

REPUBLICA DE CHILE
 MINISTERIO DE SALUD
 DIVISIÓN JURÍDICA
 DIVISIÓN POLÍTICAS PÚBLICAS
 SALUDABLES Y PROMOCIÓN

JBOY CCG / BSC / TPQ / EAR / MOP



RECIBIDO

CONTRALORIA GENERAL
 TOMA DE RAZON
 RECEPCION

Depart. Jurídico		
Dep. T.R. y Regist.		
Depart. Contabil.		
Sub.Dep. C. Central		
Sub.Dep. E. Cuentas		
Sub.Dep. C.P. y B.N.		
Depart. Auditoría		
Depart. VOPU y T		
Sub. Dep. Munip.		

REFRENDACION

Ref. por \$.....
 Imputación.....
 Anot. por.....
 Imputación.....
 Deduc. Dcto.....

APRUEBA NORMA TÉCNICA N° 180
 SOBRE "BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL) PARA LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA FARMACÉUTICA"

EXENTO N° 919 /

SANTIAGO, 30 SET. 2015

VISTOS: Estos antecedentes; lo dispuesto en el D.F.L. N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud, que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado del D.L. N° 2763/79 y de las leyes N°18.933 y N°18.469; en el D.F.L. N° 725, de 1967, Código Sanitario; en el decreto supremo N° 3, de 2010, del Ministerio de Salud, Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos de Uso Humano; en el decreto supremo N° 28, de 2009, del Ministerio de Salud; en la Resolución N° 1.600, de 2008, de la Contraloría General de la República, y

CONSIDERANDO:

1. Que, el artículo 5 N° 5 del decreto supremo N° 3, de 2010, del Ministerio de Salud, Reglamento del Sistema Nacional de Control de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano, define las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) como el "Conjunto de reglas, procedimientos operativos y prácticas que garantizan que los datos generados por un sistema de control de calidad son reproducibles y representativos, asegurando la validez y confiabilidad de los resultados; estas normas técnicas serán aprobadas por decreto supremo del Ministerio, a propuesta del Instituto".

2. Que, en base a la norma antes señalada, el Ministerio de Salud dictó el decreto exento N° 543, de 2012, que Aprueba la Norma Técnica N° 139 de "Buenas Prácticas de Laboratorio".

3. Que, a fin de complementar la norma técnica señalada en el considerando anterior, el Instituto de Salud Pública de Chile, mediante ORD. N° 1911, de 2014, propuso la Norma Técnica de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica.

4.- Que, la propuesta del Instituto de Salud Pública de Chile corresponde a la traducción oficial del anexo 2 de la Serie de Informes Técnicos N° 961, de 2011, del Comité de Expertos en Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas de la OMS, realizada por el Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio de la Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) y emitida como Documento Técnico N° 11 de dicha entidad.

5. Que, mediante Memorando B35 N° 126 y B35 N° 561, ambos de 2015, la División de Políticas Públicas Saludables y Promoción, de la Subsecretaría de Salud Pública, solicitó la aprobación de la norma técnica en comento.

6.- Que, en mérito de lo anterior, dicto el siguiente

DECRETO

180 1°.- **APRUÉBASE** la Norma Técnica N° sobre "Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica".

2°.- La norma técnica aprobada por el presente instrumento consta de dos (2) documentos: el primero, de 35 páginas, constituido por las "Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica", correspondiente al Informe Técnico N° 11 de la Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) y el segundo, de 5 páginas, constituido por la "Guía de Autoevaluación de BPL para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica".

3°.- Una copia debidamente visada de este decreto y de la norma técnica que se aprueba se mantendrá en el Departamento de Políticas Farmacéuticas y Profesiones Médicas de la División de Políticas Públicas Saludables y Promoción, de este Ministerio, el que será responsable de su oportuna publicación en la página web del Ministerio de Salud, www.minsal.cl, para su adecuado conocimiento y difusión; debiendo asegurar, además, que las copias que se emitan guarden estricta concordancia con el texto aprobado.

4°.- La norma técnica que se aprueba a través del presente decreto entrará en vigencia al cabo de 18 meses contados desde su publicación en el Diario Oficial.

ANÓTESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE

POR ORDEN DE LA PRESIDENTA DE LA REPÚBLICA



DRA. CARMEN CASTILLO TAUCHER
MINISTRA DE SALUD

Red PARF Documento Técnico N° 11

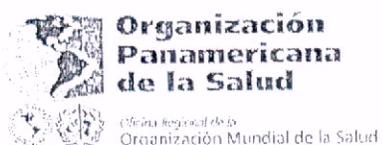
Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica

Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio

Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica

Traducido de: World Health Organization. Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961).

Washington, DC
Enero de 2013



Edición original en inglés: Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961). © World Health Organization, 2011

Organización Mundial de la Salud

Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica. Washington, DC: OPS, 2012. (Red PARF Documento Técnico N° 11).

©Organización Mundial de la Salud, 2013. Todos los derechos reservados.

La edición en español fue preparada por la Organización Panamericana de la Salud, Área de Sistemas de Salud basados en Atención Primaria de Salud.

Las solicitudes de autorización para reproducir, íntegramente o en parte, esta publicación deberán dirigirse a Servicios Editoriales, Área de Gestión de Conocimiento y Comunicaciones, Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., Estados Unidos de América (correo electrónico: pubrights@paho.org).

Las publicaciones de la Organización Panamericana de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Secretaría de la Organización Panamericana de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Panamericana de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan en las publicaciones de la OPS letra inicial mayúscula.

La Organización Panamericana de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Panamericana de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.



Índice

Antecedentes.....	v
Introducción y alcance del documento	vii
Glosario	ix
Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica	1
1. Personal.....	1
2. Medio ambiente	2
3. Validación de métodos de ensayo	5
4. Equipamiento.....	5
5. Reactivos y medios de cultivo	9
6. Materiales de referencia y cultivos de referencia	11
7. Muestreo.....	12
8. Manejo e identificación de muestras	13
9. Eliminación de residuos contaminados	14
10. Garantía de calidad de resultados y control de calidad de desempeño	14
11. Procedimientos de ensayos.....	14
12. Informes de ensayos	14
Referencias	15
Apéndice 1:	
Ejemplos de zonas en las que se podrían realizar las operaciones	17
Apéndice 2:	
Ejemplos de mantenimiento de equipos.....	19
Apéndice 3:	
Ejemplos de chequeos e intervalos de calibración para diferentes equipos de laboratorio	21
Apéndice 4:	
Ejemplos de calificación y monitoreo de equipos.....	23
Apéndice 5:	
Uso general de cultivos de referencia	25





Antecedentes

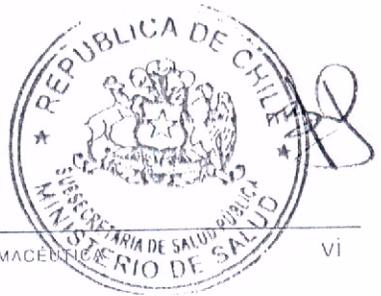
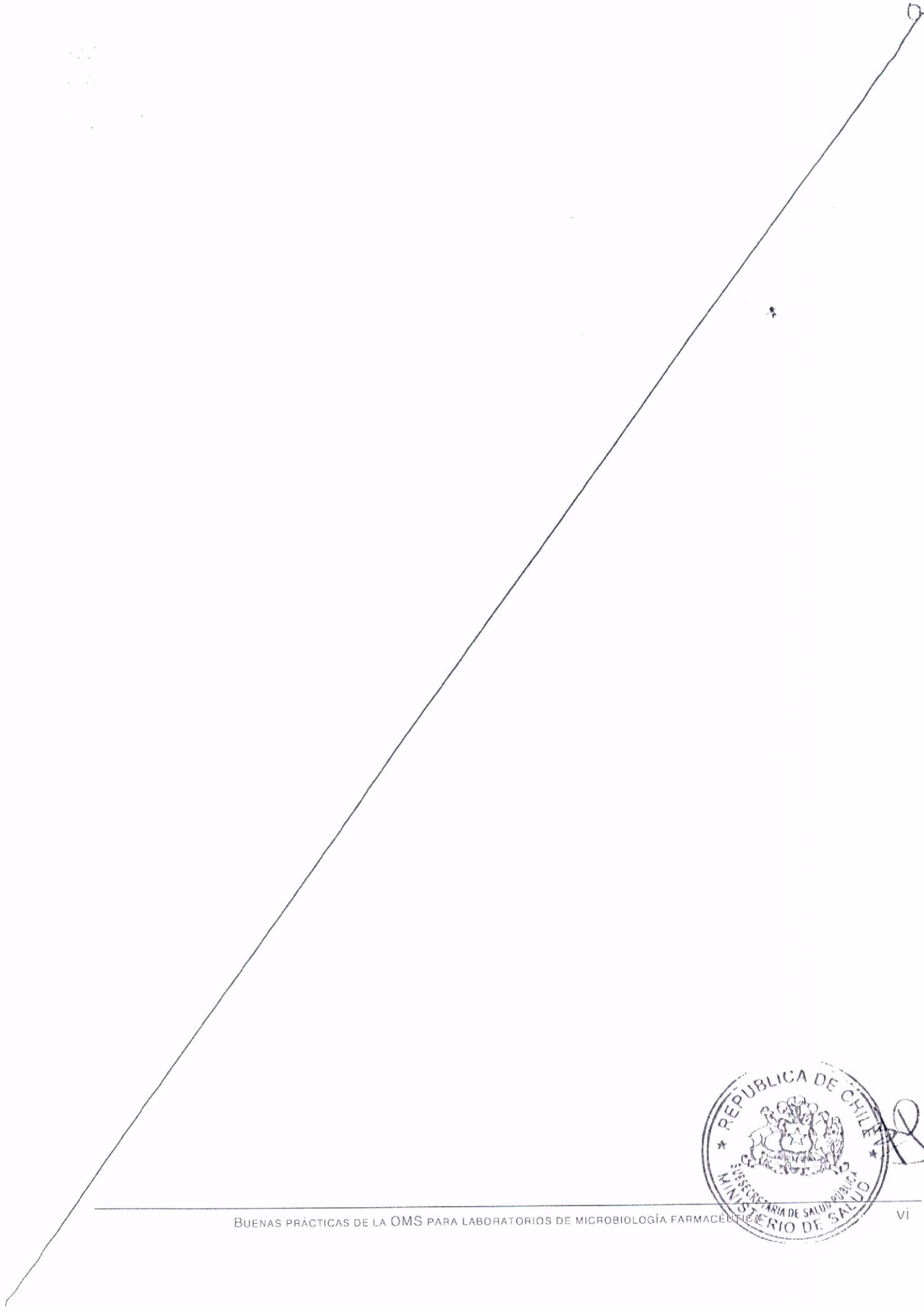
El Comité de Expertos sobre Especificaciones para Productos Farmacéuticos de la OMS adoptó en 2009 una versión revisada de las *Buenas prácticas para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos* (1).

