológica positiva, son *Salmonella*.

Los cultivos que dan reacción típica en las pruebas bioquímicas y reacción serológica negativa, requiere más pruebas bioquímicas.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 26 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Área de Control de Calidad		

9.2.4. Escherichia coli

Procedimiento:

- ◆ Preparar 10 g o mL de la muestra a examinar y adicionar en 90 mL de Caldo Lactosado.
- ◆ Incubar a 35°C-37°C en un tiempo de 18 a 24 horas.
- ◆ Tomar con un asa curva una muestra e inocular por estría sobre la superficie de Agar Mac Conkey.
- ◆ Cubrir, invertir e incubar las cajas de petri.


Características morfológicas de Escherichia coli sobre el agar Mac Conkey

Presencia de colonias rojo ladrillo, con una zona circundante de bilis precipitada; siendo presuntiva de *Escherichia coli*.

Si se encuentran colonias con estas descripciones; proceder con la identificación y transferir las colonias sospechosas de manera individual con un asa curva e inocular sobre la superficie de Agar EMB (Eosina Azul de Metileno).

Si las colonias que se van a transferir son muy numerosas, dividir la caja en cuadrantes y sembrar en cada uno colonias diferentes.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico


Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 27 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		


Invertir e incubar las cajas. Si ninguna de las colonias exhibe un lustre metálico característico bajo la luz reflejada y un azul-negro bajo la luz transmitida, informar prueba negativa; ausencia de *Escherichia coli*.

PRUEBAS BIOQUIMICAS

- ◆ Tome como mínimo 3 colonias para las pruebas.
- ◆ Siembre las colonias sospechosas sobre la superficie de Agar Nutritivo.
- ◆ Incube a 37 °C por 18 a 24 horas.
- ◆ Realice la prueba de la oxidasa y tinción de Gram.
- ◆ Realice la prueba de la Glucuronidasa, según las instrucciones del Bactident *E coli* ® Merck código N° 1. 13303.0001.
- ◆ Siembre una colonia por punción en los siguientes Agares: TSI, Citrato, SIM, Caldo Urea e incube a 37 °C por 24 a 48 horas.
- ◆ Para la prueba del Indol, adicione de 2 a 3 gotas del Reactivo de Kovacs al medio SIM.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnvegg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA				Página 28 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01					
Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad						
Sector: Área de Control de Calidad						
Lectura:						
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Oxidasa negativa, prueba positiva azul o violeta; negativa sin cambio. ◆ Gram negativa, prueba positiva color violeta; negativa color rojo. ◆ Ureasa negativa, prueba positiva coloración rosa-rojo. Negativa coloración amarillo naranja. ◆ Citrato negativa, prueba positiva color azul intenso. Negativa sin cambio de coloración. ◆ Indol positiva, aparición de anillo rojo. ◆ Prueba de la Glucoronidasa: Positiva 						
Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha	
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA		
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico	

Laboratorio  Johverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA	
	Página 29 de 32	
	Código: GPGACM001 – V01	
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad	
Sector: Area de Control de Calidad		

10. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS APLICADOS A LAS MATERIAS PRIMAS

10.1. RECUENTO EN PLACA


- 11.1.1. Recuento de *aerobios mesófilos* (9.1.1.)
- 10.1.2. Recuento de Mohos y Levaduras (9.1.2.)
- 10.1.3. Coliformes totales (9.1.3.1.)
- 10.1.4. Coliformes fecales (9.1.3.2.)
- 10.1.5. Esporas de *Clostridium* Sulfito Reductor (9.1.4.)
- 10.1.6. *Enterobacterias* (9.1.5.)

10.2. PRUEBA DE PRESENCIA AUSENCIA

- 10.2.1. *Staphylococcus aureus* (9.2.)
- 10.2.2. *Pseudomonas aeruginosas* (9.2.2.)
- 10.2.3. *Salmonella spp* (9.2.3.)
- 10.2.4. *Escherichia coli* (9.2.4.)

Ver las especificaciones y parámetros microbiológicos permitidos para la materia prima.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johoverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA		Página 30 de 32
	Código: GPGACM001 – V01		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

11. PROCEDIMIENTO PARA EL CONTEO DE COLONIAS

11.1. Conteo Estándar

- ◆ Seleccione las cajas que se hallen dentro del rango para el microorganismo o grupo de microorganismo a contar.
- ◆ Realice el promedio aritmético.
- ◆ Multiplique por el inverso del factor de dilución.

11.1.1. Reglas para casos especiales:

- ◆ Si las cajas de dos diluciones consecutivas dan recuentos menores y mayores de los límites del rango establecido, cuente todas las cajas, haga el cálculo de los recuentos y saque el promedio entre las dos diluciones.
- ◆ Placas sin crecimiento en la dilución de mayor concentración, informar el recuento como menor de 1 multiplicado por el inverso del factor de dilución mas concentrada, así:

10^{-1} = Ausencia de colonias. Resultado: Menor de 10 UFC/g o mL.

