

## Legislación Nacional

var disURL = '1292390/1292665/1838937/de\_202\_2003\_4.htm'; document.write("");]]>DECRETO 202/2003

**FARMACIA Farmacopea Argentina. Primer volumen de la séptima edición. Aprobación. Uso obligatorio** Continuación del 12/06/2003; publ. 17/06/2003

**Métodos generales de valoración microbiológica** *Método de difusión en agar* Procedimiento: De acuerdo con el antibiótico a valorar, fundir una cantidad suficiente de medio de cultivo estéril según se indica en la tabla 3, enfriar a temperatura apropiada (por ej., entre 45 y 50° C para las formas vegetativas), inocular el medio y agitar por rotación hasta lograr una suspensión homogénea. Emplear placas de Petri o bandejas rectangulares de fondo plano y, trabajando sobre una superficie plana y horizontal, verter en las placas un volumen determinado de medio inoculado para formar una capa uniforme de 2 a 5 mm de espesor. Alternativamente, el medio puede estar formado por dos capas, aunque sólo se inocule la superior. Para algunos microorganismos de ensayo, el procedimiento puede mejorarse si las placas inoculadas se dejan secar durante 30 minutos antes de ser empleadas o si se refrigeran a 4° C durante varias horas. Los reservorios empleados generalmente son cilindros estériles de porcelana, de acero inoxidable o de cualquier otro material apropiado, discos estériles de papel o pocillos excavados en el agar. El volumen que se carga en los reservorios debe ser uniforme y con una tolerancia máxima de 5%. Emplear los solventes y las soluciones reguladoras indicadas en la tabla 1 para preparar las soluciones de la sustancia de referencia y las del antibiótico a ensayar. Para asegurar la validez de la valoración, emplear por lo menos tres concentraciones diferentes de la sustancia de referencia y tres concentraciones del antibiótico a ensayar que presumiblemente tengan la misma actividad que las soluciones de la sustancia de referencia. Se deben emplear series de concentraciones en progresión geométrica para aplicar el método estadístico (ver Cálculos). Distribuir las diluciones en cada placa de Petri en cada placa rectangular, según un plan estadísticamente apropiado. En el caso de placas pequeñas que no pueden contener más de seis diluciones, alternar las diluciones del antibiótico y las diluciones de la sustancia de referencia, con el fin de evitar cualquier interacción entre las diluciones de mayor concentración. Las placas de Petri deben incubarse sin invertirla temperatura indicada +/- 0,5° C durante 18 horas aproximadamente. Es aconsejable un período de predifusión antes de la incubación, que puede oscilar de 30 minutos a 4 horas, a temperatura ambiente o próxima a 4° C, según el caso, esto tiene por finalidad reducir los efectos de desfasaje de tiempo entre la aplicación de las diferentes soluciones sobre las placas y así mejorar la recta de regresión o bien obtener halos mayores y más nítidos. Empleando un instrumento de medición apropiado, medir el diámetro de cada halo con una precisión de hasta la décima de mm. Calcular la actividad empleando métodos estadísticos apropiados (ver Cálculos). Emplear el suficiente número de réplicas por concentración de antibiótico en cada ensayo (no menos de cuatro placas) para asegurar la precisión estadística.

**Método turbidimétrico** Procedimiento: Inocular un volumen de medio de cultivo preferentemente conservado a una temperatura de 2 a 8° C, con un volumen determinado de suspensión original estandarizada del microorganismo apropiado y emplearlo inmediatamente. Para preparar las soluciones de la sustancia de referencia y las soluciones del antibiótico a ensayar en concentraciones que se consideren iguales, emplear los solventes y las soluciones reguladoras indicadas en la tabla 1. En tubos de ensayo estériles e idénticos, transferir volúmenes iguales de cada solución y agregar el mismo volumen de medio de cultivo inoculado a cada uno de ellos (como por ej., 1 ml de solución y 9 ml de medio). Preparar simultáneamente dos tubos control que contengan cada uno 9 ml de medio de cultivo inoculado y 1 ml de solvente empleado (sin antibiótico). Agregar inmediatamente a uno de ellos 0,5 ml de formaldehído diluido. Este tubo será empleado como blanco y sirve para calibrar el espectro-fotómetro. El tubo restante, constituye el testigo de crecimiento que se emplea para determinar la finalización de la incubación. Para asegurar la validez de la valoración, emplear por lo menos tres concentraciones diferentes de la sustancia de referencia y tres concentraciones del antibiótico a ensayar que presumiblemente tengan la misma actividad que las soluciones de la sustancia de referencia. Se deben emplear series de concentraciones en progresión geométrica para aplicar el método estadístico (ver Cálculos). Ubicar todos los tubos, distribuidos al azar, en cuadrado latino o en bloques aleatorios, en un baño de agua a 37° C (28° C para Candidina). Tomar precauciones para asegurar una distribución homogénea del calor e idéntico tiempo de incubación, generalmente de 2 a 4 horas. Luego de la incubación, detener la multiplicación de los microorganismos por adición al azar de 0,5 ml de formaldehído diluido a cada tubo, excepto a los tubos rotulados como blanco. Medir la turbidez del contenido de cada tubo con un espectro-fotómetro apropiado, a 530 nm. Calcular la actividad empleando los métodos estadísticos apropiados (ver Cálculos). En cada ensayo, emplear el número de réplicas por concentración de antibiótico (no menor de cuatro tubos) para asegurar la precisión estadística. Nota: El procedimiento para ambos métodos, debe realizarse en condiciones asépticas.

**Análisis estadístico** Curva Dosis-Respuesta: Para comprobar si cualquier ensayo en particular se está realizando por el modelo de rectas paralelas, es necesario examinar, previo a la realización de ensayos de rutina, la relación dosis respuesta del componente activo. Cuando la diferencia entre la relación del logaritmo de la dosis y la respuesta de la preparación patrón, se desvía notablemente del efecto teórico, el modelo de rectas paralelas no es válido para este ensayo en particular. Debe verificarse que en el intervalo de dosis empleado en los ensayos, la

