



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PROCEDIMIENTOS PARA LA DETERMINACIÓN DE  
MICROORGANISMOS EN EL ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE  
FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS NO ESTÉRILES (CREMAS)

GREFA LUQUILEMA DAYANA GABRIELA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

PROCEDIMIENTOS PARA LA DETERMINACIÓN DE  
MICROORGANISMOS EN EL ANÁLISIS Y CONTROL DE  
CALIDAD DE FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS NO  
ESTÉRILES (CREMAS)

GREFA LUQUILEMA DAYANA GABRIELA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

PROCEDIMIENTOS PARA LA DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN EL  
ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD DE FORMAS FARMACÉUTICAS  
SEMISÓLIDAS NO ESTÉRILES (CREMAS)

GREFA LUQUILEMA DAYANA GABRIELA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

GARCÍA GONZÁLEZ CARLOS ALBERTO

MACHALA, 23 DE AGOSTO DE 2022

MACHALA  
23 de agosto de 2022

# Procedimientos para la determinación de microorganismos en el análisis y control de calidad de formas farmacéuticas semisólidas no estériles (cremas)

*por* Dayana Gabriela Grefa Luquilema

---

**Fecha de entrega:** 16-ago-2022 04:59p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1883325766

**Nombre del archivo:** ad\_de\_formas\_farmac\_uticas\_semis\_lidas\_no\_est\_riles\_cremas.docx (85.48K)

**Total de palabras:** 2874

**Total de caracteres:** 16333

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, GREFA LUQUILEMA DAYANA GABRIELA, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Procedimientos para la determinación de microorganismos en el análisis y control de calidad de formas farmacéuticas semisólidas no estériles (cremas), otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 23 de agosto de 2022



GREFA LUQUILEMA DAYANA GABRIELA  
1500845167

## **DEDICATORIA**

Principalmente a Dios, que sin él no hubiera sido esto posible, a mi padre que me ha apoyado con mis estudios, mi madre, mis tías y mis hermanos que han estado conmigo en los momentos más difíciles, dándome su apoyo incondicional. A los amigos que he hecho durante todos estos años con los cuales he compartido grandes momentos.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi padre celestial por darme cada día la oportunidad de seguir luchando por mis sueños, a mi familia mi pilar fundamental para seguir convirtiéndome en una mejor persona, a todos mis profesores que gracias a sus conocimientos y dedicación me han formado profesionalmente y finalmente a mi querida Universidad que me ha regalado grandes experiencias que no olvidaré nunca.

## RESUMEN

La contaminación por microorganismos altera las características físicas químicas de los productos farmacéuticos y pone en riesgo la salud de los pacientes. Los contaminantes microbianos pueden ocasionar infecciones por los metabolitos tóxicos que se generan, siendo los principales contaminantes las bacterias, mohos y levaduras que afectan las materias primas y el producto final. Para resolver esta problemática el control de calidad juega un papel clave para obtener productos con la calidad y eficacia requerida. Por lo antes expuesto esta investigación tiene como objetivo describir los procedimientos necesarios para realizar el control microbiológico de formas farmacéuticas semisólidas (cremas), mediante la revisión bibliográfica de documentos científicos. Se realizó un estudio descriptivo para la resolución del caso práctico mediante la revisión de artículos científicos y Farmacopeas obteniendo como resultado que la contaminación por microorganismos se puede evitar siguiendo las Buenas Prácticas de manufactura, la cual permite tener un control de la materia prima, el proceso de fabricación, almacenamiento y distribución del producto final. Finalmente, para el aseguramiento de la calidad microbiana se deben aplicar los procedimientos como la prueba de límite microbiano el cual está basado en el recuento total de aerobios mesófilos totales (RTMA) y recuento total de mohos y levaduras (RMLT), cumpliendo las especificaciones recomendadas por la USP o Farmacopeas. Incluyendo las pruebas para la identificación de microorganismo específicos, siendo los de mayor interés *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), y *Candida albicans* (*C. albicans*).

**Palabras clave:** *Crema, medicamentos, análisis microbiológicos, prueba de límite microbiano.*

## ABSTRACT

Contamination by microorganisms alters the chemical physical characteristics of pharmaceutical products and puts the health of patients at risk. Microbial contaminants can cause infections due to the toxic metabolites that are generated, the main contaminants being bacteria, molds and yeasts that affect the raw materials and the final product. To solve this problem, quality control plays a key role in obtaining products with the required quality and efficiency. Due to the above, this research aims to describe the necessary procedures to carry out the microbiological control of semi-solid pharmaceutical forms (creams), through the bibliographic review of scientific documents. A descriptive study was carried out for the resolution of the practical case through the review of scientific articles and Pharmacopoeias, obtaining as a result that contamination by microorganisms can be avoided by following Good Manufacturing Practices, which allows control of the raw material, the process manufacturing, storage and distribution of the final product. Finally, for the assurance of microbial quality, procedures such as the microbial limit test must be applied, which is based on the total mesophilic aerobic count (RTMA) and the total count of molds and yeasts (RMLT), complying with the recommended specifications. by USP or Pharmacopoeias. Without forgetting the tests for the identification of specific microorganisms, the most interesting being *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), and *Candida albicans* (*C. albicans*).

**Keywords:** *Creams, medicines, microbiological analysis, microbial limit test.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. DESARROLLO</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Definición de productos farmacéuticos no estériles (NSP)</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Cremas</b>	<b>3</b>
<b>2.2.1 Características de las cremas</b>	<b>3</b>
<b>2.3 Buenas prácticas de manufactura (BPM)</b>	<b>3</b>
<b>2.4 Examen microbiológico en NSP: Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas semisólidas no estériles</b>	<b>4</b>
<b>2.5 Métodos de análisis</b>	<b>4</b>
<b>2.5.1 Ensayos microbiológicos de formas semisólidas no estériles</b>	<b>4</b>
<b>2.5.2 Prueba de límite microbiano</b>	<b>4</b>
<b>2.6 Solución del problema</b>	<b>6</b>
<b>3. CONCLUSIONES</b>	<b>10</b>
<b>4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>11</b>
<b>5. ANEXOS</b>	<b>16</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas semisólidas no estériles basadas en la Farmacopea Europea y USP	4
--	---