Si sembró 0.1 mL de esa dilución, entonces el resultado es: 100 UFC/g o mL.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johavery	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA
	Página 31 de 32
	Código: GPGACM001 – V01
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad
	Sector: Área de Control de Calidad

- ◆ Cuando en dos diluciones consecutivas, después de hacer los recuentos, el mayor de estos contiene dos veces o más al menor, se reporta el menor recuento, así:

Ejemplo:

$$10^{-1} : \begin{array}{l} 220 \\ 180 \end{array} \quad \frac{220 + 180}{2} \times 10 = 2000$$

$$10^{-2} : \begin{array}{l} 45 \\ 55 \end{array} \quad \frac{45 + 55}{2} \times 100 = 5000$$

$$\text{Relación} = \frac{5000}{2000} = \text{mayor de 2}$$

Resultado = 2000 UFC/ g o mL

11.2. Conteo Estimado

Cuando las cajas de la dilución a contar, están fuera de los rangos establecidos, entonces se consideran algunas reglas para determinar un conteo estimado.

- ◆ Divida la caja en secciones radiales (2, 4, 6,8, etc.) y cuente las colonias en una o más secciones.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio  Johnverg	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS FITOTERAPEUTICOS DE USO ORAL Y SU MATERIA PRIMA
	Página 32 de 32
	Código: GPGACM001 – V01
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad
Sector: Área de Control de Calidad	

- ◆ Multiplique por el factor correspondiente para estimar el conteo en toda la caja.
- ◆ Saque el promedio entre las cajas de la misma dilución y multiplique por el inverso del factor de dilución.

Existen algunos aspectos que hay que tener en cuenta al momento de realizar los recuentos:

- ◆ Cuando se obtienen colonias difusas o dispersas, se consideran como una colonia.
- ◆ Se deben elegir cajas donde la distribución sea homogénea.
- ◆ Reportar sólo los dos primeros dígitos seguidos de cero o la potencia correspondiente y en UFC/g o MI.

Ejemplo: 36×10^3 UFC/g en vez de 36000 UFC/g

Si después de dividir la caja de mayor dilución en ocho secciones, el número de colonias es mayor que 200 en cada sección, informe:

Mayor o igual a 1.600×10^n UFC/g o mL, siendo n el inverso de la mayor dilución.

Rangos establecidos:

Entre 30-300 colonias por placa	Entre 10-100 colonias por placa
Entre 20-200 colonias por placa	Entre 25-250 colonias por placa

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo PASANTE		Cargo ASESOR		Cargo Director Técnico	

BIBLIOGRAFIA

- ◆ RAMIREZ Gutierrez German. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Control Biológico y Microbiológico de Drogas Medicamentos y Cosméticos. Bogotá, D.E., 1989. pág. 14-19.
- ◆ The United States Pharmacopeia 26. The National Formulary 21. 2004.
- ◆ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Norma Técnica Colombiana. 4779. Bogota. 2000. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Métodos horizontales para el recuento de *Estafilococos Coagulasa positivo-Staphylococcus aureus* y otras especies.
- ◆ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Norma Técnica Colombiana. 4574. Bogota. 1998. Microbiología de alimentos y alimentos par animales. Guía general sobre métodos para detección de *Salmonella*.
- ◆ Decreto número 2266 de 2004. Diario oficial 45.610 del 15 de Julio de 2004. Por el cual se elaboran las disposiciones que regulan control de calidad, buenas prácticas de manufactura, régimen de vigilancia y control sanitario de los productos fitoterapéuticos.
- ◆ RIZZO Inés. CHIALE Carlos. Regulación de los medicamentos fitoterápicos en Argentina. INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME-ANMAT). Disposición N° 2673 DE 1999. Argentina Buenos Aires. Mayo 2001. Disponible en Internet en: <http://www.plantasmedicinales.org/legisl/may2001/2.htm>
- ◆ Manual de Laboratorios de la Universidad del Santander. 1992. Pág.200.
- ◆ AMARIS Patricia. VERGEL Eduardo. Manual de Normas Técnicas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena. 1996.

ANEXOS

MICROORGANISMOS	MEDIOS DE CULTIVOS A UTILIZAR
AEROBIOS MESÓFILOS	CALDO CASEINA SOYA
MOHOS Y LEVADURAS	AGAR SABOURAUD 2%
 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS 	
<i>Staphylococcus aureus</i>	AGAR VOGEL JOHNSON
	AGAR MANITOL SAL
	AGAR BAIRD PARKER
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	AGAR CETRIMIDA
	AGAR FLUORESCIN
	AGAR PIOCYANIN
<i>Escherichia coli</i>	CALDO LACTOSADO
	AGAR MACCONKEY
	AGAR EMB
<i>Salmonella spp</i>	MEDIO SELENITO CISTINA
	MEDIO TETRATIONATO
	AGAR TSI
<i>Esporas de Clostridium Sulfito R.</i>	AGAR SPS



