

370. ENSAYOS DE ESTERILIDAD

1 Los siguientes ensayos se emplean para
2 verificar la ausencia de contaminación por
3 microorganismos en productos esterilizados o
4 preparados asépticamente. La ausencia de
5 contaminación microbiana, evidenciada por estos
6 procedimientos, confirma que el producto cumple
7 con los requisitos del ensayo aunque el mismo no
8 es suficiente para suponer la esterilidad de la
9 totalidad del lote ensayado, dadas las limitaciones
10 inherentes a la estadística del muestreo. La
11 condición de estéril se asegura a través de la
12 validación del proceso de esterilización o del
13 procesamiento aséptico.

14 El ensayo de esterilidad se lleva a cabo bajo
15 condiciones asépticas, por lo tanto el entorno del
16 ensayo debe adaptarse a la manera en que éste se
17 realice. Durante el desarrollo del ensayo, el área
18 de trabajo no debe estar expuesta a la luz
19 ultravioleta directa ni sometida a otros agentes
20 esterilizantes. Las medidas para evitar la
21 contaminación no deben afectar a ningún
22 microorganismo que pudiera estar presente en la
23 muestra. Las condiciones de trabajo en las que se
24 efectúan los ensayos, se monitorean regularmente
25 mediante el muestreo adecuado del área de trabajo
26 y la realización de controles apropiados.

MEDIOS DE CULTIVO

28 Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a
29 lo indicado en *Medios de cultivo y Reactivos para*
30 *Ensayos Microbiológicos* en *Reactivos y*
31 *Soluciones*. También se pueden emplear fórmulas
32 deshidratadas equivalentes disponibles
33 comercialmente siempre y cuando cumplan con los
34 requisitos de la *Prueba de promoción de*
35 *crecimiento de los medios de cultivo* para
36 organismos aerobios, anaerobios, hongos
37 filamentosos y levaduras.

38 El Medio Fluido de Tioglicolato debe
39 incubarse a 30 – 35 °C. Para productos que
40 contienen un conservante mercurial que no se
41 pueden analizar mediante el *Método de filtración*
42 *por membrana*, se puede utilizar el Medio Fluido
43 de Tioglicolato incubado a 20 – 25 °C en lugar de
44 Caldo Digerido de Caseína - Soja, siempre y
45 cuando cumpla con la *Prueba de promoción de*
46 *crecimiento de los medios de cultivo* con los seis
47 microorganismos descritos en la *Tabla 1*.

48 Es posible utilizar Caldo Tioglicolato
49 Alternativo para los casos en que se prescriba o

50 justifique, preparando una mezcla que tenga la
51 misma composición que la del Medio Fluido de
52 Tioglicolato, pero omitiendo el agar y la solución
53 de resazurina sódica. Esterilizar. El pH después
54 de la esterilización debe ser de $7,1 \pm 0,2$. El
55 medio a emplear debe ser recientemente
56 esterilizado o podrá calentarse una sola vez en un
57 baño de vapor y enfriado rápidamente antes de su
58 empleo de modo de asegurar la ausencia de
59 oxígeno. Incubar a 30 – 35 °C bajo condiciones
60 anaeróbicas.

ESTERILIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

63 Verificar la esterilidad de cada lote incubando
64 una muestra del mismo a la temperatura
65 correspondiente a cada medio, durante 14 días o
66 incubando un recipiente con medio no inoculado
67 como control negativo en paralelo al ensayo de
68 esterilidad.

PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

72 Examinar cada lote de medio de cultivo para
73 determinar su capacidad de promover el
74 crecimiento microbiano a través de la inoculación
75 con no más de 100 ufc de microorganismos viables
76 de cada una de las cepas descritas en la *Tabla 1*
77 en recipientes separados. El volumen del inóculo
78 no deberá ser mayor al 1 % del volumen del medio
79 preparado. Incubar en las condiciones
80 especificadas.