## 1. INTRODUCCIÓN

Una amenaza para la salud pública es la contaminación cruzada de los productos farmacéuticos con microorganismos.<sup>1</sup> Por esta razón las compañías farmacéuticas son una de las industrias mayormente reguladas, puesto que la mayor parte de pacientes y consumidores no son capaces de detectar deficiencias en la calidad, a menos que el producto después de su administración cause efectos adversos o en peor de los casos la muerte.<sup>2</sup> Es por ello que el control de calidad en la Industria Farmacéutica es una de las etapas más importantes durante el proceso de manufactura de los medicamentos.<sup>3,4</sup>

La ausencia de calidad en los productos farmacéuticos influirá de forma negativa en la salud del consumidor, además de generar pérdidas financieras en el sector farmacéutico.<sup>5</sup> Los microorganismos son capaces de atacar a los principios activos, excipientes de la formulación, como los aceites, aromatizantes, conservantes, entre otros, cambiando la consistencia y alterando el efecto terapéutico de los medicamentos.<sup>6,7</sup>

La carga biológica microbiana, el recuento microbiano aeróbico total (RTMA) y el recuento total de levaduras y mohos (RMLT) dentro de los límites establecidos, de igual manera estar libre de ciertos microorganismos específicos, tales como , *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Candida albicans* (*C. albicans*), ) como lo indica la Farmacopea de los Estados<sup>8,9</sup>

La presencia de estos microorganismos no solo causa infecciones bacterianas en los consumidores, sino también convierten a las drogas en metabolitos tóxicos causando síntomas que varían desde un simple malestar, diarrea, gastroenteritis aguda, dolor abdominal, hasta provocar muerte estomacal, todo esto dependiendo del estado de salud del consumidor, cantidad de toxinas en el organismo y la sensibilidad a la toxina de cada individuo.<sup>10</sup>

Los medicamentos para ser considerados de buena calidad deberán ser elaborados siguiendo los procedimientos técnicos adecuados, con la finalidad de cumplir las normas internacionales de fabricación. Para cumplir este objetivo es obligatorio un control total de todas las etapas de elaboración de los productos farmacéuticos, incluyendo aquellos aspectos individuales o colectivos que influyen en la calidad, como materias primas, todos los procedimientos en la fabricación y finalmente la evaluación

del medicamento terminado.<sup>10</sup> Además se deberá realizar un estricto control en el almacenamiento y la distribución, entre otros.<sup>1</sup>

Por ello es fundamental realizar el análisis y control de la carga microbiológica de las formas farmacéuticas no estériles como las cremas, geles y ungüentos, especialmente en aquellos países donde las condiciones climáticas aceleran la proliferación de microorganismos. Por esta razón la evaluación de calidad es un paso importante para obtener medicamentos seguros y eficaces.

### **Caso práctico a resolver**

¿Qué parámetros de control de medicamentos debería aplicar para determinar el tipo de bacterias que contaminan y las medidas a tomar para evitar que una crema se contamine por bacterias?

Por la interrogante expuesta, la presente investigación ha planteado como objetivo describir los procedimientos en el análisis y control de calidad, para la determinación de microorganismos que contaminan formas farmacéuticas semisólidas (cremas).

## **2. DESARROLLO**

### **2.1 Definición de productos farmacéuticos no estériles (NSP)**

Los productos farmacéuticos no estériles para su producción requieren de un área limpia, la cual no está libre de microorganismos, debido a que no se producen en condiciones asépticas.<sup>11</sup> Los NSP incluyen formas de dosificación tópica como las cremas, geles y ungüentos. Evaluar el contenido microbiológico representa un paso primordial en el control de calidad.<sup>8,12</sup> Los principales contaminantes de las materias primas y de los NSP son las bacterias, moho y hongos, por esta razón, microorganismos capaces de perjudicar la salud pública. Por todo esto se debe tener una elevada precisión en todas las etapas del proceso cuando se realice el control de calidad, comenzando desde las materias primas, durante la fabricación y en el producto final.<sup>13</sup>

### **2.2 Cremas**

Son formas semisólidas emulsionadas de administración tópica, pueden contener uno o varios principios activos en su formulación, tienen un 60 a 80% de agua para darle un aspecto de líquido espeso y homogéneo. Estas son multifásicas, es decir, compuestas de dos fases una lipófila y otra hidrófila.<sup>14,15</sup>

#### **2.2.1 Características de las cremas**

- Buena tolerancia
- Aceptables caracteres organolépticas,
- Estables ante los factores ambientales, garantizando su conservación
- Ser capaz de actuar en piel grasa o seca.<sup>15</sup>

### **2.3 Buenas prácticas de manufactura (BPM)**

Para el aseguramiento de la calidad las BPM garantizan que, la producción de los productos cumple los estándares de calidad correspondiente para su comercialización. Estas se introdujeron en la industria farmacéutica con el objetivo de ofrecer al paciente productos farmacéuticos seguros, eficaces y de calidad.<sup>16</sup>

### **2.4 Examen microbiológico en NSP: Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas semisólidas no estériles**

El examen microbiológico en NSP se basa en el RTMA y RMLT, incluyendo las pruebas utilizadas para la identificación de microorganismos específicos.<sup>13</sup> Tabla 1.

**Tabla 1:** Criterios de aceptación para la calidad microbiológica de formas farmacéuticas semisólidas no estériles basadas en la Farmacopea Europea y USP

Producto farmacéutico	RTMA	RMLT	Microorganismo especificado
Cremas (Aplicación cutánea)	10 <sup>2</sup> CFU (unidades formadoras de colonias) /g o ml	10 <sup>1</sup> CFU (unidades formadoras de colonias) /g o ml	Ausencia en 1g, o 1 ml <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>

Fuente:<sup>17,18</sup>

En la tabla 1 se aprecian los requerimientos exigidos para formas farmacéuticas semisólida no estériles, los criterios de aceptación vienen dados por las farmacopeas las cuales son: 10<sup>1</sup> CFU, máximo aceptable de 20 colonias; 10<sup>2</sup> CFU, máximo aceptable de 200 colonias; 10<sup>3</sup> CFU, máximo aceptable de 2000, así sucesivamente.<sup>19</sup>

