



# Determinación de los límites de la contaminación microbiana presente en superficies de un laboratorio de referencia distrital de microbiología farmacéutica

[Limits determination of microbial contamination present on surfaces from a pharmaceutical microbiology district reference laboratory]

Natalia Charry\*, Sandra L. Gómez

Laboratorio de Salud Pública. Dirección de Epidemiología, Análisis y Gestión de Políticas en Salud Colectiva. Secretaría Distrital de Salud, Bogotá, Colombia.

\*E-mail: [ncharry@saludcapital.gov.co](mailto:ncharry@saludcapital.gov.co)

## Abstract

**Context:** The bioburden present on the pharmaceutical microbiology laboratory's surfaces, may increase the risk of cross-contamination when analytical tests are being carried out; periodic monitoring allows to set limits that reduce the risk.

**Aims:** To determinate the limits of bioburden present on seven surfaces of the pharmaceutical microbiology laboratory, after the cleaning and disinfection process.

**Methods:** The swabbing method was used for sampling. With a 25 cm<sup>2</sup> stencil and a sterile swab, a sample was taken, passing the swab over five points of every surface chosen. A total aerobic microbial count and a total yeast and mold count was done. Finally, the average and the standard deviation of the counts was obtained.

**Results:** The average from the counts obtained on each surface selected for the study, were below the recommended limits by international entities like the World Health Organization and the European Union, between others; also, the results generated in this study, allow to classify the biosafety cabinet as an ISO 5 area and the other areas as ISO 7.

**Conclusions:** Bioburden levels on the tested surfaces are considered low, reducing the risk of cross-contamination, which could have a negative impact on laboratory's activities. Also, it follows that disinfectant concentration used, is effectively.

**Keywords:** Controlled environment; cross-contamination; disinfection; surfaces sampling.

## Resumen

**Contexto:** La presencia de carga microbiana en las superficies de un laboratorio de microbiología farmacéutica, puede aumentar el riesgo de contaminación cruzada durante el desarrollo de las pruebas analíticas; realizar monitoreos periódicos permite establecer límites que disminuyan dicho riesgo.

**Objetivos:** Determinar los límites de la contaminación microbiana presente en siete superficies del laboratorio de microbiología de medicamentos, después de llevar a cabo el proceso de limpieza y desinfección.

**Métodos:** Se empleó el método de hisopado para la toma de las muestras. Con la ayuda de un hisopo estéril y una plantilla de 25 cm<sup>2</sup>, se tomaron muestras en cinco puntos de cada superficie. Se realizó el recuento de microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras. Por último, se obtuvo el promedio y desviación estándar de los recuentos.

**Resultados:** El promedio de los recuentos obtenidos en todas las superficies objeto de estudio, se encontraron por debajo de los límites recomendados por entes internacionales como la Organización Mundial de la Salud y la Unión Europea, entre otras; así mismo, los resultados generados, permiten clasificar la cabina de bioseguridad como un área ISO 5 y las demás áreas como ISO 7.

**Conclusiones:** Se considera que los niveles de contaminación microbiana presente en las superficies evaluadas son bajos, disminuyendo el riesgo de contaminación cruzada que afecte las actividades propias del área; así mismo, se infiere que la concentración del desinfectante usado es efectiva.

**Palabras Clave:** Ambiente controlado; contaminación cruzada; desinfección; muestreo de superficies.

## ARTICLE INFO

Received | Recibido: February 13, 2016.

Received in revised form | Recibido en forma corregida: April 17, 2016.

Accepted | Aceptado: April 18, 2016.

Available Online | Publicado en Línea: May 3, 2016.

Declaration of interests | Declaración de Intereses: The authors declare no conflict of interest.

Funding | Financiación: This work was financially supported by the Secretaría Distrital de Salud de Bogotá (Colombia).

Academic Editor | Editor Académico: Gabino Garrido.

