




SANOPI PASTEUR 

ANEXO PREGUNTA 1


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOPI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DÓMINGUEZ
APODERADO
SANOPI PASTEUR S.A.





3 RESPONSABILIDADES

Las responsabilidades se reparten de la siguiente manera, entre las dos partes.

Responsabilidad	Proveedor	Emisor de orden: Sanofi Pasteur
Compra de materias primas	Sí	No
Control de materias primas	Sí	No
Liberación de materias para fabricación	Sí	No
Fabricación	Sí	No
Tratamiento de esterilización (para artículos estériles)	Sí	No
Conformidad de artículos	Sí	No
Control al recibir	Sí *	Sí
Reclamos	Sí	Sí
Documentación de expedición	Sí	No
Archivo de documentos del lote de fabricación	Sí	No

* Dentro de la implementación de delegación de controles, validada por Sanofi Pasteur.





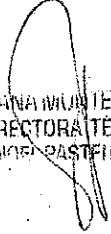
4 EXIGENCIAS TÉCNICAS

4.1 Características técnicas

4.1.1 Materiales utilizados

	Respuestas del proveedor
El proveedor se compromete a utilizar los materiales aprobados (ver especificaciones vigentes de controles de Sanofi Pasteur)	X Sí <input type="checkbox"/> No
El proveedor se compromete a suministrar la composición detallada del artículo: - Composición de la fórmula. - Resultados de los extraíbles, de acuerdo a la Farmacopea europea, capítulo 3.2.9 e ISO 8871 "Elementos de elastómero para administración parenteral y dispositivo de uso farmacéutico". Sin perjuicio de la firma de un acuerdo de confidencialidad, el proveedor deberá suministrar los extraíbles totales. - Resultados de citotoxicidad, según la Farmacopea de Estados Unidos 87/88.	<input type="checkbox"/> Sí * <input type="checkbox"/> No *Adjuntar documentos X Sí <input type="checkbox"/> No X Sí <input type="checkbox"/> No (solo 87)

Información Confidencial
Página 13 de 37


SUSANA MARÍA TEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

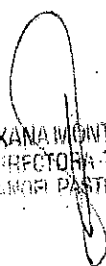

CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.






SANOPI PASTEUR 

ANEXO PREGUNTA 2


ROXANA MONTEMIELONI
DIRECTORA TECNICA
SANOPI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOPI PASTEUR S.A.





MARCY	INSTRUCCIÓN	Número de documento 110 689
Antiguo número GC N/C		Número de versión 3.0
		Nivel 4
ENSAYO DE ESTERILIDAD		

Departamento: ARD EU
Servicio: BACTERIOLOGÍA
Subdivisión: TÉCNICA DE CONTROL

Información complementaria: Versión inglesa: 089 778

Sección	Objeto de la revisión (precisar las razones en la página 2, de ser necesario)

Aprobación Nombre	Función	Fecha	Razón de la firma
Redacción DELOIRE, Sandrine	Asistente técnico	13 de julio de 2010 15:55:41	Apruebo el documento
Emisión de aprobación FAURE-CHANEL, Nathalie	Responsable de unidad	19 de julio de 2010 11:04:32	Apruebo el documento
Aprobación GC OURDET, Jean-François	Responsable de Garantía de calidad	20 de julio de 2010 13:46:55	Apruebo el documento

Fecha de aplicación: 21 de julio de 2010

1ra revisión				
2da revisión				

Información confidencial
Página 1 de 23

JOXANA MONTEMILÓN
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.





Objeto de la revisión	
Párrafo	Modificaciones (precisar el motivo, de ser necesario)
1	Cambio del número de instrucción (MON) n° 108 581 por n° 138 116. La instrucción n° 138 116 fue creada para el C4dev (nivel 4). Supresión del procedimiento n° 030 540 (Val de Reuil) y remplazo por el procedimiento n° 125 706 (Marcy l'Étoile).
1	Agregado de la ficha de resultados Excel.
3.1	Cambio del volumen de PR (de 1 a 2 ml). Agregado de "Se analizará la cantidad máxima de unidades, especificada en las farmacopeas". Supresión de "...y que se disponga de la primera y de la última unidad distribuidas del lote a analizar".
4	Cambio del módulo M11 por M17 o M10.
5	Cambio de "cotidianamente" por "cada día que se realizan ensayos de esterilidad".
6.1	Reemplazo de "laboratorio de garantía de esterilidad" por "Unidad operativa bacteriológica".
8.1.2	Se revisó la cantidad de frascos sembrados para el testigo negativo: pasó de 5 a 1.
8.2.4.3	Agregado de una nota.
9	Reestructuración del párrafo.
Anexos 3 y 4	Agregado de anexos.

Información confidencial
Página 2 de 23

ROXANA MONTENILUNA
DIRECTORA TÉCNICA
SANGRE PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANGRE PASTEUR S.A.



ÍNDICE

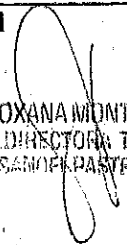
Lista de anexos		5
1	REFERENCIAS	6
2	PRINCIPIO	6
3	PRODUCTOS A ANALIZAR	6
3.1	Muestreo	7
3.2	Conservación.....	7
4	LOCALES	7
5	MATERIAL	7
6	REACTIVOS	8
6.1	Medios de cultivo.....	8
6.2	Solución de enjuague	8
6.3	Agar para control del medioambiente.....	9
7	SEGURIDAD Y PRECAUCIONES PARTICULARES	9
8	MODO OPERATIVO	9
8.1	Siembra directa	9
8.1.1	Principio.....	9
8.1.2	Análisis	9
8.2	Filtración por membrana.....	10
8.2.1	Principio.....	10
8.2.2	Preparación de muestras	10
8.2.3	Elección de unidades Steritest	10
8.2.4	Análisis	10
8.3	Control ambiental.....	14
8.4	Caso de productos con tiomersal	14
8.5	Incubación.....	15
8.5.1	Temperatura.....	15
8.5.2	Duración.....	15
9	LECTURAS - RESULTADOS	15
9.1	Frecuencia.....	15





