

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de noviembre y hasta el 31 de diciembre de 2022, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
APÉNDICE IX. NORMATIVO. INFORMATIVO. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO		
INTRODUCCIÓN		
El objetivo de esta guía es facilitar la implementación y uso de métodos microbiológicos alternativos que permitan incrementar la eficiencia del control microbiológico y asegurar la calidad de los productos farmacéuticos.		
Los métodos descritos en esta Farmacopea han sido una herramienta invaluable y aún son útiles en la detección, enumeración e identificación de microorganismos en la fabricación de productos farmacéuticos para asegurar la calidad microbiológica de éstos, estos métodos suelen ser lentos, por ejemplo: la prueba de esterilidad, donde el resultado no puede ser emitido antes de transcurrir 14 días de incubación. En consecuencia, los resultados de estos métodos rara vez permiten tomar acciones correctivas proactivas.		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Actualmente existen métodos alternativos que han mostrado potencial para obtener resultados en tiempo real o casi de manera instantánea con la posibilidad de llevar a cabo una acción correctiva oportuna. Estos métodos, si se validan y se adaptan al uso rutinario pueden también representar una herramienta útil en las pruebas de calidad microbiológica a lo largo de los procesos de fabricación farmacéutica.</p>		
<p>Los métodos alternativos pueden ser incorporados en el análisis de muestras de productos farmacéuticos en proceso, para monitoreo microbiológico en instalaciones de producción y sistemas críticos contribuyendo al control de la calidad de estos productos.</p>		
<p>La siguiente guía describe algunos métodos alternativos de aplicación farmacéutica; cada uno muestra sus ventajas y desventajas junto con los aspectos críticos que deben ser considerados. El uso potencial debe ser analizado en comparación con el método farmacopeico y no debe entenderse que es un método mandatorio o que la lista de métodos alternativos es completa.</p>		
<p>Esta guía no pretende recomendar uno u otro método, ni tampoco incluye todos los métodos alternativos que pueden ser usados para el control microbiológico de productos farmacéuticos. La información incluida en esta guía puede ser usada en el proceso de selección de métodos microbiológicos alternativos como suplemento a los métodos microbiológicos farmacopeicos y proporciona recomendaciones para la validación de ellos. No se debe olvidar que los métodos descritos en esta Farmacopea son los métodos de referencia, a los cuales se debe recurrir en caso de una no conformidad en los resultados.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>A continuación, se abordan los tres tipos de determinaciones microbiológicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pruebas cualitativas para la presencia o ausencia de microorganismos. • Pruebas cuantitativas para la cuenta o enumeración de microorganismos. • Pruebas de identificación microbiana. 		
<p>Las pruebas cualitativas en general se caracterizan por el uso de la turbidez o cambios relacionados con el crecimiento microbiano en un medio de cultivo. El ejemplo más común es la prueba de esterilidad (<i>MGA 0381. Esterilidad</i>). La prueba de esterilidad convencional podría realizarse, por ejemplo, con pruebas basadas en la bioluminiscencia o citometría de fase sólida, detección de gas o auto fluorescencia. Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos también se pueden usar para la determinación de micoplasmas.</p>		
<p>Las pruebas cuantitativas como el método de filtración en membrana o el de vaciado en placa son métodos convencionales usados para estimar el número de microorganismos presentes en una muestra. El método del número más probable (NMP) es otro ejemplo de dichos métodos y fue desarrollado como una manera de estimar el número de microorganismos viables presentes en una muestra no detectable si se usa el plaqueo directo. Los métodos alternativos para cuenta de microorganismos incluyen la auto fluorescencia, citometría de flujo, técnica de filtro epifluorescente directa (TFED) y citometría en fase sólida.</p>		
<p>Las pruebas de identificación microbiana clásicas son las que se basan en la caracterización bioquímica y</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>morfológica de un microorganismo desconocido. Recientemente se han desarrollado métodos que poseen características de facilidad y automatización en la identificación, especialmente en áreas de análisis, almacenamiento y manejo de datos. Varias alternativas que han sido integradas en estos métodos incluyen reacciones bioquímicas, utilización de carbono como sustrato, caracterización de la composición de ácidos grasos, espectroscopía de masas y espectroscopía Raman, análisis del polimorfismo en fragmentos de restricción y el uso de métodos de secuenciación genómica tales como el análisis de secuencias genómicas 16S rARN para procariotas.</p>		
<p>Los procedimientos tradicionales bioquímicos y fenotípicos han demostrado ser menos exactos y precisos que los métodos genotípicos.</p>		
<p>Se requieren cultivos puros para una identificación precisa y para ello los cultivos deben ser frescos y cultivados en medios apropiados.</p>		
<p>Como parte del sistema incluir una base de datos durante la primera validación. Debido a que los métodos de identificación dependen de una base de datos, la extensión de la base de datos con respecto al alcance de los microorganismos de interés debe ser tomados en cuenta durante la validación. Un software permite la adecuación de la base de datos, y por eso permite que el usuario agregue microorganismos no incluidos. Esta posibilidad debe ser considerada durante la validación.</p>		
<p>PRINCIPIOS GENERALES DE LOS MÉTODOS ALTERNATIVOS</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Los métodos microbiológicos alternativos emplean métodos de detección directa e indirecta; en algunos casos la señal de amplificación se alcanza por métodos de enriquecimiento. Reconociendo estas diferencias y por conveniencia los métodos alternativos para el control microbiológico de la calidad se dividen en 3 categorías:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Métodos basados en el crecimiento, donde se logra una señal detectable por un período de cultivo. • Medida directa, donde las células individuales son diferenciadas. • El análisis de componentes celulares, donde la expresión de componentes específicos ofrece una medida indirecta de la presencia e identificación de microorganismos. 		
<p>En algunos casos estas distinciones son artificiales, pero permite la creación de una clasificación de trabajo.</p>		
<p>MÉTODOS BASADOS EN CRECIMIENTO</p>		
<p>Los aspectos críticos de los métodos basados en la detección temprana de crecimiento dependen completamente del desarrollo microbiano para proporcionar una señal de la presencia y/o el número de microorganismos. Para bajos niveles típicos de contaminación microbiana en productos farmacéuticos, la detección toma 24 horas o más. Puede incrementarse la sensibilidad con productos filtrados. En este caso, después de la filtración la membrana filtrante se incuba en o sobre el medio de cultivo y el resultado se expresa como presencia o ausencia en la cantidad que corresponda al volumen filtrado. Si estos sistemas usan un paso de incubación en medios líquidos no ofrecen información</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
cuantitativa, pero sí, determinan presencia o ausencia en la cantidad analizada.		
El análisis de más de una cantidad de muestra permite obtener una estimación semicuantitativa (límite de prueba). El beneficio principal de usar los métodos de detección temprana comparados con los métodos clásicos, es con frecuencia la capacidad de procesar simultáneamente un gran número de muestras y el potencial de obtener un resultado en un tiempo más corto.		
Los métodos que se describen a continuación pueden ser usados para análisis cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo. También tienen la característica de no ser destructivos y es posible la identificación del (los) microorganismo(s).		
MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS		
Bases de la medición: La multiplicación y el metabolismo de los microorganismos en un medio de cultivo apropiado, producen metabolitos iónicos altamente cargados a partir de nutrientes orgánicos que permiten la modificación de las propiedades eléctricas en el medio de cultivo. Estos cambios eléctricos son monitoreados con electrodos incluidos en los recipientes de cultivo y en contacto con el medio de cultivo. El punto final medible es el tiempo que toma detectar un cambio eléctrico; para microorganismos de un tipo particular, el tiempo de detección es inversamente proporcional al tamaño del inóculo inicial. Para levaduras y hongos, los cuales solo producen pequeños cambios de resistencia eléctrica, puede usarse una medida indirecta de conductancia. También puede usarse una medición directa de capacitancia (almacenamiento de energía).		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
Un aspecto crítico a considerar es que no hay una relación directa entre el nivel del microorganismo original con el punto final detectable.		
Los usos potenciales incluyen el ensayo microbiológico de los antibióticos, la eficacia de preservación antimicrobiana y la prueba de presencia/ausencia.		