## 2.5 Métodos de análisis

### 2.5.1 Ensayos microbiológicos de formas semisólidas no estériles

Gran parte de estos ensayos detectan bacterias mesófilas y hongos aerobios, se evitará la contaminación microbiológica para que no afecte a los microorganismos que se revelarán en los ensayos. La actividad antimicrobiana para aquellos medicamentos que lo posean se tendrán que eliminar o a su vez neutralizar, estos agentes neutralizantes no deben ser tóxicos para los microorganismos a analizar con el objeto de evitar falsos negativos.<sup>20,21</sup> Al usar tensoactivos para la preparación de la muestra, de igual forma no deben causar toxicidad en los microorganismos, y además ser compatibles con los agentes neutralizante.<sup>13</sup>

### 2.5.2 Prueba de límite microbiano

Nombre usado para evaluar el contenido microbiológico de productos no estériles, esta tiene cuatro pasos: preparación de la muestra, prueba preliminar, conteo e identificación.<sup>13</sup> Utilizada para determinar si un producto farmacéutico cumple con la calidad microbiana, consta de dos partes. Fase cuantitativa, abarca el RTMA y RMLT. La fase cualitativa se determina a los microorganismos específicos, generalmente se realizan después de las Buenas prácticas de manufactura (BPM). Para la determinación de microorganismos que contaminan formas farmacéuticas semisólidas no estériles, están los métodos como la filtración por membrana, recuento de placas y el número más

probable, este último es el menos exacto, por ello se elegirá siempre la filtración por membrana y recuento de placas.<sup>20,21</sup>

#### ***2.5.2.1 Filtración por membrana***

El tamaño de poro de las membranas filtrantes no será superior a 0,45 µm. El material filtrante que se utilice no deberá afectar la eficacia en la retención de las bacterias de la muestra a examinar. Para cada microorganismo ensayado se usará una membrana filtrante.<sup>20,21</sup>

#### ***2.5.2.2 Recuento de placas***

Basado en el crecimiento de microorganismo en un medio de cultivo, es uno de los más usados en la determinación del número de microorganismos viables en un medio líquido. Si existe una baja concentración la muestra se filtra por una membrana, más adelante se traspasará a un medio de cultivo en una placa de Petri. Los microorganismos retenidos en la membrana se irán desarrollando hasta formar colonias, mismas que serán contadas. Si la concentración es alta se es necesario hacer diluciones seriadas (1:10).<sup>22</sup>

#### ***2.5.2.3 Recuento y detección de Aerobios Mesófilos Totales***

Detectan microorganismos con la capacidad de desarrollarse en presencia de oxígeno (O<sub>2</sub>) a temperaturas de 20-45 °C, en este grupo encontramos a las bacterias mesófilas que crecen en un medio de cultivo, su presencia indica el nivel de contaminación y vida útil del producto analizado.<sup>23</sup> El RTMA no especifica e identifica el tipo de microorganismo. Lo más frecuente es encontrar microorganismos no patógenos para los seres humanos, aunque capaces de alterar las características organolépticas del producto final.<sup>24</sup>

#### ***2.5.2.4 Recuento Total de Mohos y Levaduras.***

Permite conocer el grado contaminación ambiental, el daño que han causado las micotoxinas.<sup>23</sup> Se determina la cantidad de levaduras y hongos en una muestra, mismos que serán identificados por crecimientos en un medio de cultivo específico, las células existentes son unidades formadoras de mohos (UFM).<sup>25</sup>

### **2.6 Solución del problema**

Para evitar que los microorganismos contaminen un producto farmacéutico alterando las propiedades físico-químicas, la federación farmacéutica internacional (FIP) redactó una

serie de directrices para regular la fabricación de los mismos, dando como resultado el desarrollo de las BPM.<sup>26</sup> Para que sean fabricados uniformemente y sean controlados todos sus procesos, que los riesgos durante el proceso de fabricación sean bajos, tales como la contaminación cruzada ya sea por contaminantes imprevistos, químicos o microbiológicos, y la confusión que surge por colocación de rotulados incorrectos en los envases,<sup>27</sup>

Para cumplir este objetivo se debe contar con personal capacitado, infraestructura adecuada al igual que los servicios, equipos, materiales, etiquetas y envases correctos, los procedimientos deben ser aprobados, el almacenamiento y transporte óptimo. El personal y equipos de laboratorio serán los adecuados para la realización de controles en el proceso de producción.

Las BPM exige al fabricante farmacéutico realizar un control microbiológico durante el proceso de fabricación,<sup>11</sup> estimación de la carga microbiana en el área de producción, maquinaria, materiales a granel, personal y controles en todos los procesos, estos controles indicarán si el producto ha mantenido la calidad necesaria durante la fabricación y procesamiento, además si se han cumplido las especificaciones recomendadas. Durante la producción, el paso número uno para el control microbiológico es evaluar la calidad de las materias primas y el agua usada para la fabricación.<sup>5</sup>

Es viable aplicar la prueba de límite microbiano para determinar si el producto final cumple con los requisitos de calidad y que sean aprobados para su distribución garantizando así la seguridad en el paciente.<sup>28</sup> Para la elección del método microbiológico más adecuado se tendrá en consideración la naturaleza del producto, por otro lado, el límite microbiano, de forma tal que se pueda decidir si un lote cumple o no con los requisitos requeridos.<sup>20</sup>

Es importante mencionar que el control microbiológico no asegura la calidad del producto farmacéutico, las industrias farmacéuticas deben seguir programas de monitoreos y aplicar el procedimiento operativo estándar (POE), con la finalidad de reducir el grado de contaminación microbiana en formas farmacéuticas semisólidas no estériles, igualmente las agencias reguladoras implementen estrictas estrategias para el análisis y verificación de la calidad microbiana antes de la comercialización.<sup>6</sup>

Las cremas al contener de un 60 a 80% de agua son más fácilmente contaminadas por microorganismos gramnegativos, ya que estos se desarrollan en lugares en presencia de agua. No están elaboradas con materia prima no estéril, por tanto, existe contenido microbiano. Después de las bacterias, los hongos y levaduras son los que mayormente contaminan estos productos, los podemos encontrar en materias primas como mantecas, aceites, ceras, entre otros.<sup>24</sup> Las cremas pueden ser consideradas productos farmacéuticos, incluso las cremas cosméticas se elaboran siguiendo técnicas de las industrias farmacéuticas. A pesar que en la formulación se agregan conservantes con el fin de controlar el crecimiento de microorganismos, en muchas ocasiones no se hace mención de la fecha de caducidad de estos productos, por consiguiente, se pierde la actividad conservante.<sup>9</sup>

