


<div>Laboratorios Bonin</div> 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN	Código:
	MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS	PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 1 de 15
ASEGURAMIENTO DE CALIDAD		

1. PROPÓSITO

Verificar la carga microbiana en ambientes, manos de personas involucradas en el proceso y superficies en las áreas de producción para establecer si cumplen con los límites establecidos para cada tipo de área. Verificar que el sistema de aire y los procedimientos de limpieza y sanitización de áreas, equipo y manos son efectivos.

2. ALCANCE

Este procedimiento tiene alcance sobre las áreas limpias de: producción, pesado de materia prima, Área de muestreo de materia prima y Área de siembra del Laboratorio de análisis microbiológico de la planta de producción de Laboratorios Bonin y sobre el personal que en ellas trabaja.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

CÓDIGO	NOMBRE DEL DOCUMENTO
PEO-PD-063	Procedimiento de ingreso a la planta de producción.
PEO-AC-050	Corrección de desviaciones en muestreos de manos, guantes y uso del uniforme
PEO-AC-046	Manejo de desviaciones

4. DEFINICIONES

Impactador de Tamiz: el aparato consiste en un recipiente diseñado para alojar una placa de Petri con agar. La cubierta de la unidad tiene perforaciones de un tamaño predeterminado. Una bomba de vacío extrae un volumen conocido de aire a través de la cubierta y las partículas del aire chocan sobre el medio de agar de la placa de Petri.

Método de Hisopo: método empleado para muestrear superficies regulares e irregulares, especialmente los equipos que están en contacto con el producto o áreas adyacentes. El hisopo luego se enjuaga en un diluyente adecuado estéril y el contenido se siembra sobre placas de agar para estimar la carga viable de tal superficie. La superficie muestreada es de 24 cm².

Área limpia: Área que cuenta con un control definido del medio ambiente con respecto a la contaminación con partículas, microorganismos, con instalaciones construidas y usadas de tal manera que se reduzca la introducción, generación y retención de contaminantes dentro del área.


Condición de funcionamiento (operacional): Condición donde la instalación está funcionando de la manera especificada, con el número especificado de personal presente y trabajando de la manera previamente convenida.

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

RESPONSABILIDAD

Auxiliares de Microbiología: Son los responsables del muestreo de manos del personal y de procesar las muestras tomadas por los **Inspectores de Aseguramiento de calidad**.

Elaborado por: Jefe de Microbiología	Firma:	Fecha: 02/05/2024
Revisado por: Asistente de documentación	Firma:	Fecha: 02/05/2024
Aprobado por: Gerente de Aseguramiento de calidad	Firma:	Fecha: 02/05/2024

	<p>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</p> <p>MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS</p> <p>ASEGURAMIENTO DE CALIDAD</p>	<p>Código: PEO-AC-083-19</p> <p>Versión: 19</p> <p>Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027</p> <p>Página 2 de 15</p>
---	---	--

Inspectores de Aseguramiento de calidad: Son los responsables de tomar las muestras de ambientes, guantes y superficies en las áreas limpias.

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 Muestreador de aire MAS-100 NT®
- 6.1.2 Tapa perforada de MAS-100 NT®
- 6.1.3 Mechero de gas
- 6.1.4 Cajas de agar EMB o MacConkey
- 6.1.5 Cajas de agar Sabouraud 4% dextrosa
- 6.1.6 Cajas de agar CASO (Trypticase Soya)
- 6.1.7 Cajas Rodac con agar tripticasa soya con polisorbato y lecitina
- 6.1.8 Agar tripticasa soya (CASO) estéril a 45° C.
- 6.1.9 Tubos de 10 cm x 10 mm con 2 ml de solución isotónica 0.9% de cloruro de sodio estéril
- 6.1.10 Incubadora a 35 ± 2 °C
- 6.1.11 Hisopos estériles
- 6.1.12 Marcador permanente
- 6.1.13 Pipetas serológicas estériles de 1.0 ml
- 6.1.14 Pipeteador

6.2 Generalidades:

- 6.2.1 Todos los medios, instrumental y trajes utilizados para la realización de los muestreos y análisis de las muestras, que lleven un proceso de esterilización deben anotarse en el **FO-AC-116 Control de Autoclave Tuttnauer** y las temperaturas de los equipos como la refrigeradora e incubadora en el **FO-AC-029 Control de Temperatura y Humedad de equipos de Aseguramiento de Calidad, Investigación & Desarrollo y Microbiología**.
- 6.2.2 Previo a realizar el muestreo de ambientes (A-AC-027 Ubicación de puntos de muestreo en áreas limpias), manos y superficies en las áreas de producción de la planta, debe prepararse el material necesario; las cajas de Petri de los agares que se utilizarán, y los tubos de solución salina deben retirarse de refrigeración. El material a utilizar durante el muestreo (cajas de agar, tubos de solución salina, hisopos estériles, guantes, uniformes, cubrezapatos, etc.) deben transportarse en canasta previamente desinfectada.