Durante las inspecciones realizadas para la precalificación de laboratorios, los inspectores habían observado que algunos de los textos de estas guías podrían beneficiarse de lineamientos adicionales, con especial énfasis en microbiología.

En consecuencia, el Comité de Expertos recomendó que el Secretariado de la OMS iniciara el proceso de desarrollo de un nuevo texto sobre buenas prácticas para laboratorios de microbiología farmacéutica.

Se propone el siguiente texto para cubrir este tipo específico de laboratorio.





Introducción y alcance del documento

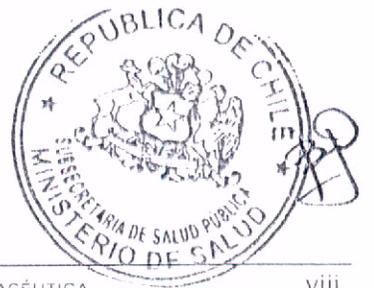
Los laboratorios de microbiología farmacéutica pueden involucrarse en:

- ensayos de esterilidad;
- detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) y pruebas de endotoxinas bacterianas en diferentes materiales (ej. materias primas, agua), productos, superficies, vestimentas y el medio ambiente, y
- valoraciones usando microorganismos como parte del sistema de pruebas.

Estas guías están destinadas a todos los laboratorios microbiológicos implicados en las actividades mencionadas anteriormente, sean ellos laboratorios independientes o un departamento o unidad dentro de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos.

Estas guías están basadas, y suplementan los requisitos descritos, en *Buenas prácticas para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos* (1); *Guías generales para el establecimiento, mantenimiento y distribución de sustancias químicas de referencia. Revisión* (2); *Farmacopea Internacional, Cuarta Edición* (3); *Primer Suplemento de la Farmacopea Internacional, Cuarta Edición* (4); y la *Norma ISO/IEC 17025* (5).





Glosario

calibración

Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición (especialmente de pesada), registro y control, o los valores representados por una medición, y los correspondientes valores conocidos de un estándar de referencia. Se deben establecer límites de aceptación de los resultados de la medición.

cepas de referencia

Microorganismos definidos al menos a nivel de género y especie, catalogados y descritos de acuerdo a sus características e indicando preferiblemente su origen (6). Se obtienen normalmente de una colección nacional o internacional reconocida.

cultivos de referencia

Término colectivo para la cepa de referencia y los stocks de referencia.

cultivo de trabajo

Subcultivo primario de un stock de referencia (6).

especificidad (selectividad)

Capacidad del método para detectar la gama requerida de microorganismos que podrían estar presentes en la muestra.

límite de cuantificación

Aplicado a ensayos microbiológicos cuantitativos. Número más bajo de microorganismos, dentro de una variabilidad definida, que se pueden contar bajo las condiciones experimentales del método en evaluación.

límite de detección

Número más bajo de microorganismos que se pueden detectar, pero en cantidades que no pueden estimarse exactamente.

material de referencia

Material suficientemente homogéneo y estable con relación a una o más propiedades especificadas, el cual se ha establecido que es apto para el uso previsto en un proceso de medición.

material de referencia certificado

Material de referencia, caracterizado por un procedimiento metrológicamente válido para una o más propiedades especificadas, acompañado por un certificado que proporciona el valor de la propiedad especificada, su incertidumbre asociada y una declaración de trazabilidad metrológica.

método de referencia

Método que ha sido validado como apto para su uso, contra el cual se puede comparar un método alternativo.



precisión

Grado de concordancia entre los resultados individuales.

repetibilidad

Grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma medida y bajo las mismas condiciones de medición (adaptado de ISO).

reproducibilidad

La reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios.

robustez

Capacidad del procedimiento para proporcionar resultados analíticos de exactitud y precisión aceptables bajo una variedad de condiciones.

sensibilidad

Fracción del número total de cultivos o colonias positivos que son correctamente asignados en una presunta inspección (7).

stocks de referencia

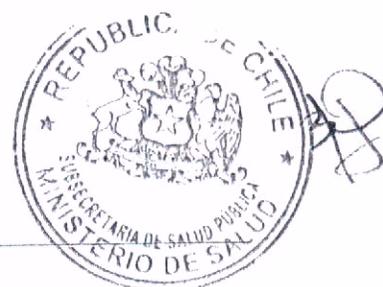
Conjunto de cultivos individuales idénticos obtenidos por medio de un único subcultivo de una cepa de referencia (6).

validación

Acción de demostrar, de acuerdo con los principios de las guías y regulaciones de buenas prácticas de calidad (BPx, o GxP por sus siglas en inglés) que un procedimiento, proceso, equipo (incluyendo el software o hardware usado), material, actividad o sistema conduce en forma real y consistente a los resultados esperados.

verificación

Aplicación de métodos, procedimientos, ensayos y otras evaluaciones, además del monitoreo, para determinar el cumplimiento con los principios de BPx.



Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica

1. Personal

- 1.1 Los ensayos microbiológicos deben ser realizados y supervisados por una persona experimentada, calificada en microbiología o su equivalente. El personal debe tener entrenamiento básico en microbiología y experiencia práctica relevante antes de ser autorizado a realizar el trabajo que implican los ensayos microbiológicos.
- 1.2 Se deben mantener descripciones de los puestos de trabajo vigentes para todo el personal involucrado en ensayos y/o calibraciones, validaciones y verificaciones. El laboratorio también debe mantener registros de todo el personal técnico, describiendo sus áreas de competencia, entrenamiento y experiencia.
- 1.3 Si el laboratorio incluye opiniones e interpretaciones de los resultados de los ensayos en los informes, estos deben ser hechos por personal autorizado con experiencia adecuada y conocimientos relevantes de la aplicación específica incluyendo, por ejemplo, requisitos regulatorios y tecnológicos y criterios de aceptación.
- 1.4 La gerencia del laboratorio debe asegurar que todo el personal haya recibido un entrenamiento adecuado para la ejecución competente de los ensayos y el manejo de los equipos. Esto debe incluir entrenamiento en técnicas básicas, ej. vertido de medio de cultivo en placas, recuento de colonias, técnica aséptica, preparación de medios, dilución en serie y técnicas básicas de identificación, determinando la aceptabilidad con criterios objetivos cuando sea relevante. El personal solo puede realizar ensayos de muestras si se ha reconocido su competencia para realizar dichos ensayos o los realizan bajo supervisión adecuada. Se debe monitorear la competencia de manera continua con la previsión de un reentrenamiento, cuando sea necesario. Cuando un método o técnica no se usa regularmente, se debe verificar la competencia del personal para realizar dicho ensayo antes de llevarlo a cabo. En algunos casos es aceptable relacionar la competencia a una técnica general o instrumento en uso en lugar de relacionarla a métodos particulares.
- 1.5 El personal debe estar entrenado en los procedimientos necesarios para la contención de microorganismos dentro de las instalaciones del laboratorio.
- 1.6 El personal debe estar entrenado en el manejo seguro de microorganismos.



2. Medio ambiente

2.1 Dependencias

- 2.1.1 Los laboratorios microbiológicos y algunos equipos de apoyo (ej. autoclaves y material de vidrio) deben ser de dedicación exclusiva y estar separados de otras áreas, especialmente de las áreas de producción.
- 2.1.2 Los laboratorios microbiológicos deben estar diseñados para adaptarse a las operaciones que se llevan a cabo en los mismos. Debe haber espacio suficiente para todas las actividades de manera tal de evitar confusiones, contaminación y contaminación cruzada. Debe haber espacio suficiente y adecuado para las muestras, microorganismos de referencia, medios (con enfriamiento, si fuera necesario), ensayos y registros. Debido a la naturaleza de algunos materiales (ej. medios de cultivo estériles vs. microorganismos de referencia o cultivos incubados), puede ser necesario disponer de lugares de almacenamiento separados.
- 2.1.3 Los laboratorios deben diseñarse adecuadamente y debe tenerse en cuenta la aptitud de los materiales de construcción para permitir una adecuada limpieza y desinfección y minimizar el riesgo de contaminación.
- 2.1.4 Los suministros de aire para los laboratorios y para las áreas de producción deben estar separados. Los laboratorios de microbiología deben contar con unidades de manejo de aire separadas y otras provisiones, incluyendo controles de temperatura y humedad cuando se requieran. El aire suministrado al laboratorio debe ser de calidad adecuada y no debe representar una fuente de contaminación.
- 2.1.5 El acceso al laboratorio de microbiología debe estar restringido al personal autorizado. El personal debe estar al tanto de:
- los procedimientos adecuados de ingreso y salida, incluyendo la vestimenta;
 - el uso previsto de un área determinada;
 - las restricciones impuestas al trabajo dentro de tales áreas;
 - las razones por las cuales se imponen tales restricciones, y
 - los niveles apropiados de contención.
- 2.1.6 Las actividades del laboratorio, tales como la preparación de la muestra, la preparación de medios de cultivo y de equipos y el recuento de microorganismos, deben estar segregadas en espacios diferentes o al menos por tiempos, con la finalidad de minimizar el riesgo de contaminación cruzada y los resultados falsos positivos o falsos negativos. Cuando se utilizan áreas no dedicadas se deben aplicar los principios de la gestión de riesgos. El ensayo de esterilidad siempre debe realizarse en un área de dedicación exclusiva.
- 2.1.7 Se debe considerar el diseño de áreas clasificadas que sean adecuadas para las operaciones a desarrollar dentro del laboratorio de microbiología. La clase



ficación se debe basar en la criticidad del producto y la operación a llevarse a cabo en el área. El ensayo de esterilidad debe realizarse en la misma clase de área usada para las operaciones de fabricación estéril/aséptica de productos. El Apéndice 1 presenta recomendaciones para la clasificación de zonas.

