

CONTROLES, EVALUACIONES Y VALORACIONES MICROBIOLÓGICAS

*Manuel Arteaga Carvajal**

PRESENTACION

Bajo éste tema se presenta un panorama sobre el estudio y el análisis de los controles, las Determinaciones y sobre todo las Valoraciones que más corrientemente se realizan por Métodos Microbiológicos, de sustancias que poseen actividad biológica como son los Antimicrobianos, las Vitaminas y los Aminoácidos.

GENERALIDADES

INTRODUCCION

Existen numerosos tipos y clases de Controles microbiológicos, tales como los de pureza e identidad de los gérmenes, los de esterilidad, los de contaminación, etc... Por otra parte es de anotar que en la práctica Farmacéutica éstos controles se suelen realizar tanto en la elaboración de diversas formas farmacéuticas como durante la producción de diferentes sustancias y productos por procesos de fermentación o en general, en biotecnología.

Los controles en referencia van desde la determinación cualitativa y cuantitativa de los gérmenes que puedan presentar en una materia prima, luego en todas las etapas de los procesos que se realicen, hasta la obtención y la evaluación del producto terminado, y en ésta forma

poder establecer de manera clara y definida si el producto ofrece las características y las propiedades que de él se esperan.

En otras palabras, los Controles y las Valoraciones van a limitarse fundamentalmente a determinar si un proceso de esterilización dado satisface plenamente las exigencias de los productos tratados, si un inyectable, una solución para venoclisis, un colirio, una vacuna, un suero, un antibiótico, etc... y en algunos casos, suspensiones, emulsiones y grageas, cumplen con las especificaciones para cada uno de ellos en cuanto a la ausencia de gérmenes contaminantes o indeseables y por otra parte, si ello es del caso, manifiestan la actividad o potencia que de ellos se espera.

En algunas oportunidades se hace necesario determinar el tipo de contaminante presente con el fin de establecer en que etapa del proceso se produjo la contaminación y corregir en consecuencia bien sea los defectos que tengan los procesos que se realizan, o los que posean las instalaciones si es del caso, o las materias primas empleadas etc... optándose para cada caso los sistemas y los métodos más adecuados.

LOS CONTROLES Y LAS VALORACIONES MICROBIOLÓGICAS

Dentro de ellas se agrupan las determinaciones de identidad y pureza de los gérmenes que se encuentren en una preparación, como es el caso

* Departamento de Farmacia Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Apdo Aéreo 14490. Bogotá.

de las vacunas y otros productos, y las determinaciones de esterilidad de los preparados farmacéuticos que así lo exijan.

También debe considerarse bajo los diferentes Controles aquellos de "sanidad y seguridad" que se les realizan a los alimentos (naturales y procesados, embutidos y enlatados, etc.) y, además, los que se derivan de las especificaciones, condiciones, evaluaciones y requisitos que deben cumplir y se deben realizar en los Procesos Microbiológicos Industriales y Biotecnológicos, así como en las determinaciones y Valoraciones por Métodos Microbiológicos.

OBJETO DE LA REALIZACION DE LOS CONTROLES Y LAS VALORACIONES

Constituye un objeto y una justificación de ellas, a pesar de ser más difíciles, meticulosas y engorrosas en varias oportunidades, el considerar los peligros y los riesgos que se pueden derivar de un producto contaminado o que de él no se conozca su real actividad biológica, aspecto que no se puede poner en evidencia o evaluar utilizando un método químico por ejemplo, ya que éstos últimos procedimientos únicamente nos dan una idea sobre la pureza o la cantidad del producto biológico como tal.

Es de anotar a vía de ejemplo, que si bien una *Serratia marcescens* se considera no patógena, ella puede desarrollar una septicemia mortal si se encuentra por ejemplo en un suero que se administre por venoclisis. Otro ejemplo que ilustra los criterios expuestos se deriva de las características que poseen los Antibióticos, las Vitaminas y los Aminoácidos; dentro de ellos se puede citar el Cloranfenicol, el cual es posible que se encuentre bajo sus tres formas isómeras (la dextrógira, la levógira y la racémica), siendo activa únicamente la forma levógira; o sea que la única manera de determinar en una muestra o

en un producto cuanta cantidad activa se encuentra de ese antibiótico, es haciéndole su Valoración por un Método Microbiológico. Cabe agregar, que con los antibióticos se puede presentar el caso de que a pesar de obtenerse en valoraciones por métodos químicos un resultado de 100% de pureza o de la cantidad etiquetada, no tengan actividad biológica alguna o ella apenas sea una parte de la cantidad total etiquetada o analizada.