MEDIDA DEL CONSUMO O PRODUCCIÓN DE GAS		
Se basa en el uso de un medio de cultivo apropiado para activar la multiplicación y el metabolismo del microorganismo permitiendo la producción de metabolitos o la desaparición de nutrientes específicos. Estos métodos detectan crecimiento microbiano por los cambios en las propiedades eléctricas de un sensor en respuesta a los cambios en la composición del gas o por cambios colorimétricos de un sensor en respuesta a cambios fisicoquímicos en el medio de crecimiento en contacto con el sensor. Los sistemas están basados en técnicas no destructivas las cuales permiten la identificación subsecuente o la tipificación de los microorganismos. Los hongos y/o bacterias se hacen crecer en recipientes cerrados y el monitoreo continuo se puede realizar usando instrumentos automáticos que miden la producción (por ejemplo: CO ₂) o el consumo (por ejemplo: O ₂) de gas, como un indicador del crecimiento microbiano. Por lo tanto, la producción de metabolitos o la eliminación de nutrientes pueden permitir cambios en el pH o en el potencial redox, y todos estos cambios pueden ser medidos directa o indirectamente como cambios en marcadores colorimétricos en el medio de crecimiento.		
Los aspectos críticos a considerar es que no existe una relación entre el nivel inicial del microorganismo y el punto		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>final detectable. Además, la temperatura de incubación, las condiciones fisiológicas y tipo de microorganismo, así como el algoritmo para el procesamiento de datos, son factores que pueden impactar significativamente en el resultado o en el tiempo de detección.</p>		
<p>El uso potencial es en la determinación de presencia/ausencia de muestras filtrables y no filtrables (por ejemplo: productos farmacéuticos en envase final, muestras de control de proceso, llenado simulado o en pruebas de integridad del envase cerrado).</p>		
<p>BIOLUMINISCENCIA</p>		
<p>Los principios de la medición incluyen el conocimiento bien documentado del marcador ATP (adenosintrifosfato) de viabilidad celular. En este método el ATP debe ser extraído del microorganismo usando un compuesto químico adecuado, seguido de la reacción del ATP en presencia del sistema enzimático de luciferina/luciferasa, el cual emite luz en proporción al ATP presente. La relación señal a ruido puede ser incrementada por adición de ADP y convertir ese ADP en ATP liberado.</p>		
<p>El método cualitativo consiste en cultivar los microorganismos en medio de cultivo líquido. La luz emitida se mide con un luminómetro y se expresa en unidades relativas de luz (URL) (por ejemplo: bioluminiscencia en un tubo o en un pozo de una microplaca). Las URL obtenidas de la muestra se comparan con un valor umbral previamente determinado. El resultado es positivo si las URL obtenidas con la muestra analizada exceden el valor del umbral.</p>		
<p>En el método cuantitativo los microorganismos son capturados en una membrana y cultivados por incubación</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>en agar. El ATP liberado por las mitocondrias puede ser detectado por la cantidad de luz emitida usando una cámara con un dispositivo de carga acoplado (CCD).</p>		
<p>Los aspectos críticos a considerar son, por ejemplo, si la muestra tiene un alto nivel de contaminación bacteriana, la detección es rápida. Para niveles bajos de contaminación es necesario incrementar el número de microorganismos usando un pase de incubación en medio de cultivo (líquido o sólido). de la cantidad de ATP producida varía de un microorganismo a otro y puede depender de varios factores incluyendo la especie, la fase de crecimiento de las células el estatus nutricional, el estrés de las células o la edad del cultivo. Otros factores tales como la turbidez, el color de la muestra o los efectos principales del producto pueden también influir en la medida de la bioluminiscencia. La extracción del ATP es generalmente un proceso destructivo, que se debe considerar respecto a cualquier necesidad subsecuente para identificación de los microorganismos detectados.</p>		
<p>Los usos potenciales pueden ser en las pruebas de presencia/ausencia de muestras filtrables y no filtrables (por ejemplo: productos farmacéuticos en envase final, muestras de control de proceso y llenado simulado), cuenta total de microorganismos aerobios (CTMA), monitoreo del medio ambiente, del agua y en pruebas de eficacia de preservación antimicrobiana.</p>		
<p>TURBIDIMETRÍA</p>		
<p>Los principios de la medición son que el crecimiento microbiano permite observar cambios en la opacidad lo cual puede ser cuantificada exactamente por medio de la densidad óptica a una longitud de onda específica. En su</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>forma más simple tal medida puede realizarse usando un espectrofotómetro estándar, generalmente a una longitud de onda entre 420 y 615 nm. Sistemas automatizados alternativos emplean lectores de microplacas que ofrecen una lectura continua con detección temprana de cambios en la densidad óptica.</p>		
<p>Como aspecto crítico se tiene que se han hecho intentos por estimar la cantidad inicial de microorganismos a partir del tiempo de detección, pero esto se limita a microorganismos metabólicamente activos con características de crecimiento reproducibles.</p>		
<p>Usos potenciales: Determinación del tamaño del inóculo de las suspensiones microbianas para uso en pruebas farmacopeicas, por medio de gráficos de calibración. En el modo automatizado es útil en los análisis microbiológicos de antibióticos y en las pruebas para eficacia de la preservación microbiana.</p>		
<p>DETERMINACIÓN DE CRECIMIENTO MICROBIANO USANDO MEDIOS SELECTIVOS Y/O DIFERENCIALES.</p>		
<p>Bases de la medición. La capacidad para determinar la presencia de enzimas específicas utilizando sustratos cromogénicos adecuados ha sido utilizada para desarrollar un gran número de métodos para la identificación de microorganismos empleando técnicas manuales o automatizadas. La incorporación de tales sustratos en medios de cultivo de aislamiento primario selectivo o no selectivo puede eliminar la necesidad de un cultivo posterior y pruebas bioquímicas para la identificación de ciertos microorganismos. En estos medios de cultivo particulares los sustratos definidos se introducen en la formulación y son metabolizados por la enzima celular</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>específica de un hongo o una bacteria dada. Estos sustratos, los cuales están asociados a indicadores colorimétricos, se seleccionan de acuerdo con el diagnóstico de la actividad enzimática que se busca. También el caldo cromogénico puede ser usado para la detección temprana de contaminación microbiana (por ejemplo: llenado simulado o en métodos de detección basados en medios de cultivo líquidos).</p>		
<p>El uso de medios de cultivo innovadores presenta diversas ventajas principalmente porque mejoran la discriminación en una mezcla de microorganismos, facilitan el uso de los medios de cultivo y la interpretación de los resultados. Adicionalmente los tiempos de respuesta son más cortos ya que el crecimiento y la identificación de los microorganismos se obtienen de manera simultánea.</p>		
<p>Los aspectos críticos incluyen que la validación de los medios de cultivo debe ser tomada en cuenta cuidadosamente para asegurar una combinación de especificidad, selectividad y robustez. La calidad de la señal debe estar basada no solo en la selección cuidadosa de las enzimas o indicadores usados como base para la determinación (como que esas enzimas deben estar presentes en diferentes géneros de microorganismos), sino también en las características fisicoquímicas del medio de cultivo, por ejemplo, el pH.</p>		
<p>La determinación de microorganismos específicos y las pruebas cualitativas (como el llenado simulado y las pruebas de integridad del sellado de los envases) así como las cuantitativas (como el análisis del agua), son los usos potenciales de este método.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>MEDICIÓN DIRECTA CITOMETRÍA DE FASE SÓLIDA</p>		
<p>Estos métodos se basan en que los microorganismos se tiñen cuando son viables, por exposición a un conjugado inicialmente no fluorogénico, fluoróforo. Una membrana celular intacta es requerida para retener y acumular el fluoróforo dentro del citoplasma. Ya dentro de las células microbianas metabólicamente activas el conjugado es enzimáticamente cortado y el derivado fluorescente se libera intracelularmente. Los microorganismos se colectan en una membrana de filtración antes o después de teñirlos viables.</p>		
<p>Las superficies de las membranas retienen las células viables teñidas y entonces son escaneadas con un rayo láser y la excitación epifluorescente permite la determinación de los microorganismos fluorescentes, viables e individuales. Un software apropiado permite la diferenciación de microorganismos viables de partículas autofluorescentes. La alta sensibilidad y la rapidez del método permite la determinación de contaminantes microbianos dentro de unas cuantas horas. La cuenta celular total (viables y no viables) puede ser obtenida utilizando la tinción fluorescente.</p>		
<p>Los aspectos críticos incluyen que pueden determinarse microorganismos metabólicamente activos, difíciles de cultivar y no cultivables viables. Esto puede resultar en revalorar los límites microbianos previamente establecidos para las muestras en evaluación. Las esporas requieren la iniciación de la germinación para permitir la determinación. La determinación de células individuales puede lograrse, pero la identificación de los aislamientos</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>puede no ser posible. Pueden ocurrir falsos positivos debido a las partículas autofluorescentes que pueden dificultar la diferenciación entre microorganismos. Los signos de discriminación y la mejora pueden ser auxiliados por el crecimiento de micro-colonias.</p>		
