



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
FARMACÉUTICA

DESARROLLO Y EJECUCIÓN DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA Y/O SANITIZACIÓN DE EQUIPOS INVOLUCRADOS EN LA ELABORACIÓN DE HEMOCONCENTRADOS

Unidad de Práctica Prolongada para optar al Título de Químico Farmacéutico
LABORATORIO INDUSTRIAL Y COMERCIAL BAXTER CHILE LTDA.

VICTORIA JOSÉ BRUNA CHÁVEZ

Académico Supervisor
Q.F. Olosmira Correa Briones
Dpto. de Ciencias y Tecnología
Farmacéutica
Universidad de Chile

Monitor de Práctica
Q.F. Gustavo Fuentealba
Supervisor de Manufactura y
Responsable de EHS
Baxter Chile Ltda.

SANTIAGO DE CHILE
2013

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen.....	5
1. Introducción	7
1.1 Laboratorio industrial y comercial Baxter Chile Ltda	7
1.2 Marco teórico	8
1.2.1. Validación.....	8
1.2.2 Dispositivos medicos	10
1.2.3 Sanitización	12
1.2.4 Neutralizantes.....	17
1.2.5 Muestreo.....	17
2. Objetivos.....	18
2.1 Objetivo general	18
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. Metodología	19
3.1 Descripción del proceso de limpieza y sanitización.....	19
3.2 Analisis de riesgo y potencial modo de falla.....	22
3.3 Selección peor caso	24
3.3.1 Selección formulación a muestrear	24
3.3.2 Selección equipo a muestrear	26
3.4 Verificación de efectividad de sanitizante.....	27
3.4.1 Preparación inculo inicial.....	27
3.4.2 Preparación de inculo de trabajo y prueba de desafio.....	28
3.4.3 Prueba de desafio B. subillis subespecie sppizzenii.....	29
3.4.4 Prueba desafio , flora local Baxter.....	29
3.4.5 Neutralización sanitizante empleado	30
3.4.6. Ensayo in situ del sanitizante empleado.....	31

3.5	Verificación de efectividad procedimiento de limpieza y sanitización de equipos	32
3.5.1	Ruta 1 (Limpieza de soluciones ácidas)	33
3.5.2	Ruta 1 (Limpieza de soluciones básicas)	33
3.5.3	Ruta 2 (Sanitización de soluciones básicas)	34
3.5.4	Ruta 3 (Limpieza de soluciones ácidas)	34
3.5.5.	Determinación tiempo de espera sucio	34
3.5.6.	Determinación tiempo de espera limpio	36
4.	Resultados	37
4.1	Verificación efectividad sanitizante in vitro	37
4.2	Efectividad sanitizante in situ	38
4.3	Neutralización sanitizante.....	39
4.4	Ruta 1 (Limpieza soluciones ácidas).....	40
4.5	Ruta 1 (Limpieza de soluciones básicas)	41
4.6	Ruta 2 (Sanitización de soluciones básicas)	43
4.7	Ruta 3 (Limpieza de soluciones ácidas).....	44
4.8	Determinación tiempo de espera sucio (TS)	45
4.9	Determinación tiempo de espera limpio (TL).....	48
5.	Discusión	51
6.	Conclusiones	55
7.	Bibliografía	57
8.	Anexos.....	59
8.1	Anexo N°1, Diagrama de flujo de sanitización y/o limpieza de tanques	59
8.2	Anexo N°2, Diagrama de flujo de sanitización y/o limpieza de Llenado.....	60
8.3	Anexo N°3, Analisis de riesgo y potencial modo de falla....	61
8.4	Anexo N°4, Matriz selección peor caso soluciones	62

8.5	Anexo N°5, Plano de área productiva.....	64
8.6	Anexo N°6, Certificado de analisis de cepas de Flora nativa	65
8.7	Anexo N°7, Reconstitución de cepas de referencia.....	66
8.8	Anexo N°8, Equipos y materiales utilizados	67

RESUMEN

El siguiente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio Industrial y Comercial Baxter Chile Ltda., y consistió en desarrollar y ejecutar la validación de limpieza y/o sanitización de tanques y línea de llenado, ambos equipos críticos, involucrados en la fabricación y llenado de soluciones concentradas para hemodiálisis.

En una primera parte del proyecto se realizó la recopilación de información y documentación relacionada a la validación a desarrollar, incluyendo corroborar la existencia de ésta en el Plan Maestro de Validaciones vigente en Baxter, como también conocer y actualizar, acorde a la realidad laboral de la planta, los procedimientos operativos estándar y los instructivos relacionados al proceso de limpieza y sanitización, para finalmente capacitar al personal sobre éstos.

Con el objetivo de mitigar los potenciales riesgos o reducirlos a niveles tolerables por la organización, previa a la ejecución de la validación, se realizó un análisis de riesgo y potencial modo de fallas de las actividades y pasos a seguir involucrados, con la finalidad de lograr la identificación de éstos. Se siguió esquemas y ponderaciones establecidas internamente por la organización, para definir ocurrencia, severidad y detectabilidad.

Con la finalidad que la validación estuviese alineada no solo a la realidad productiva de Baxter Chile, sino que también a los requisitos corporativos de Baxter Internacional Inc., se estudió y se verificó que se diera cumplimiento a los procedimientos corporativos de calidad.

Finalmente el protocolo elaborado se sometió a una revisión por la alta dirección y una vez aprobado se inició su ejecución.

De forma paralela a las pruebas de validación del proceso de limpieza y sanitización, se llevó a cabo la validación del sanitizante empleado, en este caso hipoclorito de sodio 10 ppm, evaluando su eficacia. Para esto, se utilizaron cepas de referencia ATCC, *Bacillus subtilis* subespecie *spizizenii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium sporogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, además de dos microorganismos pertenecientes a la flora nativa de la planta.

Para las pruebas de eficacia se utilizó un neutralizante, para detener la acción del sanitizante estudiado, para poder demostrar que el tiempo de contacto y concentraciones establecidas son las correctas. Además de demostrar la inocuidad del neutralizante frente a los microorganismos estudiados.

El proyecto se concluyó con la redacción del cierre de protocolo y la revisión y aprobación de éste, por la alta dirección como por la entidad responsable de calidad a nivel internacional de la empresa. Además de realizar las mejoras a los procedimientos involucrados en base a los resultados obtenidos.

1. INTRODUCCION

1.1 Laboratorio industrial y comercial Baxter Chile Ltda.

El laboratorio industrial y comercial Baxter de Chile Ltda. forma parte de la filial de Baxter International Inc., que desarrolla, fabrica y comercializa productos que salvan y mantienen las vidas de personas con hemofilia, trastornos inmunológicos, enfermedades infecciosas, enfermedad renal y otras afecciones médicas crónicas y agudas. Baxter Chile pertenece a una compañía diversificada y global de atención en salud, con gerencias de operaciones en cada país, que dan enfoque al trabajo en equipo y la comunicación entre los distintos países, para retroalimentar los diversos conocimientos y lograr una mejora continua. (1)

Baxter Chile importa y comercializa productos de biociencia, tales como factores coagulantes, inhibidores del paso de agentes hemofílicos para el tratamiento de la Hemofilia, proteínas terapéuticas como albuminas para situaciones de trauma, vacunas contra la Meningitis C (Neisvac-C), inmunoglobulina. Además proporciona dispositivos de entrega de fármacos (sistemas de administración de fármacos y equipos de administración), sistemas de infusión (bombas y diferentes equipos de administración), anestesias (gases anestésicos y manejo del dolor), nutrición (Nutrición Parenteral que incluye aminoácidos, lípidos y carbohidratos) y terapias especiales (Fármacos Oncológicos). (1)

Finalmente, Baxter Chile posee una planta de fabricación de Hemoconcentrados para Diálisis, siendo el principal productor de éstas soluciones a nivel nacional, generando aproximadamente 12 millones de litros

de soluciones por año. El 80% de la producción se vende en el mercado local y el 20 % restante es exportado a países de Latinoamérica y Centroamérica.

Baxter Chile inició sus operaciones de Manufactura desde 1995, a través de la compra de una compañía local llamada Sueros Forgen.

Considerando que el producto generado por Baxter Chile, hemoconcentrados, pese a no estar en contacto directo con el paciente, si juega un rol fundamental en la depuración de la sangre y mejora de salud y calidad de vida de éste, es de fundamental importancia que todo procedimiento empleado para la elaboración se encuentre validado desde la limpieza del material, producción, hasta el correcto rotulado para asegurar productos de alta calidad a todos los pacientes que sufren de insuficiencia renal crónica. (1)

1.2 Marco teórico

Esta práctica se desarrolló en el área de Manufactura con el apoyo del área de Calidad, y se centró en validar distintos procesos, principalmente la limpieza y sanitización de sus equipos, para asegurar que los procedimientos establecidos, permitían eliminar residuos a niveles previamente determinados como aceptables.

1.2.1 Validaciones

Validar consiste en la acción de comprobar y documentar que cualquier proceso, procedimientos o método, conduce efectiva y consistentemente a los resultados esperados (2). Además de demostrar documentalmente que el proceso está bajo control, y que se puede reproducir.

Existen cuatro tipos de validaciones (2)

- Validación Prospectiva, en este tipo de validación los parámetros de producción y analíticos a estudiar son establecidos previamente a la realización del trabajo de validación. Esta validación debe ser finalizada antes de iniciar la comercialización del producto.
- Validación Concurrente, este tipo de validación es llevada a cabo durante la producción de rutina de productos destinados a ser comercializados.
- Validación Retrospectiva, en este tipo de validación se requiere un análisis de datos históricos, generados por un proceso bien definido y conocido, donde los parámetros críticos se encuentran claramente identificados
- Revalidación, consiste en la repetición de la validación de un proceso aprobado (o una parte de este), para asegurar el cumplimiento continuo de los requisitos establecidos, frente a entidades nuevas, heredadas, o bien frente a cambios que tengan potencial impacto en la calidad y control del proceso.

Para validar se requiere que se encuentre de forma previa, el personal calificado, las instalaciones, equipos y sistemas calificados, los métodos analíticos utilizados validados. Además de realizar la validación con un número adecuado de lotes, dependiendo de la complejidad del proceso y tipo de producto.

Además la documentación que permite organizar la validación y se encuentra asociada a ésta, corresponde a;

- Procedimientos operativos estándar (POS)
- Especificaciones
- Plan Maestro de Validaciones
- Protocolos e informes de validaciones y calificaciones

El Plan Maestro de validaciones es un documento realizado por la organización en el que se describen qué equipos, sistemas, métodos y procedimientos habrán de validarse y cuándo lo harán. Establece prioridades y responsables, además de la forma de presentación necesaria para cada documento de validación. El Plan Maestro de Validaciones indica por qué y cuándo se deben realizar las revalidaciones, ya sea después de modificaciones o cambios en la ubicación de equipos o sistemas, cambios en los procesos o equipos usados en la fabricación, o cambios en los métodos de valoración o equipos usados en las pruebas (3).

Una vez alcanzado el estado validado para la mantención de éste, deben implementarse monitoreos de control, investigando las causas de tendencias negativas, determinar acciones preventivas y correctivas tomando en cuenta los requerimientos de la revalidación.

1.2.2 Dispositivos médicos

En este informe se detalla la elaboración y ejecución de una validación concurrente de limpieza de equipos, recopilando evidencia documental que los procedimientos establecidos permiten eliminar los residuos a niveles

aceptables, tomando en consideración factores tales como tamaño de lote, dosificación, toxicología y tamaño de equipo.

Baxter Chile, como se ha mencionado, corresponde a un laboratorio que importa productos farmacéuticos pero que fabrica, distribuye y expende soluciones concentradas para diálisis, las que acorde a nuestra legislación chilena, éste se clasifica como un dispositivo médico clase III.

Los hemoconcentrados corresponden a una solución que se utiliza para el tratamiento de la insuficiencia renal aguda y crónica durante el procedimiento de hemodiálisis. Esta solución se utiliza en combinación con el equipo de hemodiálisis y dializador para eliminar los desechos de la sangre.

Se define como dispositivo médico a cualquier instrumento, aparato, aplicación, material o artículo, incluyendo software, usados solos o en combinación y definidos por el fabricante para ser usados directamente en seres humanos, siempre que su acción principal prevista en el cuerpo humano no se alcance por medios farmacológicos, inmunológicos o metabólicos, aunque puedan concurrir tales medios a su función; con el propósito de diagnóstico, prevención, seguimiento, tratamiento o alivio de una enfermedad, daño o discapacidad; de investigación o de remplazo o modificación de la anatomía o de un proceso fisiológico, o de regulación de la concepción (4) .

Los dispositivos médicos se agrupan en cuatro clases de acuerdo al nivel de riesgo asociado a su uso. La clase I corresponde a aquellos de muy bajo riesgo, los de clase II a los de riesgo moderado, clase III a los de elevado potencial de riesgo y a los de clase IV, a los de críticos en materia de riesgos. Según esta clasificación los dispositivos médicos deberán cumplir los requisitos

regulatorios, controles y documentación requerida para la verificación de conformidad (Control de calidad que se le efectúa al elemento analizado para establecer que cumple con los requisitos para su comercialización que le sean propios en conformidad con éste.) (4).