81 Los medios de cultivo son aceptables si existen
82 evidencias de crecimiento claramente visible en
83 todos los recipientes inoculados dentro de los 3
84 días de incubación para bacterias aeróbicas y
85 anaeróbicas y 5 días para hongos filamentosos y
86 levaduras. El ensayo de esterilidad no es válido si
87 el medio de cultivo presenta una respuesta
88 inapropiada al crecimiento microbiano. Emplear
89 cultivos (ver *Preparación de las cepas de prueba*
90 en 90. *Control microbiológico de productos no*
91 *obligatoriamente estériles*) con no más de cinco
92 repiques desde su extracción del cultivo original de
93 los microorganismos que figuran en la *Tabla 1*.

ENSAYO DE APTITUD

95 Antes de efectuar un ensayo de esterilidad de
96 un producto, se deberá demostrar la ausencia de
97 actividad bacteriostática y fungistática del mismo.

98 El ensayo de aptitud deberá efectuarse cada vez
99 que se cambia alguna condición del ensayo o
100 cuando exista un cambio significativo en la
101 composición del producto.

102 Los microorganismos de prueba para la
103 realización del ensayo de aptitud son los indicados
104 en la *Tabla 1*. Es recomendable incluir al menos
105 una cepa aislada y caracterizada del ambiente de
106 fabricación.

107 Durante el periodo de incubación registrar y
108 comparar diariamente las observaciones visuales
109 tanto de los microorganismos desafiados con la
110 muestra como de los medios con cada
111 microorganismo, según corresponda.

112 **Determinación de la Aptitud cuando se emplea** 113 **el Método de filtración por membrana**

114 Filtrar la cantidad de muestra especificada en
115 las *Tablas 2, 3 y 4*.

116 Lavar la membrana con al menos tres porciones
117 de 100 mL del líquido de lavado, inoculando el
118 lavado final con no más de 100 ufc de los
119 microorganismos de prueba, por separado.

120 Realizar un control positivo, siguiendo el
121 procedimiento descrito, pero en ausencia de
122 muestra, inoculando cada microorganismo de
123 prueba en los correspondientes medios.

124 Colocar cada membrana o mitad de la
125 membrana en 100 mL del medio de cultivo
126 especificado o agregar el medio especificado al
127 dispositivo que contiene la membrana. Incubar
128 todos los recipientes que contienen medio de
129 cultivo a la temperatura apropiada y bajo las
130 condiciones especificadas en la *Tabla 1*, por un
131 período no mayor de 5 días.

132 Si el crecimiento de los microorganismos en el
133 medio de cultivo que contiene la muestra fuera
134 visualmente comparable al observado en el control
135 positivo, el producto no posee actividad
136 antimicrobiana en las condiciones de la prueba o
137 tal actividad se ha eliminado satisfactoriamente.
138 En adelante efectuar el ensayo de esterilidad en las
139 mismas condiciones.

140 Si el crecimiento no fuera visualmente
141 comparable al observado en el control positivo, el
142 producto posee propiedades bacteriostáticas y/o
143 fungistáticas. Repetir aumentando número y
144 volumen de lavados hasta un máximo de 10
145 lavados de 100 mL cada uno, y/o cambiando el tipo
146 de membrana, y/o empleando un agente
147 neutralizante, tal como lecitina o polisorbato 80.
148 También puede ser necesario el agregado de una
149 beta-lactamasa apropiada a los medios de cultivo
150 y/o a los líquidos de lavado para el caso de
151 penicilinas y cefalosporinas. Si después de haber
152 realizado todas las modificaciones en las

153 condiciones de ensayo no se logró obtener una
154 turbidez visualmente comparable entre el tubo que
155 contiene la muestra y el control positivo, efectuar
156 el ensayo de esterilidad empleando las condiciones
157 más exigentes.

158 **Determinación de la Aptitud cuando se emplea** 159 **el Método de siembra directa**

160 Inocular dos recipientes de cada medio de
161 cultivo con no más de 100 ufc de cada uno de los
162 microorganismos especificados en la *Tabla 1*. El
163 volumen del inóculo no deberá ser mayor al 1 %
164 del volumen del medio preparado. Agregar la
165 cantidad de muestra especificada en las *Tablas 2, 3*
166 *y 4* a uno de los recipientes. El otro recipiente será
167 el control positivo. El volumen de producto no
168 debe superar el 10 % del volumen de medio de
169 cultivo. Repetir el procedimiento para cada cepa e
170 incubar durante no más de 5 días.