<p>Este método rápido y sensible tiene un uso potencial en la evaluación de contaminación microbiana no específica.</p>		
<p>CITOMETRÍA DE FLUJO</p>		
<p>El método se basa en que los microorganismos marcados con un fluoróforo pueden ser determinados en suspensión cuando pasan a través de un citómetro de flujo. Los microorganismos viables pueden ser diferenciados de partículas no-viables con el uso de un fluoróforo indicador de viabilidad. El flujo de la suspensión celular se dispersa en un canal estrecho y se expone a un rayo láser el cual excita al fluoróforo. Los microorganismos y las partículas se cuentan en diferentes canales dependiendo de si contienen o no células fluorescentes.</p>		
<p>Los aspectos críticos incluyen el hecho de que la citometría de flujo puede ser aplicada en análisis microbiológicos de materiales filtrables y no-filtrables, y después del enriquecimiento en el caso de bajos niveles de contaminación. Este aspecto permite determinaciones cercanas a tiempo real pero no es tan sensible como la citometría en fase sólida. Para incrementar la sensibilidad para el uso en el campo farmacéutico, frecuentemente es necesario agregar un paso de incubación en medio de cultivo, en cuyo caso el método llega a ser una combinación de método basado en crecimiento y método de detección directa. El tamaño de las partículas y el número de ellas puede tener efecto significativo sobre la</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>interpretación, y las muestras pueden requerir una serie de diluciones. Con excepción de la filtrabilidad, aplican similares consideraciones con respecto al método de citometría en fase sólida. La formación de grumos de bacterias pueden ser un problema (por ejemplo: <i>Staphylococcus aureus</i>).</p>		
<p>En contraste con la citometría de fase sólida, este método tiene uso potencial para detectar y contabilizar contaminación microbiana en materiales que contienen material particulado y también si el material no puede ser filtrado. Si se requiere un paso de pre-incubación, el método llega a ser una determinación cualitativa.</p>		
<p>TÉCNICA DE FILTRACIÓN POR FLUORESCENCIA DIRECTA (TFDE) El método puede ser considerado como un precursor de la citometría de fase sólida. Los microorganismos, concentrados por filtración de la muestra, se tiñen con un colorante fluorescente (con naranja de acridina y en la actualidad más comúnmente con 4',6 diamidino-diamidino-2-fenilindol (DAPI)) que puede detectarse por iluminación epifluorescente. Las técnicas de tinción vital fluorescente, cuando se emplean en citometría de fase sólida, son compatibles con TFDE y con colorantes redox tales como 5-ciano-2,3-cloruro de ditolyltetrazolio (CTC) que pueden usarse para resaltar células respirando. Acoplado con el microscopio el método permite una rápida detección de microorganismos con una sensibilidad absoluta que depende del volumen del producto filtrado y del número de campos examinados. Los sistemas semi-automatizados auto-enfocables acoplados al análisis de imagen han servido para mejorar la utilidad de este</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>método. Una modificación del principio involucra muestrear usando una hoja adhesiva (que permita coleccionar las células de una superficie), y luego teñirla, seguida por la observación directa en un microscopio de epifluorescencia.</p>		
<p>Un aspecto crítico a considerar es que la distribución de los microorganismos sobre la membrana puede afectar la robustez del método. Otro es que la intensidad de la fluorescencia puede ser influenciada por el proceso de tinción y el estatus metabólico de los microorganismos. Debe tenerse en cuenta que la fluorescencia no necesariamente es un indicador de viabilidad. Un breve período de cultivo sobre la superficie antes de teñirla permite la formación de microcolonias; éstas microcolonias inmediatamente teñidas, pueden ser contadas fácilmente y demuestran de manera evidente su viabilidad.</p>		
<p>Los usos potenciales de este método están generalmente limitados a fluidos de baja viscosidad, a pesar de que una pre-dilución o una pre-filtración pueden ocasionalmente ser aplicadas a productos viscosos o particulados. El monitoreo de la contaminación microbiana ha sido exitosamente aplicado a preparados farmacéuticos acuosos.</p>		
<p>AUTOFLUORESCENCIA Los principios de este método se basan en que la presencia endógena de moléculas y metabolitos fluorescentes (por ejemplo: NADPH, flavoproteínas) dentro de los microorganismos permite la detección temprana y la cuenta de microcolonias o células individuales. Para mediciones directas, la</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>autofluorescencia inducida por láser de microorganismos es capturada por un detector, mientras que, para sistemas basados en crecimiento, se usa el sistema de imagen secuencial automatizado de superficies de membrana en medio de agar durante el período de incubación y la imagen recubierta permite diferenciar el crecimiento de las micro-colonias de las partículas fluorescentes. La luz emitida se cuantifica con una cámara de dispositivo acoplado a la cámara DCC. La determinación no destructiva permite la identificación de contaminación al final del período de incubación.</p>		
<p>Los aspectos críticos importantes son, por ejemplo, que, para medidas no basadas en crecimiento microbiano, los microorganismos viables, pero no cultivables, pueden ser detectados, pero esto representa una dificultad para distinguir entre microorganismos cultivables de microorganismos viables pero no cultivables y/o otras partículas.</p>		
<p>Entre los usos potenciales están el monitoreo ambiental, muestras en proceso filtrables, muestras de agua y producto liberado estériles y no estériles.</p>		
<p>ANÁLISIS DE COMPONENTES CELULARES TÉCNICAS FENOTÍPICAS MÉTODOS INMUNOLÓGICOS El principio de esta medición se encuentra en las reacciones antígeno-anticuerpo que pueden ser empleadas para determinantes celulares únicos de microorganismos específicos. Estas reacciones pueden estar unidas a los fenómenos de aglutinación o detección colorimétrica y fluorimétrico de punto final, los cuales ofrecen determinaciones cualitativas y cuantitativas. Los</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ensayos de inmuno-absorción unidos a enzimas (ELISA) ofrecen metodologías de fase sólida simples.</p>		
<p>Un aspecto crítico a considerar sobre estos métodos es que los métodos de detección inmunológicos dependen exclusivamente de componentes celulares específicos, pero no necesariamente indican la presencia de microorganismos viables.</p>		
<p>El uso potencial de estos métodos está en la determinación de microorganismos específicos.</p>		
<p>PERFILES DE ÁCIDOS GRASOS Los principios de esta determinación es que la composición los ácidos grasos de los microorganismos es estable, bien conservada y muestra un alto grado de homogeneidad dentro de los diferentes grupos taxonómicos. El microorganismo aislado se crece en un medio de cultivo estándar para su cosecha. Los ácidos grasos son saponificados, metilados y extraídos. La presencia y la cantidad del ácido graso resultante se mide usando cromatografía de gases de alta resolución. La composición del ácido graso de un aislamiento desconocido se compara con una base de datos de aislamientos conocidos para una posible identificación.</p>		
<p>Los aspectos críticos a considerar son que el uso de los perfiles de ácidos grasos para identificación microbiana requiere un alto grado de estandarización. Es crítico para la composición de ácidos grasos de células microbianas que los aislamientos hayan sido crecidos en medios de cultivo estandarizados y en condiciones estándar de incubación. Deben ser empleadas las condiciones estándar para la operación de la cromatografía de gases, con corridas frecuentes de estándares de calibración y</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
también es muy importante el uso de aislamientos bien conocidos.		
Los usos potenciales de estos métodos son para la identificación o la caracterización del medio ambiente y contaminación microbiana del producto (para trazas de contaminación y detección de microorganismos específicos).		
<p>ESPECTROSCOPIA INFRAROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)</p> <p>Los principios de la transformación de Fourier del espectro infrarrojo de microorganismos completos, da un patrón de reconocimiento estable, típico de grupos taxonómicos de microorganismos. Los análisis del patrón FTIR pueden ser llevados a cabo con instrumentos comercialmente disponibles. El microorganismo aislado se crece en un medio de cultivo estándar y luego se cosecha. La masa celular se transfiere a una celda y se registra el espectro infrarrojo. La transformada de Fourier se calcula y se compara con una base de datos de aislamientos conocidos para una posible identificación. Los aspectos críticos a considerar son que el uso de FTIR requiere un alto grado de estandarización. Es crítico para el patrón FTIR de aislamientos de células microbianas que los microorganismos hayan sido crecidos en medios de cultivo estandarizados y en condiciones estándar de incubación. Las células deben estar en el mismo estado del ciclo de crecimiento cuando se someten al análisis y se debe poner atención a esto en el proceso de validación.</p> <p>Los usos potenciales de estos métodos son para la identificación o la caracterización del medio ambiente y</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
contaminación microbiana del producto (para trazas de contaminación y determinación de microorganismos específicos).		