Toda persona natural o jurídica que pretenda fabricar, comercializar, importar o distribuir dispositivos médicos debe contar con la previa verificación de la conformidad, la cual es otorgada por laboratorios, instituciones o servicios autorizados por el Instituto de Salud Pública de Chile.

Baxter Chile al pertenecer a una filial internacional, pese a funcionar en Chile, al momento de establecer y generar sus procedimientos de fabricación, calidad y limpieza define estándares más exigentes a los requeridos por la legislación imperante, de modo de alinearse a las políticas corporativas vigente.

1.2.3 Sanitización

Se considera como uno de los procesos críticos para resguardar la calidad de los productos, la limpieza y sanitización de los equipos y áreas involucradas. Los productos terminados pueden ser contaminados a través de sus propios ingredientes, sus procesos de agua, sus componentes de almacenaje, su ambiente de fabricación y por los mismos trabajadores del área. Si no se toman las precauciones correspondientes, los desinfectantes utilizados en el área, pueden convertirse en contaminantes químicos para el producto que se pretende resguardar de una contaminación microbiológica. Por ello las Buenas Prácticas de Manufactura, enfatizan en no sólo poseer documentados procedimientos adecuados de limpieza y sanitización, sino que además poseer

un diseño, construcciones, materiales y flujo de proceso adecuado para facilitar la limpieza y resguardar las condiciones sanitarias idóneas. (5)

El objetivo principal se centra en resguardar la calidad, seguridad y eficacia del producto disminuyendo la carga microbiológica y logrando una limpieza adecuada para evitar la contaminación producto - producto o con material inorgánico desconocido.

Un desinfectante se define como un agente que destruye o remueve formas vegetativas de microorganismo dañinos cuando es aplicado sobre superficies (5). Existen métodos físicos y químicos de desinfección, entre los métodos físicos se encuentran, ebullición a 100° C durante 15 minutos que destruye las bacterias vegetativas, pasteurización a 63°C durante 30 minutos o a 72°C durante 15 minutos y uso de radiación no ionizante (UV) (6).

Los desinfectantes químicos, corresponden a agentes que destruyen hongos, virus, y bacterias pero no necesariamente sus esporas. Estos son clasificados de acuerdo a su eficacia contra los microorganismos, en alto nivel, nivel intermedio y bajo nivel de eficacia (5). Entre los desinfectantes químicos encontramos (7);

- Alcoholes

Los alcoholes corresponden a desinfectantes de bajo nivel, bactericidas de acción rápida y eficaz sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas y virus con envoltura lipídica. Actúan desnaturalizando proteínas y solubilizando lípidos. La concentración bactericida óptima es al 70%, puesto que requieren estar diluidos en agua para favorecer la penetración a las células. Los alcoholes suelen inactivarse frente a materia orgánica y se emplean con mayor

frecuencia como antisépticos (usado sobre piel) asociados a yodóforos. Se suele emplear alcohol isopropílico y etílico en concentraciones que oscilan entre 50% a 70% (7).

- Aldehídos

Son desinfectantes fungicidas, bactericidas y virucidas su modo de acciones reaccionando con los grupos amino, tioles y carboxilos de proteínas. En este grupo se encuentra el Formaldehído (2 a 8%), Glutaraldehído (2%), y asociados.

- Peróxidos

Son bactericidas, virucidas y fungicidas. Actúan atacando a los lípidos de las membranas, el ADN y otros componentes esenciales de las células. Aquí se encuentra el peróxido de hidrógeno, que en preparaciones comerciales su concentración oscila entre 6 a 10%. Se inactiva rápidamente en presencia de materia orgánica, luz y contacto con el aire.

- Compuestos de amonio cuaternario

Tienen buena actividad bactericida frente a Gram positivos, pero poco frente a Gram negativa, en especial sobre Pseudomonas. Además presentan actividad fungicida y virucida en virus con envoltura. Su acción es atribuida a la inactivación de enzimas, desnaturalización de proteínas esenciales y rotura de membrana celular. Son considerados desinfectantes de bajo nivel y se suele utilizar en concentraciones de 0.4% al 1.6%

- Fenoles

Estos compuestos destruyen la pared celular y precipitan proteínas. Son activos frente a bacterias vegetativas, hongos y virus con envoltura lipídica. Son antisépticos a bajas concentraciones y desinfectantes a altas concentraciones.

- Ácidos

Se caracteriza por tener una acción rápida frente a todos los microorganismos, incluyendo las esporas bacterianas. Su ventaja especial es que se descomponen en productos (ácido acético, agua, oxígeno, peróxido de hidrógeno), que no resultan dañinos ni dejan residuos. Es efectivo en presencia de materia orgánica y resulta esporicida aún a bajas temperaturas. Resulta corrosivo para el cobre, bronce, acero inoxidable, hierro galvanizado. Estos efectos pueden modificarse mediante aditivos especiales y modificando el pH.

- Halógenos

La actividad microbicida del cloro se debe a su disociación en ácido hipocloroso. Es dependiente del pH. Si el pH aumenta, más iones de hipoclorito se formarán y por lo tanto la actividad microbiana disminuirá. Los clorados inhiben alguna reacción enzimática dentro de las células microbianas, desnaturalizando las proteínas e inactivando los ácidos nucleicos, además de actuar como fuertes oxidantes de proteínas.

En este último grupo encontramos el desinfectante utilizado por Baxter Chile para la limpieza y sanitización de equipos, el hipoclorito de sodio 10 ppm, que para llevar a cabo las pruebas de efectividad , se cuidaran las condiciones del agua en que se prepara, ya que distintos factores pueden influir en su efectividad;

- Tipo y cantidad de microorganismos presentes
- Temperatura (A mayor temperatura, mayor actividad)
- pH (pH mayor a 9 se inhibe el efecto sanitizante y se requieren mayores tiempos de exposición)
- Presencia material orgánico, inhibe la acción sanitizante.
- Concentración de desinfectante.
- Tiempo de contacto
- Dureza del agua (Una dureza elevada puede formar complejos quelantes de los biocidas)

Por definición se indica que un desinfectante de rápida acción debe ser capaz de matar el 99,9% de la cantidad de bacterias en estudio (10^8 UFC/mL) dentro de los 30 segundos, y los que se utilizan con una exposición más prolongada (5- 15 minutos) deben lograr disminuir en 5 unidades logarítmicas la población inicial, aceptándose así hasta un máximo de 1000 UFC/mL si se inicia de una población de 10^8 UFC/mL (9).

1.2.4 Neutralizantes

Se busca neutralizar el desinfectante para evitar que éste continúe actuando, ya sea, inhibiendo o destruyendo los microorganismos después de la toma de muestra, durante el análisis o la incubación de las muestras. Se busca detener la acción del biocida estudiado para poder demostrar que el tiempo de contacto y concentraciones establecidas son las correctas.

En función del sanitizante estudiado, será la elección del neutralizante a ocupar, en la Tabla1, se señalan algunos sanitizantes con sus respectivos neutralizantes.

Tabla1. Neutralizantes y tipos de biocidas que inactivan (8).

Sanitizante	Neutralizante
Alcoholes	Dilución o Polisorbato 80
Glutaraldehído	Glicina y Bisulfito de sodio
Hipoclorito de sodio	Tiosulfato de sodio
Clorhexidina	Polisorbato 80 y lecitina
Cloruro de mercurio y otros mercuriales	Tioglicolato
Compuestos de amonio cuaternario	Polisorbato 80 y lecitina
Compuestos fenólicos	Dilución o polisorbato 80 y lecitina

Además se deberá establecer la inocuidad sobre las cepas, para no atribuir una falsa efectividad al desinfectante estudiado.

1.2.5 Muestreo

La fase de toma de muestra debe ser detalladamente analizada, planificada y estudiada, para evitar frecuentes errores que conduzcan, generalmente, a falsos puntos “limpios” que no son tales, creyendo que se ha realizado una excelente limpieza del equipo.

El método de muestreo debe acoplarse al equipo que se limpia y al objetivo de la validación de la limpieza, por ello se utilizará el muestreo por enjuague, específicamente el agua del último enjuague, considerando que este es aplicable a superficies duras circulares, como la parte superior de los tanques, válvulas, bombas, ente otras. Además de ser un método de fácil manejo y aplicación, que se puede utilizar en tuberías y válvulas implicadas en las rutas de limpieza definidas por Baxter.

La técnica del enjuague permite muestrear una mayor área y de forma representativa, a diferencia del muestreo con hisopo o cupón, en los que el muestreo se realiza en contacto directo con el material de interés a muestrear, que en este caso se dificulta por el volumen y forma de los tanques, y que se torna necesario ingresar aumentando la probabilidad de contaminar el interior del equipo (10).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos generales

Determinar y validar que el proceso de sanitización y/o de limpieza de tanques de mezcla y líneas de llenado utilizado actualmente es reproducible y permite la reducción de residuos de producto, agentes de limpieza y microorganismos cumpliendo con las especificaciones establecidas en Baxter.

De esta manera podemos demostrar que el proceso de limpieza del equipo es efectivo no afectando al producto en su seguridad, identidad, potencia, calidad y pureza.

2.2 Objetivos específicos

- Dar cumplimiento al Plan Maestro de Validaciones existente en la organización
- Dar cumplimiento a los procedimientos corporativos de calidad vigentes en Baxter.
- Actualizar y oficializar los procedimientos operativos estándar e instructivos involucrados.
- Validar la efectividad del sanitizante, corroborando que el uso de éste en las concentraciones y tiempo de contacto establecidos son los correctos para lograr la sanitización del equipo.

3. METODOLOGIA

3.1 Descripción proceso de limpieza y sanitización

Las soluciones de hemoconcentrados tanto ácidas como básicas, en su fabricación en el área de Manufactura de Baxter, contempla actualmente de forma general desde la recepción de materias primas, el pesaje y fraccionamiento de los materiales, mezcla, muestreo de la solución, llenado según necesidad comercial en bidones de 5 o 10 L, etiquetado y finalmente empaque para su distribución.

Durante el proceso de fabricación, la sanitización y/o limpieza de los tanques y línea de llenado es un procedimiento que debe ser validado para asegurar la completa eliminación de posibles cargas microbianas y residuos químicos en los lugares donde sea aplicada, para ello se utiliza una solución sanitizante que, en nuestro caso, es hipoclorito de sodio 5 % (Clorox), diluido en agua

desionizada, hasta obtener una solución de 10 ppm para lavado interior del material. Esto se realiza con la finalidad de que los tanques de acero inoxidable y la línea de llenado incluyendo sus correspondientes circuitos se encuentren en condiciones sanitarias aceptables de ser utilizadas para fabricar, evitando los riesgos de contaminación microbiológica y/o contaminación cruzada producto-producto.

La limpieza y/o sanitización de tanques se realiza según el Anexo N°1, en el cual se consideran las siguientes rutas, establecidas internamente por Baxter:

- RUTA 1: Sanitización química con hipoclorito de sodio 10 ppm y luego de un enjuague con agua caliente, sanitización térmica. Esta ruta se realiza una vez a la semana terminada la producción o si el tanque ha estado desocupado por más de 24 horas.
- RUTA 2: Sanitización térmica, se aplica si el tanque ha estado entre 4 y 24 horas desocupado.
- RUTA 3: Enjuagar con agua caliente desionizada. Esta ruta se realiza para cambiar de formulaciones ácidas a básicas o viceversa.

La limpieza y/o sanitización de la línea de llenado se realiza según el Anexo N°2, en el cual se consideran las siguientes rutas:

- RUTA 1: Sanitización química con hipoclorito de sodio 10 ppm y luego de un enjuague con agua desionizada caliente, sanitización térmica. Esta ruta se realiza una vez a la semana terminada la producción, si la línea ha estado desocupado por más de 24 horas o si se ha roto la integridad del sistema.

- RUTA 2: Sanitización térmica, se aplica si la línea de llenado ha estado entre 1 y 24 horas detenida.
- RUTA 3: Enjuagar con agua caliente desionizada. Esta ruta se realiza para cambiar de formulaciones ácidas a básicas o viceversa.

Se debe considerar que para realizar la sanitización química de los tanques se requiere ingresar en su interior, por lo que el personal deberá encontrarse adecuadamente evaluado por un médico y capacitado de forma de asegurar un correcto y seguro trabajo en espacios confinados.

Para realizar la sanitización térmica se ingresa agua caliente al interior de los equipos y se mantiene en una temperatura igual o superior a 80 °C, regulándola con un termómetro, durante 15 minutos para formulaciones básicas y 10 minutos para formulaciones ácidas. Para realizar los enjuagues con agua caliente, no se requiere controlar la temperatura y sobre 37°C es aceptable.

Además dentro del procedimiento, se establece para ambos equipos tiempos de espera, relacionados con la limpieza y sanitización:

- **Tiempo de Espera Sucio:** Corresponde al tiempo máximo permitido para que la contaminación microbiana y residuos químicos permanezcan en el equipo antes de limpiar.

Para TANQUES, refiérase al Anexo 1:

- El tanque podrá permanecer sucio y desocupado **sobre** 24 horas antes de aplicar Ruta 1.

- El tanque podrá permanecer sucio y desocupado **hasta** 24 horas antes de aplicar Ruta 2.