- 2.1.8 En general, los equipos de laboratorio no deben moverse rutinariamente entre áreas de diferente clase de limpieza para evitar la contaminación cruzada accidental. Los equipos de laboratorio utilizados en el laboratorio de microbiología no deben usarse fuera del área de microbiología, a menos que existan precauciones específicas para prevenir la contaminación cruzada.

2.2 Monitoreo ambiental en el laboratorio

- 2.2.1 Cuando sea necesario y apropiado (ej. en áreas para ensayos de esterilidad) debe establecerse un programa de monitoreo ambiental que cubra, por ejemplo, el uso de monitoreo de aire activo, placas de sedimentación o placas de contacto, diferenciales de presión y temperatura. Se deben definir límites de alerta y de acción. Debe realizarse un análisis de tendencia de los resultados del monitoreo ambiental.

2.3 Limpieza, desinfección e higiene

- 2.3.1 Se debe contar con un programa documentado de limpieza y desinfección. Cuando sea relevante, se deben considerar los resultados del monitoreo ambiental.
- 2.3.2 Se debe contar con un procedimiento para el manejo de derrames.
- 2.3.3 Se debe disponer de instalaciones adecuadas para lavado y desinfección de manos.

2.4 Instalaciones para el ensayo de esterilidad

- 2.4.1 Las instalaciones para el ensayo de esterilidad tienen requisitos ambientales específicos para asegurar la integridad de los ensayos realizados. Las Buenas prácticas de fabricación (BPF) de la OMS para productos farmacéuticos estériles (8) requieren la ejecución del ensayo de esterilidad y especifican los requisitos para el mismo. Esta sección detalla los requisitos de cuarto limpio para una instalación de ensayo de esterilidad.
- 2.4.2 El ensayo de esterilidad se debe realizar bajo condiciones asépticas, las cuales deben ser equivalentes a las normas de calidad de aire requeridas para la fabricación aséptica de productos farmacéuticos. Las dependencias, servicios y equipos deben estar sujetos a un proceso de calificación apropiado.
- 2.4.3 El ensayo de esterilidad se debe llevar a cabo dentro de una zona protegida con flujo de aire unidireccional de Grado A o una cabina de bioseguridad (si se justifica), que debe localizarse dentro de un cuarto limpio con un entorno de Grado B. Alternativamente, el ensayo puede realizarse dentro de un aislador.



Se debe tener cuidado con el diseño de las instalaciones y los patrones de flujo de aire de los ambientes, para asegurar que el flujo de aire unidireccional no sea perturbado.

- 2.4.4 La clasificación de cuartos limpios y los equipos de manejo de aire de las instalaciones para ensayos de esterilidad deben recalificarse por lo menos una vez al año por una persona o contratista competente. El ambiente debe cumplir con los límites de partículas no viables y viables y se debe realizar la verificación de la integridad de los filtros de partículas de aire de alta eficiencia (HEPA, por sus siglas en inglés). No obstante, se puede justificar una frecuencia alternativa de monitoreo basada en la gestión de riesgos de calidad (ORM, por sus siglas en inglés). Se debe documentar el mapeo de los puntos de muestreo para el monitoreo rutinario, así como el tiempo de exposición, y debe especificarse en procedimientos escritos la frecuencia de todos los tipos de monitoreo microbiológico ambiental.
- 2.4.5 El aire suministrado a las zonas de Grado A y B debe filtrarse a través de filtros HEPA terminales.
- 2.4.6 Deben proveerse alarmas apropiadas del flujo de aire, diferenciales de presión e instrumentos indicadores [BPF: Sistemas de calentamiento, ventilación y aire acondicionado para formas farmacéuticas no estériles (8); y BPF para productos farmacéuticos estériles (8)].
- 2.4.7 Se deben tomar y registrar las lecturas de presión en los cuartos desde medidores externos a menos que sea instalado un sistema de monitoreo continuo validado. Como mínimo, se deben tomar las lecturas antes de que ingrese el operador al cuarto del ensayo. El medidor de presión se debe rotular para indicar el área en servicio y las especificaciones aceptables.
- 2.4.8 El ingreso al cuarto limpio debe realizarse a través de un sistema de exclusas y un vestuario donde se requiere que los operadores se pongan vestimenta de cuarto limpio. El último vestuario debe tener en condiciones "de reposo" el mismo grado de limpieza que el cuarto de ensayo al que comunica. Los vestuarios deben ser de tamaño adecuado para facilitar el cambio de vestimenta. Debe haber una clara demarcación de las diferentes zonas.
- 2.4.9 La vestimenta para el operador del ensayo de esterilidad debe cumplir con los principios de la sección 10 de las BPF de la OMS para productos farmacéuticos estériles (8). Los operadores deben estar entrenados y certificados en los procedimientos de vestimenta y se deben mantener los registros del entrenamiento.
- 2.4.10 Los accesorios y acabados de las dependencias deben cumplir con la sección 11 de las BPF de la OMS para productos farmacéuticos estériles (8).
- 2.4.11 El monitoreo microbiológico ambiental debe reflejar la instalación utilizada (cuarto o aislador) e incluir una combinación de métodos de muestreo de aire y superficie apropiados para la instalación, como por ejemplo:



- muestreo de aire activo;
- placas de sedimentación (exposición);
- superficie de contacto
- placas RODAC para detección y recuento de microorganismos, hisopos o películas flexibles, e
- impresiones de los guantes del operador.

El monitoreo microbiológico ambiental de la zona del ensayo de esterilidad se debe realizar durante cada sesión de trabajo bajo las condiciones operativas (dinámicas).

Se debe contar con especificaciones escritas, incluyendo límites de alerta y acción apropiados para la contaminación microbiana. Los límites para el monitoreo microbiológico ambiental se presentan en las BPF de la OMS para productos farmacéuticos estériles (8).

3. Validación de métodos de ensayo

- 3.1 Los métodos de ensayo estándares (farmacopeicos) se consideran validados. Sin embargo, se necesita demostrar que el método de ensayo específico a ser utilizado por un determinado laboratorio para el análisis de un producto dado es adecuado para su uso en la recuperación de bacterias, levaduras y hongos filamentosos en presencia del producto específico. El laboratorio debe demostrar que los criterios de desempeño del método de ensayo estándar pueden ser satisfechos por el laboratorio antes de introducir el ensayo como ensayo de rutina (verificación del método) y que el método de ensayo específico para un producto dado es adecuado (aptitud del método de ensayo incluyendo controles positivos y negativos).
- 3.2 Los métodos de ensayo que no se basan en las farmacopeas u otras referencias reconocidas deben ser validados antes de su uso. La validación debe incluir, cuando sea apropiado, determinación de la exactitud, precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y robustez. Los potenciales efectos inhibitorios de la muestra deben tomarse en cuenta al analizar diferentes tipos de muestra. Los resultados deben evaluarse con métodos estadísticos apropiados, ej. los descritos en las farmacopeas nacionales, regionales o internacionales.

4. Equipamiento

Cada equipo, instrumento u otro dispositivo utilizado para el análisis, verificación y calibración debe identificarse individualmente.

Como parte de su sistema de calidad, el laboratorio debe tener un programa documentado para la calificación, calibración, verificación del desempeño y mantenimiento de sus equipos y un sistema para el monitoreo del uso de los mismos.

