	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12 Versión: 12 Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024 Página 1 de 12
--	--	---

1. PROPÓSITO

Garantizar la ausencia de microorganismos viables (aerobios, anaerobios y hongos) en una muestra de producto terminado destinado a la administración parenteral o intramuscular (productos inyectables).

2. ALCANCE

Este procedimiento aplica sobre los productos inyectables de pequeño volumen fabricados en el área de inyectables (ampollas y viales) y sobre los sueros parenterales y orales fabricados en el área de sueros. También aplica sobre envases primarios (ampollas), desinfectantes del área de inyectables, y dispositivos tales como jeringas y venoset.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

CÓDIGO	NOMBRE DEL DOCUMENTO
PEO-AC-085	Preparación de medios de cultivo
A-AC-001	Marcha de identificación microbiana

4. DEFINICIONES

Esterilización: Técnica cuyo objetivo es destruir los microorganismos por medio del calor, el agua, sustancias químicas o gases.

Esterilidad: Técnica de análisis microbiológico que garantiza la ausencia de microorganismos viables (aerobios, anaerobios y hongos) en materia prima, producto terminado inyectable, soluciones oftalmológicas e instrumentaria quirúrgica.

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

RESPONSABILIDAD

Auxiliares de Microbiología: Son los responsables de llevar a cabo lo descrito en éste procedimiento.

Jefe de Microbiología: Tiene la responsabilidad de velar por el cumplimiento de éste procedimiento.

AUTORIDAD

Jefe de Microbiología: Tiene la autoridad de realizar cualquier cambio requerido en éste procedimiento.


6. CONTENIDO

6.1 Materiales

6.1.1 Tubos con 50 ml de los caldos tripticosa soya y tioglicolato estériles

6.1.2 Frascos con 300 ml de caldo cloruro sódico-peptona (tamponado) estéril / agua peptonada buferada.

Elaborado por: Jefe de Microbiología	Firma:	Fecha: 30/09/2022
Revisado por: Asistente de Documentación	Firma:	Fecha: 30/09/2022
Controlado por: Gerente de Calidad	Firma:	Fecha: 30/09/2022

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12 Versión: 12 Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024 Página 2 de 12
--	--	---

- 6.1.3 Membrana de ésteres de celulosa estéril de 0.45 µm de poro y 47 mm de diámetro
- 6.1.4 Pinzas estériles
- 6.1.5 Tijeras estériles
- 6.1.6 Jeringas estériles de 20 ml
- 6.1.7 Gradilla para tubos de 50 ml
- 6.1.8 Incubadora a 36± 1° C
- 6.1.9 Autoclave
- 6.1.10 Unidades de filtración de 250 ml con membrana de 0.45 µm estériles
- 6.1.11 Recipiente para recibir filtrado
- 6.1.12 Bomba de vacío
- 6.1.13 Mangueras
- 6.1.14 Cabina de bioseguridad
- 6.1.15 Alcohol al 70% filtrado
- 6.1.16 Paños de microfibra
- 6.1.17 Cofia y mascarilla
- 6.1.18 Traje de color blanco
- 6.1.19 Traje y guantes estériles

6.2 Medios de cultivo

- 6.2.1 Utilizar dos tubos de caldo por muestra a analizar, uno de caldo tripticasa soya (CASO) y uno de caldo tioglicolato. Preparar según el **PEO-AC-085 Preparación de medios de cultivo**.

6.3 Material estéril


- 6.3.1 Unidades de filtración: deben estar limpias y secas; colocar la membrana de ésteres de celulosa de 0.45 µm y 47 mm de diámetro y esterilizar por 20 minutos a 121°C; tapar todos los orificios de la unidad con tapones de hule.
- 6.3.2 Trajes, pinzas, tijeras y jeringas de vidrio. Esterilizar por 20 minutos a 121°C.
- 6.3.3 Todo material o medio de cultivo esterilizado debe anotarse en el **FO-AC-116 Control de autoclave Tuttnauer**.