Para LINEA DE LLENADO, refiérase al Anexo 2:

- La línea podrá permanecer sucia y desocupada **sobre** 24 horas antes de aplicar Ruta 1.
 - La línea podrá permanecer sucia y desocupada **hasta** 24 horas antes de aplicar Ruta 2.
- **Tiempo de Espera Limpio:** Corresponde al tiempo máximo permitido en el que el equipo permanece limpio sin requerir una limpieza adicional antes de usarse. En la Tabla 2 se señalan los tiempos de espera limpio para cada equipo.

Tabla 2. Tiempo de espera limpio según equipo.

ELEMENTO	CUANDO SE DEBE REALIZAR SANITIZACION TERMICA
TANQUES	Si han transcurrido menos de 4 horas desocupados y limpios.
LINEA DE LLENADO	Si ha transcurrido menos de 1 hora desocupada y limpia.

3.2 Análisis de riesgo y potencial modo de Falla

Un Análisis de Modo de Falla y su Efecto en el Proceso (PFMEA) proporciona un marco estructurado, cualitativo y analítico para descubrir problemas y riesgos asociados a los procesos, procedimientos y sistemas productivos establecidos por la organización. El PFMEA permite identificar, tomar decisiones y definir las acciones a realizar para reducir la probabilidad de

ocurrencia de los riesgos identificados. Además permite deducir los parámetros críticos que deberán tenerse en cuenta durante las actividades de validación.

Este procedimiento identifica y evalúa la secuencia de eventos relacionados, los posibles modos de falla del proceso y sus efectos finales y consecuencias sobre los clientes. Permite establecer controles y acciones para minimizar los efectos finales, en base a las variables críticas de control de proceso. (11)

De acuerdo a procedimientos internos de Baxter se elabora un PFMEA identificando las etapas del proceso de validación de limpieza involucrada, desde la redacción y aprobación del protocolo, definición de pruebas y criterios de aceptación, hasta la ejecución y obtención de resultados. Luego se determina los potenciales modos de falla de cada etapa y los efectos finales de estas fallas. Se define si existen características que involucren la seguridad del personal de la planta al momento de ejecutar el proceso. En base a la información recolectada, se asigna un grado de severidad en una escala del 1 al 5, siendo 1 insignificante y 5 equivalente a catastrófico. Además se establecen posibles causas a las potenciales fallas y se asigna la ocurrencia con una escala del 1 al 5, siendo 1 equivalente a improbable y 5 a frecuente. Por medio de una multiplicación entre la severidad asignada y la ocurrencia del evento se obtiene el índice de criticidad, que luego, multiplicado por la detectabilidad, entrega el índice de riesgo.

$$\text{Índice de riesgo} = \text{Severidad} \times \text{Ocurrencia} \times \text{Detección}$$

De acuerdo a este índice, se definen los métodos de control existentes y se establecen las acciones recomendadas para evaluar, mitigar o controlar el riesgo.

Una vez aprobado el PFMEA y documentadas las acciones a realizar se puede elaborar el protocolo de validación, el que contendrá los desafíos a ejecutar. Refiérase a Anexo N°3.

3.3 Selección peor caso

Un peor caso corresponde a la condición o conjunto de condiciones que abarca los límites superiores e inferiores de un proceso, para parámetros y circunstancias de operación, incluidas en los procedimientos operativos estándar, que tienen la mayor probabilidad de fallar en un producto o proceso al ser comparado con las condiciones ideales. Tales condiciones no incluyen necesariamente fallas en el producto o en el proceso (2).

3.3.1 Selección formulación a muestrear.

Considerando que en el área de manufactura se elaboran tres tipos de formulaciones ácidas de hemoconcentrados y tres tipos de soluciones básicas, las que se diferencia entre sí en el número y concentración de sus componentes, se escogerá el peor caso para ser muestreado durante la validación. En la Tabla 3 y Tabla 4 se detallan dichas formulaciones;

Tabla 3. Formulaciones ácidas de hemoconcentrados. (g/mL)

Componentes	CD21 A	CD22A	CD23A	CD51A	CD52A	CD53A	CD61A	CD63A
NaCl	174,5	174,34	174,5	212,73	210,7	210,7	263	263
KCl	5,49	4,11	4,12	2,61	3,91	5,22	3,4	6,7
CaCl ₂	9,48	8,11	6,77	7,71	6,43	7,72	9,9	9,9
MgCl ₂	3,74	3,74	3,74	2,66	3,56	3,56	3,4	3,4
Ac.Acético	8,82	8,84	10,05	6,31	4,2	4,2	10,8	10,8
Glucosa	36,83	36,83	36,83	35	35	35	90	90

Tabla 4. Formulaciones básicas de hemoconcentrados. (g/mL)

Componentes	CD20B	CD60B	CD50B
NaCl	23,54	0	0
NaHCO ₃	65,94	81,25	84

Tomando en cuenta que ninguna de las cepas utilizadas en la validación son ácidofilas y que el pH óptimo de crecimiento de microorganismos oscila entre 8,5 y 7,5 (12) no se muestreó, para análisis microbiológico, la limpieza y sanitización tras fabricar hemoconcentrados ácidos, debido al bajo pH que genera el ácido acético presente en estas soluciones, y que darían una falsa efectividad del sanitizante o ruta de sanitización. Sin embargo, considerando la cantidad de componentes que poseen, se evaluó en ellas la efectividad de limpieza y remoción de partículas inorgánicas, midiendo la conductividad. Se debió cumplir con los requerimientos de agua de la planta, (conductividad 0.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C) para la evaluación del contenido de partículas orgánicas.

Para facilitar la elección de las soluciones que fueron consideradas durante la validación de limpieza, se creó una escala de 1 a 3, explicada en Anexo 4 y se asignó un valor a cada componente de la formulación. Considerando los parámetros de concentración, solubilidad, dificultad para limpiar y visibilidad de la limpieza, se obtuvo un valor final, dado por la multiplicación de la concentración y la solubilidad, sumado a la dificultad para limpiar y la visibilidad de limpieza. El número de mayor valor obtenido de este cálculo, correspondió al peor caso a utilizar. Este análisis fue realizado en conjunto con la alta dirección generando interna y arbitrariamente las escalas utilizadas.

Por otra parte para evaluar la efectividad de los procesos sanitizantes utilizados, se escogió el peor caso entre las soluciones básicas, ya que, este medio es mucho más favorable para el crecimiento de microorganismos y no presenta una dificultad mayor de limpieza puesto que posee a lo más dos componentes salinos con alta solubilidad en agua, no constituyendo un parámetro crítico para la limpieza, pero si para la sanitización.

De igual forma que para las soluciones ácidas se construye una tabla señalada en el Anexo N°4 y en base al parámetro microbiológico se le asigna un valor y la formulación básica con el número mayor es el escogido a utilizar.

3.3.2 Selección equipo a muestrear.

Cada planta puede dividir sus equipos en categorías o familias de acuerdo a diversos criterios, tales como presencia o ausencia de agitadores, revestimiento, configuración, etc. Considerando que los tres tanques existentes en la planta y utilizados en la fabricación de hemoconcentrados, son sometidos a las mismas rutas de limpieza y/o sanitización y comparten la misma instalación para desagüe, la validación se realizó en uno de los tres tanques, seleccionado como el peor de los casos y representativo que cubre el resto, el tanque C, por ser el de mayor volumen, más difícil de limpiar por su tamaño y que posee un mayor trayecto desde su fondo hasta el desagüe, por lo que tarda más en obtener la conductividad adecuada y presenta una mayor probabilidad de arrastrar residuos desde las cañerías. Refiérase a Anexo N° 5.

3.4 Verificación de efectividad sanitizante

3.4.1 Preparación de inóculo inicial

Se utilizarán cepas de *Bacillus subtilis* subespecie *spizizenii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium sporogenes*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*, las cuales en condiciones de esterilidad, se abrió el depósito liofilizado y se reconstituyó según las condiciones especificadas en la Tabla 5, para el microorganismo a utilizar. Se incubaron en placas de Petri entre 24 a 72 horas, considerando que los microorganismos en fase de crecimiento logarítmico son más susceptibles a la acción de desinfectantes en relación a células en fase estacionaria, por ello se hará uso de estas últimas para las pruebas de validación.

Tabla 5. Condiciones de crecimiento microorganismos utilizados.

Microorganismos de prueba	Condiciones	Temperatura de incubación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Aerobiosis	30-35 °C
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		
<i>Clostridium sporogenes</i>	Anaerobiosis	20- 25°C
<i>Candida albicans</i>		
<i>Aspergillus Níger</i>		

Trascurridas las horas de incubación se resuspendió el microorganismo en suero fisiológico (NaCl 0.9%) estéril, y se procedió a estandarizar el inóculo de trabajo utilizando el estándar de turbidez de McFarland. Este estándar se preparó mezclando 99,5 mL de ácido sulfúrico 1% (0,36N) con 0,5 mL de cloruro de bario 1,175% p/v (0,048 M), precipitado que proporciona una densidad óptica equivalente a la de una suspensión bacteriana de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (13) , al ser medida con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm.

Para asegurar una correcta elaboración del estándar, la turbidez a 625nm debe ser entre 0,08 a 0,10 (14).

3.4.2 Preparación de inóculo de trabajo y prueba de desafío

Para evaluar la efectividad del sanitizante utilizado se considero la concentración y tiempo de contacto establecido por políticas de Baxter (10 ppm por 15 minutos) y se ensayó cada prueba en triplicado.

Se tomó una alícuota de 1mL de una suspensión de las cepas de referencia de aproximadamente 10^8 UFC/ml, en la que se aprecia turbidez y se asegura un control positivo incontable y se mezcló con 9 mL del sanitizante estudiado durante los 15 minutos establecidos y se dejó reposar a temperatura ambiente (Controlado con cronometro). Transcurrido este tiempo, se tomo un 1mL de la mezcla y se adicionó a 9 mL de neutralizante dejando actuar a temperatura ambiente por 10 minutos. Luego, se tomaron dos alícuotas de la suspensión resultante y se llevó cada una a un volumen de 100 mL con NaCl 0.9% y se filtraron con membranas cuadrículadas de 45 micrones de porosidad, para finalmente ser sembradas sobre agar.

Por otra parte se ensayó un control positivo, al adicionar 1 mL de suspensión de microorganismos de 10^8 UFC/ml aprox. con 9 mL de suero fisiológico, agitando y dejando en reposo por los minutos establecidos a temperatura ambiente. Y al igual que en el tubo de prueba , transcurrido este tiempo se sacó 1 mL de mezcla y se adicionó a 9 mL de neutralizante y se dejó en reposo por 10 minutos para luego filtrar y sembrar de la forma descrita anteriormente.

- ✓ Se consideró que el sanitizante cumplía con el desafío si el crecimiento en la placa sembrada posterior al lavado posee ≤ 1000 UFC/mL, lo que evidencia una reducción logarítmica de 5, partiendo de una placa con aproximadamente 10^8 UFC/mL, que visualmente corresponde a una placa incontable.

3.4.3 Prueba desafío *Bacillus subtilis* subespecie *spizizenii*

El *B. subtilis* corresponde a un microorganismo bacilo Gram positivo esporulado, que genera endosporas frente a condiciones adversas, tales como cambios de pH, temperatura, etc. Por esto previo a las pruebas de desafío, se realizó un shock térmico al inóculo de trabajo, procedimiento que lo distingue del resto de los microorganismos.

Una vez obtenido el inóculo de trabajo, se sometió a shock térmico, calentando a baño maría a 80 °C por 20 minutos, y posteriormente enfriando bruscamente en hielo por 20 minutos más.

Sobre este inóculo se realizaron las pruebas de desafío descritas anteriormente.

3.4.4 Prueba desafío, flora local Baxter.

De acuerdo a los estudios realizados para la identificación de la flora local de Baxter Chile, y las áreas donde se emplea el sanitizante según los procedimientos establecidos, se seleccionaron colonias para rejuvenecerlas y se mezcló una alícuota de 1mL de una suspensión de aproximadamente 10^8 UFC/ml con 9 mL de sanitizante durante los minutos establecidos a temperatura ambiente (15 minutos). Transcurrido este tiempo se tomó 1mL de la mezcla y se adicionó a 9 mL de neutralizante y se dejó actuar por 10

minutos. Luego, se tomaron dos alícuotas de 1mL de la suspensión resultante y se llevaron a un volumen de 100 ml con NaCl 0.9% y se filtraron con membranas cuadrículadas de 45 micrones de porosidad, para finalmente ser sembradas sobre agar.

Para la flora local de Baxter también se elaboró un control positivo.

La flora nativa ensayada correspondió a representantes de las familias mayoritarias presentes en la planta, coco Gram positivos y bacilos Gram positivos. Refiérase a Anexo N°6.

- ✓ Se consideró que el sanitizante cumplía con el desafío si el crecimiento en la placa sembrada posterior al lavado posee ≤ 1000 UFC/mL, lo que evidencia una reducción logarítmica de 5, partiendo de una placa con aproximadamente 10^8 UFC/mL, que visualmente corresponde a una placa incontable.

3.4.5 Neutralización de sanitizante utilizado.

Para comprobar que el neutralizante lograba detener la acción del sanitizante, se mezcló en un tubo (A), 9 mL de Tiosulfato de sodio 10% con 1mL de sanitizante (hipoclorito de sodio 10 ppm) (15), se agitó y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 10 minutos. Transcurrido este tiempo se añadió el inóculo de 100 μ L de una concentración aproximada de 10^8 UFC /mL, y se agitó en vórtex por 10 segundos y se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos.