- 4.1 Mantenimiento de equipos



- 4.1.1 El mantenimiento de los equipos esenciales debe llevarse a cabo en intervalos predeterminados de acuerdo con un procedimiento documentado. Deben mantenerse registros detallados. (Para ejemplos de mantenimiento de equipos y de intervalos, ver Apéndice 2).
- 4.2 Calificación
- 4.2.1 Para la calificación de los equipos ver las secciones 8 y 12 de Buenas prácticas para los laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos (1).
- 4.3 Calibración, verificación de desempeño y monitoreo de uso
- 4.3.1 La fecha de calibración y mantenimiento y la fecha en que debe realizarse la recalibración deben indicarse claramente en una etiqueta adherida al instrumento.
- 4.3.2 La frecuencia de calibración y verificación de desempeño se determinará por la experiencia documentada y se basará en la necesidad, el tipo y el desempeño previo del equipo. Los intervalos entre la calibración y verificación deben ser más cortos que el tiempo en el que el equipo ha demostrado desviarse de los límites aceptables. (Para ejemplos de chequeos e intervalos de calibración para los diferentes equipos de laboratorio, ver el Apéndice 3; y para calificación y monitoreo de equipos, ver el Apéndice 4). El desempeño de los equipos debe ajustarse a criterios de aceptación predefinidos.
- 4.3.3 Dispositivos de medición de temperatura
- 4.3.3.1 Cuando la temperatura tiene un efecto directo sobre el resultado de un análisis o es crítica para el correcto funcionamiento de los equipos, los dispositivos de medición de temperatura deben ser de la calidad apropiada para alcanzar la exactitud requerida (ej. termómetros de líquido en vidrio, termocuplas y termómetros de resistencia de platino (TRP) empleados en las incubadoras y autoclaves).
- 4.3.3.2 La calibración de los dispositivos debe ser trazable a estándares de temperatura nacionales o internacionales.
- 4.3.4 Incubadoras, baños de agua y hornos

La estabilidad de la temperatura, la uniformidad de la distribución de la temperatura y el tiempo necesario para alcanzar condiciones de equilibrio en las incubadoras, baños de agua, hornos y cuartos de temperatura controlada deben establecerse inicialmente y documentarse, en particular para los usos habituales (por ejemplo, posición y altura de las pilas de placas de Petri y el espacio libre entre las mismas). La constancia de las características registradas durante la validación inicial del equipo debe chequearse y registrarse después de cada reparación o modificación significativa. La temperatura de operación de estos equipos debe monitorearse y registrarse. Se debe considerar el uso de los equipos al determinar cuáles son los controles de temperatura requeridos.



4.3.5 Autoclaves, incluidos los preparadores de medios

- 4.3.5.1 Los autoclaves deben poder cumplir con las tolerancias de tiempo y temperatura especificadas; el monitoreo exclusivo de la presión no es aceptable. Los sensores utilizados para controlar o monitorear los ciclos operativos requieren calibración y el desempeño de los temporizadores debe verificarse.
- 4.3.5.2 La validación inicial debe incluir estudios de desempeño (distribución espacial de la temperatura) para cada ciclo operativo y cada configuración de carga usada en la práctica. Se debe repetir este proceso después de cualquier reparación o modificación significativa (ej. reemplazo de la sonda termorreguladora o programador, cambio en la disposición de la carga o en el ciclo operativo) o cuando sea indicado por los resultados de los controles de calidad en los medios o la evaluación de riesgos. Se deben colocar sensores de temperatura suficientes dentro de la carga (ej. en recipientes llenos de líquido/medio) para permitir demostrar las diferencias debidas a la ubicación. En el caso de los preparadores de medios, cuando el calentamiento uniforme no se pueda demostrar por otros medios, el uso de dos sensores, uno junto a la sonda de control y otro distante, en general, se considera apropiado. La validación y revalidación deben considerar la pertinencia de los tiempos de ascenso y descenso de las temperaturas así como el tiempo de permanencia a la temperatura de esterilización.
- 4.3.5.3 Deben proporcionarse instrucciones operativas claras, basadas en los perfiles de calentamiento determinados para los usos habituales durante la validación/revalidación. Se deben establecer los criterios de aceptación/rechazo y mantener los registros de operación del autoclave, incluyendo la temperatura y el tiempo, para cada ciclo.
- 4.3.5.4 El monitoreo puede realizarse a través de uno de los siguientes procedimientos:
- uso de una termocupla y registrador para generar un gráfico o impresión;
 - observación directa y registro de la temperatura máxima alcanzada y el tiempo a esa temperatura.

Además de monitorear directamente la temperatura de un autoclave, la eficiencia de su funcionamiento durante cada ciclo se puede chequear por el uso de indicadores químicos o biológicos para los propósitos de esterilización o descontaminación. La cinta de autoclave o las tiras indicadoras deben utilizarse sólo para demostrar que una carga ha sido procesada, pero no para demostrar que se ha completado un ciclo aceptable.



Los laboratorios deben tener un autoclave dedicado a la descontaminación. No obstante, en casos excepcionales, un único autoclave puede ser aceptable siempre que se tomen precauciones exhaustivas para separar las cargas de descontaminación y de esterilización, y se cuente con un programa de limpieza documentado que considere tanto los entornos interno como externo del autoclave.

4.3.6 Pesas y balanzas

Las pesas y balanzas deben calibrarse en forma trazable a intervalos regulares (de acuerdo a su uso previsto) usando las pesas estándares apropiadas, trazables a pesas estándares certificadas.

4.3.7 Equipo volumétrico

4.3.7.1 Los laboratorios de microbiología deben llevar a cabo la verificación inicial del equipo o material volumétrico (dispensadores automáticos, dispensadores/dilutores, pipetas mecánicas de carga manual y pipetas desechables) y luego hacer chequeos regulares, según corresponda, para asegurar que el equipo se desempeña dentro de las especificaciones requeridas. La verificación inicial no es necesaria para el material de vidrio que haya sido certificado para una tolerancia específica. El equipo volumétrico se debe chequear en cuanto a la exactitud del volumen entregado en función del volumen definido (varios volúmenes en el caso de instrumentos de volúmenes variables) y se debe medir la precisión de las entregas de volumen repetidas.

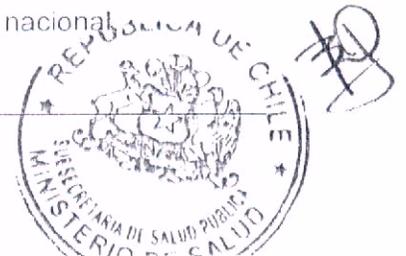
4.3.7.2 En el caso de equipos volumétricos desechables de uso único, los laboratorios deben obtenerlos de compañías con un sistema de calidad relevante y reconocido. Después de la validación inicial de la aptitud de un equipo, se recomienda efectuar chequeos aleatorios de la exactitud del mismo. Si el proveedor no tiene un sistema de calidad reconocido, los laboratorios deben chequear cada lote de equipos para determinar su aptitud.

4.3.8 Otros equipos

Los conductímetros, medidores de oxígeno, medidores de pH y otros instrumentos similares deben verificarse regularmente o antes de cada uso. Las soluciones amortiguadoras usadas en la verificación deben almacenarse en condiciones apropiadas y etiquetarse con una fecha de vencimiento.

Cuando la humedad sea importante para el resultado del ensayo, los higrómetros deben calibrarse, y la calibración debe ser trazable a estándares nacionales o internacionales.

Los temporizadores, incluyendo el temporizador del autoclave, se deben verificar usando un temporizador calibrado o la señal horaria nacional.



Cuando se utilizan centrifugas en los procedimientos del ensayo, se debe hacer una evaluación de las revoluciones por minuto (rpm). Cuando sea crítica, la centrifuga debe calibrarse.

5. Reactivos y medios de cultivo

Los laboratorios deben asegurar que la calidad de los reactivos y los medios utilizados es apropiada para el ensayo en cuestión.

5.1 Reactivos

- 5.1.1 Los laboratorios deben verificar la aptitud de cada lote de reactivos críticos para el ensayo, inicialmente y durante su vida útil.

5.2 Medios

- 5.2.1 Los medios pueden prepararse en el laboratorio o comprarse, ya sea parcial o totalmente preparados. Los proveedores de los medios deben estar aprobados y calificados. El proveedor calificado puede certificar algunos de los parámetros de calidad detallados posteriormente. La prueba de promoción del crecimiento y, si fueran apropiadas, otras pruebas de desempeño adecuadas (ver la sección 5.2.2), deben realizarse para todos los medios, en cada lote y en cada envío. Cuando el proveedor de medios totalmente preparados está calificado y provee certificación de la promoción del crecimiento para cada lote de medio y las condiciones de transporte han sido calificadas, el usuario puede confiar en el certificado del fabricante con una verificación periódica de sus resultados.

- 5.2.2 El desempeño adecuado de los medios de cultivo, diluyentes y otros líquidos de suspensión se debe chequear, cuando sea relevante, en relación a:

- recuperación o mantenimiento de la supervivencia de los microorganismos objetivo o blanco. Se debe demostrar una recuperación del 50-200% después de la inoculación de no más de 100 unidades formadoras de colonias (UFC o ufc);
- inhibición o supresión de los microorganismos diferentes al objetivo o blanco;
- propiedades bioquímicas (diferenciales y de diagnóstico), y
- otras propiedades adecuadas (ej. pH, volumen y esterilidad).

Se prefieren los procedimientos cuantitativos para la evaluación de la recuperación o supervivencia.

- 5.2.3 Las materias primas (tanto formulaciones comerciales deshidratadas como componentes individuales) y los medios deben almacenarse bajo las condiciones apropiadas recomendadas por el fabricante, ej. ambiente fresco, seco y oscuro. Todos los envases, especialmente aquellos de medios deshidratados,



deben estar herméticamente sellados. Los medios deshidratados que estén apelmazados o agrietados o muestren un cambio de color no deben utilizarse.