6.3 Frecuencia del muestreo:

- 6.3.1 Rutinariamente, los ambientes, guantes y superficies de las áreas se muestrearán según lo indicado en la **Tabla 1** de Anexos. Las muestras en las áreas de producción se tomarán,


Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19 Versión: 19 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 3 de 15
--	--	---

antes de iniciar los procesos, durante o al finalizar los despejes de línea, es decir, en condición de funcionamiento u operacional.

6.3.2 Las manos del personal se muestrearán una vez por semana, en grupos al azar.

6.4 Muestreo de ambientes:

- 6.4.1 Para el monitoreo de ambientes controlados se utiliza el método de impactación directa (de tamiz) utilizando el equipo MAS-100 NT y el método de sedimentación (para el muestreo del proceso de llenado en ambiente ISO 5)
- 6.4.2 Según el tipo de área a muestrear, ingresar siguiendo lo indicado en el **PEO-PD-63 Procedimiento de ingreso a la planta de producción.**
- 6.4.3 Rotular una caja de agar CASO con el número de sala, y fecha del muestreo.
- 6.4.4 Retirar la tapadera de la caja de Petri de agar nutritivo colocándola hacia arriba e insertarla en el MAS-100 NT (ver **Diagrama 1** de Anexos).
- 6.4.5 Retirar de su empaque la tapa perforada estéril y colocarla sobre el aparato de modo que la caja de Petri quede cubierta.
- 6.4.6 Encender el equipo (ver el procedimiento de operación en el Diagrama 1), para las áreas ISO 8, ISO 7 e ISO 6 debe seleccionarse 250 lts a aspirar y para los flujos laminares (ISO 5) debe ser de 500 lts (0.5m³); activar para que inicie la aspiración.
- 6.4.7 El equipo debe colocarse sobre una superficie estable-
- 6.4.8 Terminado el tiempo de muestreo retirar la tapa perforada del equipo y luego la caja de Petri la cual debe cubrirse de nuevo con su tapadera.
- 6.4.9 Realizar el procedimiento anterior con una caja de agar Sabouraud 4% Dextrosa.
- 6.4.10 Debe colocarse una pareja de cajas para muestreo de ambiente (agar CASO y Sabouraud) dentro de los equipos de llenado (ambientes ISO 5) ubicados en las salas 214, 117 y 114; éstas deben exponerse al momento de iniciar el llenado y la exposición debe ser de un mínimo de 3 horas.
- 6.4.11 Trasladar las muestras al laboratorio de Microbiología; las cajas de agar nutritivo se incuban a 36°C ± 1°C, durante 48 horas mínimo, para obtener el recuento aeróbico total y las cajas de agar Sabouraud 4% dextrosa a 22-25°C por 5 días como mínimo para obtener el recuento de mohos y levaduras.
- 6.4.12 Transcurrido el tiempo de incubación, evaluar si existe crecimiento. Si existe crecimiento efectuar el recuento y multiplicar según el número de litros aspirados (UFC/m³.): si se han muestreado 250, multiplicar las colonias en la caja por 4, si se aspiraron 500 lts multiplicar por 2.
- 6.4.13 Para determinar si una muestra cumple con los límites establecidos, comparar con el **A-AC-004 Límites microbiológicos en áreas limpias.**
- 6.4.14 Deben clasificarse los microorganismos aislados como: bacilos Grampositivo, cocos Grampositivo y/o mohos u hongos y en el caso de aislarse colonias sospechosas de patógenos deben identificarse utilizando para ello el **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana.**

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 4 de 15

6.4.15 En caso de ausencia de crecimiento microbiano, transcurrido el período de incubación, se debe reportar como $<2 \text{ UFC/m}^3$ (500lts aspirados) ó $<4 \text{ UFC/m}^3$ (250 lts aspirados).


Nota: Si el número de colonias recuperadas en la caja excede de 20, debe consultarse la **Tabla 2. Tabla de corrección estadística según Feller** adjunta en la parte de Anexos, que es una tabla de corrección del número de colonias, antes de multiplicar por 2 ó por 4.

6.5 Muestreo de aire comprimido:

- 6.5.1 El aire comprimido (salas 211, 213 y 410) se muestrea cada semana (ó cuando el área se encuentre en uso), haciendo impactar aire por aproximadamente 1 minuto sobre dos cajas de petri con los agares tripticasa soya y Sabouraud.
- 6.5.2 Trasladar las muestras al laboratorio de Microbiología; las cajas de agar nutritivo se incuban a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 48 horas mínimo, para obtener el recuento aeróbico total y las cajas de agar Sabouraud 4% dextrosa a $22\text{-}25^{\circ}\text{C}$ por 5 días como mínimo para obtener el recuento de mohos y levaduras.
- 6.5.3 Reportar el número de colonias presentes en las cajas.
- 6.5.4 Deben clasificarse los microorganismos aislados como: bacilos Grampositivo, cocos Grampositivo y/o mohos u hongos y en el caso de aislarse colonias sospechosas de patógenos deben identificarse utilizando para ello el **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana**.