<p>ESPECTROMETRÍA DE MASAS</p> <p>Las bases de esta medición es que se pueden analizar partículas ionizadas liberadas por la exposición de aislamientos microbianos a rayos láser en vacío, proporcionando un espectro característico. Del mismo modo células microbianas intactas, cuando se someten a ionización intensa bajo des- absorción de ionización de laser asistida por matriz acoplada a un analizador de tiempo de vuelo (MALDI-TOF) y se aplica la espectrometría de masas, puede observarse un espectro característico que se compara con una base de datos de especies cargadas con perfiles conocidos</p> <p>Los aspectos críticos a considerar es que los aislamientos deben ser cultivados en condiciones estándar antes de su análisis.</p> <p>Los usos potenciales de estos métodos son para la identificación o la caracterización de contaminantes microbianos del medio ambiente y del producto (para el seguimiento de contaminación microbiana y determinación de microorganismos específicos).</p>		
<p>ENSAYOS BIOQUÍMICOS BASADOS EN REACCIONES FISIOLÓGICAS</p> <p>Los principios de estas mediciones son que los sistemas capaces de llevar a cabo reacciones bioquímicas basadas en reacciones fisiológicas pueden ser usadas para la identificación de microorganismos. En presencia de una colonia pura, los cinco pasos básicos para estos ensayos son: preparación, inoculación, incubación, lectura e</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>interpretación. Estos pasos son usualmente precedidos por una descripción de la morfología colonial, una prueba de diferenciación, por ejemplo: la tinción de Gram, una descripción de la morfología microscópica y/o otra prueba temprana de diferenciación bioquímica, por ejemplo: oxidasa, catalasa, coagulasa, con el fin de determinar el protocolo de prueba apropiado.</p> <p>La tinción de Gram es frecuentemente una base característica en la cual se basarán los análisis posteriores. Alternativamente al método de tinción tradicional se incluye la prueba de hidróxido de potasio (KOH), la prueba de la aminopeptidasa, el método de tinción fluorescente y el ensayo basado en lisado de amebocitos de limulus (LAL). Existen kits para los tres métodos. El método de tinción fluorescente requiere un microscopio de fluorescencia o un citómetro de fluidos. Las suspensiones de células microbianas se prueban usando kits de pruebas bioquímicas (asimilación o susceptibilidad) en placas o en tiras.</p> <p>Los microorganismos aerobios o anaerobios desarrollan reacciones características a sustancias características seleccionadas. Éstas son también conocidas como utilizadoras de fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo y azufre o ser inhibidas por concentraciones específicas de un agente antimicrobiano. Los resultados se miden en cambios (por ejemplo: reacciones turbidimétricas, cromogénicas o fluorogénicas) que se deben al crecimiento de los microorganismos bajo investigación. La comparación de los perfiles de la resistencia antimicrobianos y/o metabólicos se compara con una base de datos que permite la identificación de los cultivos.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Estos métodos pueden realizarse a mano, o con instrumentos semi o totalmente automatizados. Pueden realizarse pruebas complementarias en casos de una pobre discriminación. Los subcultivos pueden ayudar en casos de resultados indeterminados.</p>		
<p>Los aspectos críticos a considerar son que se requieren cultivo fresco fisiológicamente hablando. La realización de la prueba también depende de los parámetros fenotípicos seleccionados los cuales deben ser estables, significativos y en número suficiente. Los usos potenciales de estos métodos son para la identificación o la caracterización del medio ambiente y contaminación microbiana del producto (para trazas de contaminación y determinación de microorganismos específicos).</p>		
<p>TÉCNICAS GENOTÍPICAS La identificación y la detección de microorganismos, así como la caracterización de cepas pertenecientes a la misma especie pueden tener éxito por detección directa de secuencias de nucleótidos específicos que son únicos para una especie microbiana de un grupo de microbios, y son el blanco de las técnicas de detección genotípica (basadas en ADN o ARN). Estas técnicas de detección pueden ser separadas en tres amplias categorías: hibridación directa, amplificación de ácidos nucleicos y huella genética</p>		
<p>HIBRIDACIÓN Los principios de estas técnicas se basan en el uso sondas ADNespecíficas marcadas, que se unen con una región complementaria de ADN o ARN microbiano. El ADN blanco o la sonda específica son usualmente</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>marcados con moléculas cromogénicas, fluorescentes o radioactivas para proporcionar una señal de hibridación. Se tiene como ejemplos la hibridación in situ fluorescente (<i>FISH</i> por sus siglas en inglés) y técnicas basadas en tecnología de microarreglos (chips de ADN o ARN). Los aspectos críticos de la hibridación es que generalmente se requiere una gran cantidad del ADN blanco para el análisis, lo cual puede resultar en una pobre sensibilidad de detección. Por otro lado, la disponibilidad de sondas disponibles es limitada. Usos potenciales: Debido a la alta especificidad de la reacción de hibridación basada en secuencias, estos métodos pueden ser usados para la detección y la identificación de microorganismos.</p>		
<p>TÉCNICAS DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS</p> <p>Principios generales de la medición: Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT por sus siglas en inglés) cuentan con la repetición del proceso de polimerización del ADN llevando al incremento exponencial de un ácido nucleico o de un fragmento de él. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método más ampliamente usado para la amplificación de un ADN blanco. En este proceso cíclico, un fragmento específico de ADN se copia por medio de una enzima ADN polimerasa termoestable a partir de primers, previamente diseñados para flanquear la secuencia blanco y unirse con ella, en presencia de nucleótidos. , Después del PCR, el ácido nucleico blanco amplificado puede ser analizado usando varios métodos de análisis post-amplificación: el análisis del tamaño del fragmento en</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>gel de electroforesis, la secuenciación del ADN o la detección específica por hibridación con un marcador fluorescente. El PCR en tiempo real elimina la necesidad de un proceso posterior de amplificación y ofrece la ventaja adicional de que se minimiza la probabilidad de contaminación cruzada. Una ventaja importante del PCR en tiempo real es la capacidad de cuantificar la cantidad inicial de la secuencia del ADN blanco en la muestra original en contraste con las técnicas convencionales de PCR, las cuales están basadas en detección de punto final. Puesto que la cantidad de producto detectado por PCR al principio de la fase exponencial de la reacción de amplificación está relacionada con la cantidad inicial que empezó el ADN blanco, técnicas han sido desarrolladas para medir la fase exponencial de la reacción. Los sistemas automatizados de PCR en tiempo real están disponibles en el mercado.</p>		
<p>Para identificación microbiana pueden emplearse primero o sondas especie-específicas. El ARN también puede ser amplificado por cualquiera de los dos métodos y el PCR en tiempo real después de la transcripción a un ADN complementario (cADN) usando una enzima transcriptasa reversa. Esta técnica se conoce como PCR transcriptasa reversa (RT-PCR) y tiene la capacidad de detectar e identificar ARN de virus y de organismos viables. Alternativamente, las técnicas de amplificación basadas en ARN específico, por ejemplo: la amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos o la amplificación mediada por transcripción están disponibles. Ambas técnicas producen amplificaciones de ARN en contraste</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>con PCR el cual solamente produce amplificaciones de ADN aún, cuando empiecen con un ARN blanco.</p>		
<p>Tipos de blanco a identificar Considerando el tipo de NAT usado, la especificidad de la prueba está determinada por la secuencia del ADN blanco en evaluación. Para propósitos de identificación o caracterización los genes ribosomales del ARN 16S o 23S pueden ser usados como blancos. El gen 16S es un gen conservado a través de la evolución y está presente en todas las bacterias; además de que está presente en un amplio grupo de blancos como un marcador universal para la detección de bacterias. El gen 23S del ARN ribosomal (rARN) no se usa ampliamente como un solo blanco, pero los espaciadores regionales intergenes transcritas del 16S-23S pueden ser empleadas para distinguir entre ciertas especies relacionadas muy cercanas y/o para identificar subtipos. Por otro lado, existe un amplio grupo de blancos que incluyen los genes groEL y el tuf. Adicionalmente los blancos de amplio rango, las secuencias específicas de especie pueden ser usadas como blanco para la identificación de microorganismos.</p>		
<p>Dependiendo de la especie, los antígenos de superficie específicos, los factores de virulencia o los genes que codifican para las toxinas pueden ser amplificados para determinar e identificar microorganismos.</p>		
<p>Los aspectos generales críticos a considerar son los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> El blanco y los primeros seleccionados deben ser específicos para un microorganismo particular o un grupo de ellos. 		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<ul style="list-style-type: none"> • La sensibilidad del método depende mucho de la eficiencia del protocolo de lisis y que tan exitosamente los ADN blanco pueden ser purificados y concentrados en la muestra. • La presencia de inhibidores del proceso enzimático resulta en reacciones falso negativas. • El procedimiento está expuesto a contaminación cruzada de una base de ADN previos, resultando en falsos positivos. 		