Algunas investigaciones muestran que posiblemente los conservantes usados en cremas cosméticas carecen de la capacidad conservante apropiada para obtener niveles aceptables de contaminación microbiana como exigen las agencias reguladoras.<sup>29</sup> Por otro lado se han reportado que los microbios en algunos casos han ganado resistencia a los conservantes.<sup>30</sup>

Para el control microbiológico existen varios métodos como: uso de conservantes, control de la materia prima, esterilización de instrumentos y áreas de trabajo asépticas, sin embargo, si no se aplican correctamente afectará al producto final. Las pruebas para evaluar el contenido microbiano del producto terminado, como mínimo se recomiendan realizar la prueba de límite microbiano que consta del RTMA y RMLT, en el Anexo N°2 se detalla la metodología a seguir para la realización de esta prueba y en el anexo N°3 se describe el procedimiento para detectar la presencia de los microorganismo patógenos de mayor riesgo como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, , y *C. albicans*.<sup>24</sup> Se incluyen además de las pruebas microbiológicas mencionadas anteriormente, pruebas bioquímicas, moleculares y serológicas, con los resultados que se obtengan, se podrá demostrar si el producto cumple con las especificaciones dadas por las agencias internacionales.<sup>5</sup>

En la investigación realizada por Rauf en 2018, se verificó la calidad microbiana de formas farmacéuticas no estériles, tales como, tabletas, cápsulas, jarabes, suspensiones y cremas, utilizando el método de vertido en placa, las suspensiones y jarabes presentaban niveles altos de contaminación por bacterias aerobias, a diferencia de las cremas y

cápsulas que no mostraban recuento bacteriano. Pero, por otro lado, todas excepto las tabletas estaban contaminadas con esporas fúngicas. Sugiriendo que la posible contaminación sea por el medio ambiente, agua, el personal y materias primas.<sup>6</sup>

Mabrouk, en el año 2013, analizó el contenido microbiano de 115 preparaciones tópicas como ungüentos, lociones, cremas y geles, que provenían de compañías farmacéuticas y farmacias minoristas de Egipto. El nivel de contaminación era del 19,1%, en el estudio se aislaron *S. aureus* y *E.coli*. Además de la aparición de aislados fúngicos, como *C. albicans*. La *E. coli* es un bacilo gram negativo de la flora intestinal de mamíferos, después de todo es un indicativo de contaminación fecal, ya sea por una mala higiene, inadecuada manipulación del producto, sugiriendo que el agua sea la ruta de contaminación.<sup>21</sup>

Noor (2015) ha mostrado una incidencia superior de contaminación microbiana, el 50 % de las cremas y ungüentos estaban por encima del límite microbiano establecido por la USP, predominando la presencia de *E. aureus* y *P. aeruginosa*. Estas bacterias requieren un mínimo de requisitos nutricionales para que puedan adaptarse, pueden multiplicarse tanto en productos a granel como terminados y por esta razón representan un gran riesgo para la salud.<sup>5</sup> Por el contrario, Ahmed en 2021, analizó 182 NSP, el porcentaje de productos contaminados fue bajo (10, 44%), con respecto a los productos tópicos (10 geles, 7 cremas). Todas las cremas y 3 geles habían superado los límites de RMLT. Se recuperaron 2 aislamientos de *P. aeruginosa*. Este bajo porcentaje puede haber sido causado por el método utilizado en el cultivo, se había realizado un cultivo directo sin técnicas de enriquecimiento, pues con este método se esperarían niveles más altos de contaminación.<sup>8</sup>

En un estudio realizado por Aleem en 2020 donde se analizó la contaminación microbiana de cremas blanqueadoras, se obtuvo como resultado que la concentración de bacterias viables totales supera los límites establecidos por la USP o la FDA,  $<10^3$  CFU/g, además se confirmó la presencia de *S. aureus*.<sup>9</sup>

En otro estudio hecho por Aslam en 2017, se evaluó el contenido microbiano de cremas y lociones, se reportó que los principales contaminantes aislados fueron *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* y *A. niger*.<sup>31</sup> Pues un clima cálido, levemente húmedo favorece el crecimiento y proliferación de múltiples microorganismos.<sup>21</sup> Estos resultados coinciden con los resultados presentado por Carrasco en el 2020, en la ciudad de Quito se

analizaron 83 unidades de productos naturales de los cuales 15 era de administración tópica. Los productos desde el punto de vista microbiológico no eran aceptables, el 46% de los productos supera los límites para RTMA y el 24% para RMLT. El 27% de productos tópicos no cumplía con el criterio para RTMA y el 7% no cumplían con el criterio para RMLT. El género *Bacillus* fue el más predominante, esta bacteria está presente en los ambientes de producción y materia prima, puede formar endosporas y sobrevivir con muy pocos nutrientes y en ambientes con sequedad. Este microorganismo se lo relaciona con un ineficiente control ambiental, almacenamiento y distribución. Se aislaron *C. albicans* en 7% de los productos tópicos, esto podría considerarse un problema para la salud, en especial en pacientes con VIH por las infecciones que produce y además se han reportado cepas resistentes a fluconazol.<sup>3</sup>

### 3. CONCLUSIONES

- En este trabajo investigativo se describieron los procedimientos para el análisis de la calidad de formas farmacéuticas semisólidas no estériles.
- Las cremas por su contenido de agua (60-80%) y por su materia prima que no estéril son más susceptibles a contaminarse por microorganismos, excediendo los límites para bacterias aerobias mesófilas y para mohos y levaduras, establecidas por la USP y la Farmacopea Europea, alcanzando niveles de contaminación microbiana hasta en 50% de los productos estudiados por diferentes autores.
- La aplicación de las PBM en formas farmacéuticas semisólidas no estériles, permite al fabricante farmacéutico producir medicamentos seguros, eficaces y de calidad, pero además estas exigen a la industria farmacéutica realizar un control microbiológico en todos los procesos, instalaciones, maquinaria y materias primas.
- Para el control microbiológico unas de las pruebas más utilizadas es el límite microbiano que permite evaluar el contenido microbiológico en el producto final, consta de RTMA y RMLT, junto con los test para la identificación de microorganismo específicos siendo los de mayor interés *E. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*. La aplicación de este método microbiológico u otros métodos permite decidir si un lote cumple con todos los requisitos para su comercialización.