6.6 Muestreo de guantes:

- 6.6.1 Según el tipo de área a muestrear, ingresar siguiendo lo indicado en el **PEO-PD-63 Procedimiento de ingreso a la planta de producción**.
- 6.6.2 El personal al que se le va a efectuar el muestreo de guantes, no debe aplicarse ningún tipo de desinfectante antes de la toma de muestra.
- 6.6.3 Para el muestreo de guantes se utilizan cajas de agar tripticasa soya; rotular la caja de Petri con nombre del operador, actividad que realiza, número de sala y fecha.
- 6.6.4 Abrir la caja de Petri y pedir al operador que coloque las yemas de los dedos con guante de la mano derecha, sobre una mitad del agar y las yemas de los dedos con guante de la mano izquierda, sobre la otra mitad.
- 6.6.5 Trasladar las cajas de Petri al laboratorio de Microbiología para su incubación a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 48 horas.
- 6.6.6 Transcurrido el tiempo de incubación evaluar si se obtuvo crecimiento y efectuar el recuento de las colonias aisladas.
- 6.6.7 El resultado obtenido se reporta como UFC/guantes (10 dedos).
- 6.6.8 Para determinar si una muestra cumple o no con los límites establecidos, consultar el **A-AC-004 Límites microbiológicos en áreas limpias**.
- 6.6.9 Deben identificarse las colonias aisladas que sean sospechosas de patógenos utilizando para ello el **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana**.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 5 de 15

6.6.10 En caso de ausencia de crecimiento microbiano, transcurrido el período de incubación, se debe reportar como <1 UFC/ guante.

6.7 Muestreo de trajes:

Se realiza en el área de inyectables a los trajes estériles, al momento de tomar las muestras de ambientes, superficies y guantes utilizando cajas Rodac (ver numeral 6.9.1.2).

6.8 Muestreo de manos:


- 6.8.1 El muestreo se realiza por la mañana al momento que el personal egresa de los vestidores generales para dirigirse a sus labores diarias escogiendo al personal al azar.
- 6.8.2 Por cada persona a muestrear se utilizan dos cajas de agar (una para cada mano), una de agar caso y otra de agar EMB ó bien agar Chromocult.
- 6.8.3 El muestreo se realiza según lo indicado en el anexo **A-AC-003 Muestreo de manos**.
- 6.8.4 Se rotulan las cajas con el nombre de la persona y se le muestrea.
- 6.8.5 Las cajas se trasladan al Laboratorio de análisis microbiológico y se incuban por 48 horas a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- 6.8.6 Después de este tiempo se revisan las cajas: en el agar EMB ó Chromocult se busca la presencia de colonias características de *E. coli* colonias con brillo verde metálico con centro azul-negro bajo luz transmitida (en EMB) y colonias azul oscuro a violeta; de hallarse colonias con éstas características deberá confirmarse su identidad. En el agar CASO se cuenta el total de UFC y este es el valor que se reporta.
- 6.8.7 El límite establecido es de 100 UFC/mano.

6.9 Muestreo de superficies:

- 6.9.1 Según el tipo de área a muestrear, ingresar siguiendo lo indicado en el **PEO-PD-63 Procedimiento de ingreso a la planta de producción**.

6.9.1.1 Muestreo con hisopo

- a) Rotular los tubos de transporte de solución salina 0.9% con el nombre de la muestra, número de sala y fecha del muestreo.
- b) Abrir el recipiente que contiene los hisopos estériles tomar uno de ellos y volver a cerrar el recipiente.
- c) Abrir el tubo con la solución salina, humedecer en ella el hisopo y tapar de nuevo el tubo.
- d) Muestrear las superficies de la siguiente manera:
- e) Superficies planas: pasar el hisopo por una superficie de aproximadamente 24 cm^2 en tres direcciones (horizontal, vertical y oblicua).
- f) Superficies irregulares o cerradas (boquillas de tanques, boquillas de llenado, mangueras, etc.): como no es posible muestrear un área de 24 cm^2 , pasar el hisopo varias veces por la luz del equipo o por las áreas de la superficie de más difícil acceso.
- g) Introducir la punta de algodón del hisopo dentro del tubo correspondiente, cuidando de no introducir ninguna parte que haya entrado en contacto con los dedos y quebrarlo aplicando fuerza hacia un lado. El algodón del hisopo debe quedar totalmente sumergido en el


	<p>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</p> <p>MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS</p> <p>ASEGURAMIENTO DE CALIDAD</p>	<p>Código: PEO-AC-083-19</p> <p>Versión: 19</p> <p>Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027</p> <p>Página 6 de 15</p>
---	---	--

diluyente. Trasladar las muestras al laboratorio de Microbiología para su análisis. Las muestras deben procesarse en un período de tiempo menor a dos horas.