6.4 Solución de dilución y lavado para filtración por membrana:

- 6.4.1 La solución de lavado a utilizar es caldo cloruro sódico-peptona tamponado que se utiliza para el lavado de la membrana de aquellos productos que contienen preservantes en su formulación. Para cada producto a analizar deben prepararse 300 ml de éste caldo.

6.5 Cantidad de artículos a evaluar y cantidad mínima para cada medio de cultivo:

- 6.5.1 La cantidad a filtrar y muestrear se detalla en las **Tablas 1 y 2**. Estas muestras son entregadas por el **Inspector** del área; al momento de la entrega, firmar de recibido en el **FO-AC-170 Control de análisis microbiológico**.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 3 de 12

6.6 Registro de las muestras

6.6.1 Las muestras a analizar se registran en el **FO-AC-104 Análisis de Esterilidades**. Deben anotarse los números de lote de los medios de cultivo utilizados en cada análisis en los espacios correspondientes.

6.7 Preparación del área, muestras y equipo para la prueba

6.7.1 La prueba de esterilidad se realiza en el área de siembra del Laboratorio de Microbiología que debe limpiarse según lo indicado en el **PEO-AC-075 Procedimiento para la limpieza del área, cristalería y equipos de Laboratorio de Microbiología** y el **FO-AC-144 Rotación de agentes químicos de sanitización**. Para ingresar a ésta área, colocarse cofia, mascarilla y cambiarse calzado.

6.7.2 Para el traslado de muestras, medios de cultivo y materiales a la sala 702 Prueba de esterilidad debe cambiarse la indumentaria y colocarse un traje blanco utilizando el calzado que se encuentra dentro del área marcada con la cinta amarilla. Colocarse guantes de látex.

6.7.3 Las muestras deben ingresarse con la ayuda de otra persona; una que coloca las muestras desde el exterior a la carretilla ubicada en el área de siembra y la que las recibe dentro del vestidor hacia la sala 702. Debe evitarse que dos puertas se encuentren abiertas al mismo tiempo para evitar la contaminación de las áreas controladas.

6.7.4 Ingresar a la sala 702 Prueba esterilidad con la carretilla; activar el sistema de aire para ello, oprimir el botón derecho del control derecho “cool” y con el botón izquierdo “on”. La activación de este sistema debe hacerse por lo menos dos horas antes de realizar la prueba de esterilidad. Descargar las muestras y materiales de la carretilla sobre la mesa de acero inoxidable contigua a la campana de flujo laminar.

6.7.5 Encender la luz ultravioleta de la campana de flujo laminar para desinfectarla por un período de 30 minutos como mínimo.

6.7.6 Desinfectar los envases de las muestras siguiente forma:

6.7.6.1 Envases que contienen 50 ml ó menos (ampollas y viales): introducir en un recipiente durante 15 minutos en alcohol al 70% filtrado.

6.7.6.2 Envases mayores de 50 ml: atomizar alcohol al 70% filtrado sobre la superficie de los envases y dejar secar al aire. Repetir por lo menos tres veces este procedimiento antes de iniciar la prueba de esterilidad.


6.8 Técnicas para la prueba de esterilidad:

Se utilizan dos técnicas para realizar ésta prueba dependiendo del estado físico de la muestra:

6.8.1 Método de filtración por membrana:

6.8.1.1 Soluciones acuosas: transferir a la membrana el contenido de envase o envases a analizar, utilizando no menos de las cantidades indicadas en las **Tablas 1 y 2**. Filtrar. Si el producto posee propiedades antimicrobianas, lavar la membrana no menos de tres veces con 100 ml cada vez.

6.8.1.2 Sólidos solubles: usar para cada medio no menos de la cantidad de producto indicada en las **Tablas 1 y 2** disuelto en un disolvente adecuado, como por ejemplo el disolvente

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 4 de 12

suministrado con la preparación, agua estéril para inyección, solución salina estéril u otra solución estéril adecuada.