9.2.	Técnica	15
9.3	Repicado de muestras	16
10	CONDICIONES DE VALIDEZ	16
10.1	Conformidad del ensayo	16
10.2	Validez del ensayo	16

Información confidencial
Página 4 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

Lista de anexos

Anexo 1: Fotografía de conjunto del sistema Steritest.....	18
Anexo 2: Fotografía de una cámara de filtración.....	19
Anexo 3: Hoja de resultado de Excel (tio - tripticasa-soja).....	20
Anexo 4: Hoja de resultado de Excel (tio-tio).....	22

Información confidencial
Página 5 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
BANQUE PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
BANQUE PASTEUR S.A.

1 REFERENCIAS

- Farmacopea Europea - versión en curso (2.6.1 - Esterilidad).
- USP - versión en curso (7.1 - Análisis de esterilidad).
- Informe técnico de la OMS, normas relativas a la esterilidad de sustancias biológicas, 530: 42-61.
- 21 CFR (610.12 - Esterilidad).
- Instrucción (MON) n° 007 502: "Uso de aisladores La Calhène - Aislador I3 de tres guantes - Aislador I4 de cuatro guantes".
- Instrucción (MON) n° 112 965: "Uso del esterilizador MAN 230 voltios REA asociado a aisladores La Calhène I3 e I4 - Edificio F Módulo M7".
- Instrucción (MON) n° 138 116: "Uso de la bomba Steritest Equinox".
- Formulario (FDT) n° 111 327: "Ensayo de esterilidad: repicado".
- Hoja de resultado Excel FDR_BAC_001 "Modelo de ensayo de esterilidad", disponible en O:\MarcyIndus\Controles Bacterio Developpement\Modèle Feuilles Excel (ver anexo 3 y anexo 4).
- Procedimiento n° 125 706 "Reglas de muestreo de productos fabricados por Sanofi Pasteur, en Marcy l'Étoile".

2 PRINCIPIO

El ensayo de esterilidad consiste en sembrar una cantidad definida del producto a analizar en dos medios de cultivo apropiados, para poder detectar, luego de 14 días de incubación, como mínimo, una turbación del medio inicial, signo de crecimiento microbiano.

Este ensayo puede realizarse mediante dos métodos:

- Por siembra directa: introducción de la muestra en el medio de cultivo;
- Por filtración: filtración de la muestra, enjuague y adición del medio de cultivo en la membrana.

3 PRODUCTOS A ANALIZAR

El ensayo se aplica a productos que deben ser estériles, según la farmacopea. La farmacopea utiliza el término "estéril" para designar un producto que no presenta microorganismos contaminantes, cuando se somete a un ensayo de esterilidad.

Información confidencial
Página 6 de 23

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



3.1 Muestreo

Se analiza la cantidad máxima de unidades, especificada en las farmacopeas. De acuerdo al procedimiento n° 125 706, a las farmacopeas y al cuadro que se presenta a continuación, debe verificarse que se haya recibido la cantidad esperada de muestras.

ESTADIO O PRESENTACIÓN		CANTIDAD ESPERADA	CANTIDAD CONTROLADA POR MEDIO
PFG (producto final a granel) o producto a granel		20 ml	10 ml
PR (producto repartido)	< 2 ml	40 unidades	La mitad de cada una de las unidades, pero no menos de 1 ml
	≥ 2 ml	20 unidades	

Los productos que contienen tiomersal también se analizan con tioglicolato, a +20°C ó +25°C, excepto si la validación ha demostrado que no era necesaria esa condición. En caso de estos productos, es necesario verificar que se haya efectuado un doble muestreo.

3.2 Conservación

Las muestras deben ser analizadas dentro de los siete días corridos a partir de la recepción en el laboratorio. Deben conservarse a temperatura ambiente, si el análisis tendrá lugar ese mismo día, o a +5°C ± 3°C si se analizarán otro día.

4 LOCALES

El ensayo de esterilidad se realiza en los aisladores situados en el local N256, del módulo M7, edificio F2 Norte. En el caso particular de los productos clasificados nivel 3 en bioseguridad, el ensayo se efectuará en un puesto de seguridad microbiológica (PSM), en el módulo M17 o M10 del edificio F.

5 MATERIAL

El ensayo de esterilidad debe realizarse en condiciones asépticas, estudiadas para eliminar cualquier riesgo de contaminación accidental del producto, durante el ensayo. De tal modo, todos los ensayos de esterilidad se realizan en aisladores, en la medida de lo posible. Además, se verifica el ambiente de trabajo mediante una toma adecuada de muestras, los días en que se realizan ensayos de esterilidad.

- Aislador de tres guantes I3, n° 020275, La Calhène;
- Aislador de cuatro guantes I4, n° 020276, La Calhène;
- Steritest Equinox, n° 027502, Millipore;

- Gradilla y tubo de evacuación estéril.
- Unidades Steritest de Millipore.
- Bolsas de evacuación de residuos líquidos Biopharm-Bag®.
- Bolsas de evacuación de residuos sólidos y líquidos Betabag®.
- Estufa a $+32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.
- Estufa a $+22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.
- Biocolector de aire Air ideal®.
- Aplicador Count-tact®.
- Tijeras estériles.
- Jeringas estériles.
- Pipetas estériles.
- Pipetas Pipet-Aid®.
- Agujas de transferencia estériles.
- Ko-ton® estéril.

6 REACTIVOS

6.1 Medios de cultivo

Se verifica la fertilidad de los medios de cultivo usados, antes de que sean utilizados por la Unidad operativa bacteriológica. Se solicitan y archivan los certificados de control del proveedor, y se almacenan los medios, en condiciones adecuadas, hasta el momento de su utilización.