<p>Dependiendo del objetivo, la selección debe hacerse entre la amplificación de ADN o ARN blanco, como esta selección afecta la correlación con la viabilidad. Los ADN blanco son generalmente más ampliamente usados para propósitos de identificación, pero el uso de ADN como un marcador tiene la desventaja de que también detecta microorganismos muertos. Como el mARN se degrada muy rápidamente en células muertas, este se considera un marcador de confianza. Por sus características el mARN es el blanco obligado para la identificación de ARN de virus.</p>		
<p>Los aspectos críticos de la detección semicuantitativa por PCR en tiempo real incluyen la generación de estándares apropiados y el uso de procedimientos validados.</p>		
<p>Los aspectos críticos de RT-PCR incluyen la consideración de que el ARN es menos estable comparado con el ADN, por lo que requiere más cuidado durante el proceso. Dependiendo de la calidad del ARN del aislamiento, la eficiencia de la síntesis del cADN puede variar. El procedimiento RT-PCR puede usarse para detectar específicamente ARN si la contaminación con ADN de las muestras de ARN es baja.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Los aspectos críticos del uso de los genes 16S o 23S del rARN como blanco para la identificación de la especie incluyen la selección de un método de valor para la identificación de bacterias probado con una apropiada base de datos de marcadores universales. El poder discriminatorio del método depende de la variabilidad y la longitud de los genes 16S ribosomales dentro de ciertas especies. Tiene una importancia crítica considerar el uso de ensayos de blancos de las regiones de espacios intergenomas de la fracción 16S del rARN y la elección de primers o de prueba específicos de especie apropiados, los cuales se deben al potencial del polimorfismo de tales regiones.</p>		
<p>El uso potencial del NAT se debe a la alta sensibilidad y especificidad de las técnicas de amplificación; ellas son útiles tanto para la determinación como para la identificación de microorganismos. El uso de PCR en tiempo real es necesario para el análisis cuantitativo y para el semicuantitativo de los blancos. Junto con las determinaciones cuantitativas, las técnicas de PCR en tiempo real permiten simultáneamente la determinación de múltiples blancos en una sola muestra tantos como primers apropiados y de prueba que permitan el multiplegamiento se hayan empleado. La secuenciación de diferentes genes (por ejemplo: 16S rADN, 23S rADN, rpoB, Gyr) es la mejor aplicada a la identificación de microorganismos.</p>		
<p>HUELLA GENÉTICA Principios de la medición: La huella genética es una técnica que permite la identificación de una cepa con base su perfil de ADN (o ARN para ARN de virus). El perfil</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>individual de ADN puede ser diferente debido a la diversidad genética entre las cepas de la misma especie y el objetivo de estos métodos es discriminar entre cepas. La técnica clásica de huella genética caracteriza microorganismos usando fragmentos de restricción de ADN cromosomal de genomas de bacterias y de hongos.</p>		
<p>Las diferentes cepas de la misma especie pueden exhibir diferencias en sus patrones asociados a un fragmento de restricción de longitud polimórfica (<i>RFLPs</i> por sus siglas en inglés). Al cortar el ADN cromosomal con enzimas de restricción se generan demasiados fragmentos en banda para ser comparados eficiente y exactamente, varias modificaciones del método basado en RFLP se han desarrollado. Ejemplos de la clase de metodología usada son tipificación ribosomal, electroforesis en gel en un campo de pulsos [<i>Pulse Field Gel Electrophoresis, PFGE</i> por sus siglas en inglés] y el polimorfismo a lo largo del fragmento amplificado (<i>Amplified Fragment Length Polymorphism, AFL</i> por sus siglas en inglés). Otros métodos de huella digital usan PCR para amplificar selectivamente subgrupos de genes definidos de fragmentos de restricción de ADN del genoma completo, por ejemplo: amplificación al azar de ADN polimórfico (<i>Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD</i> por sus siglas en inglés) y un número variable de pares de repeticiones (<i>Variable Number Tandem Repeats, VNTR</i> por sus siglas en inglés).</p>		
<p>Los aspectos críticos a considerar son que todas las técnicas de huella digital requieren que los microorganismos estén presentes como un cultivo puro. Dependiendo del método, puede ser necesario un paso</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>preliminar de cultivo enriquecido, si se requiere una cantidad definida o una preparación específica de ADN para la prueba, por ejemplo: <i>AFLP</i> y <i>PFGE</i>. El poder de discriminación, la reproducibilidad, la experiencia necesaria y la carga de trabajo varían entre las diferentes técnicas. Lo más crítico de la <i>RFLP</i> convencional es la complejidad de los patrones de bandeo. El poder de discriminación de la tipificación ribosomal basada en patrones de los genes del ARNribosomal, es menor que la del <i>PFGE</i> (basada en patrones del ADN del genoma completo) o algunos métodos basados en PCR, pero tienen la ventaja de que pueden contar con un sistema altamente automatizado.</p>		
<p>Aunque <i>PFGE</i> es uno de los métodos de huella digital más altamente discriminatorios también es el que consume más tiempo y es técnicamente demandante en el laboratorio ya que no está automatizado. También requiere el uso de protocolos de estandarización. <i>AFLP</i> tiene alta reproducibilidad, pero requiere experiencia técnica y la interpretación de resultados puede necesitar análisis computarizados automatizados. La reproducibilidad de <i>RAPD</i> puede ser pobre, y por eso es el que se realiza de modo estandarizado.</p>		
<p>Los usos potenciales son principalmente para discriminación de cepas (caracterización por debajo de especie).</p>		
<p>También son una herramienta poderosa en la investigación y la trazabilidad de fuentes y diseminación de contaminación microbiana.</p>		
<p>VALIDACIÓN</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>La validación, puede definirse generalmente como un método para establecer evidencia documentada de que un proceso logra de manera consistente su objetivo previsto. Por lo tanto, para validar un método microbiológico alternativo, es esencial comprender y definir qué se pretende lograr con el método.</p>		
<p>Por lo general, los métodos microbiológicos farmacéuticos usan características específicas de microorganismos como indicadores de los principios de detección para determinar la calidad microbiológica. La información generalmente buscada es la presencia / ausencia, el número, los microorganismos viables y / o la identificación de microorganismos en un producto o el monitoreo ambiental. Cualquier método proporciona una medida indirecta y condicional de la calidad microbiológica. Por ejemplo, el número total y la viabilidad de los microorganismos pueden indicarse por el número de colonias que aparecen bajo ciertas condiciones de preparación de la muestra, cultivo e incubación; la reproducción en microbiología se toma, por tanto, como el indicador general de viabilidad. Sin embargo, hay otros parámetros que se pueden usar como una medida de viabilidad, como el nivel de ATP o la acumulación o el metabolismo de los sustratos en las células vivas. Los resultados de diferentes métodos de indicación de viabilidad no siempre son idénticos; los microorganismos pueden no ser capaces de reproducirse en un medio de cultivo, pero aún pueden acumularse y metabolizar un sustrato. A la inversa, los microorganismos pueden ser incapaces, en un estado de daño, de acumular una</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
sustancia, pero aún, así pueden recuperarse y reproducirse.		
Consideraciones similares surgen con la multiplicidad de métodos utilizados para la identificación de microorganismos. Por lo tanto, si bien la caracterización del patrón de actividad metabólica se utiliza con frecuencia para la identificación de especies, también existen alternativas. Nuevamente, los resultados obtenidos pueden no ser totalmente consistentes para los diferentes métodos de identificación, ya que una respuesta puede ser apropiada para la construcción de un árbol de correlación filogenética correcto, mientras que otra puede ser más útil en el contexto de patogenicidad u otra adecuada de los microorganismos diferenciados.		
VALIDACIÓN DEL PROCESO		
Se deben contemplar dos niveles de validación para la aplicación de métodos microbiológicos alternativos, conocidas como: validación primaria y validación para el uso previsto. El proveedor de la tecnología alternativa generalmente realiza la validación primaria de un método, mientras que la validación para el uso previsto, que es una verificación de la adecuación del método, debe considerarse como la responsabilidad del usuario.		