#### 4. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Myemba, D. T.; Bwire, G. M.; Sangeda, R. Z. Microbiological quality of selected local and imported non-sterile pharmaceutical products in dar es Salaam, Tanzania. *Infection and Drug Resistance* **2022**, *15*, 2021–2034.  
<https://doi.org/10.2147/IDR.S355331>.
- (2) Yu, L. X.; Kopcha, M. The future of pharmaceutical quality and the path to get there. *International Journal of Pharmaceutics* **2017**, *528* (1–2), 354–359.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.039>.
- (3) Costigliola, A.; Ataíde, F. A. P.; Vieira, S. M.; Sousa, J. M. C. Simulation model of a quality control laboratory in pharmaceutical industry. *IFAC-PapersOnLine* **2017**, *50* (1), 9014–9019. <https://doi.org/10.1016/J.IFACOL.2017.08.1582>.
- (4) Kilani, A.; Kilani, A. M.; Olaifa, K. W. Microbiological quality of selected non-sterile pharmaceutical products sold in retail outlets in Dutsinma metropolis, Katsina State, Nigeria. *Journal of Public Health in Developing Countries* **2017**, *3* (1), 339–346.
- (5) Noor, R.; Zerín, N.; Das, K. K. Microbiological quality of pharmaceutical products in Bangladesh: Current research perspective. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. Elsevier B.V. April 1, 2015, pp 264–270.  
[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60781-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60781-7).
- (6) Erum, A.; Pharm Sci, P. J.; Rauf, A.; Noreen, S.; Shujaat, J.; Umar Ashraf, M.; Afreen, S. Microbiological quality control of some non-sterile preparations commonly used in Pakistan. *Article in Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* **2018**, *31* (4), 1237–1242.

- (7) Gad, G. F. M.; Aly, R. A. I.; Ashour, M. S. E. din. Microbial evaluation of some non-sterile pharmaceutical preparations commonly used in the Egyptian market. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2011**, *10* (4), 437–445.  
<https://doi.org/10.4314/tjpr.v10i4.9>.
- (8) Salem, N. M. A.; Elbarrawy, M. A.; Azzam, N. F. A. E. M. Microbiological quality of non-sterile pharmaceuticals in Egypt. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* **2021**, *10* (1), 1–6.  
<https://doi.org/10.1186/S43088-021-00127-6/TABLES/4>.
- (9) Aleem, A.; Khan, M.; Abid, U. Microbial analysis of selected brands of whitening creams. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences* **2020**.  
<https://doi.org/10.36348/sjmps.2020.v06i02.006>.
- (10) Ratajczak, M.; Kubicka, M. M.; Kamińska, D.; Sawicka, P.; Długaszewska, J. Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. *Saudi Pharmaceutical Journal* **2015**, *23* (3), 303–307.  
<https://doi.org/10.1016/J.JSPS.2014.11.015>.
- (11) Curticăpean, M.-C. Detection of escherichia coli from non-sterile herbal pharmaceutical products from the Romanian market. *FARMACIA* **2022**, *70* (2).  
<https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.2.15>.
- (12) Siriwardhene, M. A.; Sla, G.; Stc, J.; Prl, D.; Ma, S. Microbial contamination of selected nonsterile pharmaceuticals in OPD pharmacy of a teaching Hospital in Sri Lanka . *World Journal of Advanced Research and Reviews* **2022**, *2022* (03), 295–303. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.13.3.0189>.
- (13) Gholizadeh-Hashjin, A.; lotfipour, farzaneh; Hallaj-Nezhadi, S. Quality Control of non-sterile drug product according to United States' Pharmacopeia

instruction. *Iranian Journal of Medical Microbiology* **2019**, *13* (5), 321–345.  
<https://doi.org/10.30699/IJMM.13.5.321>.