6.8.1.3 Aceites y soluciones oleosas: Usar para cada medio no menos de la cantidad de producto indicada en las **Tablas 1 y 2**. Los aceites y soluciones oleosas de baja viscosidad pueden ser filtrados sin dilución a través de la membrana seca. Los aceites viscosos se pueden diluir según sea necesario con un diluyente estéril adecuado, como por ejemplo el miristato de isopropilo. Dejar que el aceite penetre la membrana por su propio peso y filtrar. Lavar la membrana al menos tres veces con 100 ml cada vez con un líquido de lavado que contenga un agente emulsionante como el polisorbato 80 a una concentración de 10%.


6.8.2 Inoculación directa del medio de cultivo: se utiliza para dispositivos estériles y muestras sólidas. Consiste en transferir directamente en el medio de cultivo.

6.8.2.1 Sólidos: transferir una cantidad de producto a 200 ml de caldo tioglicolato y a 200 ml de caldo tripticosa soya.

6.8.2.2 Dispositivos estériles: Los artículos pueden sumergirse en los medios de cultivo ensamblados o desmontados. Para asegurar que los conductos del dispositivo estén en contacto con los medios, sumergir la cantidad adecuada de unidades en un volumen de medio suficiente. Para dispositivos extremadamente grandes, sumergir aquellas porciones del dispositivo que han de entrar en contacto con el paciente. Para catéteres en los que se requiere la esterilidad del lumen interno, cortarlos en piezas de modo que el medio entre en contacto con todo el lumen. Las jeringas y ampollas se analizan haciendo un lavado interno de su superficie con diluyente y luego filtrando el mismo por la membrana de 0.45 micras.

6.9 Procedimiento:

- 6.9.1 Ingresar al área de siembra del Laboratorio de análisis microbiológico, colocarse cofia, mascarilla y cambiarse calzado.
- 6.9.2 Ingresar al vestidor de área estéril (sala 701) retirarse la bata y ropa y colocarse el uniforme blanco y una nueva cofia.
- 6.9.3 Trasládarse hacia el área marcada dentro de la cinta amarilla en donde se encuentra el calzado para área estéril; colocarse guantes estériles y luego el traje estéril.
- 6.9.4 Ingresar a la sala 702 Prueba esterilidad
- 6.9.5 Apagar la luz ultravioleta y encender el flujo laminar y la luz interior de la cabina de bioseguridad.
- 6.9.6 Encender la llave de vacío que se encuentra en la pared.
- 6.9.7 Colocarse otro par de guantes estériles.
- 6.9.8 Transferir hacia el interior de la cabina de bioseguridad, los materiales estériles y medios de cultivo (previamente identificados con fecha y datos de la muestra) a utilizar.
- 6.9.9 Trasladar las muestras a analizar hacia el interior de la cabina de bioseguridad.
- 6.9.10 Destapar los envases de producto en forma aséptica y transferir parte de contenido (mínimo 100 ml) hacia la unidad de filtración.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 5 de 12


- 6.9.11 Filtrar el producto de acuerdo a lo indicado en el numeral 6.8; terminada la filtración, proceder al lavado de la membrana (si aplica) con los 300 ml de caldo cloruro sódico-peptona (tamponado) y dejar filtrar.
- 6.9.12 Abrir la unidad de filtración y con el uso de una pinza y tijera estéril, asépticamente cortar la membrana por la mitad y depositar una parte en caldo CASO y la otra en caldo tioglicolato.
- 6.9.13 Preparar un control negativo de caldo cloruro sódico-peptona tamponado por cada lote preparado para comprobar su esterilidad filtrando una porción de 100 ml en otra unidad de filtración. Incubar bajo las mismas condiciones que las muestras.
- 6.9.14 Desocupar el interior de la campana de flujo laminar, limpiar y desinfectar con alcohol al 70% filtrado, apagar la luz interna y cerrar completamente el vidrio exterior.
- 6.9.15 Limpiar la mesa auxiliar del área y la carretilla para el traslado de las muestras con alcohol al 70% filtrado.
- 6.9.16 Anotar el tiempo de utilización de luz U.V., la presión del flujo y los productos analizados en el **FO-AC-114 Control de uso de cabina de bioseguridad.**
- 6.9.17 Apagar el sistema de aire del área estéril, presionando el botón derecho y seleccionando "off".