Abbreviations | Abreviaturas: AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; PIC/S: Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme; SDA: Agar Saboreaud Dextrosa; TSA: Agar Tripticosa Soya; UE: Unión Europea; UFC: Unidades Formadoras de Colonia; USP: Farmacopea de los Estados Unidos de América



---

## INTRODUCCIÓN

---

La confiabilidad de un resultado analítico es fundamental para la toma de decisiones como la aceptación o rechazo de un lote de materia prima y/o de producto terminado, su decomiso (en el caso de las entidades reguladoras) e incluso para el tratamiento de enfermedades, cuando se trata de pruebas clínicas. Es debido a la trascendencia de las decisiones que se toman a partir de los resultados de laboratorio, que cada día se hace más énfasis en la importancia de implementar un sistema de gestión de calidad que permita establecer controles sobre toda la cadena de actividades que finaliza con el resultado analítico. Las Buenas Prácticas de Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para los laboratorios de microbiología farmacéutica y la Norma ISO/IEC 17025 para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, establecen la necesidad de considerar factores como el diseño de los espacios en cuanto al tamaño y su separación eficaz (cuando se realizan actividades incompatibles), la aptitud de los materiales de construcción, su respectiva limpieza y desinfección y el monitoreo de las condiciones ambientales que puedan influir en la realización de la prueba analítica y/o su resultado (ICONTEC, 2005; OPS, 2013).

La Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) en el Capítulo 1116, describe como un ambiente microbiológicamente controlado a aquel donde los niveles de contaminación microbiana presentes en el aire, superficies y elementos de protección de los operarios, se monitorea periódicamente con el fin de caracterizar el área de fabricación de los productos estériles y establecer las condiciones en las cuales el área opera con bajo riesgo de contaminación (USP, 2015). Aunque la USP se enfoca en un área de producción, éste tipo de control se puede adaptar a los laboratorios de microbiología farmacéutica, ya que la presencia de carga microbiana representa un riesgo latente de contaminación para la muestra expuesta al ambiente durante la prueba analítica, lo que puede generar un resultado falso positivo.

Organizaciones como la *International Organization for Standardization* (ISO), la *Pharmaceutical Inspection Convention- Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme* (PIC/S), la Agencia Española

de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Europea (UE), han clasificado los cuartos limpios donde se llevan a cabo procesos asépticos, basándose en la concentración y tamaño del material particulado presente. La ISO describió la clasificación y monitoreo de éste tipo de ambientes en la serie de normas ISO 14644 en las cuales nombra los cuartos limpios como áreas ISO (ISO, 1999). Por otra parte, las otras organizaciones mencionadas previamente, clasificaron las áreas en cuatro grados, según el riesgo de las operaciones llevadas a cabo en cada una, siendo el Grado A, el área más limpia y el Grado D, el área menos limpia (EU, 2008; AEMPS, 2009; OMS, 2011; PIC/S, 2014). A partir de las clasificaciones descritas, se han sugerido niveles de contaminación de partículas viables (microorganismos), las cuales también deben ser incluidas en el monitoreo de los cuartos limpios.

La concentración de la carga microbiana en superficies ha sido ampliamente estudiada en lugares como hospitales, industrias y laboratorios, para evaluar la eficacia del proceso de limpieza y desinfección, establecer la relación entre los microorganismos en las superficies y la transmisión de enfermedades, determinar los efectos de la contaminación en maquinaria usada para la manufactura de productos, realizar el control de calidad de dispositivos médicos, implementar el sistema de monitoreo ambiental y caracterizar las áreas de producción, entre otras. (Jaisinghani et al., 2000; LeBlanc, 2001; Delgado et al., 2004; Hedin et al., 2010; Corpas, 2012; Otter et al., 2013). A pesar de los diferentes enfoques para los cuales se determina la concentración de la carga microbiana en las superficies, respecto a establecer los límites aceptables de contaminación, se encuentra poca información publicada, especialmente para los laboratorios de microbiología farmacéutica.

El objetivo del presente trabajo fue determinar los límites de la contaminación microbiana presente en siete superficies del laboratorio de microbiología de medicamentos, después de llevar a cabo el proceso de limpieza y desinfección.

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### Superficies a muestrear

Se tomaron 44 muestras de cada mesón y piso de las tres áreas que conforman el laboratorio de microbiología de medicamentos (siembras, aprestamiento y lavado), así como de la cabina de bioseguridad (Labconco, USA), para un total de siete superficies a evaluar. El muestreo se realizó durante 16 meses, antes de la limpieza y desinfección, 20 minutos después de ésta en el caso de los pisos y mesones y 10 minutos después en la cabina de bioseguridad. Los pisos y mesones fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 0,5% y la cabina de bioseguridad con alcohol etílico al 70%; a partir de la toma de muestras número 40, se empezó a desinfectar la cabina de bioseguridad con Timsen® (United Promotions, Inc., USA) disuelto en alcohol etílico al 70%, debido a que anteriormente se observó crecimiento microbiano en varias ocasiones luego de desinfectar la superficie únicamente con alcohol etílico al 70%.