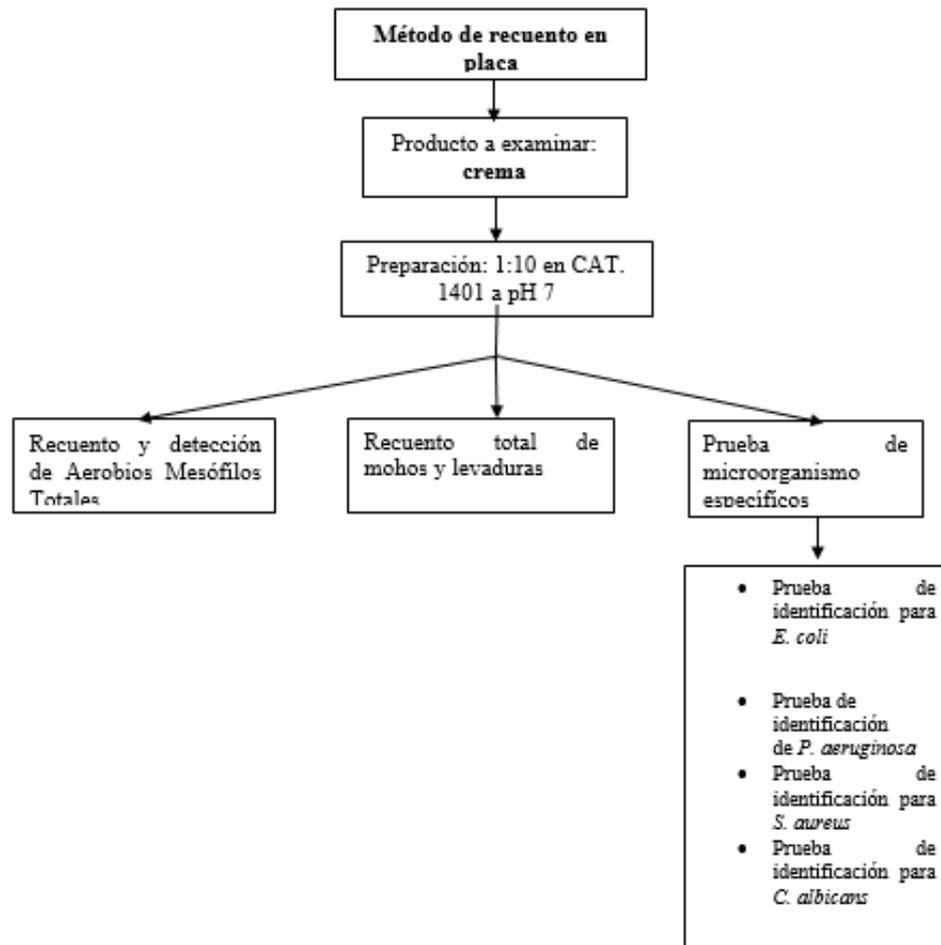
- (14) Vila, J. *Formas Farmacéuticas*; Vol. 3.
- (15) Barrios, M. Elaboración de una crema dérmica a base de aceite de *Origanum Vulgare* (Orégano), Universidad Católica los Ángeles Chimbote, Trujillo, 2019.
- (16) Agencia de Regulación, C. y V. S.-A. Normativa de buenas prácticas para laboratorios farmacéuticos; 2018.
- (17) Dirección europea de calidad de los medicamentos. *European Pharmacopoeia*, 8th ed.; 2013.
- (18) Venables, H.; Wells J. Examen microbiológico de productos farmacéuticos no estériles: Criterios de aceptación para preparados farmacéuticos y uso farmacéutico. In *Farmacopea de los Estados Unidos de América*; 2012; Vol. 1, pp 691–692.
- (19) Días, I. Control de calidad microbiológica de los medicamentos en la normativa regulatoria Europea: Aspectos principales, 2020.
- (20) Díaz, I. *Control de calidad microbiológica de los medicamentos en la normativa regulatoria europea: aspectos principales*.  
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/IVAN%20DIAZ%20GASCON.pdf> (accessed 2022-07-13).
- (21) El-Houssieny, R. S.; Aboulwafa, M. M.; Elkhatib, W. F.; Hassouna, N. A. H. Recovery and detection of microbial contaminants in some non-sterile pharmaceutical products. *Archives of Clinical Microbiology* **2013**, *4* (6), 1–14.  
<https://doi.org/10.3823/278>.

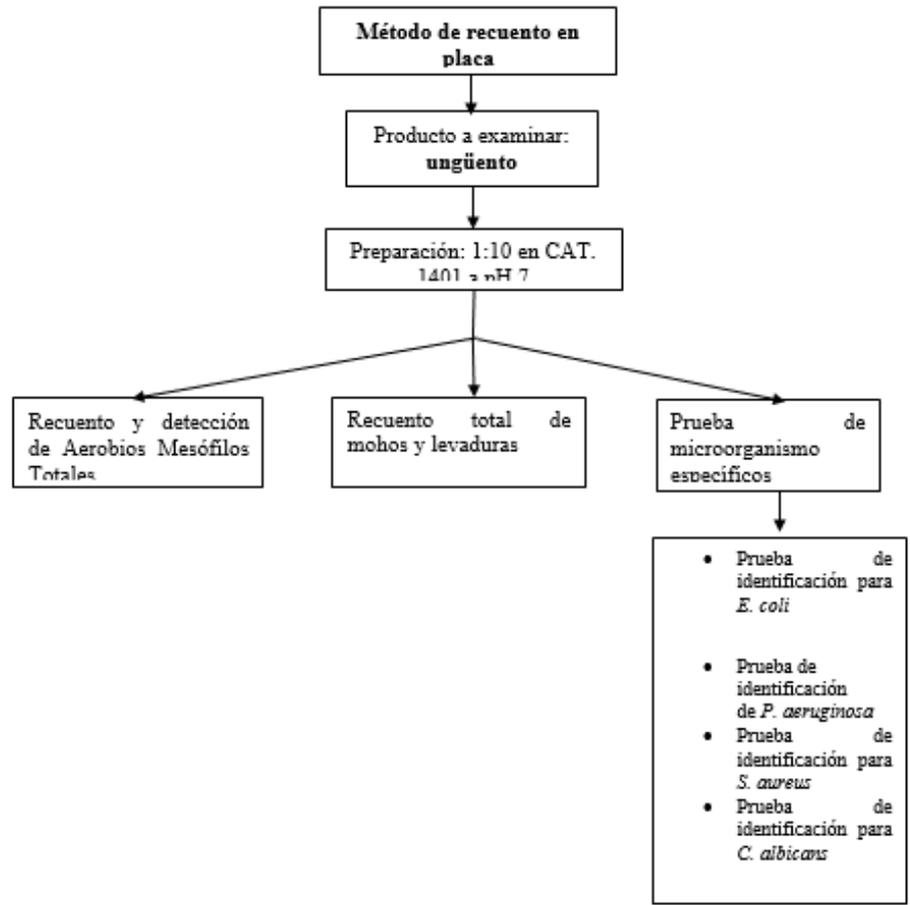
- (22) Ramírez, J.; Parra, V. J.; Adalucy, A. Análisis de técnicas de recuento de microorganismos. | *Mente Joven. Mente joven*; 2017; Vol. 6, pp 1–08.
- (23) Andrade, A.; Valdivieso, A. Control microbiológico de cosméticos elaborados artesanalmente en base de productos naturales en la ciudad de Quito, Pontificia Universidad Católica del Ecuador , 2012.
- (24) Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Guía para producir materias primas y productos cosméticos seguros desde el punto de vista microbiológico y de la conservación. 2021, pp 1–82.
- (25) Gudiño, R. Control microbiológico de cremas faciales, a base de productos naturales, comercializadas en centros naturistas de la ciudad de Quito, Universidad Central del Ecuador, Quito, 2013.
- (26) Mira, A. P. Effect of Storage on Microbial Quality of non-sterile liquid dosage form. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **2018**.
- (27) Elizabeth, C.; Huertas, M. “Nuevos Enfoques” de Las Buenas Prácticas de Manufactura. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm* **2009**, 38 (1), 42–58.
- (28) Obregón, V.; Pravia, A.; Ríos, G. Evaluación de la calidad microbiológica de clotrimazol crema de uso vaginal más comercializadas en la ciudad de León de Enero-Octubre en 2016, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, 2016.
- (29) Choubey, S.; Vidyapeeth, D. Y. P.; Godbole, S. Methods for evaluation of microbiological Safety, guidelines governing the quality and survey on microbial contamination of commercial Cosmetic Products -a Rev.  
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25784.88329>.