CONTROLES QUE SE DEBEN REALIZAR EN LOS PROCESOS Y EN LAS VALORACIONES

Con el fin de poder llevar a cabo con éxito la elaboración y la obtención de diversas formas farmacéuticas, lo mismo que aquellos productos que impliquen fermentaciones o procesos biotecnológicos, y la preparación de vacunas y sueros, se requieren una serie de controles microbiológicos estrictos, los cuales van desde el control de las materias primas, hasta aquel del producto terminado, pasando por todas y cada una de las etapas del proceso en cuestión. También se deben considerar las Valoraciones Microbiológicas, las cuales deben realizarse bajo una serie de controles previos, que como es obvio garantizarán la confiabilidad y la productividad de los resultados que se obtengan.

De lo anterior se desprende que cada uno de los controles requerirá una o varias pruebas, según el proceso que se vaya a realizar (Controles de Areas, Materias Primas, Filtraciones Esterilizantes, Esterilizaciones por calor seco o calor húmedo) y el producto que se vaya a obtener.

CRITERIO SOBRE LA ACTIVIDAD Y LA EFECTIVIDAD DE SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS

Bajo éstos aspectos, se entiende como Actividad

de una sustancia Antimicrobiana, la facilidad que ella posea en manifestar sus propiedades sobre uno o varios microorganismos; en consecuencia, ella será muy activa cuando manifiesta sus características antimicrobianas sobre muchas clases o tipos de microorganismos y poco activa, cuando su radio de acción es reducido. Por otra parte, el concepto anterior se puede complementar con el conocido de Espectro de Actividad de un antibiótico por ejemplo.

En relación al concepto que se deriva de la Efectividad de una sustancia Antimicrobiana, él está íntimamente relacionado con los resultados que se logran cuando un germen se pone en contacto con la sustancia en ensayo o en estudio. Es así como el microorganismo puede ser únicamente inhibido en su desarrollo durante un tiempo, o morir si las alteraciones que sufrió en su constitución o en su metabolismo fueron suficientemente severas. Dentro de éste concepto también se pueden incluir aquellos resultados que se obtengan en cuanto a la reducción que se produzca en una población determinada de microorganismos, en un tiempo dado y bajo unas condiciones conocidas.

Para desarrollar éstos últimos criterios, se recurre a los métodos siguientes:

- Determinación del índice de Fenol.
- Determinación de la Reducción de Población (R.P.).
- Determinación de la Concentración Mínima Inhibidora (C.M.I.).
- Determinación de la Concentración Letal (C.L.).
- Valoración de la Actividad Antimicrobiana por:
 - * Métodos o Técnicas Turbidimétricas.
 - * Métodos o Técnicas de Difusión en Gel.

EVALUACIONES, CONTROLES Y OBTENCION DE SUBSTANCIAS CON ACTIVIDAD SOBRE MICROORGANISMOS

Determinación de la Actividad y Valoraciones de Antibióticos, Vitaminas, Aminoácidos.

Para la determinación de la actividad biológica de esos tipos de sustancias se cuenta con varias clases de técnicas o métodos, los cuales se usan según el tipo de muestra, el ensayo que se realice y la sustancia activa evaluada. Por lo tanto, se puede recurrir a las determinaciones de los Antibiogramas, de los Espectros de Actividad, de la Concentración Mínima inhibidora, de la Concentración Letal y de la Reducción de Población, como se anotó bajo el tema anterior.

También se recurre, pero bajo criterios Cuantitativos, a los Métodos de Valoración Microbiológica por Turbidimetría, los cuales tienen como fundamento la cuantificación de la turbidez producida por el cultivo de los microorganismos en medios que contengan la(s) sustancia(s) activa(s) y tomando en consideración las leyes que rigen éste tipo de valoraciones se utilizan métodos instrumentales. Otros Métodos de Valoración Microbiológica que también son de uso común se refieren a los que recurren a la Difusión que presenta en un Gel una sustancia con actividad biológica, método que se rige por la Ley de Difusión de Fick. Referente a éstas valoraciones -por Métodos Turbidimétricos y por los de Difusión en Gel-, ellas toman como base para su ejecución y desarrollo la inhibición del crecimiento del germen de control; en el primer sistema se recurre a que en un medio de cultivo líquido se manifiesta una turbidez gradual del crecimiento del germen sensible inocu-

lado, en función de las diferentes disoluciones del antimicrobiano activo que se valore y en el segundo, se manifiestan zonas de inhibición más o menos grandes, también en función de las diluciones más o menos grandes que se coloquen en las cúpulas en el medio de cultivo sólido (gel) que contenga inoculado el germen de control. Estos dos métodos, son de uso corriente para las valoraciones de la actividad de los antibióticos y con modificaciones menores, se pueden emplear para las valoraciones de las

vitaminas y los aminoácidos, así como para la de numerosos antibacterianos.

Por último se cuenta con la valoración que toman como base el Incremento de la Acidez que se manifiesta en un medio de cultivo por la liberación en él de los ácidos producidos por el metabolismo de los gérmenes y, las cuantificaciones de la Masa Celular (Biomasa) producida después de un tiempo de crecimiento del germen bajo condiciones determinadas.