### Medios de cultivo

Se utilizaron tubos con tapas de rosca, cada uno con 10 mL de caldo Trypticase Soya (Oxoid, Reino Unido), polisorbato 80 al 0,5% (Merck, Colombia) y Tiosulfato de sodio al 0,05% (Merck, Colombia). Para el recuento de microorganismos mesófilos aerobios se empleó agar Trypticase Soya (TSA) (Oxoid, Reino Unido) y para el recuento de mohos y levaduras se empleó agar Saboreaud Dextrosa (SDA) (Becton Dickinson, USA).

### Toma de muestras

Se tomó un hisopo estéril, el cual fue humedecido con el caldo de cultivo; con la ayuda de una plantilla de 25 cm<sup>2</sup> se pasó el hisopo sobre la superficie a muestrear, en dirección horizontal y vertical, en cinco puntos diferentes; finalmente, se llevó el hisopo nuevamente al tubo (se rompió la punta del hisopo que tuvo contacto con el analista antes de tapar el tubo). Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia (UFC) sobre 125 cm<sup>2</sup> (USP, 2015).

### Siembra

Los tubos se agitaron en vortex (IKA, USA) a 2000 – 2500 r.p.m. para la homogenización de la muestra; se sembró 1 mL en profundidad por duplicado y se agregó TSA y SDA, según lo explicado previamente.

### Incubación y lectura

Las cajas con TSA se incubaron a 35 ± 2°C durante 48 horas y las cajas con SDA se incubaron a 25 ± 2°C durante 5 días. Al final del tiempo de incubación las cajas se leyeron con ayuda de un contador de colonias (Bantex, USA).

### Análisis estadístico

Se obtuvo el promedio y la desviación estándar (DS) de los recuentos en Excel (Microsoft Office 2013). Los límites se obtuvieron aplicando la regla práctica del intervalo, la cual consiste en sumar 2 veces la DS al promedio de los recuentos, dado que dentro de intervalos de este tipo se encuentra el 95% de datos, no obstante se pueden utilizar en otros casos 3 o 4 DS (Triola, 2004).

---

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En la Tabla 1 se observan los promedios de los recuentos obtenidos antes y después de realizar el proceso de limpieza y desinfección, los cuales indican que la concentración de la carga microbiana en las superficies del Laboratorio de Microbiología de Medicamentos fue baja, teniendo en cuenta que estuvieron por debajo de los límites sugeridos por entes como la UE, OMS, AEMPS y acuerdos como PIC/S para áreas limpias ISO 4.8/ Grado A (cabina de bioseguridad) e ISO 7/Grado C (áreas circundantes) (ver Tabla 2); siendo éste un resultado satisfactorio ya que disminuyó el riesgo de que ocurriera contaminación cruzada.

Aunque los límites recomendados por las organizaciones mencionadas en la Tabla 2 se encuentran expresados en total de UFC por placa de contacto de 55 mm de diámetro, la cual tiene un área equivalente aproximada de 25 cm<sup>2</sup> (Pillari-Soheily, 2003), se consideró pertinente realizar la comparación de los resultados, empleando los recuentos de UFC/125 cm<sup>2</sup> obtenidos en el presente trabajo, ya

que si éstos se dividieran para obtener la concentración de microorganismos en un área de 25 cm<sup>2</sup>, el promedio de los recuentos en todas las superficies estarían por debajo de 1 UFC, lo cual impediría realizar el análisis de los datos y la clasificación de las áreas. Lo anterior, se ve soportado por los resultados obtenidos en la investigación realizada por Salo et al. (2000), donde se compararon tres métodos para la toma de muestras en superficies de doce laboratorios, entre ellos el método por contacto en placa y el de hisopado (con un área de muestreo de 100 cm<sup>2</sup>), encontrando que la diferencia entre los métodos no fue estadísticamente significativa en cuanto a la precisión y porcentaje de recuperación microbiana, cuando se eliminaron datos atípicos. Así mismo, en la investigación realizada por Hedin et al. (2010) donde se comparó el método de contacto en placa y el método de hisopado en dos modalidades, uno sembrando el hisopo directamente sobre diferentes agares y otro llevando el hisopo a caldo para luego sembrar en agar (como se hizo durante este estudio), se obtuvo como conclusión que no hubo diferencias significativas entre los métodos evaluados.