- 5.2.4 Para la preparación se debe usar agua de calidad microbiológica adecuada y libre de sustancias bactericidas, inhibidoras o interferentes, a menos que el método de ensayo especifique algo diferente.
- 5.2.5 Los medios conteniendo antimetabolitos o inhibidores se deben preparar utilizando material de vidrio dedicado para esos medios, debido a que el arrastre de estos agentes dentro de otros medios podría inhibir el crecimiento y la detección de microorganismos presentes en la muestra en análisis. Si no se emplea material de vidrio dedicado, los procedimientos de lavado para el material de vidrio deben estar validados.
- 5.2.6 La distribución de los medios después de la esterilización debe realizarse bajo flujo de aire unidireccional (UDAF, por sus siglas en inglés) para minimizar la posibilidad de contaminación ambiental. Esto debe considerarse como un requisito mínimo para los medios que se usan en ensayos de productos estériles, e incluye el enfriamiento de los medios, ya que las tapas de los envases necesitarán ser retiradas durante el enfriamiento para prevenir la condensación.
- 5.2.7 Los medios en placa a ser irradiados pueden requerir la adición de un antioxidante y secuestrador de radicales libres que protege de los efectos del proceso de irradiación. Los medios irradiados deben validarse mediante la realización de pruebas cuantitativas de promoción del crecimiento en ambos medios, irradiados y no irradiados.
- 5.2.8 Se debe determinar y verificar el periodo de vida útil de los medios preparados, bajo condiciones definidas de almacenamiento.
- 5.2.9 Los lotes de los medios deben ser identificables y su conformidad con las especificaciones de calidad debe quedar documentada. Para los medios comprados, el laboratorio usuario debe asegurarse de que será notificado por el fabricante de cualquier cambio en las especificaciones de calidad del producto.
- 5.2.10 Los medios deben prepararse de acuerdo con todas las instrucciones del fabricante, teniendo cuidadosamente en cuenta especificaciones tales como el tiempo y la temperatura de esterilización.
- 5.2.11 Los dispositivos de microondas no deben utilizarse para la fusión de los medios debido a la distribución desigual del proceso de calentamiento.
- 5.3 Etiquetado
- 5.3.1 Los laboratorios deben asegurar que todos los reactivos (incluidas las soluciones stock o de reserva), medios, diluyentes y otros líquidos de suspensión, estén adecuadamente etiquetados para indicar, según corresponda, la identidad, concentración, condiciones de almacenamiento, fecha de preparación, fecha



de vencimiento validada y/o períodos de almacenamiento recomendados. La persona responsable de la preparación se debe poder identificar a partir de los registros.

5.4 Reanimación de microorganismos

5.4.1 La reanimación de microorganismos es necesaria cuando las metodologías de ensayo pueden producir células dañadas sub-letalmente. Por ejemplo, por exposición a:

- efectos dañinos del proceso, ej. calor;
- agentes antimicrobianos;
- conservantes;
- extremos de presión osmótica; y
- extremos de pH.

5.4.2 La reanimación de microorganismos se puede lograr mediante:

- exposición a un medio líquido como una simple solución salina a temperatura ambiente durante 2 horas;
- exposición a un medio de reparación sólido durante 4-6 horas.

6. Materiales de referencia y cultivos de referencia

6.1 Estándares internacionales y sustancias de referencia farmacopeicas

6.1.1. Los materiales de referencia y materiales de referencia certificados son generalmente usados en un laboratorio de microbiología para calificar, verificar y calibrar equipos.

Siempre que sea posible, estos materiales de referencia deben utilizarse en matrices apropiadas.

Los estándares internacionales y las sustancias de referencia farmacopeicas se emplean, por ejemplo, para:

- determinar potencia o contenido;
- validar métodos;
- comparar métodos;
- realizar controles positivos; y
- realizar las pruebas de promoción del crecimiento.

Si fuera posible, los materiales de referencia deben usarse en matrices apropiadas.

6.2 Cultivos de referencia

6.2.1 Los cultivos de referencia se requieren para establecer el desempeño aceptable de los medios (incluidos los kits de ensayos), para validar métodos, verifi-



car la aptitud de los métodos de ensayo y para determinar o evaluar el desempeño en curso. La trazabilidad es necesaria, por ejemplo, cuando se establece el desempeño de los medios para las validaciones de los métodos y kits de ensayos. Para demostrar la trazabilidad, los laboratorios deben utilizar cepas de referencia de microorganismos obtenidas directamente de una colección nacional o internacional reconocida, cuando éstas existan. Alternativamente, se pueden emplear derivados comerciales para los cuales el laboratorio ha demostrado la equivalencia de todas las propiedades relevantes en el punto de uso.

- 6.2.2 Las cepas de referencia pueden ser subcultivadas una sola vez para proporcionar stocks de referencia. Se deben realizar chequeos de pureza y bioquímicos en forma paralela según correspondan. Se recomienda almacenar los stocks de referencia en alícuotas ya sea congeladas o liofilizadas. Los cultivos de trabajo para el uso rutinario deben ser subcultivos primarios de los stocks de referencia (ver el Apéndice 5 sobre el uso general de cultivos de referencia). Si los stocks de referencia han sido descongelados, no deben volver a congelarse ni reutilizarse.
- 6.2.3 Normalmente, los cultivos de trabajo no se deben subcultivar. Usualmente, no más de cinco generaciones (o pasajes) de la cepa de referencia original pueden ser subcultivadas si ello está definido en un método estándar o si el laboratorio puede proveer pruebas documentales de que no ha habido cambio en ninguna propiedad relevante. Derivados comerciales de las cepas de referencia sólo pueden ser usados como cultivos de trabajo.

7. Muestreo

Para los principios generales, referirse a las Buenas prácticas para los laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos (1).

- 7.1 Cuando los laboratorios de ensayo son responsables del muestreo primario para obtener las muestras de ensayo, es altamente recomendable que este muestreo esté cubierto por un sistema de garantía de calidad y sea objeto de auditorías periódicas.
- 7.2 Cualquier proceso de desinfección utilizado en la obtención de la muestra (ej. desinfección de los puntos de muestreo) no debe comprometer el nivel microbiano dentro de la muestra.
- 7.3. El transporte y almacenamiento de las muestras deben realizarse en condiciones que mantengan la integridad de la muestra (ej. refrigerada o congelada, cuando corresponda). Los análisis de las muestras se deben realizar lo más pronto posible después del muestreo. Para las muestras en las que sea posible un crecimiento en la población microbiana durante el transporte y el almacenamiento, se deberá demostrar que las condiciones de almacenamiento, el tiempo y la temperatura no afectarán la exactitud del resultado de los ensayos. Las condiciones de almacenamiento deben monitorearse y registrarse. La responsabilidad del transporte y almacenamiento



el muestreo y la llegada al laboratorio de ensayo debe estar claramente documentada.

- 7.4 El muestreo debe realizarse solo por personal capacitado. Se debe llevar a cabo en condiciones asépticas utilizando equipos estériles. Se deben tomar las precauciones adecuadas para asegurar que se mantenga la integridad de la muestra, usando envases estériles sellados para la recolección de las muestras cuando corresponda. Puede ser necesario monitorear las condiciones ambientales en el sitio de muestreo, por ejemplo, la contaminación del aire y la temperatura. El tiempo del muestreo se debe registrar, si fuese necesario.

8. Manejo e identificación de muestras

- 8.1 El laboratorio debe tener procedimientos que cubran la entrega y recepción de las muestras y la identificación de las mismas. Si la muestra es insuficiente o se encuentra en malas condiciones debido al deterioro físico, temperatura incorrecta, envases rotos o etiquetado deficiente, el laboratorio debe consultar con el cliente antes de decidir si va a analizar o rechazar la muestra.
- 8.2 El laboratorio debe registrar toda la información relevante, ej.
- fecha y, cuando sea relevante, la hora de la recepción;
 - condición de la muestra al momento de la recepción y, cuando sea necesario, la temperatura; y
 - características de la operación de muestreo (incluyendo la fecha y condiciones de muestreo).
- 8.3 Las muestras en espera de los ensayos deben almacenarse en condiciones adecuadas para minimizar los cambios en cualquier población microbiana presente. Las condiciones de almacenamiento deben estar validadas, definidas y registradas.
- 8.4 Los envases y etiquetas de las muestras pueden estar altamente contaminados y deben manipularse y almacenarse con cuidado a fin de evitar la propagación de la contaminación. Los procesos de desinfección aplicados al envase exterior no deben afectar la integridad de la muestra. Se debe destacar que el alcohol no es esporicida.
- 8.5 El submuestreo por parte del laboratorio, inmediatamente antes del ensayo, puede ser requerido como parte del método de ensayo. Puede ser apropiado llevarlo a cabo de acuerdo a normas nacionales o internacionales, cuando existan, o por métodos internos validados. Los procedimientos de submuestreo deben diseñarse para recoger una muestra representativa.

8.6 Debe haber un procedimiento escrito para la retención y eliminación de muestras. Si la integridad de las muestras se puede mantener, puede ser apropiado almacenar las muestras hasta que se obtengan los resultados de los ensayos o por más tiempo, si



fuera necesario. Las porciones de muestras del laboratorio que se sabe están contaminadas deben descontaminarse antes de su eliminación (ver sección 11.1).

9. Eliminación de residuos contaminados

- 9.1 Los procedimientos para la eliminación de materiales contaminados deben diseñarse para minimizar la posibilidad de contaminación del ambiente o materiales de trabajo. Esta cuestión corresponde a las buenas prácticas de gestión del laboratorio y debe ajustarse a las regulaciones ambientales o sanitarias y de seguridad nacionales e internacionales.

10. Garantía de calidad de resultados y control de calidad de desempeño

10.1 Control de calidad interno

- 10.1.1 El laboratorio debe contar con un sistema de garantía de calidad o control de calidad interno (ej. manejo de desvíos, uso de muestras con agregados (spiked), repeticiones de ensayos y participación en ensayos de competencia o aptitud) para asegurar la consistencia de resultados día a día y su conformidad con los criterios establecidos.

11. Procedimientos de ensayos

- 11.1 Los ensayos deben realizarse normalmente de acuerdo a los procedimientos descritos en las farmacopeas nacionales, regionales o internacionales.
- 11.2 Pueden emplearse procedimientos de ensayos alternativos siempre que estén debidamente validados y su equivalencia con métodos oficiales haya sido demostrada.