171 Si el producto que se está evaluando enturbia el
172 medio, transferir al quinto día de incubación
173 porciones de medio (no menores de 1 mL) a
174 recipientes con medio fresco y continuar incubando
175 los recipientes de transferencia durante no menos
176 de 4 días. Proceder del mismo modo con el control
177 positivo. Al término del período de incubación
178 comparar la turbidez de ambas transferencias.

179 Si el crecimiento de los microorganismos en la
180 mezcla de producto y medio de cultivo fuera
181 visualmente comparable al observado en el control
182 positivo, en adelante efectuar el ensayo de
183 esterilidad en las mismas condiciones.

184 Si el crecimiento no fuera visualmente
185 comparable al observado en el control positivo, el
186 producto posee propiedades bacteriostáticas y/o
187 fungistáticas. Repetir el ensayo empleando agentes
188 neutralizantes estériles, como polisorbato 80,
189 lecitina o penicilinas, o incrementar el volumen de
190 medio. Si se incrementó el volumen del medio a
191 2 litros y aún se manifiestan propiedades
192 antimicrobianas, proceder con el ensayo de
193 esterilidad utilizando dicho volumen.

194 **PROCEDIMIENTO GENERAL**

195 El ensayo debe realizarse en condiciones
196 asépticas bajo Clase A o su denominación
197 equivalente.

198 Emplear el *Método de filtración por membrana*,
199 según se describe a continuación, a menos que se
200 especifique de otro modo en la monografía
201 correspondiente.

202 Tanto para el *Método de Filtración por*
203 *membrana* como para el *Método de Siembra*
204 *directa*, proceder según la metodología
205 determinada para el producto en el *Ensayo de*
206 *Aptitud*.

207 Limpiar la superficie exterior de los envases
208 con un agente descontaminante apropiado y
209 acceder al contenido de los mismos en forma
210 aséptica. Si fuera envasado al vacío, se deben
211 compensar las presiones en condiciones asépticas.

212 **Cantidad de muestra y condiciones de** 213 **incubación**

214 Emplear los números de unidades y cantidades
215 indicados en las *Tablas 2, 3 y 4*.

216 A menos que se especifique de otro modo en la
217 monografía correspondiente o en una sección de
218 este capítulo, incubar la mezcla de ensayo durante
219 no menos de 14 días en los medios de cultivo y en
220 las condiciones especificadas en la *Tabla 1*.

221 Cuando el material ensayado produce turbidez
222 en el medio y la observación visual del crecimiento
223 de bacterias u hongos es dificultosa, al finalizar el
224 período de incubación, transferir porciones de no
225 menos de 1 mL de la mezcla que contiene la
226 muestra y el medio a envases con medio de cultivo
227 nuevo. Se debe continuar con la incubación de
228 ambas muestras, la inicial y la transferida por no
229 menos de 4 días adicionales.

230 Durante el período de incubación registrar
231 diariamente las observaciones visuales de cada
232 medio de cultivo del ensayo.

233 **Método de filtración por membrana**

234 En un dispositivo que posibilite el filtrado
235 aséptico emplear filtros de membrana con un
236 tamaño nominal de poro no mayor de 0,45 µm
237 cuya eficacia para retener microorganismos haya
238 sido establecida.

239 Generalmente se usan membranas de nitrato de
240 celulosa para soluciones acuosas, oleosas y con
241 bajo contenido alcohólico. Para soluciones con
242 alto contenido alcohólico se usan membranas de
243 acetato de celulosa. Para minimizar la inhibición
244 microbiana de los residuos podrán utilizarse
245 membranas con borde hidrófobo o de baja
246 retención.

247 En el caso de soluciones acuosas, si
248 corresponde, transferir una pequeña cantidad de un
249 diluyente estéril adecuado, como por ejemplo
250 *Solución A* (ver *Medios de cultivo y reactivos para*
251 *ensayos microbiológicos* en *Reactivos y*
252 *Soluciones*), a la membrana en la unidad filtrante y
253 filtrar.