En otro tubo (B) para comprobar que el neutralizante no era tóxico para las bacterias se mezcló 9 mL de neutralizante con 1 mL de suero fisiológico estéril, se agitó y mantuvo en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se añadió 100 µL el inóculo, se agitó en vórtex por 10 segundos y se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos (16).

A continuación, se tomó de cada tubo dos alícuotas de 1 mL, y se llevó a un volumen de 100mL con NaCl 0.9%, para ser filtradas y sembradas sobre agar. Se incubaron y se realizó el recuento de colonias.

- ✓ Se consideró que se logra una neutralización exitosa si de los dos primeros tubos (A y B) se obtiene una recuperación de colonias no menor del 70 % del inóculo inicial, lo que se reflejará en una placa incontable.

3.4.6 Ensayo *in situ* del sanitizante empleado

Considerando el enorme riesgo que conlleva, para la calidad y por sobre todo seguridad del producto terminado, la presencia de microorganismos patógenos en el interior de equipos y superficies de las áreas estudiadas, se decidió evaluar la efectividad *in situ* del sanitizante empleado, en superficies representativas del mismo material que el equipo o área determinada. Así a través de un muestreo por hisopado luego de haber lavado y enjuagado la superficie con el sanitizante, se ensayaron superficies de acero inoxidable para la representación de los equipos, utilizando una cantidad aproximada de 10^8 UFC/mL de todas las cepas USP y las correspondientes a cepas de la flora local para las pruebas.

De esta forma, se logró dar cumplimiento a las políticas corporativas de Baxter, que exigen el ensayo *in situ* de los biocidas empleados.

- ✓ Se consideró que el sanitizante cumplía con el desafío si el crecimiento en la placa sembrada posterior al lavado posee ≤ 1000 UFC/mL, lo que evidencia una reducción logarítmica de 5, partiendo de un control positivo de aproximadamente 10^8 UFC/mL, que visualmente corresponde a una placa incontable.

3.5 Verificación de efectividad procedimiento de limpieza y sanitización de equipos

La validación consistió en muestrear el agua del último enjuague de los equipos tras haber realizado los procedimientos de sanitización y/o limpieza. De esta forma se obtuvieron las muestras, tanto para verificar la capacidad de limpieza de los métodos, como para la verificación de reducción de la carga microbiológica de los mismos. El análisis de la efectividad de limpieza se realizó a través de la determinación de la conductividad y la efectividad de la sanitización a través de recuento microbiológico por filtración.

Esta validación de sanitización y/o limpieza ajusta sus criterios de aceptación, a los requerimientos de agua de la planta para la evaluación de partículas orgánicas, mientras que para las inorgánicas y recuento microbiológico, se ajusta a las establecidas para producción y producto terminado.

Todos los muestreos se realizaron, de tres lavados de diferentes lotes de la misma formulación ácida o básica según la prueba realizada, en distintas oportunidades, sujeto al programa y disponibilidad del área.

3.5.1 Ruta 1 (Limpieza de soluciones ácidas)

Después de realizar la sanitización química se tomaron muestras de enjuague para la evaluación de los potenciales residuos que pudieran quedar, tanto de la formulación ácida, como del sanitizante utilizado.

- Para sustancias orgánicas, no se realizó muestreo y análisis y se consideró que el test aprobaba si se cumplía con los requerimientos de calidad de agua desionizada, establecido por Baxter.
- Para sustancias inorgánicas se realizó la determinación de conductividad, la cual debe ser menor o igual a $1.3 \mu\text{S}/\text{cm}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, de acuerdo a criterios establecidos internamente por Baxter Chile.
- Se realizó una inspección visual del agua de enjuague, en la que se aprobó si el agua se presentaba incolora, transparente y libre de partículas visibles.

Tras la sanitización térmica no se tomaron muestras, considerando que ésta busca eliminar posibles cargas microbianas y que estudios anteriores de Baxter señalaban que las soluciones ácidas no permiten el desarrollo de estas colonias.

3.5.2 Ruta1 (Sanitización de soluciones básicas).

Después de realizar la sanitización química se tomaron muestras de enjuague para la evaluación microbiológica y de igual forma se tomaron muestras al finalizar la sanitización térmica con el fin de determinar si tanto el hipoclorito de sodio como sanitizante como la sanitización térmica cumplen su objetivo.

- ✓ Se consideró que el test aprobaba si del recuento total existe una formación de colonias menor o igual a $80\text{UFC}/100 \text{ mL}$. Criterio usado

para aprobación de aguas de preparación en sala de fabricación de Baxter Chile.

3.5.3 Ruta 2 (Sanitización de soluciones básicas).

Considerando que el objetivo de esta ruta es lograr la sanitización del tanque, sin importar los mínimos residuos que queden si se continúa trabajando con el mismo tipo de formulación, se tomaron muestras de enjuague al término de la sanitización térmica para análisis microbiológico y se consideró que el test aprobaba si del recuento total existe una formación de colonias menor o igual a 80 UFC/100 mL.

3.5.4 Ruta 3 (Limpieza de soluciones ácidas).

El objetivo de esta ruta es lograr la eliminación de residuos químicos de la formulación anterior, por ello tras el enjuague con agua desionizada se tomaron muestras de enjuague y se realizó una inspección visual del agua de enjuague, en la que se aprobaba si el agua se presentaba incolora, transparente y libre de partículas visibles.

Y también a la muestra se determinó la conductividad, la cual debía ser menor o igual a 1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C.

3.5.5 Determinación tiempo de espera sucio

Se buscó establecer un nivel crítico de contaminación y residuos, que sobrepasado éste, el método de limpieza y /o sanitización fuera menos efectivo o bien requiriera un mayor tiempo de contacto con el material. Puesto que este tiempo podría ser excesivo, se estableció en base a la realidad de la línea de producción de Baxter el tiempo a considerar.

Por ello se consideró la mayor cantidad de tiempo que podría quedar sucio y desocupado un tanque, como es el caso de días feriados presentes en lunes o viernes, que da un total de tres días (72 hrs) de prueba que podrían quedar sucios desocupados antes del proceso de limpieza. El test se consideró aprobado si al realizar la limpieza después de estos tres días, ésta resultaba efectiva.

La limpieza se realizó tras elaborar una solución básica y tras realizar la ruta 1 y tras la ruta 2, y se evaluó microbiológicamente tomando dos muestras de enjuague al término de la sanitización química y dos muestras de enjuague al término de la sanitización térmica, en tres lotes distintos de la misma formulación.

La efectividad se consideró adecuada si los resultados de recuento total, resultaban menor o igual a 80 UFC/100 mL.

En el caso de la línea de llenado, se consideró el tiempo habitual que queda desocupada antes de aplicar ruta 1, correspondiente a 60 horas aproximadas y de igual forma que para los tanques se realizó la limpieza tras la elaboración de una solución básica y se consideró validado si la limpieza tras las 60 horas resultaba efectiva. Se evaluó microbiológicamente tomando dos muestras de enjuague al término de la sanitización química y dos muestras de enjuague al término de la sanitización térmica de tres lotes distintos de la misma formulación, tanto para la ruta 1 como la ruta 2.

La efectividad se consideró como adecuada si los resultados de recuento total, se obtiene menor o igual a 80 UFC/100mL.

Para el caso de la determinación del tiempo de espera sucio para la ruta dos, esta se estableció como un máximo de 24 horas, considerando que por procedimiento habitual la ruta dos no debería dejar pasar más de este tiempo. Esto se aplica tanto para la línea de llenado como para los tanques.

3.5.6 Determinación tiempo de espera limpio.

Se determinó cuánto tiempo puede estar el equipo desocupado limpio y luego ser utilizado sin requerir una limpieza adicional.

Utilizando el muestreo por enjuague, con el tanque limpio, desocupado y cerrado y una vez finalizada las rutas 1 y 2 definidas anteriormente, se muestreo a las 2, 4, y 18 horas de realizada la sanitización, tras limpiar soluciones básicas, con el fin de identificar a que hora de finalizada la sanitización comienza un crecimiento de microorganismos que afecte en la calidad y seguridad del producto.

Se establece que la contaminación es crítica para la calidad del producto cuando es superior a 80 UFC/ 100mL.

Para el caso de la línea de llenado se muestreó hasta las 4 h, considerando que por procedimiento, ésta es más crítica y no debiese excederse este tiempo

3 RESULTADOS

4.1 Verificación efectividad sanitizante in vitro.

Se utilizaron microorganismos USP y la flora local de Baxter y se realizó la prueba de desafío acorde a los tiempos de contacto y concentración, establecidos por Baxter Chile para el sanitizante empleado en la limpieza y/o sanitización de tanque y línea de llenado, correspondiente a hipoclorito de sodio 10 ppm. Se consideró como criterio de aceptación una reducción logarítmica de 5 a partir del inóculo inicial, lo que se refleja en ≤ 1000 UFC/mL. Realizando las pruebas en tubos de ensayo. En la Tabla 6, se exponen los resultados obtenidos y se refleja el cumplimiento con los límites establecidos.

Tabla 6. Efectividad de Hipoclorito de sodio 10 ppm, sobre cepas de referencia USP y floral local de Baxter ensayadas in vitro.

Efectividad Sanitizante Hipoclorito de sodio 10 ppm				
Cepa	Fecha	Control positivo	M1	Cumple SI/NO
C.Sporogenes	19-06-213	incontable	0	Sí
	20-06-2013	incontable	0	Sí
	21-06-2013	incontable	0	Sí
C. Albicans	20-06-2013	Incontable	1	Sí
	21-06-2013	Incontable	1	Sí
	26-06-2013	Incontable	1	Sí
A.brasiliensis	24-07-2013	Incontable	2	Sí
	25-07-2013	Incontable	38	Sí
	26-07-2013	Incontable	10	Sí
Bacilo gram (+)	19-06-213	Incontable	4	Sí
	20-06-2013	Incontable	0	Sí
	21-06-2013	Incontable	1	Sí
Coco gram (+)	19-06-213	Incontable	0	Sí
	20-06-2013	Incontable	1	Sí
	21-06-2013	Incontable	0	Sí
P.aeruginosa	19-06-213	Incontable	3	Sí
	20-06-2013	Incontable	0	Sí
	21-06-2013	Incontable	0	Sí
S.aureus	19-06-213	Incontable	1	Sí
	21-06-2013	Incontable	2	Sí
	26-06-213	Incontable	4	Sí
B.subtillis	02-08-2013	incontable	152	Sí
	02-08-2013	incontable	130	Sí
	02-082013	incontable	110	Sí

De la Tabla 6, se observa que el sanitizante empleado es efectivo contra las cepas ensayas, en la concentración y tiempo de contacto establecidos en los procedimientos internos de la organización, por lo que se puede continuar con las demás pruebas en que se ensaya in situ y en las Rutas de limpieza y sanitización.

4.2 Efectividad sanitizante in situ

Se evaluó que el sanitizante empleado es efectivo sobre las cepas definidas, en una superficie representativa del equipo al que se le suele aplicar el procedimiento de limpieza establecido por Baxter Chile, se utilizó una superficie de acero inoxidable. De igual forma que en la prueba de efectividad, se considera un criterio de aceptación de una reducción logarítmica de 5 a partir del inóculo inicial, lo que se refleja en ≤ 1000 UFC/mL. En la Tabla 7, se observan los resultados de las pruebas in situ realizadas, lo que refleja que ciertamente, el sanitizante es efectivo para las superficies en que es empleado en forma habitual durante la jornada laboral y que la forma de aplicación es la correcta, al igual que el tiempo de contacto y concentraciones establecidas en el procedimiento de limpieza.

Tabla 7. Efectividad de Hipoclorito de sodio 10 ppm, sobre cepas de referencia USP y floral local de Baxter ensayadas in situ, sobre superficie representativa.

Efectividad Sanitizante Hipoclorito de sodio 10 ppm in situ				
Cepa	Fecha	Control positivo	M1	Cumple SI/NO
C.Sporogenes	24-07-2013	incontable	0	Si
		incontable	0	Si
		incontable	1	Si
C. Albicans	24-07-2013	incontable	0	Si
		incontable	0	Si
		incontable	0	Si
A.brasiliensis	24-07-2013	Incontable	0	Si
		Incontable	0	Si
		Incontable	0	Si
Bacilo gram (+)	25-07-2013	Incontable	14	Si
		Incontable	5	Si
		Incontable	4	Si
Coco gram (+)	25-07-2013	Incontable	21	Si
		Incontable	3	Si
		Incontable	2	Si
P.aeruginosa	25-07-2013	incontable	0	Si
		incontable	0	SI
		incontable	0	Si
S.aureus	25-07-2013	incontable	0	Si
		incontable	0	Si
		incontable	0	Si
B.subtills	25-07-2013	Incontable	0	Si
		Incontable	0	Si
		incontable	0	Si

4.3 Neutralización sanitizante

Con el objetivo de determinar que el neutralizante escogido (tiosulfato de sodio 10%) es capaz de neutralizar y detener la acción sanitizante del hipoclorito de sodio 10 ppm, y que al mismo tiempo la disminución de microorganismos no se debe a una acción tóxica del neutralizante sobre las cepas, se ensayaron dos tubos, el A (Neutralizante más sanitizante) y el B (Neutralizante más agua). En la Tabla 8 se observa que el neutralizante no es nocivo para el sanitizante y que efectivamente logra detener su acción.