12. Informes de ensayos

- 12.1 Si el resultado de un recuento es negativo, éste deberá informarse como "no detectado para una unidad definida" o "menor que el límite de detección para una unidad definida". El resultado no deberá informarse como "cero para una unidad definida" a menos que esto sea un requisito regulatorio. Los resultados de los ensayos cualitativos deben informarse como "detectado/no detectado en una cantidad o volumen definido". Estos también pueden expresarse como "menor que un número específico de microorganismos para una unidad definida" cuando el número especificado de microorganismos supera el límite de detección del método y esto ha sido acordado con el cliente. En los datos crudos el resultado no debe informarse como cero para una unidad definida a menos que sea un requisito regulatorio. Un valor informado "0" puede usarse para la entrada de datos y cálculos o el análisis de tendencias en bases de datos electrónicas.



- 12.2 Cuando el informe de ensayo incluye una estimación de la incertidumbre del resultado del ensayo, cualquier limitación (particularmente si la estimación no incluye el componente aportado por la distribución de microorganismos dentro de la muestra) debe aclararse con el cliente.

Referencias

1. Good practices for pharmaceutical quality control laboratories. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fourth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010, Annex 1.
2. General guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. Revision. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-first report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 943, 2007, Annex 3.
3. The International Pharmacopoeia, Fourth Edition. Geneva, World Health Organization, 2006. Disponible también en CD-ROM.
4. The International Pharmacopoeia, Fourth Edition, First Supplement. Geneva, World Health Organization, 2008. Disponible también en CD-ROM.
5. ISO/IEC 17025 (2005) General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
6. ISO 11133-1 (2000) Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
7. ISO 13843 (2000) Water quality — Guidance on validation of microbiological methods.
8. WHO good manufacturing practices: main principles for pharmaceutical products. En: Quality assurance of pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials. Volume 2, 2nd updated edition. Good manufacturing practices (GMP) and inspection. Geneva, World Health Organization, 2007, y actualizaciones subsiguientes, incluyendo WHO GMP for sterile pharmaceutical products. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fifth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 961, Annex 6, 2011; and GMP: Heating, ventilation and air-conditioning systems for non-sterile pharmaceutical dosage forms. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fifth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011, Annex 5.

Lecturas adicionales

- ISO 7218 (2007) Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations.
- ISO 6887-1 (1999) Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

- ISO Guide 30 (1992) Terms and definitions used in connection with reference materials.
- ISO 9000 (2008) Quality management systems — fundamentals and vocabulary.
- ISO Guide 99 (1993) International vocabulary of basic and general terms in metrology (VIM).
- ISO (CIPM):1995. Guide to the expression of uncertainty in measurements. Draft ISO/DIS 16140.
(1999) Food microbiology. Protocol for the validation of alternative methods.
- Draft ISO/FDIS (2003) 11133-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2 - Practical guidelines on performance testing on culture media.
- EN 12741 (1999). Biotechnology—Laboratories for research, development and analysis—Guidance for biotechnology laboratory operations.
- Draft ISO/DIS 16140. (1999) Food microbiology. Protocol for the validation of alternative methods.
- Draft Quality Risk Management. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharmprep/QualityRiskManagement-QAS10-376_18082010.pdf>. Acesso em 07/03/2012.

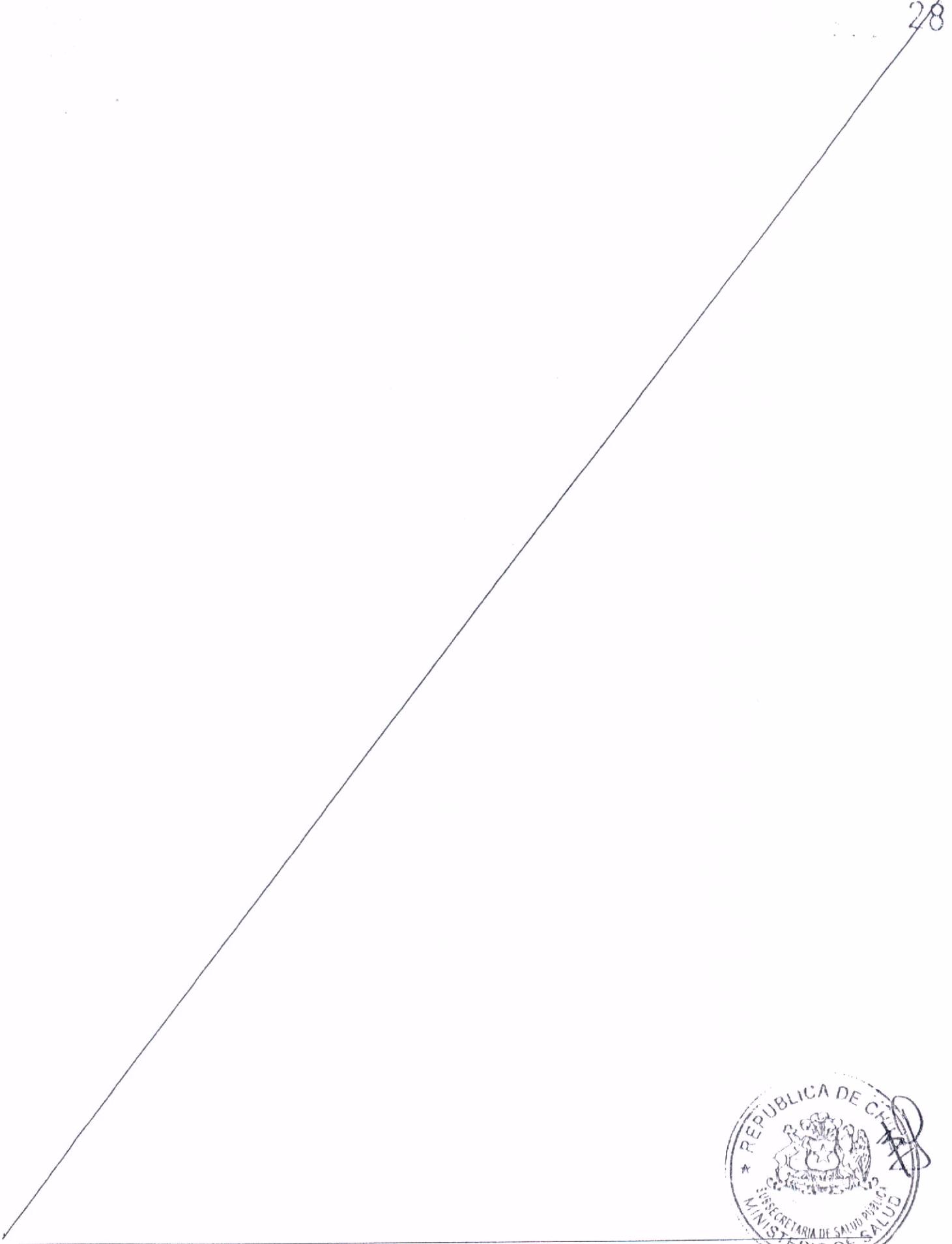


Apéndice 1: Ejemplos de zonas en las que se podrían realizar las operaciones

Recepción de muestra	Sin clasificar	Sin clasificar
Preparación de medios	Sin clasificar	Sin clasificar
Carga de autoclave	Sin clasificar	Sin clasificar
Descarga de autoclave dentro del área del ensayo de esterilidad	Grado B	ISO 5 (flujo turbulento) y <10 ufc/m ³
Ensayo de esterilidad - flujo de aire unidireccional (UDAF, por sus siglas en inglés)	Grado A	ISO 5 (UDAF) y <1 ufc/m ³
Ensayo de esterilidad - entorno del UDAF	Grado B	ISO 5 (flujo turbulento) y <10 ufc/m ³
Ensayo de esterilidad - aislador	Grado A (NVP y microbiología únicamente)	ISO 5 (UDAF) y <1 ufc/m ³
Ensayo de esterilidad - entorno del aislador	Sin clasificar	Sin clasificar
Incubadora	Sin clasificar	Sin clasificar
Recuento	Sin clasificar ^(*)	Sin clasificar ^(*)
Descontaminación	Sin clasificar	Sin clasificar

Notas: ufc, unidad formadora de colonias; (*) Las etapas críticas deben realizarse bajo flujo laminar





Apéndice 2: Ejemplos de mantenimiento de equipos

Esta información se proporciona como ejemplo y la frecuencia se debe basar en la necesidad, tipo y desempeño previo del equipo y en las recomendaciones de los manuales de los fabricantes.

Incubadoras	• Limpiar y desinfectar superficies internas	• Mensualmente
Refrigeradores		• Cuando se requiera (ej. cada 3 meses)
Congeladoras, hornos		• Cuando se requiera (ej. anualmente)
Baños de agua	• Vaciar, limpiar, desinfectar y volver a llenar	• Mensualmente, o cada 6 meses si se usa un biocida
Centrifugas	• Realizar servicio de mantenimiento • Limpiar y desinfectar	• Anualmente • Cada vez que se usan
Autoclaves	• Realizar inspección visual de la junta, limpiar/drenar la cámara • Realizar servicio de mantenimiento completo • Realizar chequeo de seguridad de la cámara de esterilización	• Regularmente, según recomendaciones del fabricante • Anualmente o según recomendaciones del fabricante • Anualmente
Cabinas de seguridad, cabinas de flujo unidireccional	• Realizar servicio de mantenimiento completo y chequeo mecánico	• Anualmente o según recomendaciones del fabricante
Microscopios	• Realizar servicio de mantenimiento completo	• Anualmente
Medidores de pH	• Limpiar electrodo	• Cada vez que se usan
Balanzas, dilutores gravimétricos	• Limpiar • Realizar servicio de mantenimiento	• Cada vez que se usan • Anualmente
Destiladores	• Limpiar y desincrustar	• Según se requiera (ej. cada 3 meses)
Desionizadores, unidades de ósmosis inversa	• Reemplazar cartucho/membrana	• Según recomendaciones del fabricante
Jarras anaerobias	• Limpiar/desinfectar	• Después de cada uso
Dispensadores de medios, material volumétrico, pipetas y material de servicio general	• Descontaminar, limpiar y esterilizar según corresponda	• Cada vez que se usan
Sembradores de placas en espiral (<i>spiral platers</i>)	• Realizar servicio de mantenimiento • Descontaminar, limpiar y esterilizar	• Anualmente • Cada vez que se usan
Laboratorio	• Limpiar y desinfectar superficies de trabajo • Limpiar pisos, desinfectar fregaderos y lavabos • Limpiar y desinfectar otras superficies	• Diariamente y durante el uso • Diariamente • Cada 3 meses





Apéndice 3: Ejemplos de chequeos e intervalos de calibración para diferentes equipos de laboratorio

Esta información se proporciona como ejemplo y la frecuencia se debe basar en la necesidad, tipo, desempeño previo y criticidad del equipo.