- h) El plaqueo de las muestras recolectadas se realiza en el Área de siembra del Laboratorio de Microbiología (sala 703), para ingresar a ésta, colocarse cofia, mascarilla y cambiarse calzado.
- i) Trasladar las muestras a analizar, medios de cultivo y todo el material necesario a l área.
- j) Ingresar a la sala 701 Vestidor Área Estéril; retirarse la vestimenta de uso en área externa del laboratorio y colocarse traje blanco. Ingresar a la sala 702 Prueba Esterilidad y activar sistema de aire de la siguiente manera: oprimir el botón derecho del control derecho “cool” y con el botón izquierdo “on”. Trasladarse a la sala 703.
- k) Colocarse mascarilla y guantes para dar inicio a la prueba.
- l) Encender el mechero de gas
- m) En la mesa de trabajo frente al mechero, rotular una caja de Petri desechable estéril por cada muestra recolectada.
- n) Agitar cada tubo para homogenizarlo, y verter 1 ml con pipeta serológica estéril en la caja de Petri correspondiente.
- o) Antes de que transcurran más de 15 minutos, a partir del paso anterior, verter sobre cada caja de Petri de 15 a 20 ml de Agar CASO, previamente esterilizado y licuado, a una temperatura de aproximadamente 45°C.
- p) Colocar un control negativo del agar en una caja de Petri, el cual se incubará en las mismas condiciones que las muestras.
- q) Homogenizar el medio con la muestra con una agitación circular; dejar solidificar e incubar a 36°C ± 1°C, 48 horas mínimo.
- r) Transcurrido el tiempo de incubación, evaluar si existe crecimiento; el resultado obtenido se multiplica por dos (volumen del diluyente utilizado), para obtener un resultado expresado en UFC/24 cm².
- s) Establecer si las muestras cumplen con los límites establecidos, observando el **A-AC-004 Límites microbiológicos en áreas limpias**
- t) Deben identificarse las colonias aisladas que sean sospechosas de patógenos utilizando para ello el **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana**.
- u) En caso de ausencia de crecimiento microbiano, transcurrido el período de incubación, se debe reportar como < 2 UFC/24 cm².

6.9.1.2 Muestreo con cajas Rodac

- a) Rotular la caja Rodac con agar con el punto a muestrear en la parte inferior no en la tapadera.
- b) Abrir la caja y colocar sobre la superficie a muestrear ejerciendo una presión leve; cerrar nuevamente.
- c) Trasladar las cajas de al laboratorio de Microbiología para su incubación a 36°C ± 1°C, durante 48 horas.
- d) Transcurrido el tiempo de incubación evaluar si se obtuvo crecimiento y efectuar el recuento de las colonias aisladas.
- e) Reportar el número de colonias presentes en la superficie del agar.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19 Versión: 19 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 7 de 15
--	--	---

- f) Para determinar si una muestra cumple o no con los límites establecidos, consultar el **A-AC-004 Límites microbiológicos en áreas limpias**.
- g) Deben identificarse las colonias aisladas que sean sospechosas de patógenos utilizando para ello el **A-AC-001 Marcha de identificación microbiana**.
- h) En caso de ausencia de crecimiento microbiano, transcurrido el período de incubación, se debe reportar como $<1 \text{ UFC}/24 \text{ cm}^2$.

6.10 Muestreo de soluciones sanitizantes y jabón:

- 6.10.1 Las soluciones desinfectantes a utilizar en las áreas de producción deberán muestrearse y analizarse semanalmente. Deberán muestrearse en un recipiente estéril en una cantidad mínima de 100 ml.
- 6.10.2 Las soluciones desinfectantes del área de inyectables se deben muestrear semanalmente después de ser filtradas para analizarlas por medio de la prueba de esterilidad; deben muestrearse en un recipiente estéril en una cantidad mínima de 100 ml.
- 6.10.3 Las soluciones preparadas de jabón a utilizar en los procesos de limpieza de las áreas deberán muestrearse y analizarse mensualmente.

6.11 Registro y reporte de resultados:


- 6.11.1 Todas las muestras (de guantes, superficies, ambientes, aire comprimido) y sus resultados serán registrados en el **FO-AC-106 Monitoreo de ambientes, superficies y guantes de áreas limpias**.
- 6.11.2 Se archivará una fotocopia de los resultados de monitoreo de salas limpias en las Hojas Técnicas de fabricación de los productos en cuyo despeje de línea se hayan tomado muestras por parte de Microbiología con firma original del **Jefe de Microbiología**.
- 6.11.3 Los resultados de los análisis de las muestras de desinfectantes se registran en el **FO-AC-104 Análisis de esterilidades** o bien en el **FO-AC-103 Análisis de recuento microbiano en producto en proceso/ terminado** según corresponda.

