

88. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AGUA CALIDAD FARMACÉUTICA

El sistema de producción y distribución de agua debe estar validado de modo tal de garantizar que la contaminación microbiana esté dentro de los límites establecidos. Dicha validación requiere la realización de los estudios de aptitud de los métodos de recuperación de microorganismos para demostrar la idoneidad de los medios de cultivo y las condiciones de incubación seleccionados. Se deben elegir los métodos que resulten en la mayor recuperación de microorganismos presentes en el sistema en el menor tiempo posible, permitiendo así realizar las investigaciones o correcciones oportunas. El método elegido debe ser reevaluado periódicamente.

Los datos generados del monitoreo de aguas deben ser analizados en forma de tendencias para asegurar que el sistema opera bajo condiciones microbiológicas controladas, para lo cual, es necesario establecer límites de alerta y de acción como enfoque proactivo para el manejo del sistema de agua.

Además del recuento de la carga microbiológica en el agua, se deberá evaluar la necesidad de identificar o seleccionar ciertas especies microbianas que podrían tener impacto en los productos, los procesos o los usuarios. La identidad del microorganismo puede orientar sobre su origen y ayudar a la aplicación de la acción correctiva o preventiva.

No existe un método de recuento ideal que detecte todos los microorganismos en una muestra de agua, aunque algunos medios o temperaturas de incubación pueden ser mejores que otros.

Medios de cultivo

Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a lo indicado en *Medios de cultivo y líquidos de dilución y lavados para Ensayos Microbiológicos* en *Reactivos y Soluciones*. También se pueden emplear fórmulas deshidratadas equivalentes disponibles comercialmente. Los medios de cultivo sugeridos para realizar los ensayos de recuento

son: Ágar digerido de caseína-soja (TSA), Ágar de recuento en placa (PCA) y Ágar R2A.

Es esencial utilizar el medio que ha demostrado ser el más adecuado, a través de los estudios de aptitud en un sistema de agua particular.

Para la promoción de crecimiento en los medios de cultivo se debe utilizar por lo menos *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Pueden utilizarse cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivo microbianas reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections).

Condiciones de incubación

Deben utilizarse combinaciones de tiempo y temperaturas de incubación adecuadas, basados en estudios comparativos empleando los microorganismos presentes en el sistema. Por ejemplo, puede citarse el uso de medios de alto contenido en nutrientes (TSA y PCA), incubados a 30 - 35 °C por no menos de 48 horas. La incubación a temperaturas más bajas (20 - 25 °C) durante períodos más largos (al menos 4 días) podría resultar en recuentos microbianos más altos. Se recomienda incubar durante al menos 5 días los medios con bajo contenido de nutrientes (Ágar R2A).

Métodos de cultivo sugeridos

Para las muestras de agua purificada se puede utilizar el método de recuento en placa por siembra directa con volúmenes no menores a 1 mL o filtración por membrana con volúmenes no menores a 100 mL.

Para las muestras de agua para inyectables se sugiere utilizar un volumen no menor a 200 mL por el método de filtración por membrana.

Se prefiere el uso de membranas de 0,45 µm que las de tamaños de poro menores.

Para poder obtener recuentos de colonias estadísticamente válidos, el tamaño de muestra debe ser apropiado.