Termómetros de referencia (líquido en vidrio)	<ul style="list-style-type: none"> Recalibración completa trazable Único punto (ej. chequeo del punto de congelación) 	<ul style="list-style-type: none"> Cada 3 años Anualmente
Termocuplas de referencia	<ul style="list-style-type: none"> Recalibración completa trazable Chequeo con termómetro de referencia 	<ul style="list-style-type: none"> Cada 3 años Anualmente
Termómetros de trabajo y termocuplas de trabajo	<ul style="list-style-type: none"> Chequeo con termómetro de referencia en el punto de congelación y/o el rango de temperatura de trabajo 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Balanzas	<ul style="list-style-type: none"> Calibración completa trazable 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Pesas de calibración	<ul style="list-style-type: none"> Calibración completa trazable 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Pesas de chequeo	<ul style="list-style-type: none"> Chequeo con pesas calibradas o chequeo en balanza inmediatamente después de una calibración trazable 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Material de vidrio volumétrico	<ul style="list-style-type: none"> Calibración gravimétrica con la tolerancia requerida 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Microscopios	<ul style="list-style-type: none"> Calibración trazable del micrómetro de platina (cuando corresponda) 	<ul style="list-style-type: none"> Inicialmente
Higrómetros	<ul style="list-style-type: none"> Calibración trazable 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Centrífugas	<ul style="list-style-type: none"> Calibración trazable o chequeo con un tacómetro independiente, según corresponda 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente





33

Apéndice 4: Ejemplos de calificación y monitoreo de equipos

Esta información se provee como ejemplo y la frecuencia se debe basar en la necesidad, tipo, desempeño previo y criticidad del equipo.

Equipo con temperatura controlada (incubadoras, baños, refrigeradores, congeladores)	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer estabilidad y uniformidad de la temperatura • Monitorear la temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación • Diariamente/cada vez que se usan
Hornos esterilizantes	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer estabilidad y uniformidad de la temperatura • Monitorear la temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación • Cada vez que se usan
Autoclaves	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer las características de cargas/ciclos • Monitorear la temperatura/presión/tiempo 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación • Cada vez que se usan
Áreas de Grado A utilizadas para ensayos de esterilidad: <ul style="list-style-type: none"> • cabinas de seguridad de flujo unidireccional • aisladores 	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer el desempeño • Monitoreo microbiológico • Monitorear el flujo de aire • Probar la integridad de los filtros HEPA 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente, cada año y después de una reparación/modificación • Cada vez que se usan • Semestralmente • Semestralmente
Cabinas de flujo unidireccional	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer el desempeño • Monitoreo microbiológico • Monitorear el flujo de aire • Probar la integridad de los filtros HEPA 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente y después de una reparación/modificación • Semanalmente • Semestralmente • Semestralmente
Temporizadores	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear contra la señal de tiempo nacional 	<ul style="list-style-type: none"> • Anualmente
Microscopios	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear alineamiento 	<ul style="list-style-type: none"> • Diariamente/cada vez que se usan
Medidores de pH	<ul style="list-style-type: none"> • Ajustar utilizando dos soluciones amortiguadoras de calidad apropiada 	<ul style="list-style-type: none"> • Diariamente/cada vez que se usan
Balanzas	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear el cero y la lectura contra una pesa de chequeo 	<ul style="list-style-type: none"> • Diariamente/cada vez que se usan
Desionizadores y unidades de ósmosis inversa	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear la conductividad • Investigar la presencia de contaminación microbiana 	<ul style="list-style-type: none"> • Semanalmente • Mensualmente
Dilutores gravimétricos	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear el peso del volumen dispensado • Chequear la razón de dilución 	<ul style="list-style-type: none"> • Diariamente • Diariamente
Dispensadores de medios	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear el volumen dispensado 	<ul style="list-style-type: none"> • En cada ajuste o reemplazo
Pipetadores/Pipetas	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear la exactitud y precisión del volumen dispensado 	<ul style="list-style-type: none"> • Regularmente (a definir de acuerdo con la frecuencia y naturaleza del uso)

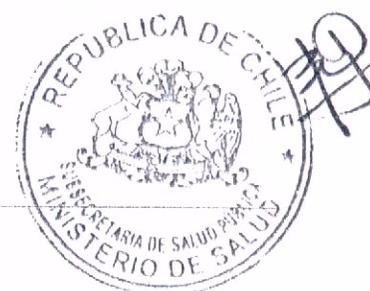
Continúa...



Continuación Apéndice 4

Equipo	Recomendaciones	Frecuencia de mantenimiento
Sembradores de placas en espiral	<ul style="list-style-type: none"> • Establecer desempeño contra el método convencional • Chequear la condición del estilete y el arte de los puntos de inicio y final • Chequear el volumen dispensado 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente y anualmente • Diariamente/Cada vez que se usan • Mensualmente
Contadores de Colonias	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear contra el número contado manualmente 	<ul style="list-style-type: none"> • Anualmente
Centrifugas	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear la velocidad con un tacómetro calibrado e independiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Anualmente
Jarras anaerobias/ incubadoras	<ul style="list-style-type: none"> • Chequear con un indicador anaerobio 	<ul style="list-style-type: none"> • Cada vez que se usan
Ambiente del laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Monitorear la contaminación microbiana del aire y superficies utilizando, ej. muestreadores de aire, placas de sedimentación, placas de contacto o hisopos 	<ul style="list-style-type: none"> • Basándose en la evaluación de riesgos, se debe establecer un programa apropiado de monitoreo ambiental

Nota: HEPA, (filtro) de partículas de aire de alta eficiencia.



Apéndice 5: Uso general de cultivos de referencia

Cepa de referencia

De una fuente reconocida por una agencia de acreditación.



Stock de referencia G1

Liofilizado, almacenado en nitrógeno líquido, ultracongelado, etc.
Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados



Cultivo de trabajo

Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados
Uso rutinario



Stock de referencia G2

Liofilizado, almacenado en nitrógeno líquido, ultracongelado, etc.
Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados



Cultivo de trabajo

Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados
Uso rutinario



Stock de referencia G3

Liofilizado, almacenado en nitrógeno líquido, ultracongelado, etc.
Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados



Cultivo de trabajo

Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados
Uso rutinario



Stock de referencia G4

Liofilizado, almacenado en nitrógeno líquido, ultracongelado, etc.
Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados



Cultivo de trabajo

Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados
Uso rutinario



Cultivo de trabajo

Condiciones especificadas y tiempos de almacenamiento recomendados
Uso rutinario



Todas las partes del proceso deben estar completamente documentadas y se deben mantener registros detallados de todas las etapas. Se deben realizar chequeos de pureza y pruebas bioquímicas según correspondan.

N° ITEM	PREGUNTAS	Cumple	No Cumple	Evidencia Objetiva / Observaciones
1	¿Las ensayos microbiológicos, se realizan, en un laboratorio apropiadamente diseñado y construido para: a. Ensayo de esterilidad; b. Detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (virus, bacterias, hongos y protozoos) y sus metabolitos en diferentes materiales (ej, materias primas, agua, aire), productos, superficies y medio ambiente; y c. Valoración de contenido usando microorganismos como parte del sistema de ensayo?.			
2	PERSONAL			
2.1	¿Están descritas las funciones del personal que está involucrado en los ensayos, calibraciones, validaciones y verificaciones del laboratorio de microbiología?			
2.2	Si el laboratorio incorpora al resultado del ensayo opiniones e interpretaciones, ¿éstas son autorizadas por la persona responsable con experiencia y conocimiento relevante técnico y normativo?			
2.3	¿El personal técnico ha recibido un entrenamiento adecuado para la realización competente de los ensayos y la operación de los equipos del área de microbiología? ¿Se hace monitoreo continuo para identificar la necesidad de nuevos entrenamientos?			
3	CONDICIONES AMBIENTALES			
3.1	¿Los equipos y las áreas físicas están dedicados exclusivamente a los ensayos microbiológicos?			
3.2	¿El diseño del área de microbiología está adecuado y con suficiente espacio para evitar todo tipo de contaminación?			
3.3	¿El área del laboratorio de microbiología está dividida en forma adecuada, para guardar las muestras, las cepas de referencias, los medios de cultivo (en ambiente y en refrigeración), los registros etc.?			
3.4	¿La instalación y los materiales de construcción permiten la limpieza y desinfección apropiadas y minimizan el riesgo de contaminación?			
3.5	¿Tiene unidad de aire acondicionado con control de humedad, temperatura y presión, separada e independiente de las demás áreas del laboratorio?			
3.6	¿Existen controles para el acceso al laboratorio de microbiología?			
3.7	¿Cuenta el laboratorio con áreas separadas para actividades como: recepción y almacenamiento de muestras, preparación de muestras, ensayos incluyendo el área de incubación, microorganismos de referencia, equipos para la preparación y esterilización de medios, para los ensayos de esterilidad, la descontaminación y área para limpieza (sanitización de medios después de la incubación)?			
3.8	¿Se aplican los principios de análisis de riesgo, cuando no hay áreas exclusivas para las actividades anteriores?			
3.9	¿Las áreas de trabajo cuentan con sus propios equipos y material para realizar las actividades del área?			
N° ITEM	PREGUNTAS	Cumple	No Cumple	Evidencia Objetiva / Observaciones
4	MONITOREO AMBIENTAL EN EL LABORATORIO			
4.1	¿Cuentan con un programa de monitoreo			