Tabla 8. Neutralización de Hipoclorito de sodio 10 ppm con Tiosulfato 10%. Cumple la prueba cuando existe un crecimiento de colonias no menor del 70% respecto al inóculo inicial, en ambos tubos.

Neutralización Sanitizante Hipoclorito de sodio 10 ppm					
Cepa	Fecha	Control positivo	M1 A(N+S)	M2 B (N+ agua)	Cumple SI/NO
C.Sporogenes	24-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
C. Albicans	24-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
A.brasiliensis	24-07-2013	Incontable	incontable	Incontable	Sí
	25-07-2013	Incontable	Incontable	Incontable	Sí
	26-07-2013	incontable	Incontable	incontable	Sí
Bacilo gram (+)	24-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
Coco gram (+)	24-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
B. Subtillis	24-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
P.aeruginosa	24-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
S.aureus	24-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí
	25-06-2013	incontable	incontable	incontable	Sí
	26-06-213	incontable	incontable	incontable	Sí

4.4 Ruta 1 (Limpieza de soluciones ácidas)

De acuerdo a las políticas de Baxter se admite una cantidad de partículas inorgánicas tal, que la medición de la conductividad en el agua de enjuague de equipos, sea menor o igual a 1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C, por ello en la Tabla 9 y Tabla 10 se exponen los resultados obtenidos de las mediciones de conductividad, posterior de la aplicación de sanitización química establecida en la Ruta 1, luego de haber fabricado una solución ácida.

Tabla 9. Conductividad tras sanitización química en Tanque de Mezcla C. La inspección visual se cumple cuando el agua de enjuague es incolora y sin partículas en suspensión.

TANQUE DE MEZCLA C						
Fecha	Tipo de muestreo	Inspección visual	N° Ciclos	M1 (µS/cm)	M2 (µS/cm)	Cumple SI/NO
29-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	SI	4	1,1	1,2	Sí
09-05-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	SI	4	1,17	1,14	Sí
17-05-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	SI	5	1,24	1,13	Sí

Tabla 10. Conductividad tras sanitización química en Línea de Llenado. La inspección visual se cumple cuando el agua de enjuague es incolora y sin partículas en suspensión.

LÍNEA DE LLENADO						
Fecha	Tipo de muestreo	Inspección visual	N° Ciclos	M1 (µS/cm)	M2 (µS/cm)	Cumple SI/NO
17-06-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	Si	4	1,1	1,03	Sí
1-07-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	Si	6	1,13	1,09	Sí
22-07-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	Si	4	1,09	1,10	Sí

De ambas tablas se entiende, que tras el enjuague de los equipos con agua caliente se logra una remoción efectiva tanto de materia inorgánica contaminante como de restos del sanitizante empleado, por lo que se asegura que el método de limpieza es el adecuado. De esta forma se demuestra que el procedimiento de limpieza preverá una contaminación producto- producto o bien de otra materia ajena la formulación.

4.5 Ruta1 (Sanitización de soluciones básicas)

En las Tablas 11 y 12 se señalan los resultados y cumplimiento de los análisis microbiológicos, después de fabricar y llenar con una solución de hemoconcentrado básico, y realizar la sanitización química de los equipos con hipoclorito de sodio 10 ppm. Se evalúa la capacidad sanitizante, tanto de la

aplicación de hipoclorito de sodio 10 ppm, como de la sanitización térmica, se considera aprobado si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

Tabla 11. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague tras Ruta 1 en Tanque de Mezcla C.

TANQUE DE MEZCLA C				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
08-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
15-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	1	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	1	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
03-06-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	1	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

Tabla 12. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague tras Ruta 1 en Línea de Llenado.

LÍNEA DE LLENADO				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
29-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	14	14	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
13-05-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	1	1	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	2	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
03-06-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

De los resultados obtenidos, se observa que la Ruta 1, compuesta por sanitización química, un enjuague con agua caliente y sanitización térmica, es efectiva en controlar la carga microbiológica a límites aceptables.

4.6 Ruta 2 (Sanitización de soluciones básicas)

Tras fabricar y llenar una solución de hemoconcentrado básico, se sanitizó térmicamente los equipos y se muestreó el agua del último enjuague, independiente de la conductividad obtenida. Se analizó microbiológicamente las muestras y sus resultados se muestran en las Tablas 13 y 14.

Tabla 13. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague tras Ruta 2 en Tanque de Mezcla C. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

TANQUE DE MEZCLA C				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
03-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
10-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
17-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	1	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

Tabla 14. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague tras Ruta 2 en Línea de Llenado. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

LINEA DE LLENADO				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
20-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	6	4	Si
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
04-05-2013	Enjuague tras sanitización térmica	0	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
21-06-2013	Enjuague tras sanitización térmica	4	2	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

Las Tablas 13 y 14 exponen el cumplimiento de la Ruta 2 para controlar la carga microbiológica en el interior de los equipos. Siendo la Ruta 2 la más utilizada durante la jornada laboral de Baxter Chile, en los resultados se observa que esta es efectiva para mantener las condiciones asépticas mínimas requeridas en los equipos para la fabricación.

4.7 Ruta 3 (Limpieza de soluciones ácidas)

En las Tablas 15 y 16 se observan los resultados, tras fabricar y llenar una solución de hemoconcentrado ácido, y determinar la conductividad de éstas, con el fin de evaluar la efectividad de limpieza que posee la ruta 3.

Tabla 15. Conductividad tras enjuague establecido en Ruta3 para el Tanque de Mezcla C. La prueba se cumple cuando la inspección visual del agua de enjuague es incolora y no presenta partículas en suspensión y se obtiene una conductividad menor o igual a 1.3 $\mu\text{S/cm}$ a 25 °C.

TANQUE DE MEZCLA C						
Fecha	Tipo de muestreo	Inspección visual	N° Ciclos	M1 ($\mu\text{S/cm}$)	M2 ($\mu\text{S/cm}$)	Cumple SI/NO
02-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	3	0,58	0,50	Sí
24-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	3	0,65	0,53	Sí
03-05-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	3	1,26	1,17	Sí

Tabla 16. Conductividad tras enjuague establecido en Ruta3 para la Línea de Llenado. La prueba se cumple cuando la inspección visual del agua de enjuague es incolora y no presenta partículas en suspensión y se obtiene una conductividad menor o igual a 1.3 $\mu\text{S/cm}$ a 25 °C.

LÍNEA DE LLENADO						
Fecha	Tipo de muestreo	Inspección visual	N° Ciclos	M1 ($\mu\text{S/cm}$)	M2 ($\mu\text{S/cm}$)	Cumple SI/NO
04-06-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	3	0,99	1,05	Sí
11-06-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	5	1,12	1,01	Sí
12-06-2013	Enjuague tras sanitización térmica	Sí	3	1,33	1,12	Sí

Ambas tablas muestran que el enjuague con agua caliente descrito en los procedimientos de limpieza y sanitización para equipos, son efectivos en la remoción de productos, y material particulado inorgánico.

4.8 Determinación tiempo de espera sucio (TS)

Después de haber fabricado y llenado una solución de hemoconcentrado básico, se dejaron los equipos desocupados y sucios. Para el caso del Tanque, se evaluó que tras tres días (72 horas aprox.) de quedar sucio y desocupado, y aplicar la Ruta 1, ésta sigue siendo efectiva. Con el mismo objetivo y en base a la realidad de Baxter, se esperaron 60 horas para la línea antes de realizar la sanitización química y térmica. Una vez realizada la Ruta 1 en ambos equipos, se tomaron muestras de los últimos enjuagues, tras la sanitización química y tras la sanitización térmica y se analizaron por recuento total. En las Tablas 17 y 18 se observan los resultados de los tiempos ensayados.

Tabla 17. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para Tiempo de espera sucio, tras realizar Ruta1 en Tanque de Mezcla C. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

TANQUE DE MEZCLA C, R1				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
08-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 72h)	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
15-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	1	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 72h)	0	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
03-06-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 72 h)	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

Tabla 18. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para Tiempo de espera sucio, tras realizar Ruta1 en Línea de Llenado. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

LINEA DE LLENADO, R1				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
29-04-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 60 h)	29	34	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación
13-05-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	1	1	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 60 h)	0	3	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación
03-06-2013	Enjuague tras sanitización NaClO	0	0	Sí
	Enjuague tras sanitización térmica (TS 60 h)	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación

En ambas Tablas se observa que la ruta de limpieza de sanitización y limpieza continúa siendo efectiva, tras el tiempo de espera sucio establecido, en que se dejaron sucios y desocupados los equipos.

Para el caso de la Ruta 2, para demostrar que ésta es efectiva tras un tiempo de espera sucio de 24, en las Tablas 19 y 20 se señalan los resultados, tras ensayar este tiempo.

Tabla 19. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para Tiempo de espera sucio, tras realizar Ruta 2 en Tanque de Mezcla C. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

TANQUE DE MEZCLA C, R2				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
03-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24h)	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
10-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24 h)	0	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
17-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24h)	2	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio

Tabla 20. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para Tiempo de espera sucio, tras realizar Ruta2 en Línea de Llenado. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

LINEA DE LLENADO, R2				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
20-04-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24h)	32	14	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación del medio
04-05-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24h)	1	0	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación en el medio
21-06-2013	Enjuague tras sanitización térmica (TS 24h)	0	1	Sí
	Blanco	0	0	No hay contaminación en el medio

Tras el tiempo de espera, de dejar sucio y desocupados los equipos, resulta efectiva la Ruta 2, por lo que se concluye que se puede esperar este tiempo sin preocuparse de la pérdida de efectividad, o bien un aumento de la carga microbiológica a niveles superiores a la capacidad del método de limpieza y sanitización establecido.

4.9 Determinación tiempo de espera limpio.(TL)

Tras haber realizado las rutas 1 ó 2 de limpieza y/o sanitización de equipos, establecidas por Baxter Chile, se muestreó a distintas horas con el fin de establecer, cuánto tiempo pueden permanecer dichos equipos, limpios y desocupados y ser utilizados sin requerir ser sanitizados y/o limpiados nuevamente, es decir, que poseen una carga microbiológica que no afecta en la calidad, seguridad y eficacia del producto (Menor o igual a 80UFC/100 mL)

En las tablas 21, 22, 23 y 24 se observa en que tiempos medidos inicia el

crecimiento microbiológico, en función del tipo de limpieza aplicada con anterioridad.

Tabla 21. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para validar Tiempo de espera limpio, tras realizar Ruta 1 en Tanque de Mezcla C. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

TANQUE DE MEZCLA C, R1				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
08-04-2013	TL 0h	0	0	Sí
	TL 2h	0	0	Sí
	TL 4h	0	2	Sí
09-04-2013	TL 18h	0	5	Sí
15-04-2013	TL 0h	1	0	Sí
	TL 2h	0	0	Sí
	TL 4h	0	0	Sí
16-04-2013	TL 18h	1	0	Sí
03-06-2013	TL 0h	1	0	Sí
	TL 2h	0	0	Sí
	TL 4h	2	0	Sí
04-06-2013	TL 18h	0	1	Sí

Tabla 22. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para validar Tiempo de espera limpio, tras realizar Ruta 1 en Línea de Llenado. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

LÍNEA DE LLENADO, R1				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
29-04-2013	TL 0h	14	14	Sí
	TL 2h	1	5	Sí
13-05-2013	TL 0h	2	1	Sí
	TL 2h	28	39	Sí
03-06-2013	TL 0h	0	0	Sí
	TL 2h	3	8	Sí

Tabla 23. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para validar Tiempo de espera limpio, tras realizar Ruta 2 en Tanque de Mezcla C. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

TANQUE DE MEZCLA C, R2				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
03-04-2013	TL 0h	0	0	Sí
	TL 2h	0	0	Sí
	TL 4h	4	0	Sí
04-04-2013	TL 18h	2	4	Sí
10-04-2013	TL 0h	0	0	Sí
	TL 2h	0	0	Sí
	TL 4h	1	0	Sí
11-04-2013	TL 18h	0	0	Sí
17-04-2013	TL 0h	1	1	Sí
	TL 2h	6	3	Sí
	TL 4h	1	0	Sí
18-04-2013	TL 18h	0	1	Sí

Tabla 24. Resultados de análisis microbiológico de agua de enjuague para validar Tiempo de espera limpio, tras realizar Ruta 2 en Línea de Llenado. Se cumple si el recuento total, es menor o igual a 80UFC/100 mL.

LINEA DE LLENADO, R2				
Fecha	Tipo de muestreo	M1 (UFC/100 mL)	M2 (UFC/100 mL)	Cumple SI/NO
20-04-2013	TL 0h	6	4	Sí
	TL 2h	1	1	Sí
	TL 4h	0	0	Sí
04-05-2013	TL 0h	1	0	Sí
	TL 2h	1	0	Sí
	TL 4h	1	0	Sí
21-06-2013	TL 0h	4	2	Sí
	TL 2h	51	44	Sí
	TL 4h	51	47	Sí

Se observa que independiente de la ruta aplicada con anterioridad, la carga microbiológica para el tanque, a las 18 horas de espera, continúa teniendo las condiciones asépticas aceptables para la fabricación, por lo que debería ensayarse una mayor cantidad de horas, con la finalidad de establecer en que tiempo es necesariamente requerida una limpieza y sanitización adicional.