6.12 Manejo de desviaciones:

- 6.12.1 El manejo de desviaciones se realiza según lo establecido en el **PEO-AC-046 Manejo de desviaciones**.
- 6.12.2 En el caso de desviaciones en los muestreos de guantes y manos se aplicará lo descrito en el **PEO-AC-050 Corrección de desviaciones en muestreos de manos, guantes y uso del uniforme**.

7. REVISIÓN DE ESTE DOCUMENTO

El presente documento deberá revisarse el 02/05/2027 o antes de su vencimiento si fuere necesario.

	<p>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</p> <p>MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS</p> <p>ASEGURAMIENTO DE CALIDAD</p>	<p>Código: PEO-AC-083-19</p> <p>Versión: 19</p> <p>Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027</p> <p>Página 8 de 15</p>
---	---	--

8. BIBLIOGRAFÍA

Farmacopea de los Estados Unidos de América 2008 (USP 40). <1116> Evaluación Microbiológica de Cuartos Limpios.

Reglamento técnico centroamericano RTCA 11.03.42:07 Productos farmacéuticos Medicamentos de uso humano. Buenas prácticas de manufactura para la industria farmacéutica.

9. ARCHIVO

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

10. ANEXOS

CODIGO	NOMBRE
A-AC-001	Marcha de identificación Microbiana
A-AC-003	Muestreo de manos
A-AC-004	Límites Microbiológicos en áreas limpias
A-AC-027	Ubicación de puntos de muestreo en áreas limpias

Tabla 1- Frecuencia del muestreo de las áreas limpias[§]

Área (Salas)	Frecuencia
Inyectables (salas 100 a 120)	Diario
Sueros (salas 200 a 215)	1 vez por semana
Líquidos y semisólidos (salas 300 a 314)	1 vez por semana
Sólidos (salas 400 a 420)	1 vez por semana
Pesado de materia prima (salas 500 a 506)	1 vez por semana
Área de siembra (Lab. Microbiología salas 701 a 703)	1 vez por semana
Área de muestreo de materia prima (salas 507 a 509)	1 vez por semana

[§] Esta programación de muestreo está sujeta a cambios según la programación de producción.


Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19 Versión: 19 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 9 de 15
--	--	---


Tabla 2. Tablas de corrección estadística según Feller

Feller conversion table for the 300×0.6 mm perforated lid.

Positive hole conversion table						Perforated lid 300×0.6 mm		MBV AG, CH-8712 Stäfa			
r = Number of colony forming units counted on 90 mm Petri dish						Pr = Probable statistical total					
r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
1	1	51	56	101	123	151	209	201	332	251	541
2	2	52	57	102	124	152	211	202	335	252	547
3	3	53	58	103	126	153	213	203	338	253	553
4	4	54	59	104	127	154	216	204	341	254	560
5	5	55	61	105	129	155	218	205	344	255	566
6	6	56	62	106	131	156	220	206	347	256	573
7	7	57	63	107	132	157	222	207	350	257	580
8	8	58	64	108	134	158	224	208	353	258	587
9	9	59	66	109	135	159	226	209	357	259	594
10	10	60	67	110	137	160	228	210	360	260	601
11	11	61	68	111	138	161	230	211	363	261	609
12	12	62	69	112	140	162	232	212	367	262	616
13	13	63	71	113	142	163	235	213	370	263	624
14	14	64	72	114	143	164	237	214	374	264	632
15	15	65	73	115	145	165	239	215	377	265	641
16	16	66	74	116	146	166	241	216	381	266	649
17	17	67	76	117	148	167	243	217	384	267	658
18	18	68	77	118	150	168	246	218	388	268	667
19	20	69	78	119	151	169	248	219	391	269	677
20	21	70	80	120	153	170	250	220	395	270	686
21	22	71	81	121	155	171	253	221	399	271	696
22	23	72	82	122	156	172	255	222	403	272	707
23	24	73	83	123	158	173	257	223	407	273	717
24	25	74	85	124	160	174	260	224	410	274	728
25	26	75	86	125	161	175	262	225	414	275	740
26	27	76	87	126	163	176	264	226	418	276	752
27	28	77	89	127	165	177	267	227	422	277	765
28	29	78	90	128	167	178	269	228	427	278	778
29	30	79	92	129	168	179	272	229	431	279	791
30	32	80	93	130	170	180	274	230	435	280	805
31	33	81	94	131	172	181	277	231	439	281	820
32	34	82	96	132	174	182	279	232	444	282	836
33	35	83	97	133	175	183	282	233	448	283	853
34	36	84	98	134	177	184	284	234	452	284	871
35	37	85	100	135	179	185	287	235	457	285	889
36	38	86	101	136	181	186	289	236	462	286	909
37	39	87	103	137	183	187	292	237	466	287	931
38	41	88	104	138	184	188	295	238	471	288	954
39	42	89	105	139	186	189	297	239	476	289	979
40	43	90	107	140	188	190	300	240	481	290	1006
41	44	91	108	141	190	191	303	241	486	291	1036
42	45	92	110	142	192	192	306	242	491	292	1069
43	46	93	111	143	194	193	308	243	496	293	1107
44	47	94	113	144	196	194	311	244	501	294	1150
45	49	95	114	145	198	195	314	245	507	295	1200
46	50	96	115	146	200	196	317	246	512	296	1260
47	51	97	117	147	202	197	320	247	518	297	1335
48	52	98	118	148	203	198	323	248	523	298	1435
49	53	99	120	149	205	199	326	249	529	299	1585
50	55	100	121	150	207	200	329	250	535	300	1885

