



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**VALIDACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO
DEL MONITOREO DE SUPERFICIE POR HISOPADO EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br.: Díaz Fernández, Martha María

Asesora: Mg Q.F. Blgo. Ana María Chávez Fernández

Lima-Perú

2018

AGRADECIMIENTO:

A todas aquellas personas que me brindaron su paciencia, comprensión, apoyo incondicional, su asesoramiento académico y la oportunidad de recurrir a su experiencia para la culminación de mi tesis.

RESUMEN

El presente estudio se realizó con la finalidad de evaluar los diferentes métodos de monitoreo de superficies realizados en la industria farmacéutica 2016 – 2017. Se efectuó un estudio de Campo, Descriptiva – Longitudinal, Cualitativa y Aplicada. Para ello se evaluó los parámetros según La farmacopea de los Estados Unidos (USP 40 NF 35) <1223>Validación de Métodos microbiológicos alternativos, se eligió microorganismos similares a los eventualmente encontrados (Estándar biológicos) en los procesos de manufactura de los productos farmacéuticos, se evaluó el material de trabajo, se definió los niveles de detección y se aplicó a los diferentes métodos de monitoreo superficie en evaluación. Se observa que si bien los métodos no presentan resultados homogéneos; Se considera el método que presenta mayor porcentaje (%) de recobro, en más de una ATCC. Es el método Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Solución Amortiguadora de Cloruro de sodio – Peptona. ATCC 9027(15.30%); ATCC 6538 (41%) y ATCC 8739(17.4%).

Es por ello que el presente estudio permite conocer la importancia de identificar y evaluar los métodos propuestos para la industria farmacéutica, la cual siempre está en constante mejora e innovando en métodos para la agilizar resultados. La finalidad es evitar los falsos positivos o negativos y garantizar la calidad e inocuidad de los productos farmacéuticos.

Palabras Claves: Validación, Método de Monitoreo Superficie, Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado.

SUMMARY

The present study was carried out with the purpose of evaluating the different methods of surface monitoring carried out in the pharmaceutical industry 2016 - 2017. A Field, Descriptive - Longitudinal, Qualitative and Applied study was carried out. To this end, the parameters were evaluated according to the United States Pharmacopoeia (USP 40 NF 35) <1223> Validation of alternative microbiological methods, microorganisms similar to those found were selected (biological standard) in the manufacturing processes of pharmaceutical products, it was evaluated that the working material, the levels of detection were defined and applied to the different methods of surface monitoring in evaluation. It is observed that although the methods do not present homogeneous results; It is considered the method that presents the highest percentage (%) of recovery, in more than one ATCC. It is the Regular Hyssop method of Plastic Soft Nylon Point Sterile Flocked + Shock absorber Solution Sodium Chloride - Peptone. ATCC 9027 (15.30%); ATCC 6538 (41%) and ATCC 8739 (17.4%).

That is why this study us to know the importance of importance of identifying and evaluating the proposed methods for the pharmaceutical industry, which is always in constant improvement and innovating in methods to streamline results. The purpose is to avoid false positives or negatives and to guarantee the quality and safety of pharmaceutical products.

Key Words: Validation, Surface Monitoring Method, Regular Plastic Swab Soft Sterile Nylon Tip Flocked.

ÍNDICE DE CONTENIDO:

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Planteamiento del problema.....	3
1.2.	Justificación.....	3
1.2.1.	Aspecto salud.....	3
1.2.2.	Aspecto metodológico.....	3
1.2.3.	Aspecto procedimental.....	3
1.3.	Objetivos.....	3
1.3.1.	Objetivo general.....	3
1.3.2.	Objetivos específicos.....	3
II.	MARCO TEÓRICO.....	5
2.1.	Antecedentes.....	5
2.1.1.	Nacionales.....	5
2.1.2.	Internacionales.....	6
2.2.	Bases Legales.....	8
2.2.1.	Internacionales.....	8
2.2.2.	Nacionales.....	8
2.3.	Bases Teóricas.....	10
2.3.1.	Áreas limpias de producción.....	10
2.3.2.	Clasificación.....	10
2.3.2.1.	Según la Organización Internacional para la Normalización (ISO).....	10
2.3.2.2.	Según la Agencia Española de Medicamentos y Productos Farmacéuticos (AEMPS).....	11
2.4.	Agentes Químicos utilizados en la industria farmacéutica.....	12
2.4.1.	Clasificación.....	12
2.4.1.1.	Agente Esporicida.....	12
2.4.1.2.	Agente Sanitizante.....	12
2.4.1.3.	Agente Desinfectante.....	12
2.4.1.4.	Desinfectante Químico.....	12
2.4.2.	Eficacia.....	13
2.4.3.	Agentes Químicos más utilizados.....	13
2.4.3.1.	Alcoholes.....	13