Laboratorios Johnsony Cosméticos

92

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD

REPORTE FINAL DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA *Escherichia coli*

MATERIA PRIMA: _____ CODIGO: _____

PROVEEDOR: _____ CANTIDAD: _____

FECHA DE RECEPCIÓN: _____ No. MUESTRA: _____

FECHA DE ANÁLISIS: _____ FECHA DE LECTURA: _____

AGAR O REACTIVO	<i>Escherichia coli</i>	PRUEBA POSITIVA	PRUEBA NEGATIVA	RESULTADOS + o -
OXIDASA	Oxidasa -	Azul o violeta	Sin cambio	
AGAR TSI	Lactosa +	Pico amarillo	Pico rojo	
	Glucosa +	Burbujas/ gas	No burbujas/no gas	
	H ₂ S	Ennegrecimiento	No ennegrec.	
HIDRÓLISIS DE LA UREA	Ureasanogativa	Rosa-rojo	Amarillo naranja	
GLUCURONIDASA	Glucuronidasa +	Rojo	Amarillo	
AGAR CITRATO	Citrato -	Azul intenso en el medio	No hay cambio color	
MEDIO SIM	Móvil o inmóvil	Migra en la línea de siembra y se difunde en el medio, produce turbidez (móvil)	Crece siguiendo la línea de siembra (inmóvil)	
COLORACIÓN GRAM	Gram -	Color violeta	Color rojo	
REACTIVO DE KOVAC'S	Indol +	Aparición de anillo rojo	No hay cambio de color	

Observaciones: _____

Director técnico

ANEXO 2

CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD MICROBIOLÓGICA EN LAS MATERIAS PRIMAS DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS, RECUENTO EN PLACA

MICROORGANISMOS	LÍMITES PERMITIDOS UFC/g
AEROBIOS MESÓFILOS	10 ⁷
HONGOS Y LEVADURAS	10 ³
OTRAS ENTEROBACTERIAS	10 ⁴

ANEXO 3

CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD DE MICROORGANISMOS PATOGENOS EN LAS MATERIAS PRIMAS, PRUEBA DE PRESENCIA - AUSENCIA

MICROORGANISMO	PRESENCIA - AUSENCIA g/mL
<i>Salmonella spp</i>	AUSENCIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	AUSENCIA
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	AUSENCIA
<i>Escherichia coli</i>	AUSENCIA

ANEXO 4

CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD MICROBIOLÓGICA APLICADOS A LOS PRODUCTOS EN PROCESO Y PRODUCTOS TERMINADOS

MICROORGANISMO	LIMITES PERMITIDOS
Aerobios mesófilos	10³ UFC/g
Hongos y Levaduras	10² UFC/g
Enterobacterias	10² UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	AUSENCIA/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	AUSENCIA/g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AUSENCIA/g
<i>Salmonella spp</i>	AUSENCIA/g
<i>Esporas de Clostridium Sulfito reductor</i>	AUSENCIA/g

ANEXO 5

ETIQUETA PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO

Laboratorios Johnsony

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
MUESTRA DE PRODUCTO TERMINADO**

NOMBRE Y/CODIGO: _____

NUMERO DE LOTE INTERNO: _____

FECHA DE ELABORACIÓN: _____

FECHA DE VENCIMIENTO: _____

FECHA DE RECIBIDO: _____

CANTIDAD: _____

ANEXO 6

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Laboratorios Johnson

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
IDENTIFICACIÓN DE MATERIA PRIMA**

NOMBRE Y/O CODIGO: _____

NUMERO DE LOTE INTERNO: _____

FECHA DE RECIBO: _____

FECHA DE VENCIMIENTO: _____

CANTIDAD APROBADA: _____

RESPONSABLE: _____

ANEXO 7

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO EN PROCESO

Laboratorios Johnson

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
MUESTRA DE PRODUCTO EN PROCESO**

NOMBRE Y/O CODIGO: _____

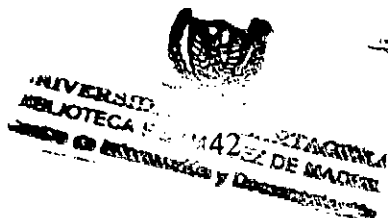
NUMERO DE LOTE INTERNO: _____

FECHA DE ELABORACIÓN: _____

FECHA DE VENCIMIENTO: _____

FECHA DE RECIBO: _____

CANTIDAD: _____



ANEXO 8

ETIQUETA DE IDENTIFICACION PARA LAS MUESTRAS DE RETENCION

Laboratorios Johnson

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
MUESTRA DE RETENCIÓN**

NOMBRE Y/CODIGO: _____

NUMERO DE LOTE INTERNO: _____

FECHA DE ELABORACIÓN: _____

FECHA DE VENCIMIENTO: _____

CANTIDAD: _____

RESPONSABLE: _____

ANEXO 9

ETIQUETA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TANQUES LIMPIOS

Laboratorios Johnveeg

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
IDENTIFICACIÓN DE TANQUES LIMPIOS**