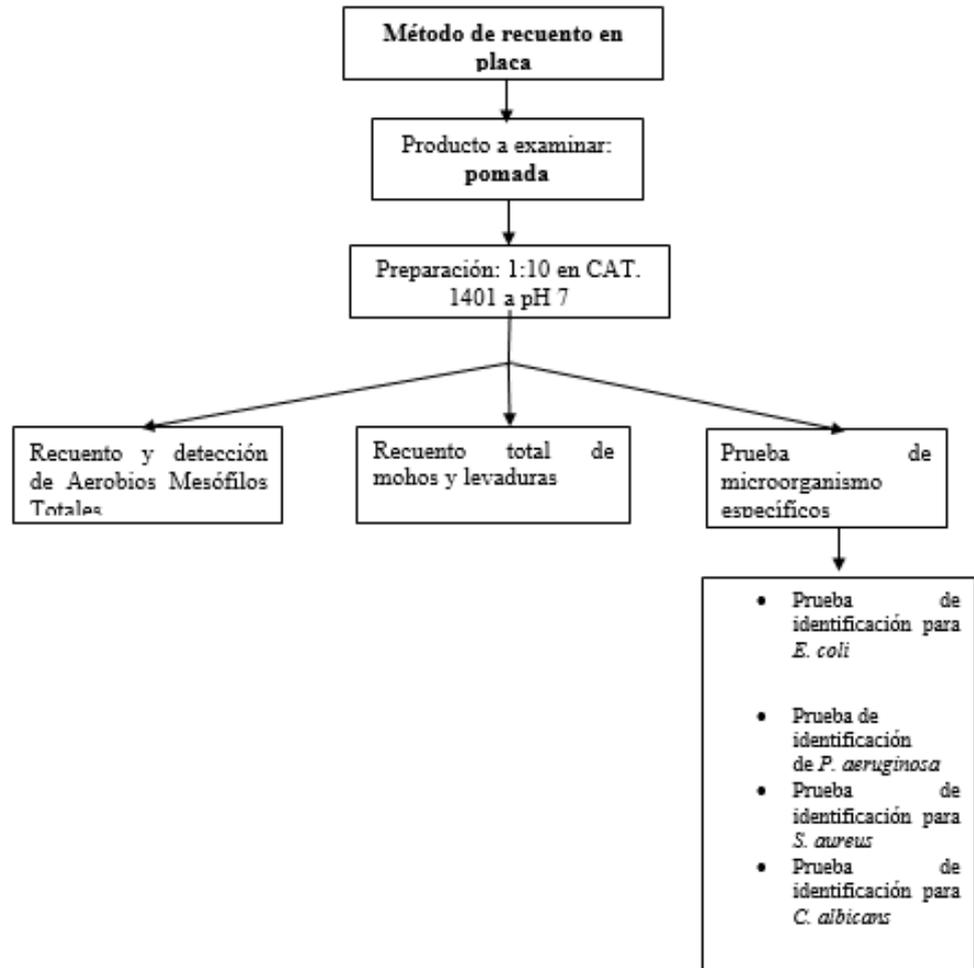
- (30) Dao, H.; Lakhani, P.; Police, A.; Kallakunta, V.; Ajjarapu, S. S.; Wu, K. W.; Pongshe, P.; Repka, M. A.; Narasimha Murthy, S. Microbial stability of pharmaceutical and cosmetic products. *AAPS PharmSciTech*. Springer New York LLC January 1, 2018, pp 60–78.  
<https://doi.org/10.1208/s12249-017-0875-1>.
- (31) Aslam, S.; Rahman, S. U.; Sabir, Z.; Maqbool, B. Evaluation of cosmetics for their potential contaminants and drug resistant microorganisms. *Acta Scientifica Malaysia* **2017**, *1* (2), 16–19. <https://doi.org/10.26480/asm.02.2017.16.19>.
- (32) Carrasco, D.; Espinoza, R.; Alejandro, G.; Martínez, J.; Santamaría-Aguirre, J.; Zúñiga, F.; Endara, P.; Terán, R. Evaluación de la calidad microbiológica de productos naturales procesados de uso medicinal comercializados en Quito, Ecuador. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* **2020**, *37* (3), 431–437. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.373.4889>.