Para la línea de llenado se observa que a las 4 horas de espera, de dejar el equipo limpio y desocupado, tras aplicar una Ruta 2 es una hora crítica en que, en alguna de las pruebas se observaron, niveles aceptables pero elevados, por lo que, considerando la criticidad de la limpieza del equipo y las funciones de éste, las 4 horas corresponderán a un tiempo límite para espera.

5 DISCUSION

Implementar un sistema de calidad que contemple la ejecución de validaciones, es parte de una decisión estratégica de la organización, con la finalidad de mejorar la calidad de los productos generados y con ello la satisfacción de los clientes. A través de las validaciones se pretende controlar los procesos, disminuir la variabilidad de éstos y aumentar el grado de seguridad de que los procedimientos utilizados entregan resultados que satisfacen los criterios de calidad previamente establecidos. Esto cobra mayor importancia en aquellos procedimientos que no pueden ser controlados durante su desarrollo, como es el caso analizado de la validación de limpieza, que solo se identifica que fue ineficiente o nula si el producto final resulta contaminado.

Por ello su importancia y criticidad en que la validación desarrollada y ejecutada, como la descrita en el presente trabajo, contemple las pruebas a ejecutar y desafíos correctos, acordes a la realidad de la empresa, como también los criterios de aceptación utilizados, para no causar una aprobación de un proceso que debería ser rechazado y viceversa.

Para llevar a cabo la presente validación, se requirió recopilar documentación, conocer los procesos, modificar procedimientos y capacitar el personal

involucrado. Se verificó que el método de recuento de anaerobios y mesófilos utilizado para el análisis microbiológico se encontrase validado, y que todo equipo utilizado, como las incubadoras, balanzas y conductívimetros se encontrasen adecuadamente calibrados y calificados.

El compromiso de los operarios y el entendimiento de éstos, de que su participación es fundamental en la obtención de productos de calidad, es el mejor camino a lograr que los procedimientos de limpieza se cumplan y alcancen sus objetivos.

El desarrollo de resistencia frente a los desinfectantes utilizados, es similar al fenómeno que ocurre con la resistencia desarrollada por los microorganismos frente a antibióticos en un tratamiento terapéutico. Sin embargo, esto es cuestionado considerando que los desinfectantes son agentes biocidas más poderosos que los antibióticos y que normalmente son aplicados en altas concentraciones, contra pequeñas poblaciones de microorganismos que no se encuentran en etapas de crecimiento activo, por ello la presión para el desarrollo de resistencia es menos profundo (5). Pese a esto, es necesario para aumentar el grado de certeza de la efectividad del sanitizante empleado en los procesos, aislar las cepas características del sistema estudiado, para corroborar su susceptibilidad frente al agente biocida utilizado y verificar que este es el correcto. Baxter Chile no emplea rotación de sanitizantes, y es en este caso que cobra mayor importancia el demostrar que el desinfectante utilizado, es el correcto en la concentración y tiempo de contacto establecido.

El sanitizante, hipoclorito de sodio, utilizado actualmente por la planta de producción, corresponde al seleccionado desde las directrices internacionales

de Baxter, y no necesariamente al ideal de acuerdo a la realidad productiva, cepas identificadas y materiales utilizados en Baxter Chile. Por ello es cuestionable que la organización utilice este sanitizante, que aumenta la corrosión de los equipos de acero inoxidable aun cuando demuestre ser efectivo, considerando la amplia gama de desinfectantes existentes. Cada planta, de acuerdo al país en que se localiza, debería estudiar e identificar los microorganismos presentes en su flora nativa y en base a esto determinar el desinfectante a utilizar. Baxter Chile solo posee estudios que contemplan la identificación de Gram positivas o negativas de su flora, lo que pese a ser un buen inicio, requiere profundizar más, puesto que frente a microorganismos esporulado, o bien del reino Fungi la efectividad podría variar incluso entre las especies.

Con la finalidad de realizar un muestreo representativo, las cepas de la flora nativa seleccionadas para la validación del sanitizante, como los puntos de muestreo escogidos, correspondieron, por un lado a las boquillas utilizadas para el llenado de las soluciones, y por otro a las válvulas en que confluyen las cañerías de los tres tanques.

La producción y uso de agua en la planta, representa un proceso crítico y limitante para la producción de hemoconcentrados. La producción de agua es variante de acuerdo a la estacionalidad del año, experimentándose un aumento durante el verano, resultado de la dilatación de las membranas utilizadas en la purificación, y una disminución durante el invierno por la contracción de ésta. Por ello, es de vital importancia para lograr cubrir la demanda comercial de producto, optimizar el uso del agua. Para la limpieza y sanitización de equipos se emplea y desecha una gran cantidad de agua, por lo que durante el

desarrollo de la validación se ensayó un número de ciclos de enjuague para la obtención de conductividad. Así, se estableció generar tiempos de enjuague para evitar desechar agua de forma continua. Además con el mismo objetivo de optimizar el uso del agua, se buscó establecer los tiempos de espera sucio y limpio, con la finalidad de no lavar más de las veces necesarias, y en caso de no poseer la producción de agua requerida para el procedimiento de limpieza y sanitización, determinar por cuanto se podría postergar esta actividad.

6 CONCLUSIONES

El sanitizante empleado en la limpieza y sanitización de los equipos del área de Manufactura demostró ser efectivo en la concentración (10 ppm) y tiempo de contacto (15 min) establecidos por Baxter, contra la flora nativa encontrada en el interior de los equipos y contra las cepas USP.

El neutralizante a su vez demostró no ser nocivo para ninguna de las cepas trabajadas, por consiguiente se corroboró que la reducción logarítmica de microorganismos en los ensayos, es solo atribuible a la acción del sanitizante. Además el neutralizante empleado logra detener eficazmente la acción del sanitizante, por lo que se confirma la correcta elección de este.

De la efectividad de las rutas establecidas por Baxter Chile, para la sanitización y/o limpieza de equipos, se concluye que estas son efectivas y por ende quedan validadas, en la remoción de partículas, residuos orgánicos e inorgánicos y restos de productos (ámbito limpieza), así como en la reducción de la carga microbiológica (ámbito de sanitización) a niveles aceptables para la elaboración de hemoconcentrados.

Tras la presente validación se identificó y validó un número fijo de ciclos de enjuague para la determinación de conductividad (Ruta 3) en los tanques de mezcla, en que se asegura la obtención de conductividad en valores aceptables. Estos ciclos corresponden a 3 para cambios de formulación y 4 para la remoción de cloro tras sanitización química. Para el caso de la línea de llenado se establece un número mínimo de ciclos que deben ser llevados a cabo antes de realizar la primera medición (3 ciclos con agua caliente). Esto es una mejora para la productividad, considerando que una de las limitantes de

ésta, es la producción de agua, que gran parte es utilizada y desechada en la limpieza y sanitización de los equipos.

Además, a través de las horas ensayadas, se valida y verifica el tiempo de espera sucio, aquel que corresponde al tiempo que se puede esperar antes de lavar y sanitizar el equipo, sin que esto implique una reducción en la efectividad del procedimiento de limpieza establecido por Baxter Chile. Analizando el tiempo ensayado en las pruebas se define que el tiempo de espera sucio para el tanque podría extenderse a 72 horas y para la línea de llenado a 60 horas (horas ensayadas, pudiendo ser más), en que se asegura que la Ruta 1 seguirá siendo efectiva y que los equipos pueden dejarse sucios por este periodo, sin preocupaciones posteriores de que las rutas establecidas pierdan efectividad. En el caso del tiempo de espera sucio antes de aplicar la sanitización térmica, se confirma que tanto para el tanque como para la línea de llenado, 24 horas de espera es un tiempo adecuado y que la ruta de limpieza sigue siendo capaz para dejar lo equipos en las condiciones sanitarias óptimas para la producción.

El tiempo de espera limpio establecido por Baxter Chile para los equipos de Manufactura, resulta validado al demostrar que transcurridas las horas establecidas, no se desarrolla una carga microbiológica potencialmente riesgosa para el producto terminado. Adicionalmente se demuestra que el tiempo de espera limpio para el tanque puede extenderse a 18 horas, mientras que para la línea de llenado considerando su criticidad a 2 horas, en relación a los tiempos establecidos.

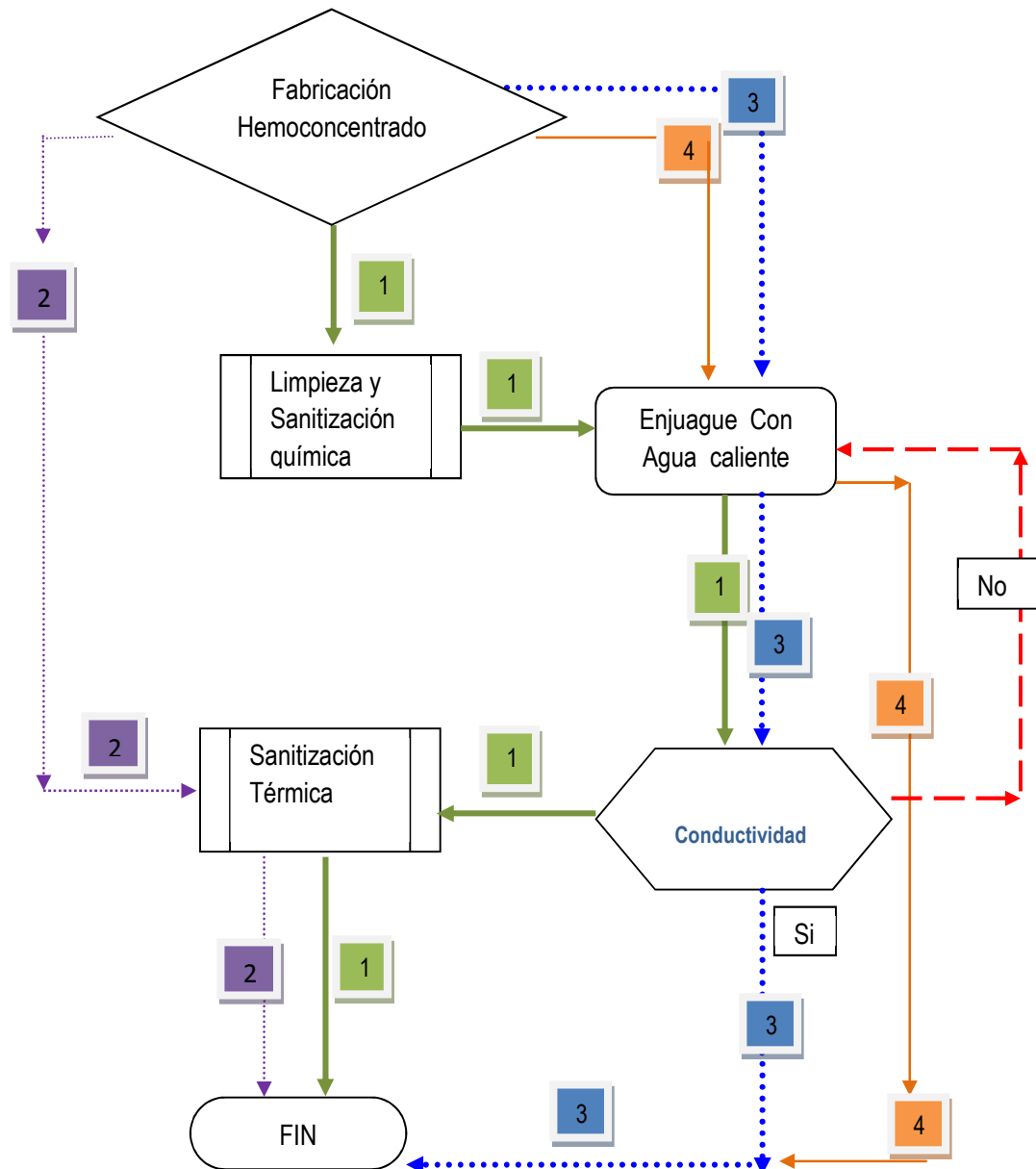
7 BIBLIOGRAFIA

- 1- BAXTER.2013. Industrial y Comercial Baxter de Chile Ltda. [En línea].
<http://www.latinoamerica.baxter.com/chile/about_baxter/index.html>.
[Consultada: 10 Octubre 2013]
- 2- Ministerios de Salud Pública, Instituto de Salud Pública. Guía de inspección de Buenas prácticas de Manufactura (GMP) para la industria de productos farmacéuticos. Capítulo 1: Validaciones. Chile, 2010.
- 3- ANDERSON R., CHALOMER-LARSSON G., EGAN A. 1998. Guía de la OMS sobre los requisitos de las practicas adecuadas de fabricación (PAF). Segunda parte: Validación. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 1998.
- 4- Decreto, N°825/98. Reglamento de control de productos y elementos de uso médico. Diario Oficial de la República de Chile. Ministerio de Salud, Santiago, Chile., 21 de Agosto de 1999
- 5- Farmacopea de los Estados Unidos de América. USP36-NF 31. Desinfectantes y antisépticos <1072>, Primer suplemento 01 Agosto de 2013. 674-678p.
- 6- KONEMAN. Seguridad en el laboratorio. En: Diagnostico microbiológico. 6° edición. Argentina. Editorial Panamericana. Capítulo 4. 47p.
- 7- Ministerio de Salud Pública. Norma de utilización de soluciones antisépticas, desinfectantes y detergentes de uso hospitalario. Argentina 2005.
- 8- IRMA M. 2008. Evaluación del efecto bactericida de los desinfectantes en cepas bacterianas ATCC y cepas aisladas del área de fabricación de productos estériles, realizando pruebas de dilución "in use" en laboratorios Bagó de Bolivia. La Paz, Bolivia.
- 9- DAVIN-REGLI A., FRENEY J. y GREMIEUX A. 2000. Método de ensayo de desinfectantes. En: Desinfection, sterilization, and preservation. 5° Edición. Capítulo 68.
- 10-SANS E. Validación de limpieza en la industria farmacéutica. Farma Eespaña industrial (06):58-59.
- 11-BRITISH STANDARD INSTITUTE. Serie de evaluación de seguridad y salud ocupacional. OHSAS 18001, 2007.