PRODUCTO ANTERIOR: _____

FECHA: _____

PRODUCTO ACTUAL: _____

ESTADO DEL PROCESO: _____

RESPONSABLE: _____

ANEXO 10

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS LIMPIOS

Laboratorios Johnson

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS LIMPIOS**

NOMBRE DEL EQUIPO: _____

PRODUCTO ANTERIOR: _____

FECHA DE LIMPIEZA: _____

REALIZADO POR: _____

PRODUCTO ACTUAL: _____

ANEXO 11

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN DE ÁREAS LIMPIAS

Laboratorios Johnson

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
IDENTIFICACIÓN DE ÁREAS LIMPIAS**

TIPO DE ÁREA: _____

PRODUCTO ANTERIOR: _____

FECHA DE LIMPIEZA: _____

REALIZADO POR: _____

VERIFICADO POR: _____

PRODUCTO ACTUAL: _____

103

ANEXO 12

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTANDARIZADO P.O.E

P.O.E.

PROCEDIMIENTO DE OPERACION ESTANDAR

Laboratorio Johnverg	P.O.E.	
	CONTROL HIGIENICO	
	Página 1 de 12	
	Código: GPGACM001	
Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
Sector: Área de Control de Calidad		

1. OBJETIVOS:

Detallar los pasos para detectar cualquier contaminación microbiana en productos de uso oral y a la vez evaluar las características microbiológicas de estos producto así como las condiciones sanitarias a las que fue sometido. Y mostrar la cantidad y clase de microorganismos que se aíslan.

2. ALCANCE:

Aplica a todas las materias primas para productos fitoterapéutico, producto en proceso y producto terminado de uso oral.

3. FRECUENCIA:

Aplicar este procedimiento cada vez que se analicen productos de uso oral no estériles (materias primas, producto en proceso y productos terminados fitoterapéutico) en el Laboratorio de Control de Calidad.

4. DEFINICIÓN:

CONTROL HIGIENICO: Control realizado a los productos no estériles; que por ser de consumo humano van a requerir de parámetros microbiológicos que limitaran las contaminaciones que pueden estar presente.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

<i>Laboratorio</i>	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 2 de 12
	Código: GPGACM001		
<i>Johnverg</i>	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

5. MATERIALES Y EQUIPOS

- 5.1. Bata blanca
- 5.2. Gorro
- 5.3. Gafas
- 5.4. Tapa boca
- 5.5. Equipos de precisión (Balanza digital, Densímetro)
- 5.6. Nevera.
- 5.7. Material de vidrio usual de un laboratorio microbiológico. (SCOTCH).
- 5.8. Equipo de esterilización en seco (horno) o esterilización en húmedo (autoclave).
- 5.9. Incubadora con capacidad de operar de 35°-37°C.
- 5.10. Cajas de petri de vidrio estériles de 15x100mm.
- 5.11. Pipetas con capacidad nominal de 0.1 y 1 mL.
- 5.12. Baño serológico.
- 5.13. Asas de inoculación.
- 5.14. Tubos de ensayo 180 x 15 mm
- 5.15. Equipo para recuento de colonias.
- 5.16. Medidor de pH.
- 5.17. Pipetas estériles graduadas de 1 mL, 5 mL y 10mL.
- 5.18. Instrumentos estériles pinzas, tijeras, espátulas, gradillas, etc.
- 5.19. Frascos de dilución de 100 mL con tapa rosca.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 3 de 12
	Código: GPGACM001		
Johnverg	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

6. REACTIVOS

- Agar Tripticasa Soya
- Agar Sabouraud 4%
- Agar VRBA (Cristal Violeta Rojo Neutro Bilis)
- Agar SPS (Sulfito Polimixina Sulfadiazina)
- Caldo Tripticasa Soya
- Caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón)
- Agar Cetrimida
- Agar Vogel Jonson
- Caldo Lactosado
- Caldo Selenito Cistina
- Caldo de Tetrionato
- Caldo enriquecimiento enterobacterias

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 4 de 12
	Código: GPGACM001		
Johnverg	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

7. RESPONSABLES

Es responsabilidad del analista encargado del Laboratorio de Control de Calidad microbiológico llevar a cabo los procedimientos y análisis, bajo la supervisión del jefe de control de calidad.

8. RECOMENDACIONES:

8.1. Tener en cuenta la forma de selección y recolección de las muestras. Ver P.O.E. Toma de muestras.

8.2. Realizar el muestreo de la materia prima, producto en proceso y producto terminado siguiendo las instrucciones del P.O.E. Toma de muestra.