6.10 Incubación

Ambos medios de cultivo deben de incubarse por un período no menor a 14 días; el caldo tioglicolato en incubadora entre 30°C y 37°C, y el caldo CASO entre 20°C y 25°C. El registro de la temperatura de la incubadora se anota en el **FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipo de aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo y Microbiología.**

6.11 Interpretación de resultados

- 6.11.1 Las muestras se observan diariamente durante el período de incubación de catorce días, en busca de presencia de turbidez del medio de cultivo, que indica la presencia de microorganismos.
- 6.11.2 Si al terminar el período de incubación de 14 días no se halla evidencia de crecimiento microbiano en ninguno de los dos tubos, la prueba de esterilidad se considera negativa y el producto analizado cumple con esta prueba.
- 6.11.3 Si durante el período de incubación se observa (en cualquiera de los dos tubos) turbidez o cualquier indicio de crecimiento bacteriano, la prueba de esterilidad se considera positiva. El producto no cumple con la prueba de esterilidad a menos que se demuestre que la prueba resultó inválida por causas no relacionadas con el producto. La prueba se considera inválida si se cumplen una o más de las siguientes condiciones:
 - 6.11.3.1 Los datos del monitoreo microbiológico de las instalaciones donde se realiza la prueba de esterilidad demuestran una falla.
 - 6.11.3.2 Una revisión del procedimiento analítico usado durante la prueba revela un error.
 - 6.11.3.3 Se halla crecimiento microbiano en los controles negativos
 - 6.11.3.4 Después de determinar la identidad de los microorganismos aislados, el crecimiento de éste puede atribuirse de manera inequívoca a errores con respecto al material o a la técnica utilizada al realizar la prueba de esterilidad.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12 Versión: 12 Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024 Página 6 de 12
--	--	---

6.11.4 Para identificar el crecimiento de un aprueba de esterilidad positiva, transferir una porción del caldo contaminado a agar tripticasa soya e incubarlo por 24 a 48 horas a $36 \pm 1^\circ \text{C}$; realizar una tinción de Gram del crecimiento obtenido. Seguir el procedimiento según **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana**.

6.11.5 Si la prueba se declara inválida, se repetirá con el mismo número de unidades de la primera prueba. Si no se halla crecimiento en la repetición de la prueba el producto examinado cumple con la prueba de esterilidad. Si se hallan pruebas de crecimiento microbiano en la segunda prueba el producto examinado no cumple con la prueba de esterilidad

6.12 Reporte de resultados

6.12.1 El resultado de la prueba de esterilidad se registrará en el **FO-AC-104 Análisis de esterilidades**; si el producto cumple con la prueba de esterilidad, se aprueba generando el **FO-AC-198 Reporte de análisis microbiológico** colocando el dictamen de “aprobado”. De lo contrario se reporta en el mismo formato con el dictamen “rechazado”.

6.12.2 El **FO-AC-198 Reporte de Análisis Microbiológico** es entregado a la **Secretaría de Aseguramiento de calidad**.

7. REVISIÓN DE ESTE DOCUMENTO


El presente documento debe revisarse antes del 30/09/2024 antes de su vencimiento si fuere necesario.

8. BIBLIOGRAFÍA

Farmacopea de los Estados Unidos de América 2012 (USP 40). <71> Pruebas de esterilidad.

9. ARCHIVO

El presente documento original será archivado en Gestión de Calidad bajo condiciones de seguridad adecuadas, además, se emiten 2 copias controladas para el área de Aseguramiento de Calidad siendo los responsables Asistente de Documentación y Jefe de Microbiología.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 7 de 12

10. ANEXOS

CODIGO	NOMBRE
No aplica	

Tabla 1 - Cantidad mínima a usar para cada medio

Contenido de la muestra por unidad (ml)	Mínimo de volumen a muestrear por unidad
Líquidos	
Menos de 1 ml	El contenido total de cada envase.
1 - 40 ml	La mitad del contenido de cada envase, pero no menos de 1ml
Más de 40 ml y no más de 100 ml	20 ml
Más de 100 ml	10% del contenido de cada envase, pero no menos de 20 ml
Líquidos antibióticos	1 ml
Preparaciones Insolubles, cremas y ungüentos que deben suspenderse o emulsionarse	Usar el contenido de cada envase para suministrar no menos de 200 mg
Sólidos	
Menos de 50 mg	El contenido total de cada envase
50 mg o más, pero menos de 300 mg	La mitad del contenido de cada envase pero no menos de 50 mg
300 mg – 5 g	150 mg
Más de 5 g	500 mg
Material de sutura y otro material de un solo uso envasado individualmente	El dispositivo completo
Otros dispositivos médicos	El dispositivo completo, cortado en piezas o desmontado.