254 Cuando el producto a ser ensayado es un aceite,
255 es conveniente que la membrana esté
256 completamente seca antes de realizar el ensayo.

257 *Soluciones acuosas* - Emplear para cada medio
258 de cultivo no menos de las cantidades de producto
259 indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Transferir una
260 pequeña porción del diluyente para humedecer la

261 membrana. Proceder según la metodología
262 determinada en el *Ensayo de Aptitud*.

263 *Sólidos solubles* - Emplear para cada medio de
264 cultivo no menos de las cantidades de producto
265 indicadas en las *Tablas 2 y 4*. Disolver en el
266 líquido adecuado (por ejemplo, el disolvente
267 proporcionado con la preparación, agua para
268 soluciones inyectables, solución salina o
269 *Solución A* (ver *Medios de cultivo y reactivos para*
270 *ensayos microbiológicos* en *Reactivos y*
271 *Soluciones*) que haya sido empleado en el *Ensayo*
272 *de Aptitud*.

273 *Aceites y soluciones oleosas* - Emplear para
274 cada medio de cultivo las cantidades indicadas en
275 las *Tablas 2 y 3*. Si la viscosidad es baja, filtrar sin
276 diluir utilizando la membrana completamente seca.
277 Si la viscosidad es alta puede ser necesario diluir
278 en un diluyente estéril adecuado, como miristato de
279 isopropilo, que demuestre no tener propiedades
280 antimicrobianas en las condiciones del ensayo.
281 Dejar que el aceite penetre en la membrana por su
282 propio peso y a continuación filtrar aplicando
283 presión o succión gradualmente. Lavar la
284 membrana con un líquido adecuado, por ejemplo
285 *Solución D*, *Solución K* (ver *Medios de cultivo y*
286 *reactivos para ensayos microbiológicos* en
287 *Reactivos y Soluciones*) u otra solución con una
288 concentración predeterminada de emulsionante que
289 haya sido demostrada apropiada durante el *Ensayo*
290 *de Aptitud* de la metodología.

291 [NOTA: si los líquidos son viscosos y difíciles
292 de filtrar, se pueden emplear más de dos
293 dispositivos. Se incuba en cada medio la mitad del
294 número de membranas empleadas, cuidando que
295 los volúmenes y el número de envases se ajusten a
296 las condiciones especificadas.]

297 *Ungüentos y cremas* - Emplear para cada
298 medio de cultivo no menos de las cantidades
299 indicadas en las *Tablas 2 y 3 ó 4*, según
300 corresponda. Los ungüentos con base grasa y las
301 emulsiones del tipo agua en aceite, pueden
302 disolverse al 1 % en miristato de isopropilo. De
303 ser necesario calentar hasta no más de 40 °C.
304 Excepcionalmente podrá admitirse calentar hasta
305 no más de 44 °C. Proceder según la metodología
306 determinada en el *Ensayo de Aptitud*. Filtrar tan
307 rápidamente como sea posible y proceder según se
308 indica en *Aceites y soluciones oleosas*.

309 *Jeringas prellenadas* - Emplear para cada
310 medio de cultivo no menos de las cantidades
311 indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si la jeringa tiene la
312 aguja acoplada, vaciar el líquido a través de la
313 misma en la unidad filtrante o en la solución
314 diluyente. Si la jeringa tiene aguja no acoplada,
315 vaciar directamente el líquido en la unidad filtrante
316 o en la solución diluyente y evaluar la esterilidad

317 de la aguja por separado según el *Método de*
318 *Siembra Directa*. Proceder según la metodología
319 determinada en el *Ensayo de Aptitud*

320 *Aerosoles* - Emplear para cada medio de
321 cultivo no menos de las cantidades indicadas en las
322 *Tablas 2 y 3 ó 4*, según corresponda. Extraer la
323 muestra asépticamente utilizando el método
324 conveniente, por congelamiento del envase o por
325 uso de válvula continua. Colocar el contenido de
326 todos los envases en un recipiente estéril. Agregar
327 al menos 100 mL de una solución diluyente que se
328 haya demostrado apropiada. Proceder según la
329 metodología del *Ensayo de Aptitud*.