El promedio bajo de los recuentos microbianos después de realizar la limpieza y desinfección, concordaron con otros estudios donde también se uti-

lizó hipoclorito de sodio para la desinfección de las superficies. Un ejemplo de ello es la investigación realizada por Corpas (2012), quien estableció intervalos de tolerancia de contaminación en un laboratorio de microbiología de alimentos, obteniendo promedios de 0,9 UFC de microorganismos mesófilos aerobios en todas las superficies y promedios de mohos que fluctuaban entre 0,7 y 1 UFC, luego de realizar la desinfección con hipoclorito de sodio al 2%. Por otra parte, los resultados obtenidos por Callejas e Izquierdo (2009), también revelaron recuentos microbianos bajos, en los mesones y pisos de cuatro laboratorios de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá (Colombia), luego de la desinfección con hipoclorito de sodio a concentraciones entre 0,122 y 100 ppm. Los recuentos de microorganismos tanto mesófilos aerobios como de mohos y levaduras, se encontraron entre 1 y 5 UFC. Aunque los resultados obtenidos en el presente trabajo y en los mencionados previamente, muestran que el desinfectante usado cumple con su objetivo respecto a mantener bajas concentraciones de agentes microbianos en las superficies, es importante establecer la periodicidad de la rotación de los desinfectantes y considerar otros principios activos con amplio espectro de acción y de bajo riesgo para el personal que lo manipula y/o está expuesto (USP, 2015).

**Tabla 1.** Recuentos microbianos en las superficies evaluadas en el laboratorio de Microbiología de Medicamentos.

Superficie	Mesófilos		Mohos y levaduras	
	Antes de LYD (UFC/125 cm <sup>2</sup> )	Después de LYD (UFC/125 cm <sup>2</sup> )	Antes de LYD (UFC/125 cm <sup>2</sup> )	Después LYD (UFC/125 cm <sup>2</sup> )
Cabina	0,45 ± 0,90	0,25 ± 0,67	0,64 ± 0,97	0,11 ± 0,62
Mesón siembras	2,45 ± 3,34	1,0 ± 2,08	2,23 ± 3,49	0,16 ± 0,43
Piso siembras	8,23 ± 11,20	1,39 ± 2,36	1,64 ± 2,46	0,30 ± 0,76
Mesón aprestamiento	6,02 ± 7,60	0,98 ± 1,65	3,45 ± 5,88	0,34 ± 0,68
Piso aprestamiento	24,32 ± 22,60	3,75 ± 7,04	4,14 ± 5,42	0,27 ± 0,45
Mesón lavado	21,11 ± 27,82	1,55 ± 6,78	4,30 ± 5,79	0,57 ± 1,65
Piso lavado	18,61 ± 22,71	3,02 ± 6,43	4,93 ± 6,63	0,64 ± 1,56

Los valores son expresados como promedio ± desviación estándar de n = 44

LYD: Limpieza y Desinfección

**Tabla 2.** Límites recomendados de contaminación microbiana en muestreos de superficies en cuartos limpios, según algunas organizaciones internacionales.

Clasificación del área	Valores límites recomendados (EU, 2008; AEMPS, 2009; OMS, 2011; PIC/S, 2014) (UFC/placa de contacto de 55 mm)
ISO 4.8 – Grado A	< 1
ISO 5 – Grado B	< 5
ISO 7 – Grado C	< 25
ISO 8 – Grado D	< 50

Los límites de la contaminación microbiana, expresados en la Tabla 3, fueron determinados a partir de los recuentos después de la limpieza y desinfección, debido a que las pruebas analíticas se realizaron luego de llevar a cabo dicha actividad. Para las superficies del área de siembras se sumaron dos desviaciones estándar (DS) ya que por su cercanía al lugar de análisis de las muestras, el control de la biocontaminación debe ser más estricto, mientras que para las superficies del área de aprestamiento y lavado, se sumaron tres DS, teniendo en cuenta que son áreas que no tienen contacto con la muestra abierta y no están cerca de ella durante el análisis. En el caso de la cabina de bioseguridad, no se aplicó la regla práctica del intervalo (no se sumó la DS), debido a que el riesgo de contaminación es alto cuando la muestra se manipula abierta dentro del equipo, por lo tanto, esta superficie debe cumplir los parámetros establecidos para un área altamente aséptica como la Grado A (ISO 4.8), según lo descrito en la Tabla 2.