Tabla 2 – Número mínimo de artículos a evaluar en relación con el número de artículos en la partida

Número de artículos en la partida	Número mínimo de artículos a analizar para cada medio
<i>Preparaciones parenterales</i>	
No más de 100 envases	10% o 4 envases, lo que resulte mayor
Más de 100 pero no más de 500 envases	10 envases
Más de 500 envases	2% o 20 envases, lo que resulte menor
<i>Preparaciones parenterales de gran volumen</i>	2% o 10 envases, lo que resulte menor


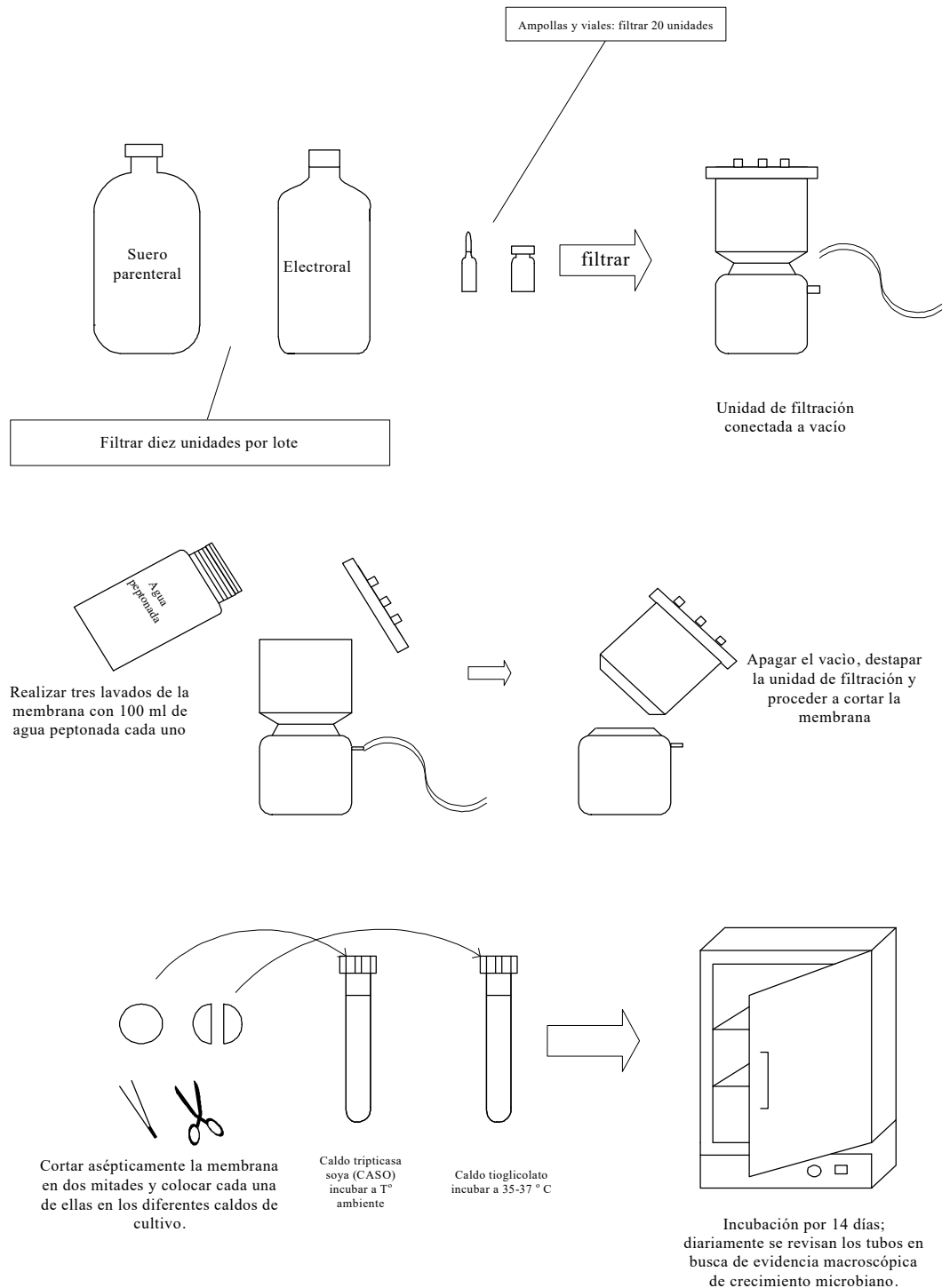

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12 Versión: 12 Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024 Página 8 de 12
--	--	---

Diagrama 1 - Procedimiento de la prueba de esterilidad




	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN		Código: PEO-AC-077-12
	PRUEBA DE ESTERILIDAD		Versión: 12
	MICROBIOLOGÍA		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
			Página 9 de 12

11. CONTROL DE REGISTROS


CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
FO-CC-104 Registro de análisis de esterilidades	Jefe de Microbiología	En libro	Departamento de Aseguramiento de calidad	5 años
FO-AC-170 Control de análisis microbiológico	Jefe de Microbiología	En libro	Departamento de Aseguramiento de calidad	5 años
FO-AC-198 Reporte de Análisis Microbiológico	Secretaria de Aseguramiento de Calidad	Adjunto a hoja técnica	Departamento de Aseguramiento de calidad	Un año después de la fecha de vencimiento del producto
FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipo de Aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo y Microbiología.	Auxiliares de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-069 Control de limpieza de las áreas de Aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo, Microbiología y Registros	Auxiliares de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-114 Control de uso de Cabina de bioseguridad	Auxiliares de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-116 Control de Autoclave Tuttnauer	Auxiliares de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años

12. CAMBIOS EN EL DOCUMENTO


Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	<p>7. Se incluyeron los siguientes registros: Control de Temperatura, Control de Filtro HEPA y Control de Autoclave Tuttnauer 3870 E</p> <p>Se incluyó el anexo Marcha de identificación Microbiana</p> <p>6.1 Se incluyó: Los medios ya esterilizados deben ser almacenados en refrigeración a una temperatura entre 2°C a 8°C, esta temperatura se llevará registro Control de Temperatura</p>