	ambiental que incluya la temperatura, las diferenciales de presión, control de superficies y definidos los límites de alerta y los límites de acción?			
5	LIMPIEZA, DESINFECCIÓN E HIGIENE			
5.1	¿Se tiene programa de limpieza y desinfección?			
5.2	¿Se registran los resultados del monitoreo ambiental donde éste es relevante?			
5.3	¿Se toman las medidas adecuadas en caso de derrames (reactivos, medios de cultivo, líquidos en general)?			
5.4	¿Las instalaciones tienen disponibles lavamanos adecuados? (con sensores para abrir y cerrar llave de agua)			
6	VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO			
6.1	¿Se tiene un protocolo de validación de los métodos microbiológicos que incluya, muestras positivas con un nivel de contaminación determinada?			
6.2	¿Se tienen validados los métodos microbiológicos cualitativos, con procedimientos para confirmar e identificar los microorganismos y la determinación de límites de detección, repetibilidad y reproducibilidad? (con controles positivos y negativos)			
6.3	¿Los métodos cuantitativos están validados y determinan sensibilidad, repetibilidad, reproducibilidad y límite de detección mientras se define su variabilidad?			
6.4	¿Se verifica que los efectos inhibitorios de la muestra fueron eliminados con un método apropiado para cada tipo de muestra?			
6.5	¿Se efectúa la verificación estadística de la determinación de potencia y validez del ensayo?			
6.6	¿Los ensayos utilizados en el laboratorio están validados?			
7	EQUIPOS (deben cumplir con los ítems de la guía OMS ver numeral 8)			
7.1	¿Cuenta con programa de mantenimiento de los equipos esenciales, se guardan los registros de esta actividad?			
8	CALIBRACIÓN Y VERIFICACIÓN DEL DESEMPEÑO			
8.1	¿Tiene establecido el programa de calibración de equipos y verificación del desempeño de los mismos, que influyen directamente en los ensayos? ¿Se evidencia los registros de la actividad?			
8.2	¿Tiene establecida la frecuencia de cada calibración y verificación? ¿Se evidencia los registros de la actividad?			
9	INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN : TEMPERATURA			
9.1	¿Los termómetros, termocuplas etc., para medir la temperatura en incubadoras, autoclaves están calibrados?			
9.2	¿La calibración de los termómetros, termocuplas etc., para medir la temperatura en incubadoras, autoclaves tiene trazabilidad a un patrón internacional?			
9.3	¿Después de una reparación de incubadoras, baño de agua, hornos, se verifica la estabilidad y distribución uniforme de la temperatura? ¿Se registra?			



N° ITEM	PREGUNTAS	Cumple	No Cumple	Evidencia Objetiva / Observaciones
10	AUTOCLAVES Y PREPARACIÓN DE MEDIOS			
10.1	¿Cumplen las autoclaves con el tiempo especificado del ciclo y la temperatura programada?			
10.2	¿En la validación se evidencia el desempeño para cada ciclo de operación con respecto a la carga utilizada normalmente?. Se revalida después de una reparación o modificación crítica, o reprogramación o cuando se indique			
10.3	Se tiene un procedimiento de limpieza, basado en hechos (validación o revalidación) con criterios de aceptación y rechazo			
10.4	¿Se registra el monitoreo rutinario?			
10.5	¿Están calibradas las pesas y balanzas? Con trazabilidad a intervalos regulares			
11	EQUIPO VOLUMÉTRICO			
11.1	¿Realizan la calibración del equipo volumétrico? (pipetas volumétricas, dispensadores automáticos etc.)			
11.2	¿Tienen certificado de calibración, entregado por el proveedor, de los equipos volumétricos descartables?			
11.3	Para otros equipos de medición como los de conductividad, phmetros etc., ¿son verificados regularmente o antes de su uso?			
12	REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO			
12.1	¿Se hace promoción de crecimiento para verificar la calidad de los reactivos? Usando controles positivos y negativos			
12.2	¿Se realizan controles microbiológicos?			
12.3	¿Cuenta con áreas separadas para ensayo de esterilidad y otros controles microbiológicos?			
12.4	¿Se cuenta con áreas calificadas y flujo laminar para la realización de ensayos de esterilidad?			
12.5	¿Se verifica periódicamente el estado de los filtros del flujo laminar?			
12.6	¿Cuenta con los materiales, medios de cultivo y reactivos necesarios para realizar los controles microbiológicos de rutina?			
12.7	¿Se encuentran dentro del período de validez?			
12.8	Los medios de cultivo deshidratados ¿se almacenan en condiciones de humedad y temperatura indicadas por el fabricante?			
12.9	¿Se registran los parámetros de cada ciclo de esterilización de medios de cultivo?			
12.10	¿Se realiza el test de promoción de crecimiento cada vez que se utilizan nuevos lotes de medios de cultivo?			
12.11	¿Existe un procedimiento operativo normalizado para la preparación de medios de cultivos?			
13	CEPAS			
13.1	¿Existen cepas microbianas de referencia?			
13.2	En caso de existir ¿son certificadas por un organismo reconocido internacionalmente?			
13.3	¿Existe un registro de identificación y uso de cepas?			
13.4	¿Está establecida la frecuencia de los repiques/ resiembras?			
13.5	¿Se registran los espigues/ resiembra?			
N° ITEM	PREGUNTAS	Cumple	No Cumple	Evidencia Objetiva / Observaciones
13.6	¿Se llevan a cabo controles periódicos para verificar la viabilidad?			
13.7	¿Se llevan a cabo controles periódicos para verificar la identidad morfológica y bioquímica?			



14	ENSAYO DE ESTERILIDAD		
14.1	¿Se realizan ensayos de esterilidad?		
14.2	Para ensayos de esterilidad ¿se utilizan métodos oficiales en alguna de las farmacopeas?		
14.3	De no ser así, el método ¿está validado?		
14.4	¿Existe un registro de % de falso positivos?		
14.5	¿Estos no exceden el 0,5 %del total?		
14.6	¿Cual es el cultivo utilizado para la prueba de esterilidad?		
14.7	¿Se verifica que cuando no pasa la prueba de esterilidad se hace una investigación completa de las causas? y una 2 ^{da} prueba sólo se realiza si se demuestra que la prueba original no era válida.		
15	POTENCIA DE ANTIBIOTICOS		
15.1	¿Se realizan ensayos de determinación de potencia de antibióticos?		
15.2	¿Se efectúa la verificación estadística de la determinación de potencia y validez del ensayo?		
16	MUESTREO		
16.1	¿El transporte y el almacenaje se ejecutan bajo condiciones que mantienen la integridad de la muestra?		
16.2	¿Se tiene un procedimiento que determine el tiempo entre la toma de la muestra y la realización del ensayo, según el producto específico, sin que se afecte la exactitud del resultado del ensayo?		
16.3	¿La responsabilidad del transporte, del almacenaje entre el muestreo y la llegada al laboratorio de ensayo está documentada claramente?		
16.4	¿El muestreo es realizado por personal competente y entrenado?		
17	IDENTIFICACIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA		
17.1	¿Existen procedimientos que incluyan la entrega y recibo de la muestra, y acciones a realizar cuando la muestra sea escasa o llegue en condiciones inaceptables para el ensayo?		
17.2	¿Se registra toda la información importante como fecha de recibo, temperatura de la muestra, especificaciones del ensayo?		
17.3	¿Están las condiciones de almacenaje validadas?		
17.4	¿Están documentados los procedimientos de sub-muestreo, si se realiza?		
17.5	¿Existe un procedimiento para las muestras de retención?		
17.6	¿Las porciones de muestra contaminada se descontaminan antes de ser descartadas?		
18	DISPOSICIÓN DE DESECHOS		
18.1	¿Existen procedimientos para la eliminación de materiales contaminados y en concordancia con la legislación ambiental del país?		



N° ITEM	PREGUNTAS	Cumple	No Cumple	Evidencia Objetiva / Observaciones
19	GARANTÍA DE CALIDAD			
19.1	¿Tiene el laboratorio un sistema de garantía de calidad que garantice la consistencia y la conformidad de los resultados del ensayo?			
20	MÉTODOS DE PRUEBA			
20.1	<ul style="list-style-type: none"> ¿Utiliza el laboratorio métodos de ensayo oficiales en la farmacopea? 			
20.2	Utiliza los estándares típicos aplicados a la industria farmacéutica como sigue: <ul style="list-style-type: none"> la prueba de límite microbiano/ total (biocarga/ bioburden) 1000 g para las bacterias y 100 g para las levaduras y los hongos filamentosos; y control del medio ambiente: 15 organismos para TVC en el agar de la soja del Tryptone (TSA) y 5 organismos para las levaduras y hongos en el agar diferenciado de Schwartz (SDA). 			
20.3	¿Utiliza estándares típicos del país?			
21	REPORTE			
21.1	¿Existe un procedimiento para hacer el reporte y la interpretación de resultados por ejemplo NO DETECTADO para una unidad definida?			