330 *Dispositivos médicos con guías y jeringas*
331 *vacías estériles* - Emplear para cada medio no
332 menos de las cantidades indicadas en las *Tablas 2*
333 *y 4*.

334 En el caso de las guías, pasar un volumen de
335 Solución D (ver *Medios de cultivo y reactivos para*
336 *ensayos microbiológicos* en *Reactivos y*
337 *Soluciones*) no inferior a 10 veces el volumen de
338 éstas. Recolectar los líquidos en un recipiente
339 adecuado. En el caso de jeringas vacías, con aguja
340 acoplada, llenar cada una de ellas con un líquido
341 estéril que haya sido demostrado apto y vaciar el
342 líquido a través de la misma en la unidad filtrante o
343 en la solución diluyente. Si la jeringa no tiene
344 aguja acoplada o para acoplar, podrá utilizarse una
345 aguja sólo para los propósitos del ensayo. Llenar y
346 vaciar directamente el líquido a través de la misma
347 en la unidad filtrante o en la solución diluyente.
348 Proceder según la metodología determinada en el
349 *Ensayo de Aptitud*

350 **Método de siembra directa**

351 Transferir directamente al medio de cultivo la
352 cantidad de muestra indicada en las *Tablas 2 y 3 ó*
353 *4* según corresponda, de modo que el volumen de
354 producto no sea mayor del 10 % del volumen del
355 medio, a menos que se indique de otro modo en la
356 monografía correspondiente.

357 Si el producto a examinar tiene actividad
358 antimicrobiana llevar a cabo el ensayo después de
359 neutralizar esta actividad con un agente adecuado o
360 por dilución en una cantidad suficiente de medio de
361 cultivo, según haya sido demostrado en el *Ensayo*
362 *de Aptitud* de la metodología.

363 Cuando sea necesario usar un volumen grande
364 del producto, probablemente sea preferible emplear
365 un medio de cultivo concentrado preparado de tal
366 modo que se tenga en cuenta la dilución
367 subsiguiente. Cuando corresponda, el medio
368 concentrado podrá agregarse directamente al
369 producto en su envase.

370 [NOTA: si por el volumen o dimensiones
371 (tamaño) de la muestra a ensayar se debe utilizar

372 un volumen de medio demasiado grande, puede
373 emplearse más de un frasco de cada medio de
374 cultivo por ensayo, cuidando que los volúmenes se
375 ajusten a las condiciones especificadas.]

376 *Líquidos oleosos* - Emplear para cada medio de
377 cultivo no menos de las cantidades indicadas en las
378 *Tablas 2 y 3*. Agregar un agente emulsionante
379 apropiado a los medios de cultivo en concentración
380 tal que durante el *Ensayo de Aptitud* haya
381 demostrado ser adecuado, por ejemplo
382 polisorbato 80 en una concentración de 10 g por
383 litro.

384 *Ungüentos y cremas* - Emplear para cada
385 medio de cultivo no menos de las cantidades
386 indicadas en las *Tablas 2 y 4*. De ser necesario,
387 podrá realizarse una dilución de aproximadamente
388 1 en 10, agregando un agente emulsionante por
389 ejemplo Solución D. Transferir el producto diluido
390 a los medios de cultivo.

391 [NOTA: agitar diariamente los medios
392 conteniendo productos oleosos cuidando de hacerlo
393 con suavidad preservando las condiciones
394 anaeróbicas en el Medio Fluido de Tioglicolato.]

395 *Sólidos* - Emplear para cada medio no menos
396 de las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 4*.
397 Transferir una cantidad de producto o preparar una
398 suspensión del producto en diluyente estéril en el
399 envase primario. Transferir el material obtenido a
400 200 mL de medios de cultivo, o el volumen
401 establecido en el *Ensayo de Aptitud* de la
402 metodología y mezclar.

403 *Algodón purificado, gasa, apósitos quirúrgicos*
404 *y dispositivos relacionados* - Emplear para cada
405 medio de cultivo no menos de las cantidades
406 indicadas en las *Tablas 2 y 4*. De cada envase de
407 algodón, gasa o apósitos, extraer asépticamente 2 o
408 más porciones de 100 a 500 mg cada una, de la
409 parte más interna del envase. Si se trata de
410 artículos descartables envasados individualmente,
411 usar todo el contenido del envase. Sumergir en
412 cada uno de los medios de cultivo según lo
413 establecido en el *Ensayo de Aptitud*.