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 10 de 12

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
	<p>de Refrigeradora. 6.7 Ambos medios deben de incubarse en un período no menor de 14 días, en caldo TIO, entre 30°C y 37°C, los registros de éstas temperaturas deben ser llevadas en R03.MA.MB.01 Control de Temperatura de Incubadora. 6.10 incubando durante 4 a 48 horas a 35°C \pm 2°C, anotar temperatura en R03.MA.MB.01 Control de Temperatura de Incubadora; si no hay crecimiento se confirma la esterilidad de la muestra. 6.2.1 Anotar el tiempo de utilización de luz U.V., así como la presión en el registro R04.MA.MB.01 Control de Filtro HEPA. 6.2.3 Los materiales que se esterilizan anotarlas en el Control de Autoclave Tuttnauer 3870 E. 6.5.3 Nota: Las soluciones que se esterilizan anotarlas en el R05.MA.MB.01 Control de Autoclave Tuttnauer 3870 E</p>
2	<p>Es la versión basada en la Farmacopea de los Estados Unidos de América 2008 (USP 31), por lo que el código y el nombre de esta referencia fue cambiado a lo largo del texto de este método de análisis. Esta versión incluye además los siguientes cambios:</p> <p>Cambio del nombre del método de análisis, anteriormente el nombre era Prueba de esterilidad USP 28. Se cambió el término cabina de bioseguridad por campana de flujo laminar. Se cambió el nombre del departamento de Control de Calidad por el de Aseguramiento de Calidad. Inclusión de más numerales en:</p> <ul style="list-style-type: none"> 5. Material y equipo a utilizar <ul style="list-style-type: none"> 8. Autoclave 9. Balanza semianalítica 17. Guantes estériles 18. Mangas estériles 19. Cofia y mascarilla ▪ Cambio en las numeraciones de los siguientes incisos: <ul style="list-style-type: none"> 6.2 Preparación del equipo para realizar la prueba de esterilidad 6.3 Cantidad de muestra 6.4 Limpieza de envases 6.5 Soluciones de dilución y lavado para filtración por membrana 6.6 Métodos de análisis 6.9 Reporte ▪ Se agregó en el inciso 6.4 el esquema actual de muestreo de sueros para la prueba de esterilidad (según su volumen) y endotoxina bacteriana; se agregó la muestra para endotoxina de producto terminado de ampollas y viales. <p>Se eliminó el inciso 6.6.1.2 y 6.6.1.2.1:</p> <p>6.6.1.2 Sólidos Solubles (No Antibióticos)</p> <p>En el caso de muestras sólidas solubles, se pueden diluir con un disolvente apropiado, como la solución A, indicado en el inciso 6.5, el número de muestras y la cantidad a agregar dependerá de lo indicado en las tablas No.1 y No.2. de A.MB.01 Medios de Cultivo, Muestras Requeridas e Inactivadores para Prueba de Esterilidad.</p> <p>Verter la muestra dentro de unidad de filtración, filtrarla y transferir la membrana y trabajarla según se describe en las soluciones líquidas.</p> <p>Se eliminó el inciso 6.5, fue cambiado hacia el 6.2 con modificaciones:</p>

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 11 de 12

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