The values in the table are calculated from the basic formula (Feller, 1950)


$$Pr = N \left[\frac{1}{N} + \frac{1}{N-1} + \frac{1}{N-2} + \dots + \frac{1}{N-r+1} \right]$$

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19 Versión: 19 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 10 de 15
--	--	--



11. CONTROL DE REGISTROS


CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
FO-AC-106 Registro de monitoreo de ambientes, superficies y guantes de áreas limpias	Jefe de Microbiología	En libro/electrónico	Aseguramiento de calidad/ Mantenimiento, Producción	5 años
FO-AC-116 Control de Autoclave Tuttnauer	Jefe de Microbiología	Libro	Aseguramiento de calidad	5 años
FO-AC-029 Control de Temperatura y Humedad de equipos de Aseguramiento de Calidad, Investigación &	Jefe de Microbiología	Folder	Aseguramiento de calidad	5 años

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN		Código:
	MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS		PEO-AC-083-19
	ASEGURAMIENTO DE CALIDAD		Versión: 19
			Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 11 de 15


CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
Desarrollo y Microbiología				
FO-AC-103 Análisis de recuento microbiano en producto en proceso/ terminado	Jefe de Microbiología	Libro	Aseguramiento de calidad	5 años

12. CAMBIOS EN EL DOCUMENTO


Versión	Descripción del cambio
1	Se cambió el texto: 1.3 Retirar la tapadera de la caja de Petri colocándola hacia arriba e insertar la caja de Petri con el medio de cultivo en el aparato. (Agar Nutritivo ó Agar Sabouraud).
2	Se incluyó el uso de agar Sabouraud 4% dextrosa para el muestreo de ambientes en las áreas de preparación y llenado de ampollas y viales.
3	Se cambiaron la referencias DE.18 y DE.66 por la DE.84 Se agregaron incisos en material y equipo Se agregaron los incisos 6.1 Frecuencia, 6.2 Registro y reporte de resultados y 6.3 Procedimiento. Se cambió en los títulos la palabra monitoreo por muestreo. En el inciso 2 de los métodos de impactación y sedimentación en Muestreo de ambientes se agregó agar nutritivo como el agar para realizar el muestreo. Cambio del límite de detección en el muestreo de ambientes, en el método de impactación a $<1 \text{ UFCm}^3$ En Muestreo de manos se agregó la utilización de agar CASO para el procedimiento y agar MacConkey para la detección de coliformes. En Muestreo de superficies se eliminó el uso de caldo CASO con tween 20, dejando solamente agua peptonada buferada; además se incluye solamente el procedimiento para el muestreo de superficies planas e irregulares, eliminándose las superficies “rugosas” y “cerradas”. Se incluyó un diagrama en la sección 9. Anexos que muestra la forma de operar el equipo MAS-100 para tomar una muestra de ambiente.
4	Esta versión cambia al nuevo formato y su contenido se adecúa a la nueva instalación de la planta de producción de Laboratorios Bonin. Se incluye la frecuencia del muestreo de las diferentes salas, se adjuntan los calendarios para el uso de desinfectantes de los dos semestres del año y la Tabla de corrección estadística según Feller para el reporte de resultados de recuento en aire de las salas.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 12 de 15