Se verifica la fertilidad, sistemáticamente, cada vez que se reciben nuevos medios.

- Caldo de tripticasa de soja (frasco de 100 ml), bioMérieux, ref. 44 011. Medio que permite la detección de bacterias aerobias, levaduras y mohos.
- Caldo de tioglicolato con resazurina (frasco de 100 ml), bioMérieux, ref. 44 001. Medio que permite la detección de bacterias aerobias y anaerobias.

6.2 Solución de enjuague

Al recibir la solución de enjuague, se controla la esterilidad antes de su uso, según esta instrucción. Se solicita y archiva el certificado de control del proveedor (el proveedor realiza un análisis de recuperación del producto).

- Fluido A (frasco de 100 ml), bioMérieux, referencia 42 044.

O cualquier otra solución de enjuague que satisfaga el ensayo de aplicabilidad.

Información confidencial
Página 8 de 23

ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOPI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOPI PASTEUR S.A.



6.3 Agar para control del medioambiente

- Agar Count-tact® radioesterilizado, bioMérieux, referencia 43 491 ó 43 492 (muestras de superficie y de aire dinámico).
- Agar de tripticasa de soja radioesterilizado, bioMérieux, referencia 43 556 ó 43 557 (muestras de aire estático y de guantes).

7 SEGURIDAD Y PRECAUCIONES PARTICULARES

En el laboratorio, es obligatorio el uso de batas y gafas de seguridad. Asimismo, es obligatorio usar guantes para la preparación de las muestras, en el local N256.

En caso de manchas, debe procederse a su limpieza con desinfectantes tipo Amphospray o Aniospray SF estériles y toallitas húmedas.

El material punzante o cortante debe ser eliminado en un contenedor de residuos Sharpsafe y luego pasado por el autoclave.

El personal debe quitarse anillos y relojes, y usar guantes estériles bajos las mangas, para las manipulaciones en el aislador, a fin de limitar las contaminaciones debidas a agujeros ínfimos de guantes o de mangas.

8 MODO OPERATIVO

Para realizar los ensayos de esterilidad en el aislador, es necesario verificar que los parámetros que permiten las manipulaciones en el aislador sean conformes (ver instrucciones n° 007 502 y 112 965).

Se utiliza la técnica de filtración por membrana, cuando la naturaleza del producto lo permite; en caso contrario, se realiza el análisis por siembra directa.

Antes de iniciar el ensayo, es necesario verificar, en el informe de validación del producto a analizar, las condiciones operativas establecidas durante la validación. Dichas condiciones deben respetarse en cada muestra.

8.1 Siembra directa

8.1.1 Principio

Se siembran, directamente, los medios de cultivo con la cantidad de muestras validada, que no debe superar el 10% del volumen del medio, es decir 10 ml.

8.1.2 Análisis

Se extrae la cantidad de muestra de análisis por medio de una jeringa estéril descartable o de una pipeta estéril. Se inyecta en el primer medio de cultivo, a través del tapón, en caso de utilizar

Información confidencial
Página 9 de 23

RUXANA MONTIELONE
DIRECTORA TÉCNICA
SAMOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SAMOFI PASTEUR S.A.

jeringa, o se la deposita en el medio de cultivo destapado, en caso de utilizar pipeta. Se repite la operación con una nueva jeringa (o una nueva pipeta), en el segundo medio de cultivo (el volumen analizado no debe superar el 10% del volumen del medio).

Al finalizar la manipulación, se efectúa un testigo negativo. Para ello, se extrae solución de enjuague con una jeringa y se la inyecta a través del tapón de un frasco de caldo de tripticasa de soja y de un frasco de caldo de tioglicolato con resazurina, inyectando la misma cantidad de solución de enjuague que de producto analizado, en cada frasco.

Se identifican los frascos con el nombre de la muestra, el número de lote, la etapa, la fecha del análisis, las iniciales del operario y la temperatura de incubación.

8.2 Filtración por membrana

8.2.1 Principio

El sistema Steritest está compuesto de dos partes (ver anexo 1 y anexo 2).

- Un circuito de uso único, que comprende dos recintos de filtración conectados por un tubo doble a una aguja de extracción de muestras.
- El elemento principal de este circuito estéril es una bomba peristáltica de caudal regulable, en la cual se inserta el tubo doble mencionado.

Se acondicionan los medios de cultivo y la solución de enjuague en frascos con tapones de goma, lo cual permite su transferencia sin abrir el frasco.

Se aspira el líquido a través de la aguja, con ayuda de la bomba, y se filtra por las dos membranas de los recintos de filtración, cuya porosidad nominal es inferior o igual a 0,45 μm .

Se lavan los dos recintos con una solución de enjuague y luego se llenan con el medio de cultivo.

8.2.2 Preparación de las muestras

Frascos liofilizados: se vuelven a poner en suspensión con la solución de enjuague:

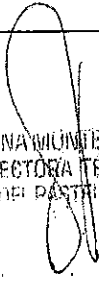
- Ya sea con la aguja de transferencia, si los frascos están cerrados al vacío (las 20 ó 40 unidades seguidas, con el mismo frasco de solución de enjuague);
- Ya sea con una jeringa estéril, extrayendo la cantidad adecuada de solución de enjuague e inyectándola en el frasco del producto liofilizado. Esta operación se realiza las veces necesarias, de acuerdo a la cantidad de unidades liofilizadas.


Jeringas: se mezclan, inyectando su contenido en un frasco de, al menos, 100 ml de solución de enjuague, a través del tapón. Luego se filtra el frasco de solución de enjuague, junto con el contenido de las jeringas, en un Steritest.

8.2.3 Elección de unidades Steritest

La línea Steritest, de Millipore, comporta diferentes referencias, de acuerdo al producto a analizar y al tipo de membrana utilizada.