	<p>Soluciones de dilución y lavado para Filtración por Membrana: Solución A: Disolver 1 gramo de agua peptonada en 1 litro de agua purificada, filtrar o centrifugar para clarificar, si es necesario ajustar a pH 7.1 ± 0.2, agregar en frascos cerrados y esterilizar. Solución D: A cada litro de solución A añada 1 mL de polisorbato 80, ajuste a pH 7.1 ± 0.2, agregar en frascos y esterilizar. Use esta solución para artículos que contienen lecitina o aceites.</p> <p>Solución K: Disolver 5.0 gramos de agua peptonada, 3.0 gramos de extracto de carne y 10.0 gramos de polisorbato 80 en 1 litro de agua purificada, ajustar a pH 6.9 ± 0.2, agregar en frascos cerrados y esterilizar. Nota: Las soluciones que se esterilizan anotarlas en el FO.MB.05 Control de Autoclave Tuttnauer 3870 E. Cambio del inciso 6.8 Interpretación, en él se integraron los incisos 6.9 y 6.10: Interpretación</p> <p>La interpretación y observación de los productos lo realizará el Jefe de Microbiología, durante 14 días. Observación de evidencias de crecimiento bacteriano. Si durante el período de incubación se observa (en cualquiera de los dos tubos) turbidez, nata o cualquier indicio de crecimiento bacteriano, debe realizarse una tinción de Gram y traspasarse a medios de cultivo, con el uso de un asa en argolla o hisopo estéril. Los medios recomendados son Agar Sangre de carnero 5%, Agar Manitol Sal, Agar MacConkey o Chromocult, Agar Cetrimida. Incubar durante 24 a 48 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, anotar temperatura en FO.MB.02 Control de Temperatura de Refrigeradora e Incubadora. Seguir el procedimiento según la Marcha de Identificación Microbiana A.MB.02. Ausencia de evidencias visuales de crecimiento microbiano. Al terminar el período de incubación ambos tubos se presentan límpidos, se considera que la prueba es satisfactoria. Se confirma la ausencia de crecimiento, traspasando con el uso de un asa en argolla a un medio de cultivo enriquecido o nutritivo, como el Agar Sangre de carnero al 5 % o Agar CASO, incubando durante 24 a 48 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, anotar temperatura en FO.MB.02 Control de Temperatura de Refrigeradora e Incubadora; si no hay crecimiento se confirma la esterilidad de la muestra.</p> <p>6.10.1 La prueba se considera satisfactoria, si los dos tubos no presentan evidencias de crecimiento microbiano, transcurrido el período de incubación. Para considerar no Satisfactoria la prueba, basta que solamente un tubo evidencie crecimiento microbiano. Eliminación de los incisos 6.11.1, 6.11.1.1, 6.11.2 y 6.11.2.1: Si la prueba es satisfactoria debe reportarse: Cumple con la Prueba de Esterilidad USP 28. De lo contrario, se debe reportar como rechazado: No Cumple con la Prueba de Esterilidad USP 28. Se incluyó el numeral 6.9 Reporte de resultados. Integración de los anexos A.MB.01 y A.MB.02 al método de análisis y un diagrama de flujo general del procedimiento de la prueba de esterilidad.</p>
3	Esta versión cambia al nuevo formato y su contenido se adecúa a la nueva instalación del Laboratorio de Análisis Microbiológico, en la nueva planta de producción de Laboratorios Bonin.
4	En el numeral 6.3 Se agregó la cantidad de muestras a tomar para sueros parenterales de 250 ml.
5	Versión actualizada según la USP 35 (2012), cambio en el título del procedimiento.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PRUEBA DE ESTERILIDAD MICROBIOLOGÍA	Código: PEO-AC-077-12
		Versión: 12
		Vigencia: 30/09/2022 Vencimiento: 30/09/2024
		Página 12 de 12