Cuando un equipo específico es crítico para la aplicación de un método, el equipo, incluido el hardware y el software de la computadora, debe estar totalmente calificado. Para caracterizar un método microbiológico específico, el proveedor debe describir claramente el principio de detección. A través de la validación primaria, el método debe estar completamente detallado con respecto a las condiciones requeridas para la aplicación,		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>los materiales y equipos necesarios y la señal esperada. El usuario revisará críticamente la información disponible.</p>		
ANÁLISIS DE RIESGO-BENEFICIO		
<p>Para la validación de métodos microbiológicos alternativos específicos, es fundamental que se describa con precisión el objetivo del método, ya que esto define el tipo y la profundidad de la información necesaria. La información obtenida y las limitaciones del método farmacopeico y el método alternativo deben considerarse y compararse en un análisis de riesgo-beneficio.</p>		
<p>El nivel de riesgo al adoptar un método alternativo varía según la tecnología considerada, la metodología que reemplaza, la naturaleza de las mediciones tomadas (cualitativas, cuantitativas o de identificación), el atributo particular del producto o proceso que se evalúa, la ubicación de la medición en el proceso de fabricación en cadena y otros factores diversos.</p>		
<p>Se pueden utilizar herramientas de análisis de riesgos para determinar qué método alternativo se va a implementar, para justificar su implementación o para comprender mejor el impacto de la implementación en la producción y / o la calidad del producto. Se puede justificar el uso de un método alternativo si la información obtenida proporciona una medida científicamente sólida de la calidad microbiológica, y si las limitaciones del método no son más severas que las del método farmacopeico.</p>		
VALIDACION PRIMARIA		
<p>El proveedor, utilizando un panel de microorganismos de prueba apropiados para el uso previsto, debe caracterizar el principio de detección. Dependiendo del tipo de método</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*											
<p>alternativo, se seleccionarán los criterios de validación relevantes de los que se detallan a continuación:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prerrequisitos del tratamiento de muestra o microorganismos; • tipo de respuesta; • especificidad; • límite de detección; límite de cuantificación; • rango; • linealidad; • exactitud y precisión; • robustez del método en un sistema modelo. 													
<p>La validación para el uso previsto debe abarcar todo el proceso, desde la decisión de cambiar cualquier aspecto de un método de pruebas microbiológicas hasta el uso rutinario. Debe constar de las siguientes fases:</p> <ul style="list-style-type: none"> • especificación de requisitos del usuario; • calificación de diseño; • calificación de instalación; • calificación de operación; • calificación de desempeño. 													
<p>El proveedor y el usuario tienen diferentes tareas que realizar con respecto a la validación e implementación de un método alternativo. Estas tareas se resumen en la siguiente tabla:</p>													
<p>Tabla 1</p>													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th data-bbox="113 1242 1402 1339" rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: bottom;">Actividad</th> <th colspan="2" data-bbox="1402 1242 1990 1291" style="text-align: center;">Realizado por:</th> </tr> <tr> <th data-bbox="1402 1291 1564 1339" style="text-align: center;">Proveedor</th> <th data-bbox="1564 1291 1990 1339" style="text-align: center;">Usuario</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="113 1339 1402 1388">Validación Primaria</td> <td data-bbox="1402 1339 1564 1388" style="text-align: center;">+</td> <td data-bbox="1564 1339 1990 1388" style="text-align: center;">-(1)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="113 1388 1402 1432">ERU (instrumentos, aplicación)</td> <td data-bbox="1402 1388 1564 1432" style="text-align: center;">-</td> <td data-bbox="1564 1388 1990 1432" style="text-align: center;">+</td> </tr> </tbody> </table>			Actividad	Realizado por:		Proveedor	Usuario	Validación Primaria	+	-(1)	ERU (instrumentos, aplicación)	-	+
Actividad	Realizado por:												
	Proveedor	Usuario											
Validación Primaria	+	-(1)											
ERU (instrumentos, aplicación)	-	+											

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
Descripción de la Técnica		+ -(2)
Análisis Riesgo - Beneficio		-(3) +
Calificación de Diseño (CD)		- +
Calificación de Instalación (CI)		-(4) +
Calificación de Operación (CO)		-(4) +
Calificación de Desempeño (CP)		
Verificación de los datos de validación primaria proporcionados por el proveedor		- +
Verificación para el uso previsto		- +
Prueba de adecuabilidad		- +
<p>(1) El usuario realiza una validación primaria si emplea el método alternativo para un uso diferente al definido por el proveedor.</p> <p>(2) El usuario deberá revisar críticamente la información provista por el proveedor.</p> <p>(3) Como parte de la comercialización, el proveedor puede enumerar las ventajas del método alternativo sobre los métodos farmacopeicos.</p> <p>(4) Calificación de diseño / operación que deben realizarse junto con el proveedor.</p>		
<p>Especificación de requisitos del usuario</p> <p>Las especificaciones de requisitos del usuario describen las funciones que el método debe ser capaz de realizar y lo hará desde la base del proceso de selección del método. Es un documento esencial, ya que las pruebas de aceptación se basarán en los requisitos detallados en el mismo. Es importante considerar las capacidades de gestión de datos en esta etapa, particularmente dentro de un contexto regulatorio. Las especificaciones de requisitos del usuario deben abordar al menos los siguientes elementos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aplicación del instrumento; • Tipo de análisis a realizar (cuantitativo, semi-cuantitativo, cualitativo o de identificación); 		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<ul style="list-style-type: none"> • Límite de detección o límite de cuantificación (sensibilidad); • El límite de detección puede estar vinculado al tiempo de detección; • La sensibilidad requerida, que dependerá de la especificación actual, el régimen de dilución y el tamaño de la muestra de prueba para el método de prueba existente bajo reemplazo; • Especificidad; • La capacidad del método de prueba alternativo para detectar selectivamente los microorganismos; Esto debe basarse en datos históricos generados a partir del método farmacopeico y complementarse con información del proveedor del método alternativo; • La capacidad de detectar solo los microorganismos viables requeridos; • Para los métodos de identificación, alcance de la cobertura de la base de datos con respecto al rango de microorganismos de interés; • Número y tipo de muestra; • La naturaleza de las muestras a analizar y el rendimiento de fabricación por lote o turno de trabajo; • Tiempo de detección o tiempo de resultados; • El tiempo de detección o tiempo de resultados es un atributo importante para métodos microbiológicos alternativos, para propósitos de monitoreo, un tiempo de detección relativamente corto (unas pocas horas) permite tomar acciones correctivas en una etapa temprana: para 		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>propósitos de control de calidad, un tiempo de detección corto puede ser menos crítico;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Capacidades de gestión de datos; • Es posible que la nueva instrumentación necesite tener una gestión de información de laboratorio adecuada para el correcto funcionamiento del método. La mayoría de los sistemas de métodos alternativos se basan en equipos comerciales listos para usar. La calificación de diseño lo realiza de manera más adecuada, por lo tanto, por el desarrollador / fabricante del instrumento. No obstante, el usuario deberá verificar que el equipo cumple con las especificaciones establecidas en la Especificación de Requisitos del Usuario para la aplicación prevista. 		
<p>Calificación de Diseño</p> <p>La calificación de diseño proporciona evidencia documentada de que el diseño de cualquier equipo asociado es adecuado para el correcto funcionamiento del método. La mayoría de los sistemas de métodos alternativos se basan en equipos comerciales listos para usar. La calificación de diseño es la más adecuada, si es realizada por el fabricante del equipo. No obstante, el usuario deberá verificar que el equipo cumple con las especificaciones establecidas en las especificaciones de requisitos del usuario para la aplicación prevista.</p>		
<p>Calificación de Instalación</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>La Calificación de Instalación proporciona evidencia documentada de que el equipo ha sido instalado de acuerdo con sus especificaciones.</p>		
<p>Calificación de Operación</p> <p>La Calificación de Operación proporciona evidencia documentada de que el equipo instalado opera dentro de límites predeterminados cuando se usa de acuerdo con sus procedimientos operativos.</p>		
<p>Calificación de Desempeño</p> <p>La Calificación de Desempeño proporciona evidencia documentada de que el método con el equipo instalado y operando de acuerdo con los procedimientos operativos, funciona de manera consistente de acuerdo con criterios predeterminados y, por lo tanto, produce resultados confiables. Esto se hace típicamente con un panel de microorganismos (cepas de pruebas farmacopeicas, aislamientos internos o microorganismos estresados / de crecimiento lento). Esto garantiza que las condiciones empleadas por el laboratorio del usuario permitan satisfacer los criterios descritos por el proveedor del método en el sistema modelo utilizado para la validación primaria.</p>		
<p>Verificación de los Datos de Validación Primaria Proporcionados por el Proveedor</p> <p>El método se verifica utilizando el panel de microorganismos usados en los métodos farmacopeicos. El método alternativo se debe llevar a cabo de acuerdo con el procedimiento especificado por el proveedor, las</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
muestras se analizan bajo la responsabilidad del usuario, y se debe demostrar que proporciona resultados comparables, tal como se indica en el sistema modelo utilizado por el proveedor.		