Información confidencial
Página 10 de 23


ROXANA MONTEMILÓN
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMÍNGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.



Steritest de color azul

Son los Steritest más utilizados. Poseen una membrana de éster de celulosa (50% de nitrato de celulosa y 50% de acetato de celulosa). Se utilizan para productos no agresivos, es decir compatibles con los ésteres de celulosa.

- 1) Steritest frasco azul (ref. TZHALV210): se utilizan perforando el tapón de los frascos, es decir sin abrir el frasco a analizar. Poseen un filtro de 0,22 µm integrado a la aguja.
- 2) Steritest ampolla azul (ref. TZHALA210): están munidos de una aguja muy larga y de un filtro de 0,22 µm, separado. Se utilizan para los frascos pequeños o para tubos tipo Evergreen o Nalgène.

Steritest de color rojo (ref. TZHVAB210)

Sus membranas son de fluoruro de polivinilideno (PVDF o Durapore). Se utilizan para todas las soluciones de antibióticos u otras aplicaciones.

Steritest color verde (ref. TZHVSL210)

Sus membranas son de fluoruro de polivinilideno (PVDF o Durapore) y se utilizan para analizar los diluyentes y los conservantes u otras aplicaciones.

Nota: Esta unidad presenta mayor compatibilidad química gracias al uso de una membrana Durapore y de un material de polímero específico (Nylon) para los canisteres. Este aumenta la resistencia a los diluyentes, contrariamente al Steritest rojo.

Presentación del producto o tipo de producto a analizar	Ref. de unidad a utilizar
Jeringas	TZHALV 210
Ampollas, frascos	TZHALA 210
Antibióticos (neomicina, penicilina, estreptomina)	TZHVAB 210
Diluyentes y conservantes (2-fenoxietanol, tiomersal, geles de aluminio, sosa, ácido, alcohol, formol, blanqueador)	TZHVSL 210

8.2.4 Análisis

8.2.4.1 Implementación de aparatos

- Se coloca la gradilla sobre la bomba.





- Se introduce el tubo de evacuación de la gradilla, en una bolsa Biopharm Bag de tres litros, o directamente en la evacuación del aislador.
- Se colocan las unidades Steritest sobre la gradilla, en las ranuras previstas a tal efecto.
- Se pasan los colectores por la parte superior de la bomba.
- Se cierra la bomba.
- Se verifica que la velocidad de filtración coincida con la velocidad establecida durante la validación.

8.2.4.2 Remojo previo

- Se colocan los tapones rojos sobre las válvulas de los recintos de filtración.
- Se retiran los protectores de agujas.
- Se introduce la aguja y su válvula en un frasco de solución de enjuague (si la válvula es independiente de la aguja, hay que introducirla lo más profundamente posible).
- Se pone en funcionamiento la bomba.
- Se da vuelta el frasco.
- Se filtran 50 ml de solución de enjuague (25 ml por membrana).
- Se vuelve a invertir el frasco, si no está vacío.
- Se detiene la bomba.

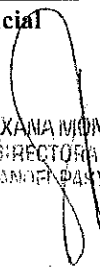
8.2.4.3 Filtración de la muestra

- Se retira la aguja y su válvula de la solución de enjuague.
- Se introduce la aguja y su válvula en el frasco de solución de enjuague que contiene el producto a analizar o, directamente, en el frasco del producto a analizar (si la válvula es independiente de la aguja, hay que introducirla lo más profundamente posible).
- Se retiran los tapones rojos de las válvulas de los recintos de filtración.
- Se pone en funcionamiento la bomba.
- Se da vuelta el frasco.
- Se vuelven a colocar los tapones, cuando cada una de las membranas se halla totalmente recubierta de producto.
- Se filtra el producto a analizar en cada uno de los recintos, por mitades.
- Se detiene la bomba.

8.2.4.4 Enjuagues

- Se introduce la aguja y su válvula en un frasco de solución de enjuague (si la válvula es independiente de la aguja, hay que introducirla lo más profundamente posible).
- Se retiran los tapones rojos de las válvulas, para enjuagar las paredes de los recintos (disminución de la velocidad de filtración).
- Se pone en funcionamiento la bomba.

Información confidencial
Página 12 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SAMOI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SAMOI PASTEUR S.A.



- Se da vuelta el frasco de solución de enjuague.
- Se vuelven a colocar los tapones rojos.
- Se detiene la bomba cuando termina de filtrarse la totalidad de la solución de enjuague.
- Se repite la operación de enjuague con otros dos frascos de solución de enjuague (en total, se pasan 300 ml de solución de enjuague, excepto si el informe de validación del producto analizado determina otra cantidad).

8.2.4.5 Transferencia de medios de cultivo en cámaras de filtración

- Se retiran los tapones rojos.
- Se tapan los orificios de desagote, situados bajo los recintos de filtración, con tapones amarillos.
- Se introduce la aguja y su válvula en el tapón de uno de los frascos que contienen el medio de cultivo (si la válvula es independiente de la aguja, hay que introducirla lo más profundamente posible).
- Se sujeta con abrazaderas uno de los dos colectores, cerca de la aguja.
- Se pone en funcionamiento la bomba.
- Se da vuelta el frasco del medio de cultivo.
- Se detiene la bomba cuando se ha transferido la totalidad del medio de cultivo.
- Se sujeta con abrazaderas el colector, a cinco centímetros, aproximadamente, de la cámara que acaba de ser llenada.
- Se introduce la aguja y su válvula en el tapón del frasco que contiene el segundo medio de cultivo (si la válvula es independiente de la aguja, hay que introducirla lo más profundamente posible).
- Se sujeta con abrazaderas el segundo colector, del lado de la aguja.
- Se pone en funcionamiento la bomba.
- Se invierte el frasco del medio de cultivo.
- Se detiene la bomba cuando se ha transferido la totalidad del medio de cultivo.
- Se sujeta con abrazaderas el colector, a cinco centímetros, aproximadamente, de la cámara que acaba de ser llenada.