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
	Se incluye la Tabla 2 y 3 en donde se indican la cantidad mínima a utilizar de muestra para cada medio y el número de artículos a utilizar según en relación con el número de artículos de la partida, como referencia para el muestreo.
6	Se elimina la palabra Libro de los registros.
7	<p>Se cambia el nombre y el código y el formato del documento según lo indicado en el PEO-SGC-001-11 Elaboración, Aprobación, Revisión y Control de documentos, con ello cambia la numeración de la versión anterior.</p> <p>Se agrega el numeral 6.6 Registro de las muestras en donde se incluye el nuevo código del registro para este análisis y se indica que deben anotarse los números de lote de los medios de cultivo utilizados para cada análisis en el mismo.</p> <p>Se agrega el numeral 6.8 Técnicas para la prueba de esterilidad</p> <p>El antiguo numeral 6.5 Prueba de esterilidad se desglosa en dos nuevos numerales: 6.8 Técnicas para la prueba de esterilidad y 6.9 Procedimiento.</p> <p>Se cambia el código del registro de análisis (FO-CC-104 Registro de análisis de esterilidades) en todo el texto del documento.</p> <p>Se cambia el líquido de lavado: anteriormente agua peptonada buferada, actualmente caldo cloruro sódico-peptona tamponado. Alternativamente en caso de necesitarse puede utilizarse el agua peptonada buferada.</p> <p>Se cambia el procedimiento para ingresar al área 702; se coloca el traje blanco debajo del traje estéril.</p>
8	<p>En el numeral 6.1 Materiales se agrega el traje blanco y el traje estéril. Se cambia el término campana de flujo laminar por el de cabina de bioseguridad.</p> <p>En el numeral 6.7 Preparación del área, muestras y equipo para la prueba se elimina la indicación de limpieza semanal, solamente se deja la referencia al PEO-AC-075 en donde se establece la frecuencia.</p> <p>En el numeral 6.9.15 Se cambia el nombre del registro. El nombre actual es FO-AC-114 Control de uso de cabina de bioseguridad</p> <p>Se modifica el código FO-CC-104 por FO-AC-104 Análisis de esterilidades, también se modifica el código FO.MB.01 por FO-AC-198 Reporte de análisis microbiológico.</p>
9	Se agrega en el Alcance del documento los desinfectantes del área de inyectables y la Membrana Biofilm.
10	Se elimina del Alcance del documento la Membrana Biofilm se agrega texto referente a jeringas y ampollas en el numeral 6.8.2.2 y se corrige el nombre del registro FO-AC-170 en partes del texto.
11	Se revisa la metodología contra lo descrito en el capítulo <71> de la USP 40.