2.4.3.2. Glutaraldehido.....	13
2.4.3.3. Halógenos.....	14
2.4.3.4. Amonios cuaternarios.....	14
2.5. Métodos microbiológicos – toma de muestra.....	15
2.5.1. Muestreo de microorganismos del aire.....	15
2.5.1.1. Clasificación.....	15
a. Muestreador de Aire de Ranura-Agar (STA).....	15
b. Impactador de Tamiz.....	16
c. Placas de Sedimentación.....	16
2.5.2. Muestreo de Superficie.....	17
2.5.2.1. Clasificación.....	17
a. Método del hisopado.....	17
b. Método de lavado y plaqueo.....	18
c. Método por placa rodac.....	19
2.6. Microorganismos de referencia, Medios de cultivo, Equipos y Materiales	20
2.6.1. Microorganismos de referencia.....	20
2.6.2. Microorganismos de trabajo.....	20
2.6.2.1. Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027).....	20
2.6.2.2. Staphylococcus aureus (ATCC 6538).....	21
2.6.2.3. Escherichia coli (ATCC 8739).....	22
2.7. Medios de cultivo.....	23
2.7.1. Características.....	23
a. Disponibilidad de nutrientes adecuados.....	23
b. Consistencia adecuada del medio.....	24
c. Presencia (o ausencia) de oxígenos y otros gases.....	24
d. Condiciones adecuadas de humedad.....	24
e. Luz ambiental.....	25
f. pH.....	25
g. Esterilidad del medio.....	25

2.7.2. Clasificación.....	25
2.7.2.1. Según su consistencia.....	25
a. Medios líquidos.....	25
b. Medios sólidos.....	26
c. Medios semisólidos.....	26
2.7.2.2. Según su utilización.....	26
a. Medios comunes.....	26
b. Medios de enriquecimiento.....	26
c. Medios selectivos.....	26
d. Medios diferenciales.....	27
e. Medios de transporte.....	27
2.7.2.3. Según su composición.....	27
a. Medios complejos o indefinidos.....	27
b. Medios sintéticos o definidos.....	27
2.7.2.4. Según su origen.....	28
a. Naturales.....	28
b. Sintéticos.....	28
c. Semisintéticos.....	28
2.7.3. Preparación de medios de cultivo.....	28
2.7.3.1. Medio líquido.....	28
a. Solución Amortiguadora de Cloruro de Sodio – Peptona de pH 7,0 (AP).....	28
b. Peptona Lecitina Polisorbato (CPLP).....	29
2.7.3.2. Medio sólido.....	30
a. Agar Digerido de Caseína y Soja (TSA).....	30
b. Agar Mac Conkey (MC).....	31
c. Cetrimide Agar Base (CET).....	32
d. Manitol Salado Agar (MAN).....	33
2.7.4. Pruebas de control requeridas.....	34
2.7.4.1. Promoción de crecimiento.....	34
2.8. Equipos y materiales de laboratorio.....	35
2.8.1. Equipos de laboratorio.....	35

2.8.1.1.	Cabina de seguridad biológica o de Bioseguridad.....	35
2.8.1.2.	Balanza analítica.....	36
2.8.1.3.	Autoclave automática.....	37
2.8.1.4.	Incubadora.....	37
2.8.1.5.	Micropipeta.....	38
2.8.2.	Materiales de laboratorio.....	38
2.8.2.1.	Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado y soluciones acompañantes.....	38
2.8.2.2.	Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado.....	38
2.8.2.3.	Hisopo Aplicador con punta de Algodón.....	39
2.9.	Validación.....	39
2.9.1.	Tipos de validación.....	40
2.9.2.	Parámetros de validación.....	41
2.9.2.1.	Especificidad.....	41
2.9.2.2.	Límite de detección.....	41
2.9.2.3.	Robustez.....	41
2.9.2.4.	Tolerancia.....	42
2.9.2.5.	Exactitud.....	42
2.9.2.6.	Precisión.....	42
2.9.2.7.	Límite de cuantificación.....	42
2.9.2.8.	Linealidad.....	43
III.	HIPÓTESIS.....	44
3.1.	Hipótesis general.....	44
3.2.	Variables.....	44
3.2.1.	Variable independiente.....	44
3.2.2.	Variable dependiente.....	44
IV.	METODOLOGÍA DEL ESTUDIO	44
4.1.	Tipo de estudio.....	44
4.1.1.	Según estrategia aplicada.....	44
4.1.2.	Según el nivel y alcance.....	44