En la cabina de bioseguridad, antes y después de la desinfección, se obtuvieron recuentos promedio inferiores a 1 UFC (Tabla 1), lo cual demostró que la carga microbiana en la superficie de trabajo de este equipo fue baja (en el 47,7% y el 81,8% de los muestreos después de la desinfección, no hubo crecimiento para el caso de los microorganismos mesófilos aerobios y mohos y levaduras respectivamente), pero debido a que en algunos casos se observó crecimiento luego de aplicar el desinfectante, se estableció como medida correctiva la necesidad de agregar al alcohol etílico al 70%, un desinfectante cuyo principio activo fue el amonio cuaternario (Timsen®), además, se estableció que era adecuado aumentar la frecuencia de la desinfección de la su-

perficie durante el análisis de las muestras, ya que el material que se ingresa al equipo puede contener partículas de polvo, además, el alcohol deja de ser efectivo cuando se evapora (Hedin et al., 2010). Una vez se efectuaron estos cambios, se obtuvieron buenos resultados, pero no se tuvieron datos suficientes para establecer, desde el punto de vista estadístico, que las medidas fueron efectivas para el control de la contaminación.

Teniendo en cuenta que la clasificación de las áreas no se puede basar únicamente en la carga microbiana presente en las superficies, se considera necesario determinar también, la concentración de la biocontaminación y material particulado presentes en el aire de cada una de las áreas que conforman el laboratorio de microbiología de medicamentos, para caracterizar de forma más completa la calidad ambiental; acompañando éstas determinaciones, con el seguimiento y control del porcentaje de humedad relativa y temperatura ambiental ya que dichos parámetros influyen directamente en el crecimiento microbiano (USP, 2015).

Aunque los valores obtenidos a partir de los monitoreos son útiles para conocer las variaciones de la recuperación microbiana en un área específica y bajo circunstancias previamente estandarizadas, no es adecuado inferir que el lograr los niveles establecidos como de “control” garantizan la ausencia total de riesgo para la muestra a analizar; pero éstos, permiten evaluar si el área se comporta de manera “típica” o se están presentando variaciones que representan el riesgo de la pérdida de control y es necesario tomar medidas al respecto, ya que es allí donde el monitoreo adquiere valor, permitiendo identificar y corregir una práctica de trabajo inaceptable (USP, 2015); por tal razón, dentro de la imple-

mentación de los parámetros del monitoreo ambiental, también se recomienda establecer límites de acción, los cuales sirven de guía a los profesionales encargados, ya que les permite contar con valores puntuales para identificar cuándo se podrían estar presentando dichas situaciones atípicas y así mismo actuar al respecto. Para el caso del Laborato-

rio de Microbiología de Medicamentos, el límite de acción en la cabina de bioseguridad se estableció como un recuento  $> 3$  UFC, según lo sugerido en el capítulo 797 de la USP, y para las demás superficies, los recuentos superiores a los descritos en la Tabla 2.

**Tabla 3.** Límites de recuento establecidos para el laboratorio de Microbiología de Medicamentos y su clasificación, según los parámetros establecidos por algunas organizaciones internacionales reconocidas.

Superficie	Mesófilos aerobios (UFC/125 cm <sup>2</sup> )	Mohos y levaduras (UFC/125 cm <sup>2</sup> )	Clasificación áreas laboratorio Microbiología de Medicamentos, según estándares internacionales
Cabina	< 1	< 1	ISO 4.8, Grado A
Mesón siembras	5	1	ISO 7, Grado C
Piso siembras	6	2	ISO 7, Grado C
Mesón aprestamiento	6	2	ISO 7, Grado C
Piso aprestamiento	25	2	ISO 7, Grado C
Mesón lavado	22	6	ISO 7, Grado C
Piso lavado	22	5	ISO 7, Grado C

Finalmente, se plantea considerar para un próximo trabajo de investigación, la descripción de la flora microbiana presente en las superficies luego de la limpieza y desinfección, ya que, si bien, hasta el momento no se han registrado casos de contaminación cruzada en muestras, material, reactivos y/o medios de cultivo por la presencia de un agente microbiano ambiental, es necesario identificar los microorganismos ambientales predominantes en el área, su interacción con el desinfectante y los riesgos que conllevan su presencia y concentración para los procesos realizados en el laboratorio. Así mismo, se sugiere incluir en el monitoreo de las áreas, la determinación de la concentración del material particulado no viable y el seguimiento de parámetros como la humedad relativa y la temperatura.