- 12-CARRILLO.2003. Vida y muerte de los microorganismos. En: Microbiología agrícola. pp 1-20.
- 13- BAILEY y SCOTT.2007.Diagnostico microbiológico.12° edición. Argentina. Editorial Panamericana.p189
- 14- KONEMAN. Prueba de sensibilidad a los antibióticos. En: Diagnostico microbiológico. 6° edición. Argentina. Editorial Panamericana. Capitulo 17. p 932.
- 15-Standard Methods for the examination of water and wastewater,9060 A. Sample collection, dechlorination.
- 16-ALVAREZ ALCANTARA A., ESPIGARES RODRIGUEZ E. y GALVEZ VARGAS R.2001. Valoración de desinfectantes. Método de dilución-neutralización. Revista Higiene y sanidad ambiental.1:1-5.

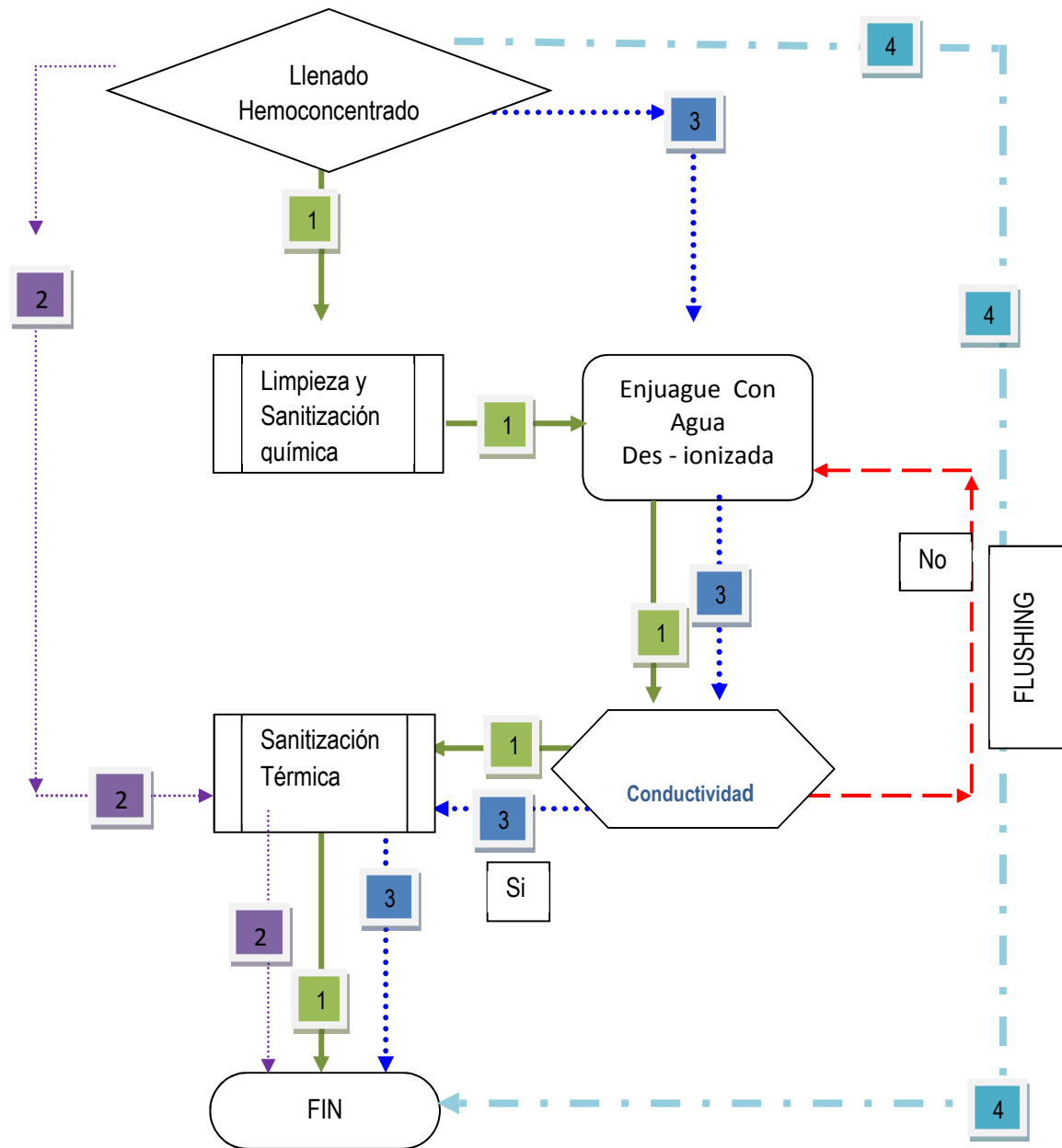
8 ANEXOS

8.1 Anexo N°1; Diagrama de flujo de sanitización y/o limpieza de tanques



1	Sólo si el tanque ha estado más de 24 hrs desocupado, o fin de producción semanal.	3	Sólo para cambio de formulas de ácidas a básicas o viceversa
2	Solo si el tanque ha estado entre 4 y 24 hrs desocupado.	4	Sólo si es la misma Formula o formulas de Composición Similar

8.2 Anexo N°2; Diagrama de flujo de sanitización y/o limpieza de línea de llenado



1	Sólo si la Línea o el Sistema ha estado más de 24 hrs detenido, o se ha roto la integridad del Sistema.	3	Sólo para cambio de formulas de acidas a básicas o viceversa.
2	Solo si la línea de llenado ha estado entre 1 y 24 hrs desocupado.	4	Sólo si es la misma Formula o formulas composición Similar.

8.3 Anexo N° 3; Análisis de riesgo y potencial modo de Falla

PROCESO / FUNCIÓN			POTENCIAL MODO DE FALLA				CAUSAS POTENCIALES				CONTROLES Y ACCIONES RECOMENDADAS		
Número de Entrada	Etapas del Proceso		Potencial modo de falla	Efectos de la falla potenciales de la falla	Consecuencias potenciales de seguridad	Severidad	Falta de conocimiento o información de falla	Omnisciente	Ejemplo de errores	Desconocimiento	Índice de riesgo (RPN)	Métodos de control	Acciones Recomendadas para la prevención, mitigación, control o eliminación del riesgo
	Función de la Etapa del Proceso	Función de la Etapa del Proceso											
1	Preparación de las soluciones de limpieza empleadas en el procedimiento.	Solución de hipoclorito de sodio (200 ppm)	Elaborar el sanitizante en una concentración errónea, o utilizar un saldo de solución no desechado	Sanitización ineficiente y contaminación del producto	No	4	Falta de conocimiento por parte del operador que elabora la solución. SOP no contenga la información para la elaboración adecuada del sanitizante.	2	8	2	16	Se cuenta con SOP LAS-ING-6-001, preparación de soluciones sanitizantes químicas.	Realizar la validación de las soluciones sanitizantes y detergente en las concentraciones empleadas, para verificar que son efectivas en las concentraciones establecidas.
		Solución de alcohol isopropílico al 70%	Elaborar la solución alcohólica en una graduación distinta, o utilizar una solución expirada.	Limpieza de mesones ineficiente y contaminación de producto con microorganismos u otro producto	No	4		2	8	3	24		
		Solución detergente: 10 ml. de VM líquido en 10 L de agua corriente	Preparar la solución detergente desde un detergente comercial distinto. O utilizar un saldo de solución no desechado.	Limpieza ineficiente de las áreas y aumento de residuos y carga microbiana en la misma.	No	4	Compre equivocado del detergente	2	8	3	24		
2	Verificar que el área se encuentra en perfecto orden, estando cada objeto en su lugar	Facilitar la limpieza del área y elementos de manufactura.	Que no se puedan segregarse o diferenciar los implementos sucios o limpios.	Dificultar la limpieza al no poder identificar el material sucio presente	No	1	Falta de capacitación del personal	3	3	1	3	Se cuenta con SOP LAS-MA-6-007.	Ajustar como evidencia documental rúter de entrenamiento del personal en los procedimientos requeridos para la validación en el protocolo correspondiente.
3	Identificar el material sucio con el cartel correspondiente	Identificar el material que debe ser limpiado	Error en la identificación del material sucio del área	Limpieza innecesaria de material limpio	No	1	Falta de capacitación del personal, o no poseer carteles para la identificación.	2	2	1	2	Se cuenta con SOP LAS-MA-6-007, para la descripción del procedimiento de limpieza	Ajustar como evidencia documental rúter de entrenamiento del personal en los procedimientos requeridos para la validación en el protocolo correspondiente.
				No realizar la limpieza de material que si lo requiere	No	3		2	8	2	12		
4	Proceder con la limpieza del área, lavando y sanitizando con solución detergente clorada y enjuagando con agua desionizada	Limpieza de las áreas utilizadas en la elaboración de productos evitando la contaminación cruzada producto-producto y microbiológica.	Realizar una limpieza ineficiente o en un orden incorrecto (ejemplo: alcohol isopropílico al 70% y luego VM)	Contaminación de producto y aumento de la carga microbiana.	No	4	Falta de capacitación de personal, procedimiento poco claro, o uso inadecuado de las soluciones sanitizantes y detergentes disponibles.	2	8	3	24	Se cuenta con SOP LAS-MA-6-007, para la descripción del procedimiento de limpieza.	Ajustar como evidencia documental rúter de entrenamiento del personal en los procedimientos requeridos para la validación en el protocolo correspondiente. Realizar los retos definidos en el protocolo de validación.
5	Proceder con la limpieza de los elementos de manufactura	Tener los implementos utilizados en la producción, limpios para evitar todo tipo de contaminación.	Realizar una limpieza ineficiente o incorrecta.	Contaminación de producto y aumento de la carga microbiana.	No	4	Falta de capacitación de personal, procedimiento poco claro, o uso inadecuado de las soluciones sanitizantes y detergentes disponibles.	2	8	2	16	Se cuenta con SOP LAS-MA-6-007, para la descripción del procedimiento de limpieza.	Ajustar como evidencia documental rúter de entrenamiento del personal en los procedimientos requeridos para la validación en el protocolo correspondiente. Realizar los retos definidos en el protocolo de validación.
6	Rotular el material limpio, registrando la fecha de la limpieza y fecha de expiración de la misma.	Identificar el material limpio, y lograr separarlo del sucio, e identificar el que requiere limpieza del que no.	Error en la identificación del material y rotulación equivocada	No realizar la limpieza del material sucio, o trabajar con implementos cuya limpieza, ya se encuentra vencida	No	2	Falta de capacitación del personal. Procedimientos no claros o sin la información requerida	2	4	1	4	Se cuenta con SOP LAS-MA-6-007, para la descripción del procedimiento de limpieza	Ajustar como evidencia documental rúter de entrenamiento del personal en los procedimientos requeridos para la validación en el protocolo correspondiente. Rotular el material de acuerdo a su status de limpieza y definirlo en el protocolo.
7	Ejecución de Análisis y Obtención de resultados	Realizar los retos de validación utilizando equipos y procedimientos adecuados	Falsos positivos o negativos en la obtención de resultados.	Validación con datos no válidos o representativos del proceso.	No	4	Equipos no calibrados, no certificados, procedimientos incorrectos, personal no capacitado	2	8	3	24	Se cuenta con SOP LAS-CA-6005 de PMV y LAS-LAB-6-133 de Buenas practicas de Laboratorio	Evidenciar entrenamiento de uso de equipos y entrenamiento requeridos para ejecutar la validación de proceso. Anexar como evidencia documental del protocolo todos los resultados obtenidos en los retos.

Baxter	DOCUMENTO PADRE: LAS-QA-5-82	NO. FORMA: POS/LAS-LAS-QA-5-82	FECHA DE EMISIÓN: 14-FEB-2012
	NO. CAMBIO: 0749/1998	CÓDIGO DE PALE:LS	FECHA DE EXPIRACIÓN: 23-FEB-2013
BAXTER CONFIDENCIAL			

8.4 Anexo N° 4; Matriz selección peor caso soluciones

Tabla 1: Significado puntuación

Escalas utilizadas	Solubilidad	Dificultad para limpiar	Visibilidad de la limpieza	Potencial crecimiento microbiológico.
0	-	-	-	Nula posibilidad de crecimiento.
1	Miscible en agua	Se remueve fácilmente	Evidente	Baja probabilidad
2	Soluble 1:100	Moderada dificultad	Visibilidad con dificultad	Alta probabilidad
3	Soluble 1:1000	Difícil de remover	No visible	Crecimiento seguro

Tabla 2: Ponderación para cada formulación en función de los valores asignados.