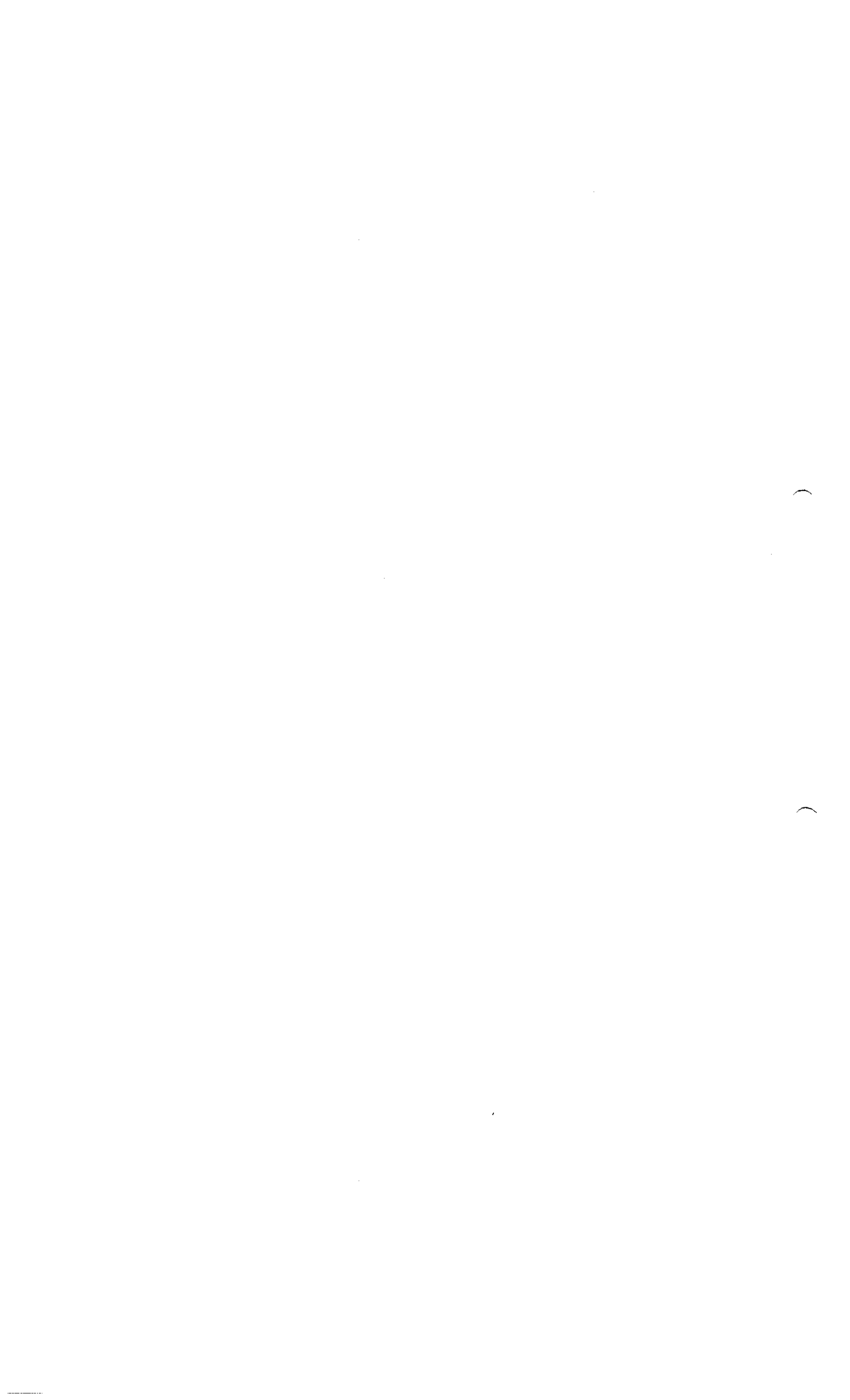
8.2.4.6 Desconexión de los recintos de filtración

- Se abre la bomba.
- Se retiran los colectores de la bomba, tirando hacia arriba.
- Se cortan los colectores entre las abrazaderas y la bomba, a cinco centímetros de las abrazaderas.
- Se coloca el extremo del colector en la válvula del recinto de filtración.
- Se identifican las unidades: nombre del producto, número de lote, estadio de fabricación, nombre del medio de cultivo con temperatura de incubación, fecha, iniciales del técnico.

Información confidencial
Página 13 de 23

ROXANA MONTENILONE
DIRECTORA TÉCNICA
BARIOF PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
BARIOF PASTEUR S.A.



8.2.4.7 Testigo negativo

Al final de la serie, se efectúa un testigo negativo por cada medio de cultivo, filtrando 100 ml de solución de enjuague (50 ml por membrana), de acuerdo a las etapas descriptas.

8.3 Control ambiental

El control ambiental permite la verificación del buen funcionamiento del aislador y la validez del análisis efectuado.

Cada día de trabajo, se realiza:

- Una toma de muestra de la superficie de cada puesto de trabajo;
- Una toma de muestra de cada guante utilizado;
- Una o dos tomas de muestras de aire estático, en función de la duración de la manipulación;
- Una toma de muestra de aire dinámico de 1 m³ de cada aislador.

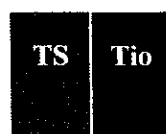
Para más detalles sobre el control ambiental, ver la instrucción (MON) n° 007 502 "Uso de aisladores La Calhène - Aislador I3 de tres guantes - Aislador I4 de cuatro guantes".