Versión	Descripción del cambio
	Se cambia diluyente para muestreo de superficies por solución salina 0.9% Se cambió el área de muestreo de superficies de 25 a 24 cm ² según está establecido en DE.84. Se cambió el código del Procedimiento de ingreso a la planta de producción de PEO-06 por el de PEO-PD-63.
5	Se elimina la palabra Libro de los registros. En el numeral 6.6 Registro y reporte de resultados se agrega que en el registro se especifica si la muestras fueron tomadas antes de iniciar el proceso de producción o bien durante.
6	Se modifica el numeral 6.6 Registro y reporte de resultados se indica que los resultados se registran en el archivo electrónico R01.MA.MB.11 Registro de análisis de muestras de ambientes, guantes y superficies que se comparte con Producción, Mantenimiento y Bodega de materia prima el cual se actualiza semanalmente. Se modifica el numeral 6.7 Manejo de desviaciones indicando que Producción y /o Bodega de materia prima deberán generar los planes de acción correspondientes que incluyan las acciones correctivas y/o preventivas a aplicar. Además que debe tomarse otra muestra como seguimiento del punto desviado.
7	En el numeral 6.2 Muestreo de Ambientes, inciso l) se indica que de aislarse alguna colonia sospechosa de algún patógeno en la muestra tomada la misma debe identificarse siguiendo en anexo A.MB.02 Marcha de identificación microbiana. En el numeral 6.3 Muestreo de guantes inciso h) se indica identificar mediante el A.MB.02 Marcha de identificación microbiana cualquier colonia sospechosa de patógeno. En el numeral 6.5 Muestreo de superficies, inciso o) se indica identificar mediante el A.MB.02 Marcha de identificación microbiana cualquier colonia sospechosa de patógeno y en el inciso p) se cambia el reporte de resultado de < 3 UFC/24 cm ² a < 2 UFC/24 cm ² .
8	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. Se cambia el título del procedimiento por el de Muestreo de ambientes, guantes manos y superficies en áreas limpias Se elimina el documento relacionado DE.28 que se integra al procedimiento en la sección de Anexos. Se agrega la definición de Área limpia en la sección de Definiciones. Se definen los puestos de trabajo con responsabilidad y autoridad sobre el procedimiento en la sección Responsabilidad y Autoridad. En la sección de Contenido se agrega el subtítulo 6.2 Generalidades y se agregan los incisos 6.7.8 al 6.7.13 que indican el área para realizar el plaqueo de las muestras, la indumentaria a colocarse para el ingreso a la misma y la forma de accionar el sistema de aire.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 13 de 15

Versión	Descripción del cambio
	<p>Se agrega el muestreo de aire comprimido con una frecuencia mensual y se cambia la frecuencia del muestreo del área de siembra del Laboratorio de Microbiología a semanal.</p> <p>Se agrega el muestreo de superficies con cajas Rodac.</p> <p>En la sección Anexos se modifica el contenido de la Tabla No. 1 Frecuencia del muestreo de las áreas (ambientes, superficies y guantes) cuyo nombre también se cambia por Frecuencia del muestreo de las áreas limpias.</p>
9	<p>Se cambia la responsabilidad de la ejecución del procedimiento: Los Auxiliares de Microbiología son responsables del muestreo de manos del personal de la planta de producción y los Inspectores de Aseguramiento de Calidad son responsables de tomar las muestras de ambientes, manos y superficies y de su envío al Laboratorio de Microbiología para su procesamiento.</p> <p>Se cambia la frecuencia del muestreo de manos de una vez al mes a una vez por semana, se indica que es en grupos al azar. Se elimina el texto “en la fecha que se considere conveniente”.</p> <p>Se reduce la frecuencia del muestreo de aire comprimido de mensual a quincenal y se agrega en el numeral 6.10 Manejo de desviaciones la indicación de iniciar una investigación si se detectan microorganismos patógenos en una muestra para determinar su procedencia y la aplicación de acciones correctivas para evitar reincidencia.</p>
10	<p>Se modifica el numeral 6.12.1 de Manejo de desviaciones. Se indica que se archivará una copia de las correcciones/acciones correctivas que se generen por parte del departamento de Producción.</p> <p>Se agrega el numeral 6.12.2 referente al manejo desviaciones en resultados de soluciones desinfectantes.</p> <p>Se incluye el numeral 6.10 Muestreo de soluciones sanitizantes.</p>
11	<p>Se incluye en 4. DEFINICIONES la definición de Condición de funcionamiento (operacional) a la cual se hacer referencia en el numeral 6.3 Frecuencia del muestreo.</p>
12	<p>Se modificó el código FO-CC-103 por FO-AC-103 Registro de Análisis de Recuento Microbiano de Producto en proceso/terminado.</p> <p>Se modificó el código FO-CC-104 por FO-AC-104 Análisis de esterilidades.</p> <p>Se modificó el código FO-CC-106 por FO-AC-106 Monitoreo de ambientes, superficies y guantes de áreas limpias.</p>
13	<p>Se agrega la rotulación de las cajas de Petri con el nombre de la persona a muestrea en el numeral 6.8 Muestreo de manos.</p> <p>En el numeral 6.11 Registro y reporte de resultados se agrega que se archivará una copia del monitoreo de salas limpias en las Hojas Técnicas de los productos en cuyo despeje se tomen muestras por parte de Microbiología. Consiste en una fotocopia del registro FO-AC-106 Monitoreo de ambientes, superficies y guantes de áreas limpias. En el numeral 6.12 Manejo de desviaciones, se agrega que las muestras</p>

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 14 de 15

Versión	Descripción del cambio
14	<p>Se agrega en el numeral 6.1 Materiales el agar tripticasa soya con polisorbato y lecitina para las cajas RODAC.</p> <p>Se cambia el volumen de muestreo en litros en el numeral 6.4.6 , para las áreas de clasificación ISO 8,7 y 6 se aspiran 250 lts y para los flujos laminares 500 lts.</p> <p>Se cambia la frecuencia de muestreo en la Tabla 1 para el área de inyectables de 2 veces por semana a diario.</p>
15	<p>En documentos relacionados se agrega el anexo A-AC-008 Reporte de acción correctiva desviaciones microbiológicas de superficies de áreas limpias en donde se documentan las acciones correctivas generadas por parte del departamento de producción al momento de reportarse una desviación microbiológica de superficie en área limpia. En el numeral 6.12 (6.12.1) se hace referencia a éste documento.</p>
16	<p>En el Alcance del documento se incluye el Área de muestreo de materia prima</p> <p>Se cambia el nombre del equipo muestreador de aire MAS-100 a MAS-100 NT pues el uso del modelo anterior se discontinúa.</p> <p>En la Tabla 1 se agrega el muestreo del área de muestreo de materia prima y su frecuencia.</p> <p>Se agrega la tabla de conversión de Feller para tapa perforada de 300 agujeros.</p> <p>Se cambia el Diagrama 1: se elimina la guía de operación gráfica del equipo la cual está detallada en el procedimiento de uso del mismo, dejando solamente en dicho diagrama la indicación de las partes del equipo.</p>
17	<p>Se elimina de Documentos relacionados el código DE-84.</p> <p>Del numeral 6.1 Materiales, se eliminan las cajas de Petri y guantes de látex.</p> <p>Del inciso 6.2 Generalidades, se agregó el anexo A-AC-027 Ubicación de puntos de muestreo en áreas limpias, referente a la ubicación gráfica de los puntos de muestreo.</p> <p>Se cambia la redacción del numeral 6.3.1. Frecuencia del muestreo.</p> <p>En el numeral 6.4.6 se cambia el volumen de muestreo de 1 litro a 0.5 litros pues es incorrecto</p> <p>En los numerales 6.4.13 y 6.5.4 se cambia la palabra identificarse por clasificarse.</p> <p>En numeral 6.5.1 se agregan salas de producción para muestreo de aire comprimido.</p> <p>En numeral 6.6.10 se corrige forma de reportar se coloca <1 UFC/guante.</p> <p>En el numeral 6.8.6 se elimina el sistema de identificación API 20E.</p> <p>En el numeral 6.9.12 (literal a) se corrige la forma de rotular y (literal h) se corrige la forma de reportar de 0 UFC/24 cm² a <1 UFC/24cm².</p> <p>En numeral 6.11.1 se elimina parte del texto referente a archivo electrónico compartido.</p> <p>En 10. Anexos se modifica lo siguiente:</p> <p>Se agrega el anexo de ubicación de puntos de muestreo en salas limpias.</p> <p>En la Tabla 1 se elimina la primera nota debajo de la misma.</p> <p>Se elimina la tabla de corrección estadística según Feller correspondiente a cabezal de 400 agujeros de equipo muestreador.</p>

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN MUESTREO DE AMBIENTES, GUANTES, MANOS Y SUPERFICIES EN ÁREAS LIMPIAS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-083-19
		Versión: 19
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 15 de 15

Versión	Descripción del cambio
	Se agregaron todos los formatos y anexos mencionados en el procedimiento en los diferentes apartados. Cambio a USP 40.
18	En el numeral 3 documentos relacionados, se incluye PEO-AC-046 Manejo de Desviaciones. En numeral 6.1.4 se eliminan las cajas de agar nutritivo, En numeral 6.1.4 se modifica Cajas de agar EMB ó Chromocult por MacConkey. Numeral 6.4 1 se modifica a leer: Para el monitoreo de ambientes controlados se utiliza el método de impactación directa (de tamiz) utilizando el equipo MAS-100 NT y el método de sedimentación (para el muestreo del proceso de llenado en ambiente ISO 5. En numeral 6.4.3 se modifica: Rotular una caja de agar CASO con el número de sala, y fecha del muestreo. En numeral 6.4.7 lee correctamente: El equipo debe colocarse sobre una superficie estable El numeral 6.4.10 lee correctamente: Debe colocarse una pareja de cajas para muestreo de ambiente (agar CASO y Sabouraud) dentro de los equipos de llenado (ambientes ISO 5) ubicados en las salas 214, 117 y 114; éstas deben exponerse al momento de iniciar el llenado y la exposición debe ser de un mínimo de 3 horas. Se modifican los numerales 6.10 y 6.12.