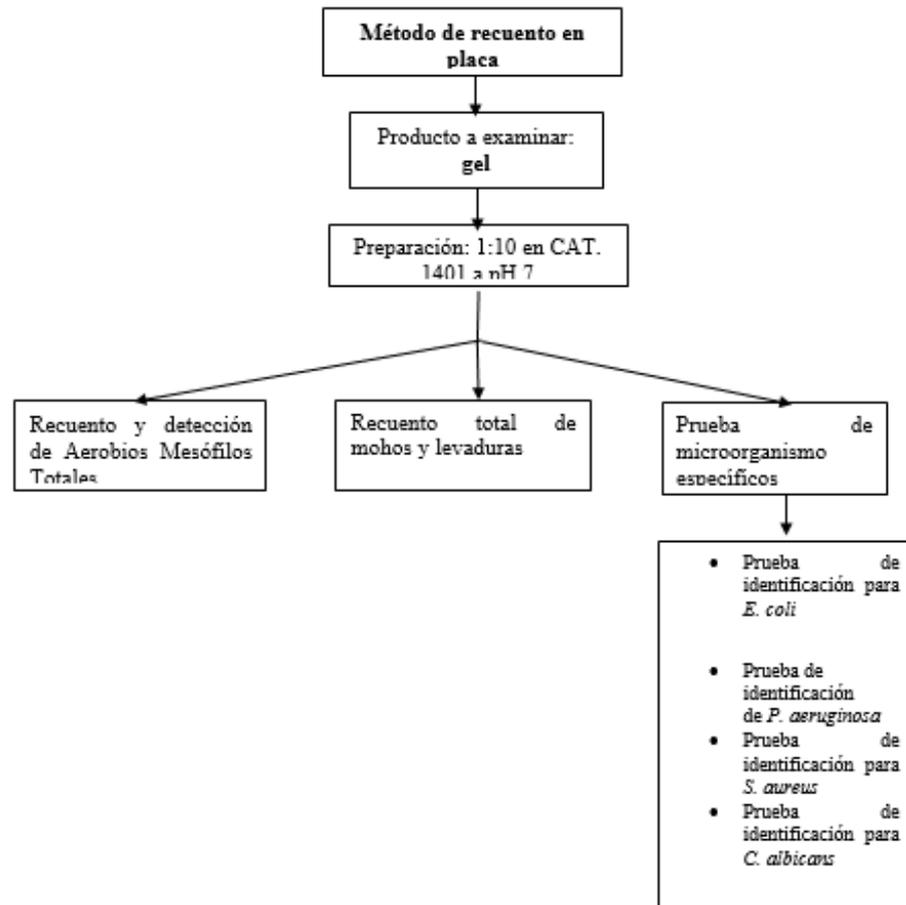
## 5. ANEXOS

### Anexo 1. Prueba de límite microbiano en otras formas semisólidas









**Anexo 2.** Ensayos microbiológicos para productos no estériles. Prueba de límite microbiano

<b>TEST RECuento MICROBIOLÓGICO: CREMA</b>			
<b>FILTRACIÓN POR MEMBRANA</b>		<b>CONTEO DE COLONIAS EN PLACA: VERTIDO EN PLACA</b>	
<b>PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</b> En una concentración 1:10 preparar la muestra en Agua Peptonada Tamponada (CAT. 1401) a pH 7.0, homogeneizar.		<b>PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</b> Concentración 1:10 preparar la muestra en Agua Peptonada Tamponada (CAT. 1401) a pH 7.0 y homogeneizar.	
Esta solución de stock puede suplementarse con neutralizantes y surfactantes		La solución de stock tiene la posibilidad de suplementarse con neutralizantes y surfactantes.	
<b>Microorganismos aerobios totales</b> Transferir 10 ml de la solución de stock a la membrana de filtración Tamaño del poro: 0.45 µm.	<b>Mohos y levaduras totales</b> Transferir 10 ml de la solución de stock a la membrana de filtración. Tamaño del poro: 0.45 µm.	<b>Microorganismos aerobios totales</b> Transferir 1 ml de la solución de stock a una placa de Petri vacía esterilizada. Se añade 15-20 ml de Agar Soja y Trypticaseína (TSA) (CAT.1068) a < 45 °C. Incubación: 30-35 °C por 5 días.	<b>Mohos y levaduras totales</b> Transferir 1 ml de la solución de stock a una placa de Petri vacía esterilizada. Añadir 15-20 ml de Agar Dextrosa Sabouraud (CAT.1024) a < 45 °C Incubación: 20-25 °C de 5-7 días.
Lavar cada membrana de filtración 3 x 100 ml de Agua Peptonada Tamponada (CAT. 1401) a pH 7.0			
<b>Microorganismos aerobios totales</b> Transferir la membrana a una placa de Agar Soja y Trypticaseína (TSA) (CAT. 1068)	<b>Mohos y levaduras totales</b> Transferir la membrana a una placa de Agar Dextrosa Sabouraud (CAT. 1024). Incubación a 20-25 °C por 5-7 días.		

Fuente:<sup>17</sup>

**Anexo 3.** Control microbiológico en formas farmacéuticas semisólidas no estériles

<b>MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS: CREMAS</b>	
<i>S. aureus</i>	
Preparación de la muestra	Características del cultivo/Resultados
Concentración 1:10 usando 1 g de la crema en Agua peptonada Tamponada. Homogeneizar. Sembrar 10 ml de la solución stock en 100 ml de Caldo Soja Trypticaseína. Homogeneizar. Incubación: 30-35°C por 18-24 horas. Subcultivo: agar manitol salino.	Es posible la presencia de <i>S. aureus</i> si se visualizan colonias de color amarillo o colonias blancas rodeadas de un halo amarillo, su presencia se descarta pruebas de identificación complementarias. Se acepta el producto si no se observa crecimiento de colonias en el medio de cultivo y además el resultado en la prueba de identificación es negativo.
<i>E.coli</i>	
Preparación de la muestra	Características del cultivo/Resultados
Concentración 1:10, usando al menos 1 gr de crema. Usar 10 ml de la solución stock mezcle con el volumen adecuado de medio de caldo de digerido de caseína de soja. Homogeneizar. Incubación: 30-35°C por 18-24 horas.	El producto es aceptado si no hay crecimiento de colonias y si es negativa la prueba de identificación.
<i>P. aeruginosa</i>	
Preparación de la muestra	Características del cultivo/Resultados
concentración 1:10 usando 1 gr de la crema en Agua Peptonada Tamponada. Homogeneizar. Sembrar 10 ml de la solución stock, mezcle con el volumen adecuado de medio de caldo de digerido de caseína de soja. Homogeneizar. Incubación: 30-35°C por 18-24 horas.	Si hay crecimiento de colonias puede significar la presencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , para confirmar la presencia o no de esta bacteria se emplean pruebas de identificación complementarias. Se acepta el producto si no se observa crecimiento de colonias en el medio de cultivo y además el resultado en la prueba de identificación es negativo.
<i>C. albicans</i>	
Preparación de la muestra	Características del cultivo/Resultados
Preparación de la muestra, concentración 1:10 usando 1 gr de la crema en Caldo Soja Trypticaseína. Sembrar 10 ml de la solución de stock en 100 ml de sabouraud dextrosa.	Si se observan colonias blancas se sugiere la posible presencia de <i>Candida albicans</i> , esto se puede afirmar o descartar con pruebas de identificación complementarias. Se acepta el producto si no se observa crecimiento de

Incubación: 3-5 días a 30-35°C. Subcultivo: medio de agar sabouraud dextrosa. Incubación: 4-4 horas a 35-30°C. <sup>13</sup>	colonias en el medio de cultivo y además el resultado en la prueba de identificación es negativo.
--	---

Fuente:<sup>13,17</sup>