8.3. Limpiar y desinfectar con alcohol al 70 % todo el material utilizado para el control de calidad de las muestras.

8.4. Cuando se analicen sustancias diferentes, limpiar con alcohol y luego con agua destilada el equipo que se este utilizando en el momento.

8.5. Al iniciar y al finalizar cada análisis limpie el área con toallas de papel y alcohol al 70%, hipoclorito de sodio al 2%, fenol al 5% ó tego 51, de dos a tres veces.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

<i>Laboratorio</i> <i>Johnvery</i>	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 5 de 12
	Código: GPGACM001		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

- 8.6. Los resultados deben expresarse en su formato respectivo, en forma clara y confiable por encima la honestidad, si hay duda del dato a reportar, consultar con su superior o repetir el análisis, hasta cuando este completamente seguro.

- 8.7. Esterilice las asas antes y después de usarlas, flamee el hilo de platino al rojo vivo y enfríe a temperatura ambiente durante unos 10 a 15 segundos antes de tomar las muestras y sembrarlas en los cultivos respectivos.

- 8.8. Cuando se realice el control higiénico a los productos de uso oral, tener como fuente de apoyo El Manual de Procedimientos Microbiológicos de Productos Fitoterapéuticos de Uso Oral y su Materia Prima.

- 8.9. Si cae material contaminado sobre mesas, pisos o superficies; cubra inmediatamente el área afectada con una solución de hipoclorito de sodio al 2% ó alcohol al 70%, durante un tiempo mínimo de 15 minutos; seque con toallas de papel y esterilícelas antes de desecharlas.

- 8.10. Las muestras a analizar deber recogerse en buenas condiciones de asepsia, para evitar agregarles microorganismos y ser a la vez representativa.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 6 de 12
	Código: GPGACM001		
Johnverg	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

9. METODOLOGIA:

9.1. ANÁLISIS A REALIZAR EN PRODUCTOS DE USO ORAL

- a) Recuento de Aerobios mesófilos: Agar Tripticasa Soya.
- b) Recuento de Hongos y levaduras: Agar Saboureaud 4%.
- c) Recuento de coliformes totales y fecales: Agar VRBA (Cristal Violeta Rojo Neutro Bilis).
- d) Búsqueda de microorganismos anaerobios sulfito reductores: Agar Sulfito Hierro Polimixina (Agar SPS).
- e) Investigación de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas*: Caldo Lactosado.
- f) Investigación de *Salmonella*: Caldo Lactosado.
- g) Investigación de Enterobacterias: Caldo Enriquecimiento Enterobacterias

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

<i>Laboratorio</i> <i>Johnverg</i>	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 7 de 12
	Código: GPGACM001		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

9.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los medios deshidratados que tienen la forma de polvos o gránulos desecados, están listos para ser preparados como medios líquidos o sólidos con solo restaurar la humedad con agua destilada, desionizada o esterilizada si así se requiere.

También se puede preparar, pesando cada uno de sus componentes, por separado, adicionando el agua destilada o desionizada e hirviendo o esterilizando cuando así se requiera.

Preparar 90 mL de matriz diluyente (Agua peptonada al 1%, Buffer de fosfato pH 7.2, Caldo Tripticasa Soya o Caldo Lactosado), en frascos de dilución, y esterilizar.

Pesar o medir, dependiendo del estado de la muestra 10 g o mL de la misma.

* **MUESTRAS LIQUIDAS:** Tome 10 mL de la muestra y adicione en 90 mL de matriz diluyente.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 8 de 12	
	Código: GPGACM001			
Johnverg	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad			
	Sector: Área de Control de Calidad			

* **MUESTRAS SÓLIDAS Y POLVOS:** Pese 10 g de la muestra y macere en un mortero estéril, adicione lentamente, con agitación permanente y en pequeñas porciones a 90 mL de matriz diluyente. Mezcle hasta obtener una suspensión homogénea.

Tome 10 mL de la muestra y adicione en 90 mL de matriz diluyente, primera dilución. (10^{-1})

A partir de la primera dilución, se prepara dos diluciones más (10^{-2} y 10^{-3}), medidas volumétricamente (1 mL + 9 mL de agua desionizada estéril). Esta parte será ejecutada cuando se trabaje con la técnica de Recuento en placa.

Quando se maneje la identificación de patógenos se disuelven los 10 g o mL de la muestra en 90 mL de Caldo Lactosado o Caldo Trypticasa Soya, previamente preparado y esterilizado en un frasco de dilución; a partir de esta solución se tomara el inculo para la posterior siembra en cada uno de los medios de cultivo específicos para cada microorganismo a identificar. Este procedimiento se maneja para la investigación y posterior identificación de los microorganismos patogenos.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 9 de 12
	Código: GPGACM001		
Johnverg	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

RECUESTO BACTERIANO Y DE HONGOS

RECUESTO DE BACTERIAS AEROBIAS

De las diluciones previamente preparadas tomar 1 mL de cada dilución y adicionar en cajas de petri estériles a las cuales se le va agregar \pm 15 mL de Agar Tripticasa Soya.