8.4 Caso de productos con tiomersal

Los productos que contienen tiomersal deben ser sometidos a doble esterilidad, excepto si el ensayo de aplicabilidad demostró que no es necesario (ver informe de validación del producto analizado). El tiomersal es un conservante que puede impedir el crecimiento de los microorganismos presentes en la muestra y producir un resultado negativo falso. Se utiliza el medio de tioglicolato con resazurina para neutralizar la acción del conservante: las agrupaciones tiol del tioglicolato se fijan al tiomersal e inhiben su acción.

La doble esterilidad consiste en:

- Un primer análisis con el medio de tripticasa de soja (TS) y con el medio de tioglicolato con resazurina (Tio), que es el análisis clásico;
- Un segundo análisis con el doble del medio de tioglicolato con resazurina.





1^{er} análisis

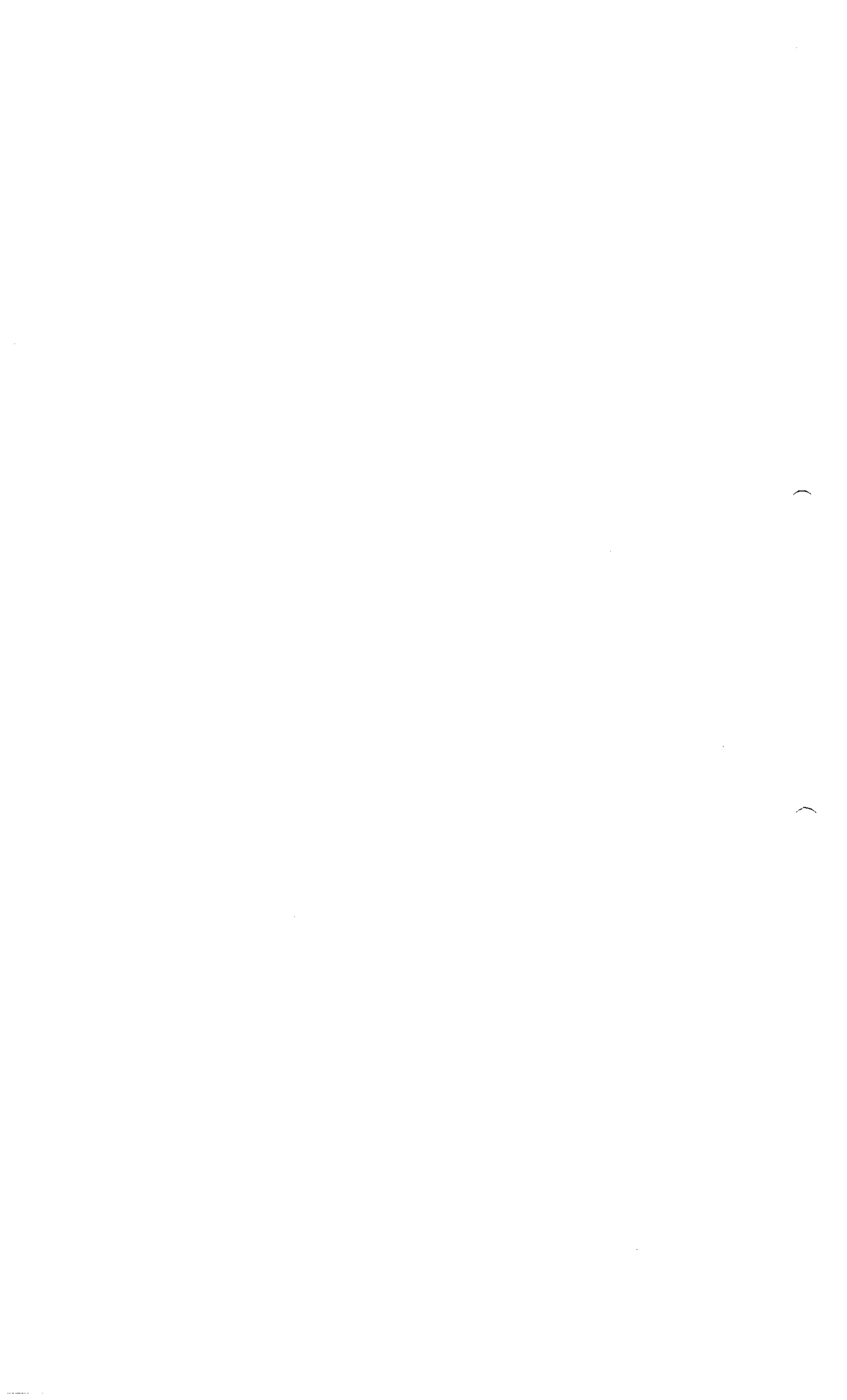


2^{do} análisis

Información confidencial
Página 14 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
BANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
BANOFI PASTEUR S.A.



8.5 Incubación

Antes incubar los medios, se los observa para verificar si el producto se ha enturbiado por otro motivo que no sea el crecimiento microbiano; se anota la fecha de finalización de la incubación en el Steritest.

8.5.1 Temperatura

El medio de tioglicolato con resazurina se incuba a $+ 32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.

El medio de tripticasa de soja se incuba a $+ 22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.

En caso de productos con tiomersal, con doble esterilidad, uno de los dos caldos de tioglicolato con resazurina del segundo análisis (ver punto 8.4) se incuba a $+ 22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.

8.5.2 Duración

Sea cual fuere la técnica utilizada, la incubación dura catorce días, como mínimo.

LECTURAS – RESULTADOS

8.6 Frecuencia

Se realizan tres lecturas por cada análisis:

- Un técnico realiza dos lecturas durante el período de incubación: la primera lectura, el día 3, 4 ó 5 y la segunda lectura, el día 7 u 8. Estas dos lecturas pueden ser aplazadas.
- Dos técnicos realizan una lectura final, el día 14, de manera independiente. Ese día, se realizan la lectura final y la transferencia de productos sembrados hacia la zona de cuarentena de las estufas. La cuarentena dura, al menos, quince días.