ESCALA			1-3	1-3	1-3	
FORMULA	COMPONENTES	CONC. (g/L)	SOLUBILIDAD	DIFICULTAD PARA LIMPIAR	VISIBILIDAD DE LA LIMPIEZA	Total
CD21A	Total					481
CD21A	NaCl	174,5	2	1	1	351
CD21A	KCl	5,49	2	1	1	12,98
CD21A	CaCl ₂	9,48	2	1	1	20,96
CD21A	MgCl ₂	3,74	2	1	1	9,48
CD21A	Ac.Acético	8,82	1	1	1	10,82
CD21A	Glucosa	36,83	2	1	1	75,66
CD22A						475
CD22A	NaCl	174,34	2	1	1	350,68
CD22A	KCl	4,11	2	1	1	10,22
CD22A	CaCl ₂	8,11	2	1	1	18,22
CD22A	MgCl ₂	3,74	2	1	1	9,48
CD22A	Ac.Acético	8,84	1	1	1	10,84
CD22A	Glucosa	36,83	2	1	1	75,66
CD23A						474
CD23A	NaCl	174,5	2	1	1	351
CD23A	KCl	4,12	2	1	1	10,24
CD23A	CaCl ₂	6,77	2	1	1	15,54
CD23A	MgCl ₂	3,74	2	1	1	9,48
CD23A	Ac.Acético	10,05	1	1	1	12,05
CD23A	Glucosa	36,83	2	1	1	75,66
CD51A						546
CD51A	NaCl	212,73	2	2	1	428,46
CD51A	KCl	2,61	2	2	1	8,22
CD51A	CaCl ₂	7,71	2	2	1	18,42

CD51A	MgCl ₂	2,66	2	2	1	8,32
CD51A	Ac.Acético	6,31	1	2	1	9,31
CD51A	Glucosa	35	2	2	1	73
CD52A						541
CD52A	NaCl	210,7	2	2	1	424,4
CD52A	KCl	3,91	2	2	1	10,82
CD52A	CaCl ₂	6,43	2	2	1	15,86
CD52A	MgCl ₂	3,56	2	2	1	10,12
CD52A	Ac.Acético	4,2	1	2	1	7,2
CD52A	Glucosa	35	2	2	1	73
CD53A						547
CD53A	NaCl	210,7	2	2	1	424,4
CD53A	KCl	5,22	2	2	1	13,44
CD53A	CaCl ₂	7,72	2	2	1	18,44
CD53A	MgCl ₂	3,56	2	2	1	10,12
CD53A	Ac.Acético	4,2	1	2	1	7,2
CD53A	Glucosa	35	2	2	1	73
CD61A						786
CD61A	NaCl	263	2	3	3	532
CD61A	KCl	3,4	2	3	3	12,8
CD61A	CaCl ₂	9,9	2	3	3	25,8
CD61A	MgCl ₂	3,4	2	3	3	12,8
CD61A	Ac.Acético	10,8	1	3	3	16,8
CD61A	Glucosa	90	2	3	3	186
CD63A						793
CD63A	NaCl	263	2	3	3	532
CD63A	KCl	6,7	2	3	3	19,4
CD63A	CaCl ₂	9,9	2	3	3	25,8
CD63A	MgCl ₂	3,4	2	3	3	12,8
CD63A	Ac.Acético	10,8	1	3	3	16,8
CD63A	Glucosa	90	2	3	3	186
CD20B						185
CD20B	NaCl	23,54	2	1	2	50,08
CD20B	NaHCO ₃	65,94	2	1	2	134,88
CD60B						173
CD60B	NaCl	0	2	2	3	5
CD60B	NaHCO ₃	81,25	2	2	3	167,5
CD50B						180
CD50B	NaCl	0	2	3	3	6
CD50B	NaHCO ₃	84	2	3	3	174

Resumen puntajes.

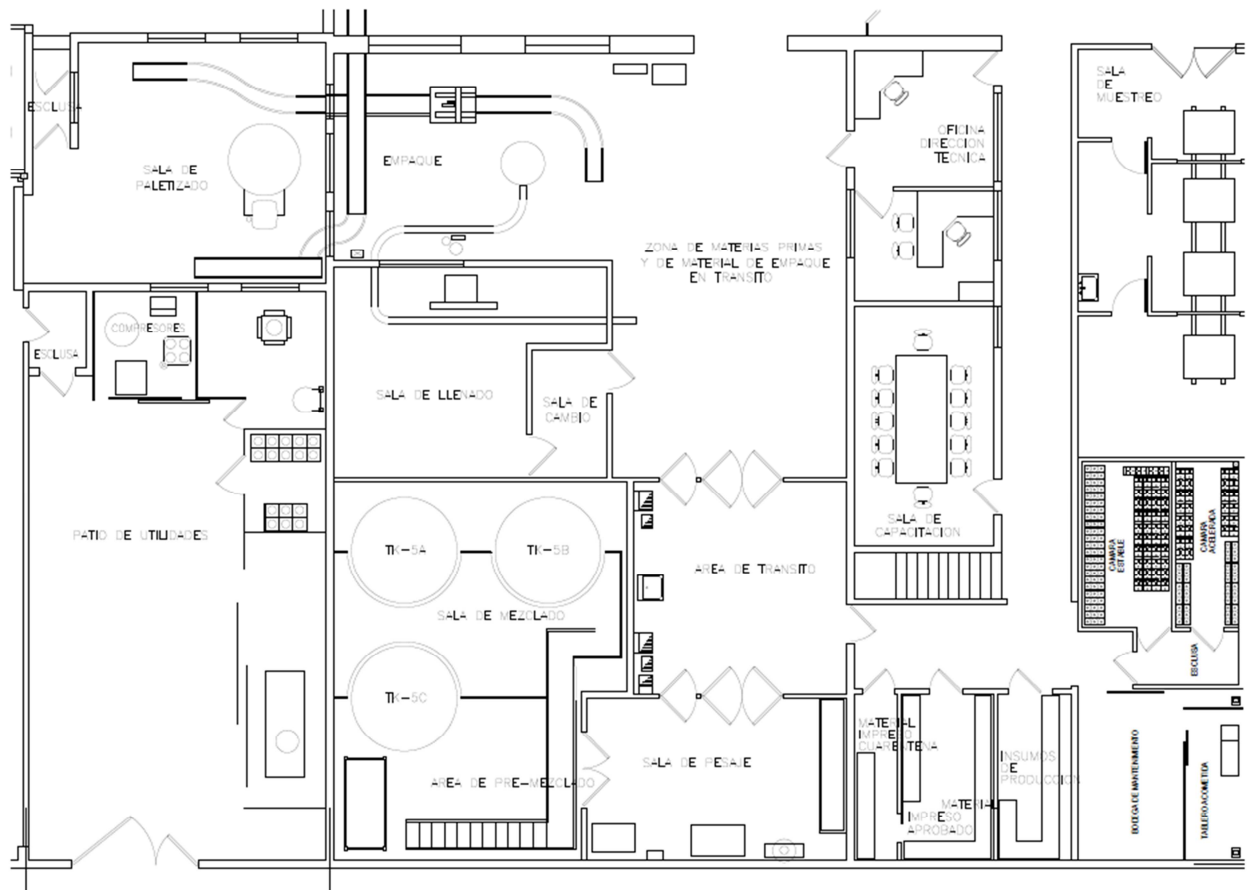
Matriz de riesgo, microbiológico

Formulaciones	Suma de Total
CD50B	3
CD60B	2
CD20B	1
CD23A	0
CD22A	0
CD53A	0
CD63A	0
CD61A	0
CD21A	0
CD52A	0
CD51A	0
Total general	6

Matriz de riesgo, limpieza química.

Formulaciones	Suma de Total
CD63A	793
CD61A	786
CD53A	547
CD51A	546
CD52A	541
CD21A	481
CD22A	475
CD23A	474
CD20B	185
CD50B	180
CD60B	173
Total general	5.180

8.5 Anexo N°5; Plano área productiva



8.6 Anexo N° 6; Certificado de análisis de cepas de Flora nativa.

Certificado emitido por Jefe de Control de Calidad, tras recibir resultado de análisis de distintas muestras de las áreas de Manufactura (Sala de Mezcla, Llenado, Tamizado y Mezcla polvos)

1 de 1

Baxter

Avenida México 715
Recoleta
Santiago de Chile
Tel. 56 26202137

Santiago, 07 de mayo de 2013

RESUMEN DE DATA Y CONCLUSIONES REPORTE DE FLORA NATIVA 2013- AREAS PRODUCTIVAS LABORATORIOS BAXTER SANTIAGO, CHILE

Como resultado del análisis de los microorganismos aislados el año 2012 y el año 2013, los siguientes aislamientos locales fueron determinados como flora nativa del 2013:

- Bacilos Gram +
- Cocos Gram +

Los microorganismos identificados en el 2012 son coincidentes con los detectados el año 2013 en las diferentes áreas productivas de Baxter Chile. Para determinar dichos microorganismos, se realizaron muestreos en todas las áreas productivas, se aislaron las colonias y se especificó en cada caso las características fenotípicas de la colonia y la familia a la cual pertenecen.

En esta revisión, se revisó cuáles colonias representan el 80 % de los microorganismos detectados en Baxter Chile entre 2012 y 2013, ya que este porcentaje es representativo de eventos significativos y demuestran tendencias. Los microorganismos correspondientes al 20 % restante no forman parte de la flora nativa ya que representan apariciones esporádicas y no son una tendencia específica.

Los microorganismos aislados representan la mayor cantidad de aparición en productos terminados y carga microbiana habitual de las áreas productivas.

Se confecciona un cepario propio con muestras de los microorganismos aislados por Baxter Chile en el período de tiempo indicado, estas cepas serán utilizadas en las pruebas de inhibición requeridas y serán consideradas para realizar identificación de microorganismos de forma local comparando las características fenotípicas de las colonias detectadas con las cepas de referencia generadas.

Preparado por:

Nombre	Función	Firma /Fecha
Marco Rifo Tapia	Supervisor de Laboratorio	M. Rifo 07 May 2013

Revisado por:


Nombre	Función	Firma /Fecha
Marcela Fernandez	QMIR Chile	M. Fernandez 07 MAY 2013
Gustavo Fuentealba	DT Manufactura	G. Fuentealba 07 May 2013

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL Y RESTRINGIDA PROPIEDAD DE BAXTER


8.7 Anexo N°7; Reconstitución de cepas de referencia


Informaciones Sobre Cultivos de Material de Referencia


Los dispositivos KWIK-STIK™ contienen un gránulo liofilizado de una sola cepa de microorganismo o una población mixta definida de microorganismos. La selección de los microorganismos KWIK-STIK™ apoyan programas de control de calidad en laboratorios de microbiología, proporcionando servicios de diagnóstico clínico y una amplia variedad de servicios de pruebas.


 **KWIK-STIK™**
También para KWIK-STIK™ Plus
y EZ-COMP™
Simplemente Eficiente

- 

Abra la bolsa en el corte y remueva el KWIKSTIK™.
- 

Arranque la porción de la etiqueta del rótulo y adjuntela a los registros de CC o a la placa de cultivo primario.
- 

Libere el fluido hidratante por medio de una acción de presión o pellizco en la parte central de la tapa de la ampolla.
- 


Sujetando el aparato verticalmente, golpee ligeramente para facilitar el flujo del fluido a través de la pasaje hasta la parte inferior del aparato.
- 

Aplaste el gránulo y mezcle con el fluido, usando una acción de pellizco.
- 

INMEDIAMENTE sature el swab en el material hidratado.
- 

Rote el swab con presión y inocule una área circular de aproximadamente 25 mm de diámetro en la(s) placa(s) de cultivo primario.
- 

Utilizando una alga estéril, haga unas 10-20 rayas repetidamente a través de la área inoculada para facilitar aislamiento de colonia.
- 

Elimine el KWIKSTIK™ en lugar apropiado para materiales biológicos peligrosos.
- 

INMEDIAMENTE incube el medio(s) de cultivo primario inoculado(s).

8.8 Anexo N°8; Equipos y materiales utilizados

Materiales

- Solución sanitizante de hipoclorito de sodio 5%
- Tiosulfato de sodio 10%
- Frascos de vidrio para toma de muestras
- Placas agar R2A
- Agar glucosa 4% según Sabouraud
- Agar soya tripticaseina
- Tubos de ensayo
- Placas de Petri
- Asa
- Membranas cuadrículadas de 45 micrones de porosidad.
- Pinzas
- Torulas estériles

Equipos

Los equipos y accesorios utilizados son de material de acero Inox 316 L, con acabado sanitario. Se detallan a continuación:

Equipo	Capacidad máxima por diseño
Tanque A	11168 L
Tanque B	11168 L
Tanque C	11716 L

- Máquina llenadora
- Conductivímetro Hanna HI 4321-02 (LAB-CON-005)
- Incubadora 32,5 °C ± 2,5°C
- Cabina de flujo laminar
- Embudos de filtración
- Manifold acero inoxidable
- Bomba de vacío