Mezclar suavemente, dejar solidificar e incubar a 35 °C por 48 horas.

RECUESTO DE Coliformes Totales

De cada una de las diluciones, tomar 1 mL como inculo y adicionar en igual número de cajas de petri, luego agregar \pm 15 mL Caldo Verde Brillante.

Mezclar el inculo con el caldo, dejar solidificar e incubar a 35 °C por 48 horas.

RECUESTO DE HONGOS Y LEVADURAS

Tomar 1 mL como inculo de cada una de las diluciones preparadas con anterioridad y agregarla en cajas de petri esteriles. Adicionar 15 mL de Agar Saboureaud 4% a las cajas y homogenizar.

Dejar solidificar e incubar por 7 días a 20 °C -28 °C.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio Johnverg	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 10 de 12
	Código: GPGACM001		
	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Area de Control de Calidad		

INVESTIGACION DE *Pseudomonas aeruginosa*

Tomar 10 g o mL de muestra y adicionar a 90 mL de Caldo Lactosado. Agitar e incubar a 35 °C por 24 horas. Examinar si hay crecimiento; si existe, tomar un inculo y sembrar por estria sobre la superficie de Agar Cetrimida contenido en cajas de petri. Incubar por 24 horas.

INVESTIGACION DE *Staphylococcus aureus*

Tomar 10 g o mL de muestra y adicionar a 90 mL de Caldo Lactosado. Agitar e incubar a 35 °C por 24 horas. Examinar si hay crecimiento; si existe, tomar un inculo y sembrar por estria sobre la superficie de Agar Vogel Johnson contenido en cajas de petri. Incubar de 24 - 48 horas.

INVESTIGACION DE *Enterobacterias*

Tomar 10 g o mL de muestra y adicionar a 90 mL de Caldo Enriquecimiento enterobacterias (EEB). Agitar e incubar a 35 °C por 24 horas. Examinar si hay cambio alguno; si existe, tomar un inculo y sembrar por estria sobre la superficie de Agar Verde Brillante contenido en cajas de petri. Incubar por 24 horas a 35 °C.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

Laboratorio	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 11 de 12
	Código: GPGACM001		
Johnson	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Área de Control de Calidad		

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En los productos no estériles la presencia de un contaje superior a las especificaciones en requerimientos o la presencia de *Enterobacterias*, patógenos u otros microorganismos que indiquen un manipuleo antihigiénico, se rechaza el producto.

Una vez realizados estos análisis y los resultados arrojan que el número de microorganismos es mayor en aerobios mesófilos y Hongos y levadura; se continúa con la identificación de patógenos, siguiendo cada uno de las consideraciones y ensayos plasmados en el Manual de Procedimientos Microbiológicos para cada microorganismo y patógeno en particular.

REQUERIMIENTOS PERMITIDOS:

Limites máximos permitidos:

Bacterias aerobias: 1×10^4 UFC/g

Hongos y Levaduras: 1×10^2 UFC/g

Escherichia coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y

Salmonella: ausencia en 1 g o mL.

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

<i>Laboratorio</i>	P.O.E CONTROL HIGIENICO		Página 12 de 12
	Código: GPGACM001		
<i>Johnson</i>	Localización del Sector: Departamento de Control de Calidad		
	Sector: Area de Control de Calidad		

10. REFERENCIAS:

- ◆ Ramirez German. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Control Biológico de Drogas, Medicamentos y cosméticos. Bogota. 1989.
- ◆ The United States Pharmacopeia 26. The National Formulary 21. 2004

Elaborado por:	Fecha	Revisado por:	Fecha	Aprobado por:	Fecha
EMIRO MULETT		BERNARDA C.		JOSE PARRA	
Cargo	PASANTE	Cargo	ASESOR	Cargo	Director Técnico

ANEXO 13

**FORMATO DE REPORTE FINAL DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO
DE LA MATERIA PRIMA**

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD REPORTE FINAL DE ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MATERIA PRIMA

MATERIA PRIMA: _____ CODIGO: _____

PROVEEDOR: _____ CANTIDAD: _____

FECHA DE RECEPCIÓN: _____ No. MUESTRA: _____

FECHA DE ANÁLISIS: _____ FECHA DE LECTURA: _____

REALIZADO POR: _____ VERIFICADO POR: _____

PRUEBAS	(+) o (-)	ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO	RESULTADO
AEROBIOS MESÓFILOS				
Agar Caseina Soya		No > 10 ⁴ UFC/ g o ml	1x10 ⁷ UFC/g o mL	
MOHOS Y LEVADURAS				
Agar Saboureaud 2%		Todo entre 30-300 col. Mohos entre 10-100	1x10 ³ UFC/g o mL	
COLIFORMES TOTALES Y FECALES				
Agar VRBA		Colonias Rojo Púrpura Entre 25 y 50	Ausencia 1 g o mL	
ESPORAS DE CLOSTRIDIUM SULFITO REDUCTOR				
Agar SPS		5-50 Colonias negras.	Ausencia 1 g/mL	
ENTEROBACTERIAS				
Otras		Caldo de enreq. EEB	1x10 ⁴ UFC/ g o mL	
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Agar Baird Parker		Negras y Brillantes, Halo claro.	Ausencia en 1 g o mL	
Coagulasa		Coagulación de Plasma		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Agar Cetrimida		Colonias verdes. UV	Ausencia en 1 g o mL	
Agar Fluorescin		Col. Amarillentas. UV		
<i>Salmonella spp</i>				
Preenriquecimiento		Caldo Lactosado	Ausencia en 1 g o mL	
Enriquecimiento		Caldo Selenito - Cistina		
Siembra en Placa		Color según el agar.		
Bioquímicas		Color según el medio.		
<i>Escherichia coli</i>				
Presuntiva		Agar Mac Conkey	Ausencia en 1 g o mL	
Confirmativa		Agar EMB		
Bioquímicas		Color según el medio		

Observaciones: _____

 DIRECTOR TÉCNICO

ANEXO 14

FORMATO DE REPORTE FINAL DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO FITOTERAPÉUTICO TERMINADO

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD REPORTE FINAL DE ANALISIS MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO TERMINADO

PRODUCTO: _____ CODIGO: _____

PROVEEDOR: _____ CANTIDAD: _____

FECHA DE RECEPCIÓN: _____ No. MUESTRA: _____

FECHA DE ANÁLISIS: _____ FECHA DE LECTURA: _____

REALIZADO POR: _____ VERIFICADO POR: _____

PRUEBAS	(+) o (-)	ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO	RESULTADO
AEROBIOS MESÓFILOS				
Agar Caseina Soya		No > 10 ³ UFC/ g o ml	1x10 ⁴ UFC/g o mL	
MOHOS Y LEVADURAS				
Agar Saboureaud 2%		Todo entre 30-300 col. Mohos entre 10-100	1x10 ² UFC/g o mL	
COLIFORMES TOTALES Y FECALES				
Agar VRBA		Colonias Rojo Púrpura Entre 25 y 50	Ausencia 1 g o mL	
ESPORAS DE CLOSTRIDIUM SULFITO REDUCTOR				
Agar SPS		5-50 Colonias negras.	Ausencia 1 g/mL	
ENTEROBACTERIAS				
Otras		Caldo de enreq. EEB	1x10 ² UFC/ g o mL	
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Agar Baird Parker		Negras y Brillantes, Halo claro.	Ausencia en 1 g o mL	
Coagulasa		Coagulación de Plasma		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Agar Cetrimida		Colonias verdes. UV	Ausencia en 1 g o mL	
Agar Fluorescin		Col. Amarillentas. UV		
<i>Salmonella spp</i>				
Preenriquecimiento		Caldo Lactosado	Ausencia en 1 g o mL	
Enriquecimiento		Caldo Selenito - Cistina		
Siembra en Placa		Color según el agar.		
Bioquímicas		Color según el medio.		
<i>Escherichia coli</i>				
Presuntiva		Agar Mac Conkey	Ausencia en 1 g o mL	
Confirmativa		Agar EMB		
Bioquímicas		Color según el medio		

Observaciones: _____

DIRECTOR TÉCNICO

ANEXO 15

**FORMATO PARA EL REPORTE FINAL DE ANÁLISIS
MICROBIOLÓGICO DEL PRODUCTO EN PROCESO**

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD REPORTE FINAL DE ANALISIS MICROBIOLOGICO DEL PRODUCTO EN PROCESO

PRODUCTO: _____ CODIGO: _____

PROVEEDOR: _____ CANTIDAD: _____

FECHA DE RECEPCIÓN: _____ No. MUESTRA: _____

FECHA DE ANÁLISIS: _____ FECHA DE LECTURA: _____

REALIZADO POR: _____ VERIFICADO POR: _____

PRUEBAS	(+) o (-)	ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO	RESULTADO
AEROBIOS MESÓFILOS				
Agar Caseina Soya		No > 10 ³ UFC/ g o ml	1x10 ⁴ UFC/g o mL	
MOHOS Y LEVADURAS				
Agar Saboureaud 2%		Todo entre 30-300 col. Mohos entre 10-100	1x10 ² UFC/g o mL	
COLIFORMES TOTALES Y FECALES				
Agar VRBA		Colonias Rojo Púrpura Entre 25 y 50	Ausencia 1 g o mL	
ESPORAS DE CLOSTRIDIUM SULFITO REDUCTOR				
Agar SPS		5-50 Colonias negras.	Ausencia 1 g/mL	
ENTEROBACTERIAS				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Agar Baird Parker		Negras y Brillantes, Halo claro.	Ausencia en 1 g o mL	
Coagulasa		Coagulación de Plasma		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Agar Cetrimida		Colonias verdes. UV	Ausencia en 1 g o mL	
Agar Fluorescin		Col. Amarillentas. UV		
<i>Salmonella spp</i>				
Preenriquecimiento		Caldo Lactosado	Ausencia en 1 g o mL	
Enriquecimiento		Caldo Selenito - Cistina		
Siembra en Placa		Color según el agar.		
Bioquímicas		Color según el medio.		
<i>Escherichia coli</i>				
Presuntiva		Agar Mac Conkey	Ausencia en 1 g o mL	
Confirmativa		Agar EMB		
Bioquímicas		Color según el medio		

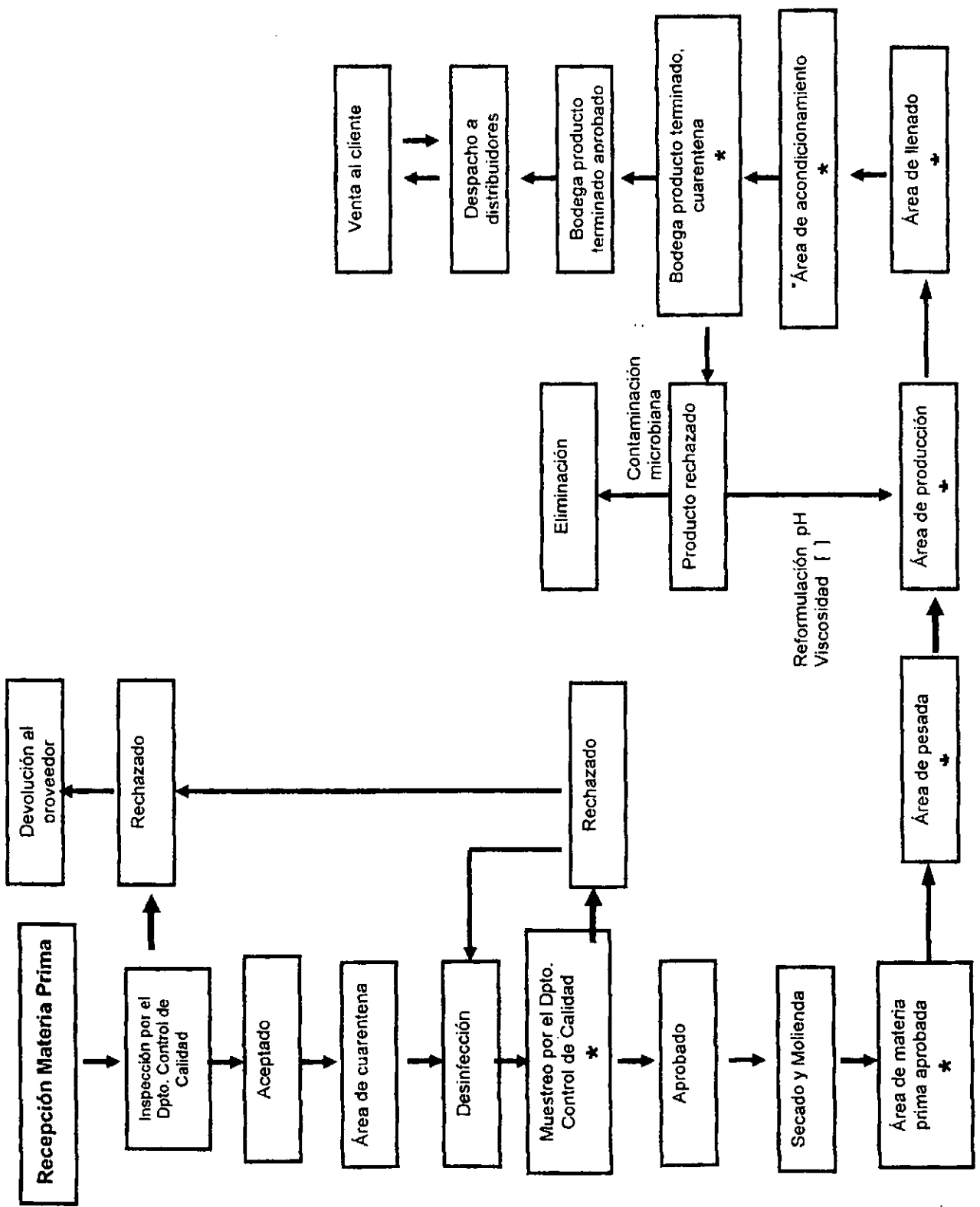
Observaciones: _____

DIRECTOR TÉCNICO

ANEXO 16

ORGANIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS DE SELECCIÓN DE MUESTRAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO FITOTERAPÉUTICO





* En estos puntos se realizará la selección de las muestras para los análisis microbiológicos.

ANEXO 17

DEMARCACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS ÁREAS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO, ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y FITOTERAPÉUTICO