<p>Verificación para el Uso Previsto (pruebas de esterilidad, recuento aeróbico total / recuento de levaduras y hongos, etc.)</p> <p>Deben abordarse los siguientes puntos, cuando corresponda:</p> <ul style="list-style-type: none"> • compatibilidad de la respuesta con la preparación de la muestra que el usuario realiza normalmente para la prueba del producto (prueba de adecuabilidad del método); • límite y rango de detección del método con respecto al tamaño de la muestra y la disponibilidad de la muestra; • especificidad de la respuesta con respecto a la influencia de los ingredientes del producto; • linealidad de la respuesta con respecto a los tipos de muestras a analizar; • exactitud y precisión de la respuesta con respecto a los tipos de muestras a analizar; 		
Los criterios de aceptación del método se deben definir como una función de la aplicación y los datos de validación.		
<p>TIPOS DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS</p> <p>La validación de un método microbiológico es el proceso mediante el cual el usuario experimentalmente define como características de rendimiento del método cumplen con los requisitos de la aplicación prevista. Los métodos</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*																																												
<p>microbiológicos se clasifican en tres: métodos cualitativos, cuantitativa y de identificación, por lo que se requieren de tres conjuntos separados de criterios de validación. Estos criterios se describen a continuación y se resumen en la <i>tabla 2</i>.</p>																																														
<p><i>Tabla 2. Criterios de validación para pruebas cualitativas, cuantitativas y de identificación.</i></p> <table border="1" data-bbox="113 581 821 1263"> <thead> <tr> <th>Criterio</th> <th>Pruebas Cualitativas</th> <th>Pruebas Cuantitativas</th> <th>Pruebas de Identificación</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Exactitud</td> <td>+(1)</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Precisión</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Especificidad</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Límite de Detección</td> <td>+</td> <td>-(2)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Límite de Cuantificación</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Linealidad</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Intervalo</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Robustez</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Prueba de Adecuabilidad</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Pruebas de Equivalencia</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>(1) Se puede realizar una prueba de exactitud del método alternativo con respecto al método farmacopeico en lugar de la validación de la prueba de límite de detección. (2) Puede ser necesario en algunos casos.</p>	Criterio	Pruebas Cualitativas	Pruebas Cuantitativas	Pruebas de Identificación	Exactitud	+(1)	+	+	Precisión	-	+	-	Especificidad	+	+	+	Límite de Detección	+	-(2)	-	Límite de Cuantificación	-	+	-	Linealidad	-	+	-	Intervalo	-	+	-	Robustez	+	+	+	Prueba de Adecuabilidad	+	+	-	Pruebas de Equivalencia	+	+	-		
Criterio	Pruebas Cualitativas	Pruebas Cuantitativas	Pruebas de Identificación																																											
Exactitud	+(1)	+	+																																											
Precisión	-	+	-																																											
Especificidad	+	+	+																																											
Límite de Detección	+	-(2)	-																																											
Límite de Cuantificación	-	+	-																																											
Linealidad	-	+	-																																											
Intervalo	-	+	-																																											
Robustez	+	+	+																																											
Prueba de Adecuabilidad	+	+	-																																											
Pruebas de Equivalencia	+	+	-																																											

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
VALIDACIÓN DE PRUEBAS CUALITATIVAS ALTERNATIVAS PARA LA PRESENCIA O AUSENCIA DE MICROORGANISMOS		
Especificidad		
<p>La especificidad de un método alternativo es su capacidad para detectar solo los microorganismos requeridos, no genera resultados falsos positivos. Esto se puede demostrar usando un panel de microorganismos. Cuando sea relevante para el propósito de la prueba, se usan mezclas de microorganismos durante la validación. Para los métodos cualitativos que dependen del crecimiento para demostrar la presencia o ausencia de microorganismos, la especificidad se aborda adecuadamente demostrando las propiedades de promoción del crecimiento de los medios. Para aquellos métodos que no requieren crecimiento como indicador de presencia microbiana, la especificidad asegura que la materia extraña en el sistema de prueba no interfiera con la prueba.</p>		
Límite de Detección		
<p>El límite de detección de un método cualitativo alternativo es el número más bajo de microorganismos en una muestra que se puede detectar en las condiciones analíticas establecidas. Una prueba de límite microbiológico determina la presencia o ausencia de microorganismos en una cantidad definida de la muestra bajo prueba. Debido a la naturaleza de las pruebas microbiológicas, el límite de detección refleja el número de microorganismos presentes en la muestra original antes de cualquier paso de dilución o incubación. El límite de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
detección del método alternativo no debe ser un número mayor que el del método farmacopeico.		
Es esencial que el límite de detección se determine utilizando un número suficiente de réplicas y varias determinaciones independientes.		
<p>Robustez</p> <p>La robustez de un método cualitativo alternativo es una medida de su capacidad para no verse afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas para determinar los parámetros del método (período de incubación, intervalo de temperatura de incubación). La robustez es un parámetro de validación más adecuado para el proveedor del método. Sin embargo, si el usuario modifica parámetros críticos, se debe evaluar cualquier efecto sobre esta robustez. La robustez de un método cualitativo es evaluada por su capacidad para detectar los microorganismos de prueba después de variaciones deliberadas de los parámetros de los métodos.</p>		
<p>Prueba de Adecuabilidad</p> <p>El método alternativo se debe aplicar de acuerdo con el procedimiento especificado y con las muestras a analizar bajo la responsabilidad del usuario. Se debe demostrar que la muestra de prueba no interfiere con la capacidad de detección del sistema o la recuperación microbiana. Los puntos específicos a tratar son:</p> <ul style="list-style-type: none"> la capacidad de la prueba para detectar microorganismos en presencia de la matriz de la muestra; 		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<ul style="list-style-type: none"> verificar si la matriz de la muestra interfiere con el sistema alternativo o inhibición de reacciones químicas) 		
<p>Los criterios de aceptación del método en el uso rutinario se deben definir como una función de la aplicación y los datos de validación.</p>		
<p>Pruebas de Equivalencia</p> <p>Las pruebas de equivalencia de métodos cualitativos alternativos y farmacopeicos se pueden realizar directamente en los parámetros de validación. Este enfoque requiere un experimento de comparación adecuado a bajos niveles de inoculación (menos de 5 UFC) con un número suficiente de réplicas para las cepas relevantes de los microorganismos de prueba. Alternativamente, y en algunos casos adicionalmente, la prueba de equivalencia se puede llevar a cabo mediante la prueba paralela de un número predefinido de muestras o por un período de tiempo predefinido. Esta prueba paralela se puede justificar en función de una evaluación de riesgos. El método alternativo debe permitir una decisión inequívoca sobre si cumple con los estándares de las monografías como si se utilizara el método oficial.</p>		
<p>VALIDACIÓN DE PRUEBAS CUANTITATIVAS ALTERNATIVAS PARA LA ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS.</p>		
<p>Exactitud</p> <p>La precisión exactitud del método cuantitativo alternativo es la cercanía de los resultados de la prueba obtenidos por el método alternativo a los obtenidos por el método</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>farmacopeico. La exactitud de debe demostrar en todo el intervalo práctico de la prueba. Por lo general, se expresa como la recuperación de porcentajes de los microorganismos por el método alternativo en comparación con la recuperación de porcentajes usando el método farmacopeico, teniendo en cuenta el análisis estadístico.</p>		
<p>La exactitud se puede demostrar preparando y probando una suspensión de microorganismos en el extremo superior del rango de prueba y diluyendo en serie hasta el extremo inferior del rango de prueba. Por ejemplo, si el método alternativo está destinado a reemplazar el método de recuento de placas farmacopeicas por recuento viable, entonces un rango razonable podría ser de 10^0 a 10^6 UFC / mL Si, en cambio, es una reposición para el método NMP, se puede usar un intervalo mucho más estrecho. Se debe analizar al menos una suspensión para cada dilución de microorganismos de prueba.</p>		
<p>Se debe demostrar que el método alternativo recupera al menos tantos microorganismos como el método farmacopeico utilizando un análisis estadístico apropiado.</p>		
<p>El protocolo usado para verificar la linealidad del método también se puede usar para verificar la exactitud. Las suspensiones de microorganismos preparadas para el método alternativo se cuentan al mismo tiempo usando el método farmacopeico.</p>		