## CONCLUSIONES

Los recuentos microbianos en cada una de las siete superficies evaluadas, antes y después de realizar el proceso de limpieza y desinfección, permitieron establecer límites de contaminación microbiana para el laboratorio de microbiología de medicamentos de la Secretaría de Salud de Bogotá, los cuales

cumplen con las recomendaciones establecidas por organizaciones internacionales reconocidas en el ámbito de la salud y la fabricación de productos farmacéuticos seguros. Estos límites permiten disminuir el riesgo de que ocurra contaminación cruzada durante el desarrollo de las pruebas analíticas, aumentando la confiabilidad de los resultados emitidos. También fue posible establecer límites de acción, los cuales se basaron en las recomendaciones de las organizaciones previamente mencionadas en éste documento.

Se clasificaron las áreas que componen el Laboratorio de Microbiología de Medicamentos, de manera que la cabina de bioseguridad se clasificó como un área ISO 4.8/Grado A y el resto de las áreas fueron clasificadas como ISO 7/Grado C.

Es necesario continuar realizando el monitoreo de superficies y revisar el cambio de los límites, a medida que se obtienen más datos a través del tiempo y se observan variaciones en las respectivas desviaciones estándar.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no poseer conflicto de interés.

---

## AGRADECIMIENTOS

---

Los autores agradecen a la Secretaría Distrital de Salud de Bogotá (Colombia), por los recursos otorgados para la realización de éste trabajo. También agradecen a Luisa María Echeverry, estudiante de décimo semestre de Microbiología Industrial en la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá, por la información obtenida durante la elaboración de su trabajo de grado.

---

## REFERENCIAS

---

- AEMPS (2009) Guía de normas de correcta fabricación de medicamentos de uso humano y veterinario. Anexo 1: Fabricación de medicamentos estériles. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, Madrid, España.
- Callejas LM, Izquierdo JA (2009) Verificación del proceso de limpieza y desinfección de los laboratorios: Aguas y Lodos, Inmunología Especializada y Citometría de Flujo, Microbiología de Alimentos y Microbiología Ambiental y de Suelos. Tesis de pregrado publicada, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C., Colombia.
- Corpas E (2012) Establecimiento de un sistema para el monitoreo y control de la contaminación cruzada en el laboratorio de análisis microbiológico de alimentos durante 2009. *Rev Cienc Salud* 10 (Especial): 53-67.
- Delgado M, Escamilla L, Pérez A, Arias J (2004) Determinación de parámetros de la contaminación microbiana presente en un área de fabricación de medicamentos estériles a base de antibióticos  $\beta$ -lactámicos. *Univer Scientiarum* 9(2): 23-33.
- EU (2008) EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 1. Manufacture of Sterile Medicinal Products. European Commission, Bruselas, Bélgica.
- Hedin G, Rynback J, Loré B (2010) Reduction of bacterial surface contamination in the hospital environment by application of a new product with persistent effect. *J Hosp Infect* 75(2): 112-115.
- ICONTEC (2005) NTC-ISO/IEC 17025: 2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, Bogotá D.C., Colombia.
- ISO (1999) ISO/DIS 14644-1:1999. Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration. International Organization for Standardization, Ginebra, Suiza.
- Jaisinghani R, Smith G, Macedo G (2000) Control and monitoring of bioburden in biotech/pharmaceutical cleanrooms. *J Valid Technol III (Special Edition)*: 46-55.
- LeBlanc DA (2001) Equipment cleaning validation: Microbial control Issues. *J Valid Technol III (Special Edition)*: 6-12.
- OMS (2011) WHO Technical Report Series No. 961. Annex 6 WHO Good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Otter JA, Yezli S, Salkeld JA, French GL (2013) Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *Amer J Infect Control* 41(5): S6-S11.
- PIC/S (2014) Guide to good manufacturing practice for medicinal products annexes. PE 009-11. Pharmaceutical Inspection Convention - Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme, Ginebra, Suiza.
- Pillari-Soheily B (2003) A surface monitoring refresher: Contact plates and swabs. <http://www.cemag.us/articles/2003/01/-surface-monitoring-refresher-contact-plates-and-swabs> [Consultado Julio 31, 2015].
- OPS (2013) Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. Documento Técnico No. 11. Organización Panamericana para la Salud, Washington D.C., USA.
- Salo S, Laine A, Alanko T, Sjorberg AM, Wirtanen G (2000) Validation of the microbiological methods hygienic dipslide, contact plate, and swabbing in surface hygiene control: A Nordic study. *J AOAC Int* 83(6): 1357-1366.
- Triola M (2004) Estadística, 9na. edn. Pearson Educación: México.
- USP (2015) Farmacopea de los Estados Unidos de América 38 - NF 33. Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention.