 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 1 de 7

1. Objetivo:

Establecer la metodología para comprobar la ausencia de microorganismos viables en los productos inyectables líquidos que requieren la condición de estéril, utilizando el método directo.

2. Alcance:

Es aplicable al área de microbiología del Laboratorio de Control de la Calidad de la UEB Fábrica de Producción de Inyectables.

3. Referencias:

3.1 NC 26-12:93. Medicamentos. Esterilidad. Método de ensayo.

4. Términos y Definiciones:

4.1 Medio de cultivo: Un medio de cultivo es una técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas.

5. Responsabilidades:

5.1 Jefe de laboratorio:

- a) Controlar que se cumpla todo lo descrito en el procedimiento.
- b) Aprobar los resultados emitidos por técnico analista y revisados por el especialista en análisis microbiológico.

5.2 Especialista en análisis microbiológico:

- a) Revisa y verificar los resultados.

5.3 Técnico analista:


- a) Esterilizar los materiales.
- b) Elaborar los medios de cultivo que se usarán.
- c) Realizar el ensayo.

6. Desarrollo

6.1 Condiciones de seguridad:

Las descritas en la NC 26-12:93. Medicamentos. Esterilidad. Método de ensayo. Punto 3. Requisitos del cuarto limpio y vestuario del personal.

Aprobado por	Nombre y Apellidos	Cargo	Firma	Fecha
	Abraham Castro Salgado	Director UEB Inyectables		

 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 2 de 7

6.2 Equipos, materiales, reactivos:

Equipos:


- Autoclave horizontal.
- Gabinete de seguridad clase 2.
- Balanza técnica.
- Incubadora para (30-35°C) y (20-25 °C).
- Phmetro.
- Horno.

Materiales

- Tubos de cultivos de 25 x200 mm. y de 25x 150 mm.
- Cristalería General de Laboratorio.
- Jeringuillas de 2mL, 5mL, 10mL.
- Algodón estéril.
- Torundas estériles.
- Cepillos para el lavado de las manos.
- Asa bacteriológica.
- Portaobjetos.
- Mechero de Bunsen.
- Cestos Metálicos para tubos.
- Papel Kraft.
- Probetas graduadas de 1, 2 litros.
- Beaker 250, 300,500, mL.
- Vestuario para trabajar en área estéril (antipartículas).
- Guantes de Cirugía estériles.
- Lápiz cristalográfico o marcador.
- Gradillas metálicas apropiadas para colocar los tubos.

Reactivos.

- Medio caldo digerido de caseína y frijol de soya o Caldo triptona soya (CST).
- Medio fluido de tioglicolato.(TIO)
- Solución reguladora de fosfato PH 7.2. (Buffer)
- Medio de agar triptona soya (AST)
- Juego de reactivo de Gram.
- Alcohol al 70 %.
- Antimicrobianos u otros desinfectantes.

 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 3 de 7

6.3 Operaciones preliminares:

El técnico en ensayos físicos químicos y mecánicos elaborará los medios de cultivo acorde a las indicaciones del fabricante y preparará los materiales que se usaran en el ensayo de esterilidad.

6.4 Desinfección y esterilización de materiales:

Después de revisar que todo el material a esterilizar esté limpio, sin ralladuras, ni roto, el técnico analista colocará a las pipetas una torunda de algodón que no quede ni muy floja ni muy justa, envolviéndolas con una tira de papel empezando por la punta a todo lo largo de la misma y enrollando el sobrante del papel al final de la pipeta.

Toda la pipeta debe quedar perfectamente cubierta, verificando que el papel no presente perforaciones sobre todo en las puntas. En el caso de las placas petris, se debe envolver con papel kraft individualmente o en pilas de 5-8 placas. En el caso de los tubos de cultivo se taparan estos con tapón de algodón de forma que ajuste bien la boca del tubo.


Las pinzas y las tijeras se envolverán de modo independiente con papel kraft, atándolas con cordel o liga.

La ropa limpia se envolverá en papel kraft para su esterilización.

Se esterilizarán los materiales de vidrio por calor seco a una temperatura de $180^{\circ}\text{C} \pm 10$ grados durante 1h en horno, o en autoclave según los patrones de carga que se muestran en la siguiente tabla:

# Carga	Materiales	Condiciones de esterilización	
		Presión	Minutos
1	Vidrio	102.96 kph (1.06 kt cm ²)	20
2	Plásticos esterilizables, hisopos de algodón, ropa, guantes	102.96 kpa f/ cm ²	30
3	Medios sólidos, líquidos de volúmenes iguales o inferiores a un litro	Las recomendadas por el fabricante	

Al terminar el ciclo de esterilización para las cargas 1 y 2, se retirara el material y se colocara en el horno a 70°C durante 2 horas para su total secado. Luego guardara para su posterior uso.

 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 4 de 7

6.5 Ensayo de esterilidad por el método directo:

El ensayo se debe realizar en condiciones asépticas en un gabinete o flujo laminar horizontal.

Una vez dentro del cuarto de siembra, se limpiará la superficie de los frascos con un agente antimicrobiano (alcohol al 70 %), no comenzando el ensayo hasta que no estén completamente secas las superficies de los frascos para evitar que los restos del agente antimicrobiano caigan dentro del medio de cultivo y provoque la inhibición de crecimientos microbianos.

Los tubos de cultivos de Tioglicolato y Caldo soya triptona estarán rotulados con el nombre del producto, lote o identificación de la muestra a ensayar, y la fecha de realización del ensayo.

Durante el ensayo se debe exponer una placa para monitorear el ambiente.

Se procede a extraer de forma aséptica con la jeringuilla o pipeta estéril el producto inoculando 1mL del mismo en 15 mL de cada medio de cultivo respectivamente.


Una vez inoculados los tubos del medio de cultivo de Tioglicolato se incubarán a una temperatura entre 30-35°C durante 14 días, este medio es para detectar microorganismos aeróbicos, anaerobios facultativos y anaerobios exigentes.

Simultáneamente los tubos inoculados del medio de cultivo de Caldo soya triptona se incubarán a una temperatura de 20-25 °C por el mismo periodo de tiempo. Este medio es para detectar presencia de hongos y levaduras y microorganismos aeróbicos de crecimiento lento.

Conjuntamente con los tubos de medios inoculados se incubarán los medios sin inocular como controles negativos, además, se adicionarán a la prueba la jeringuilla o pipeta empleados en el ensayo.

Periódicamente, durante los 14 días de incubación se chequearán ambos medios de cultivos y se registrarán los resultados obtenidos en el registro ensayo de esterilidad.

Cuando el producto por su naturaleza es turbio y no se puede observar bien el crecimiento microbiano en el medio de cultivo se hará una resiembra en un periodo de tiempo entre 5-7 días, transfiriendo 1mL de cada tubo asépticamente a otros tubos que contengan medio fresco, continuando el chequeo hasta completar los 14 días contando desde la siembra inicial. Si no hay aparición de crecimiento se aceptará el lote ya que pasa la prueba.

 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 5 de 7

Si se observa crecimiento microbiano se hará una revisión al ensayo de Esterilidad (monitoreo ambiental, materiales usados, manipulación y controles negativos). Si algo en el procedimiento es inadecuado entonces se invalida la prueba y por lo tanto se realiza una reprueba con el doble de las unidades que se utilizaron en la prueba.

Si la reprueba sale también contaminada, entonces rechace el lote, según el procedimiento general PG 2-02-5 Producto No Conforme. Si no hay aparición de crecimiento se aceptará el lote ya que pasa la reprueba.

7. Registros:

7.1 R₁ 2-05-15 Informe de Resultado, contiene el nombre del producto, número de lote, presentación, fecha de producción y vencimiento, fecha de inicio y terminación del ensayo, descripción del ensayo, lo que especifica la norma y el resultado del ensayo.


7.2 R₂ 2-05-15 Ensayo de Esterilidad, contiene cantidad de las muestras, número de lote, presentación, fecha de inicio y terminación del ensayo, nombre de la línea que lo produjo, fecha de elaboración de los medios de cultivo, datos de la siembra y la incubación, así como el resultado del ensayo y alguna observación.

Los registros se conservarán por un periodo de tres años en archivo pasivo.

8. Anexos:

8.1 Anexo 1 R₁ 2-05-15 Informe de Resultado.

8.2 Anexo 2 R₂ 2-05-15 Ensayo de Esterilidad.

 Empresa de Productos Inyectables	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	PE 2-05-15
	ENSAYO DE ESTERILIDAD	Revisión:01
		Página 6 de 7

Anexo 1 R₁ 2-05-15 Informe de Resultado

 Empresa de Productos Inyectables	INFORME DE RESULTADOS	R ₁ 2-05-15
--	------------------------------	-------------------------------

Producto:		Presentación:	Caso:
Lote:		F. Producción:	F. Vencimiento:
Inicio de análisis:		Terminación:	
Descripción del análisis	Norma	Resultado	Conformidad

Observaciones: _____

Elaborado por:		
Cargo:		
Revisado por:		
Cargo:		
Aprobado por:		
Cargo:		