<p>Precisión</p> <p>La precisión de un método cuantitativo alternativo es el grado de acuerdo entre los resultados de las pruebas individuales cuando el procedimiento se aplica</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>repetidamente a muestras múltiples de suspensiones homogéneas de microorganismos en las condiciones prescritas. La precisión se divide en repetibilidad y precisión intermedia en condiciones de funcionamiento normales o de rutina. La repetibilidad (también conocida como variabilidad dentro del ciclo) se refiere al uso del método microbiológico con la misma muestra (replicar) en el mismo laboratorio durante un corto período de tiempo con el mismo analista y el mismo equipo. Da la variabilidad mínima en el método. La precisión intermedia (incluye la variabilidad de ejecución a ejecución y dentro de la variabilidad de ejecución) se refiere al uso del método microbiológico aplicado a diferentes preparaciones de muestra del producto bajo prueba en el mismo laboratorio con diferentes analistas, equipos y / o días diferentes. Da la máxima variabilidad del método. La precisión de un método microbiológico generalmente se expresa como la desviación estándar o la concepción relativa estándar (coeficiente de variación). Se analiza al menos una suspensión en el medio del rango de prueba. Se elige el número de réplicas para que la prueba completa se pueda llevar a cabo durante la misma sesión de trabajo, en las mismas condiciones de funcionamiento y sin ningún cambio en la suspensión de microorganismos. Para precisión intermedia. otras sesiones de trabajo se llevan a cabo bajo condiciones de máxima variabilidad (diferentes reactivos, operadores y / o días, etc.). Se calcula la variación en los resultados observados en cada una de las sesiones de trabajo. Si las variaciones son homogéneas, se puede calcular la variación de la repetibilidad. La varianza del inter grupo de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>los resultados también se calcula y la varianza resultante de la precisión intermedia se da como la suma de la varianza de la repetibilidad y la varianza del inter grupo. Luego se calcula el coeficiente de variación. El método alternativo debe demostrar una precisión comparable a la del método farmacopeico.</p>		
<p>Especificidad</p> <p>La especificidad del método cuantitativo alternativo es su capacidad para cuantificar solo los microorganismos requeridos, no genera resultados falsos positivos. Esto puede demostrarse utilizando un panel de microorganismos apropiados. Cuando sea relevante para el propósito de la prueba, se usan mezclas de microorganismos durante la validación. Para aquellos métodos que no requieren crecimiento como un indicador de presencia microbiana, la especificidad afirma que la materia extraña en el sistema de prueba no interfiere con la prueba.</p>		
<p>Límite de Cuantificación</p> <p>El límite cuantitativo de un método cuantitativo alternativo es el número más bajo de UFC en una muestra que puede determinarse cuantitativamente con precisión y exactitud adecuadas. Es esencial que el límite de cuantificación se determine a partir de varias réplicas. Los resultados de los estudios de linealidad y exactitud también se pueden utilizar en este caso. La concentración más baja en el rango lineal se considera el límite de cuantificación del método. El límite de cuantificación del</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>método alternativo no debe ser mayor que el del método farmacopeico.</p>		
<p>Linealidad</p> <p>La linealidad de un método cuantitativo alternativo es su capacidad (dentro de un rango dado) para producir resultados que sean proporcionales a la concentración de microorganismos presentes en la muestra. La linealidad debe determinarse en un rango razonable (10^0 a 10^6 UFC / mL) para que corresponda con el propósito del método alternativo. Un enfoque sería seleccionar diferentes concentraciones de cada microorganismo de prueba y probar varias réplicas. Para cada concentración, se elige un número apropiado de repeticiones para confirmar la linealidad. Se elige el número de réplicas para que la prueba completa se pueda llevar a cabo durante la misma sesión de trabajo. Después de verificar la homogeneidad de las variaciones de los resultados obtenidos para cada concentración, se calcula la regresión lineal. Linealmente se demuestra si la pendiente estimada es significativa y si la prueba de desviación lineal no es significativa.</p>		
<p>Rango</p> <p>El rango de un método cuantitativo alternativo es el intervalo entre los niveles superior e inferior de microorganismos, determinado a partir de los estudios relacionados de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método especificado; depende de la aplicación prevista.</p>		
<p>Robustez</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>La robustez de un método cuantitativo alternativo es una medida de su capacidad para no verse afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método (período de incubación o rango de temperatura de incubación). La robustez es un parámetro de validación más adecuado para la determinación por parte del proveedor del método. Sin embargo, si el usuario modifica parámetros críticos, se deben evaluar los efectos sobre la robustez. La robustez de un método cuantitativo alternativo se evalúa por su capacidad para enumerar con precisión los microorganismos de prueba después de variaciones deliberadas a los parámetros del método.</p>		
<p>Prueba de Adecuabilidad</p> <p>El método alternativo debe aplicarse de acuerdo con el procedimiento especificado y con las muestras a analizar bajo la responsabilidad del usuario. Debe demostrarse que la muestra de prueba no interfiere con la capacidad de detección del sistema o la recuperación microbiana. Los puntos específicos a tratar son: la capacidad de la prueba para detectar microorganismos en presencia de la matriz de muestra; verificar si la matriz de la muestra interfiere con el sistema alternativo o inhibición de reacciones químicas.</p>		
<p>Los criterios de aceptación del método en el uso rutinario deberán definirse como una función de la aplicación y los datos de validación.</p>		
<p>Pruebas de Equivalencia</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Las pruebas de equivalencia de los dos métodos cuantitativos alternativo y farmacopeico se pueden realizar directamente en los parámetros de validación. Este enfoque requiere un experimento de comparación adecuado a bajos niveles de inoculación (menos de 5 UFC) con un número suficiente de réplicas para las cepas relevantes de los microorganismos de prueba. Alternativamente, y en algunos casos adicionalmente, la prueba de equivalencia puede llevarse a cabo mediante la prueba paralela de un número predefinido de muestras o por un período de tiempo predefinido. Esta prueba paralela puede justificarse en función de una evaluación de riesgos.</p>		
<p>Si los resultados del método alternativo pueden expresarse como el número de UFC por peso o por volumen, el análisis estadístico de los resultados demostrará que los resultados del método alternativo permiten una decisión inequívoca de que cumple con los estándares de las monografías como en el método oficial.</p>		
<p>Si los resultados del método alternativo no pueden expresarse como el número de UFC, la prueba de equivalencia se realiza utilizando parámetros adecuados, seguidos de un análisis estadístico para demostrar que los resultados del método alternativo permiten una decisión inequívoca de que cumple con los estándares de las monografías. Como en el método oficial.</p>		
<p>VALIDACIÓN DE PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN ALTERNATIVAS</p> <p>Existe una gran cantidad de evidencia de que los diferentes métodos varían considerablemente en su</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>capacidad para identificar microorganismos. Debe aceptarse que un método de identificación debe ser internamente consistente, pero puede diferir de otros en su identificación de microorganismos.</p>		
<p>Exactitud</p> <p>La exactitud de un método de identificación alternativo es su capacidad para identificar el microorganismo deseado al nivel taxonómico requerido. Debe demostrarse utilizando microorganismos de referencia bien caracterizados, cepas tipo. La exactitud del método de identificación generalmente se expresa como el número de identificaciones correctas dividido por el número total de identificaciones.</p>		
<p>Especificidad</p> <p>La especificidad de un método de identificación alternativo es su capacidad para discriminar los microorganismos realmente presentes de los factores interferentes que causan resultados de identificación falsos. Dichos factores incluyen sustancias químicas y mezclas de microorganismos, que hacen que la prueba identifique microorganismos que no están realmente presentes en el material de la muestra (presencia de mezclas de material de ADN de dos microorganismos en una prueba de secuencia que conduce a la identificación falsa de un tercer microorganismo).</p>		
<p>Robustez</p> <p>La robustez de un método de identificación alternativo es una medida de su capacidad para no verse afectado por</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método (período de incubación o rango de temperatura de incubación). La robustez es un parámetro de validación más adecuado para la determinación por parte del proveedor del método. Sin embargo, si el usuario modifica parámetros críticos, los efectos sobre la robustez deben ser evaluados. La robustez de un método de identificación se evalúa por su capacidad para identificar correctamente los microorganismos de prueba después de variaciones deliberadas de los parámetros de los métodos.</p>		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.

CONSULTA