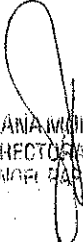
Se inscriben todas las lecturas en las hojas Excel, anotando “límpido” o “turbio”, por cada uno de los medios de cultivo utilizados.


8.7 Técnica

En cada lectura, se observan, por transparencia, ante una fuente de luz, los frascos y unidades de Steritest en reposo; en el caso del medio de tripticasa de soja, también se observa luego de agitación. Se observan, detenidamente, el medio líquido y la superficie de la membrana, y se comparan con el testigo negativo.

El día 14, se realiza la observación de los dos medios en reposo, y luego de agitarlos.

Información confidencial
Página 15 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SAMOPI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SAMOPI PASTEUR S.A.



8.8 Repicado de las muestras

Se efectúa un repicado de las muestras en caso de presencia de turbiedad, o de manera sistemática, según la conclusión del informe de validación, siempre al término de la incubación.

En un PSM, mediante una jeringa:

- Se transfiere 1 ml, al menos, del medio turbio, a través del tapón de un nuevo frasco del medio del mismo tipo;
- Se replica 0,5 ml en un agar sangre con tripticasa de soja, por duplicado.

En los Steritest, se pincha el colector del recinto con una jeringa con la aguja más fina posible, tratando de no inclinar demasiado el recinto para que no se moje la válvula.

Se incuban el medio inicial, el medio transferido y los agares cuatro días, como mínimo, a la temperatura correspondiente al tipo de medio. Un agar sangre con tripticasa de soja repicado se incuba en aerobia y el otro en anaerobia.

Si se confirma contaminación, se realiza una identificación genotípica.

En caso de repicado, debe llenarse el formulario n° 111 327.

Se archivan los datos brutos en el laboratorio de Bacteriología del departamento ARD EU.

CONDICIONES DE VALIDEZ

8.9 Conformidad del ensayo

El resultado es conforme si no se observa ningún signo de crecimiento microbiano en los ensayos o en los repicados.

El resultado no es conforme si se observa crecimiento microbiano en los ensayos o en los repicados, excepto que se demuestre que el ensayo es inválido (ver punto 10.2). Un ensayo no conforme, si el análisis es válido, no se repite.

8.10 Validez del ensayo

El ensayo es válido si los medios se incuban a temperaturas específicas, si el número y la cantidad de muestras analizadas es conforme a las recomendaciones y si no se detecta ninguna anomalía operativa.

Cuando el resultado no es conforme, puede declararse inválido el ensayo solamente si se cumplen una o varias de las siguientes condiciones:

- Los resultados de los controles ambientales muestran contaminación, que se identifica, por biología molecular, como perteneciente a la misma cepa de la contaminación del ensayo;

Información confidencial
Página 16 de 23

ROXANA MONTENILONE DIRECTORA TÉCNICA SANDO PASTEUR S.A.
CHRISTIAN DOMINGUEZ APODERADO SANDO PASTEUR S.A.



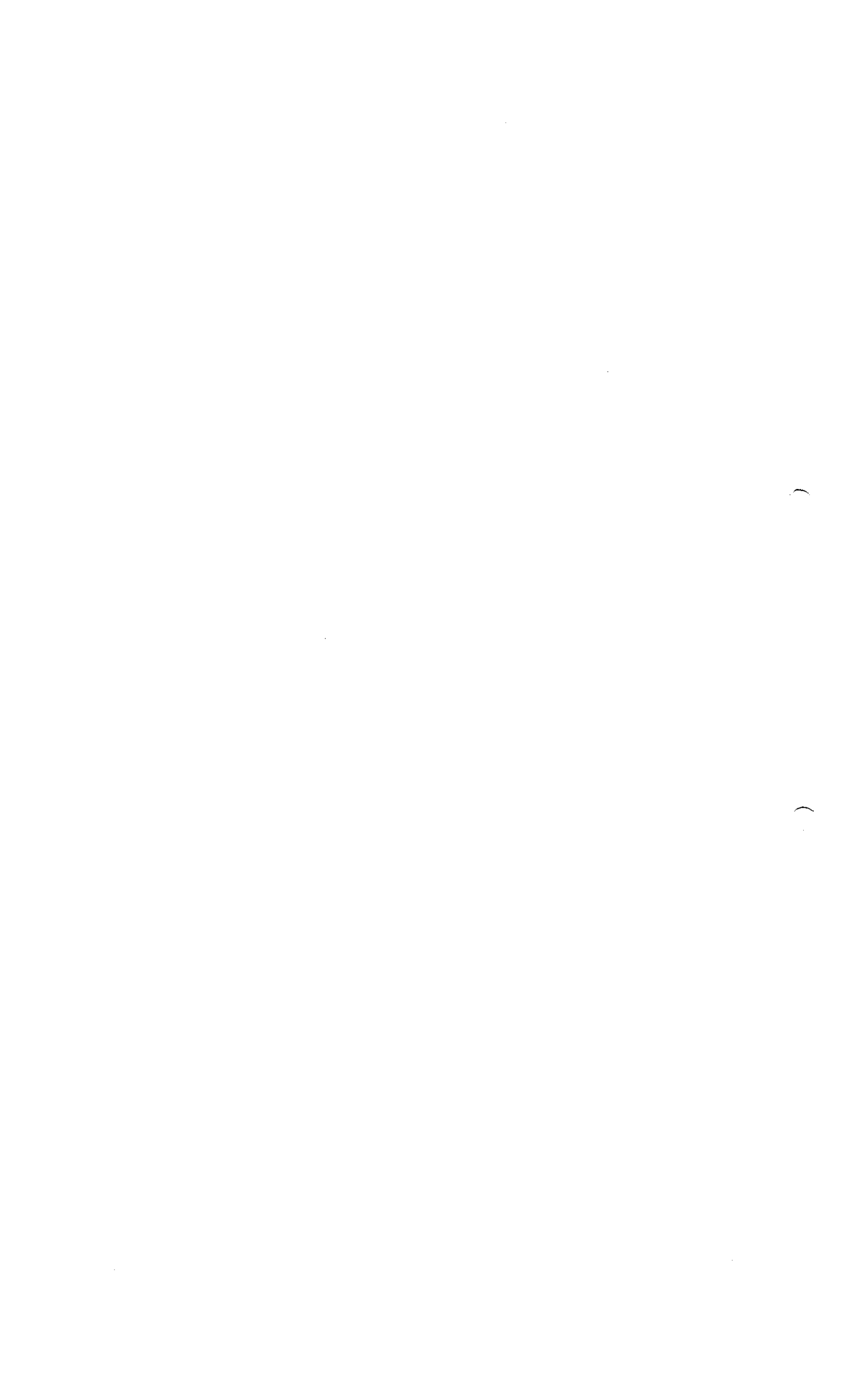
- El examen del procedimiento experimental utilizado para efectuar el ensayo en cuestión muestra una anomalía;
- Se observa crecimiento microbiano en los testigos negativos, que se identifica, por biología molecular, como perteneciente a la misma cepa de la contaminación del ensayo;
- Luego de la identificación genómica de los microorganismos aislados al término del ensayo, se demuestra que la contaminación es imputable, sin ninguna duda, al material, al técnico o a la técnica utilizada para la realización del ensayo.