4.1.3. Según tendencia o enfoque.....	44
4.1.4. Según el propósito u orientación.....	44
4.1.5. Diseño de investigación.....	44
4.2. Población de estudio.....	44
4.3. Criterios de selección.....	45
4.4. Métodos de análisis de datos.....	45
V. ESTRATÉGIA METODOLÓGICA.....	46
5.1. Estandarización de Inóculo.....	46
5.2. Promoción de crecimiento e inhibitorio de los medios.....	48
5.3. Preparación de medios de cultivo.....	49
5.3.1. Preparación de Medios Líquidos.....	49
5.3.2. Preparación de Medios de Cultivo – Sólidos.....	50
5.4. Esterilización.....	51
5.5. Métodos de monitoreo de superficie por hisopado.....	52
5.5.1. Método Hisopo Aplicador con punta de Algodón + Caldo Peptona Lecitina Polisobarto.....	52
5.5.2. Método Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon Estéril Floqueado y soluciones acompañantes.....	53
5.5.3. Método Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Solución Amortiguadora de Cloruro de Sodio – Peptona.....	54
5.5.4. Método Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Caldo Peptona Lecitina Polisorbato.....	55
VI. RESULTADOS.....	56
6.1. Parámetros evaluados en la validación del método analítico de monitoreo de superficies por hisopado en la Industria Farmacéutica.....	64
6.1.1. Exactitud.....	64
6.1.2. Precisión.....	65
6.1.3. Selectividad.....	65
6.1.4. Robustez.....	65
6.1.5. Linealidad.....	65

6.1.6. Límite de detección.....	66
6.1.7. Límite de cuantificación.....	66
VII. DISCUSIÓN.....	67
VIII. CONCLUSIONES.....	70
IX. RECOMENDACIONES.....	72
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
XI. ANEXOS.....	80

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla N° 1:	Clasificación de áreas y Límites requeridos para monitoreo microbiológicos	11
Tabla N° 2:	Clasificación General de Antisépticos, Desinfectantes y Agentes Esporicidas.....	12
Tabla N° 3:	Mecanismo de la Actividad de los Desinfectantes Contra Células Microbianas.....	14
Tabla N° 4:	Tipos de hisopos utilizados en la industria farmacéutica.....	18
Tabla N° 5:	Microorganismos de referencia según farmacopea.....	20
Tabla N° 6:	Parámetros de Validación por Tipo de Prueba Microbiológica.....	43
Tabla N° 7:	Promoción del crecimiento medios no selectivos.....	48
Tabla N° 8:	Promoción del crecimiento medios selectivos.....	49
Tabla N° 9:	Porcentaje (%) recobro - Hisopo Aplicador con punta de Algodón Estéril + Caldo Peptona Lecitina Polisorbato	56
Tabla N° 10:	Porcentaje (%) recobro - Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Soluciones acompañantes.....	57
Tabla N° 11:	Porcentaje (%) recobro - Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Cloruro de sodio – Peptona.....	58
Tabla N° 12:	Porcentaje (%) recobro – Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Caldo Peptona Lecitina Polisorbato.....	59
Tabla N° 13:	Resultados por porcentaje de recobro – métodos analíticos de monitoreo de superficie.....	62
Tabla N° 14:	Parámetros de validación – método analítico con mayor porcentaje(%) recobro.....	64
Tabla N° 15:	Parámetros de validación – Resultado de precisión.....	65

ÍNDICE DE GRÁFICO:

Gráfico N° 1:	Resultados por porcentaje de recobro – Hisopo Aplicador con punta de Algodón Estéril Caldo Peptona Lecitina Polisorbato.....	60
Gráfico N° 2:	Resultados por porcentaje de recobro – Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Soluciones acompañantes.....	60
Gráfico N° 3:	Resultados por porcentaje de recobro – Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado + Solución Amortiguadora de Cloruro de sodio – Peptona.....	61
Gráfico N° 4:	Resultados por porcentaje de recobro – Hisopo Regular de Plástico Punta de Nylon suave Estéril Floqueado +Caldo Peptona Lecitina Polisorbato.....	61
Gráfico N° 5:	Resultados por porcentaje de recobro – métodos analíticos de monitoreo de superficie.....	63
Gráfico N° 6:	Resultado de exactitud	62

ÍNDICE DE FLUJOGRAMA:

Flujograma N° 1:	Estandarización del inóculo.....	47
------------------	----------------------------------	----