Si se declara inválido el ensayo, es necesario repetirlo, analizando la misma cantidad de unidades que en el ensayo inicial.

Información confidencial
Página 17 de 23

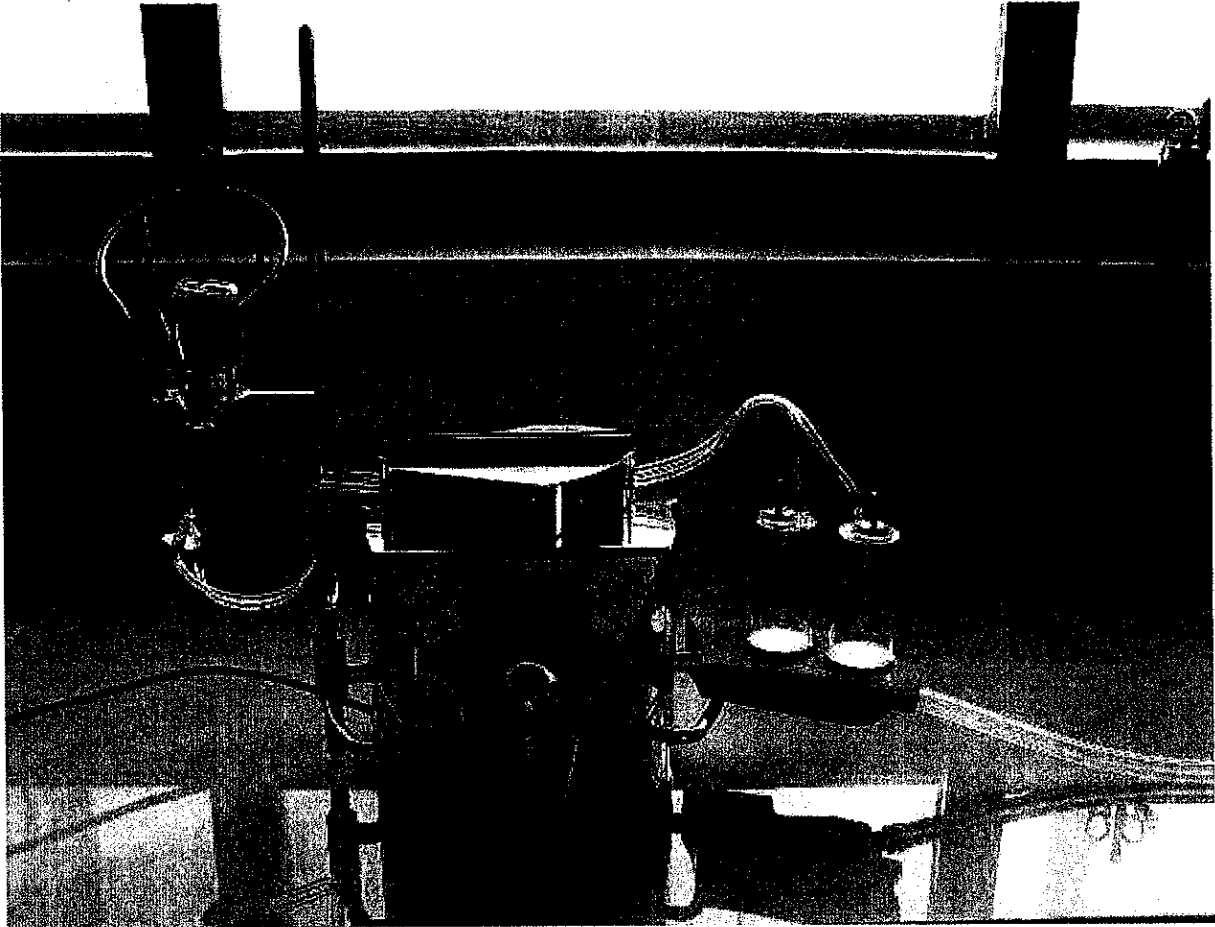
ROXANA MONTIEL LUNA
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.

CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.






Anexo 1: Fotografía del conjunto del sistema Steritest



Confidential/Proprietary Information
Page 18 de 23


ROXANA MONTEMILONE
DIRECTORA TÉCNICA
SANOFI PASTEUR S.A.


CHRISTIAN DOMINGUEZ
APODERADO
SANOFI PASTEUR S.A.