414 *Dispositivos médicos estériles* - Emplear para
415 cada medio de cultivo no menos de las cantidades
416 indicadas en las *Tablas 2 y 4*. Sumergir los
417 dispositivos completamente, ensamblados o
418 desmontados, en cantidad suficiente de medios de
419 cultivo, asegurando que la parte interna de las
420 guías o conductos esté en contacto con el medio de
421 cultivo. Si el dispositivo es demasiado grande,
422 sumergir completamente en los medios de cultivo
423 las porciones que deben entrar en contacto directo
424 con el paciente. Para catéteres cortar en piezas
425 para que todo el dispositivo esté en contacto con el
426 medio o llenar el lumen con el medio de cultivo y
427 luego sumergir la unidad entera. Para dispositivos

428 en los cuales el lumen es demasiado pequeño como
429 para permitir el paso del Medio Fluido de
430 Tioglicolato, sustituir dicho medio por el Caldo
431 Tioglicolato alternativo siempre que luego se
432 incube en anaerobiosis.

433 **OBSERVACIÓN E INTERPRETACIÓN DE** 434 **RESULTADOS**

435 Examinar los medios de cultivo durante el
436 período de incubación y al final del ensayo, en
437 busca de evidencia macroscópica de desarrollo
438 microbiano.

439 Tal como se indica en el apartado *Cantidad de*
440 *muestra y condiciones de incubación*, si el material
441 que se está evaluando enturbia el medio de modo
442 que no puede determinarse fácilmente la presencia
443 o ausencia de desarrollo microbiano mediante
444 examen visual, transferir porciones de medio, no
445 menores de 1mL cada una, cumplidos los 14 días
446 de incubación, a recipientes nuevos con el mismo
447 medio y, a continuación, incubar el recipiente
448 original y el de transferencia durante no menos de
449 4 días.

450 Si no se hallan evidencias de desarrollo
451 microbiano, la muestra cumple con el ensayo de
452 esterilidad.

453 Si en cambio hay evidencia de desarrollo
454 microbiano, la muestra no cumple con el ensayo, a
455 menos que pueda demostrarse claramente que el
456 ensayo es inválido y que la causa de la
457 contaminación no está relacionada con el producto.

458 El ensayo puede considerarse inválido sólo si se
459 cumplen una o más de las siguientes condiciones:

460 a) los resultados de los monitoreos
461 microbiológicos (ambiente, superficies y/o
462 personal) donde se efectuó el ensayo demuestran
463 falla,

464 b) se revela un error en el procedimiento usado
465 en el ensayo,

466 c) se halla desarrollo microbiano en los
467 controles negativos,

468 d) la identificación del microorganismo aislado
469 revela inequívocamente que hubo fallas con
470 respecto al material o a la técnica usados.

471 Si el ensayo se declara inválido, se repetirá con
472 el mismo número de unidades de la prueba
473 original.

474 Si no hay desarrollo microbiano en la
475 repetición, el producto cumple con el ensayo de
476 esterilidad. Si en cambio hay desarrollo
477 microbiano, el producto no cumple con el ensayo.

478

Tabla 1. Medios de cultivo, microorganismos y condiciones de incubación

Medio	Microorganismos de prueba	Incubación	
		Temperatura	Condiciones
Medio Tioglicolato	• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	30 - 35 °C	
	• <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 ⁽¹⁾	30 - 35 °C	Aeróbicas
	• <i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437 ⁽²⁾	30 - 35 °C	
Caldo Tioglicolato Alternativo ⁽³⁾	• <i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	30 - 35 °C	Anaeróbicas
Caldo digerido de caseína - soja	• <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	20 - 25 °C	
	• <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	20 - 25 °C	Aeróbicas
	• <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	20 - 25 °C	

(1) Como alternativa a *Pseudomonas aeruginosa*, puede utilizarse *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

(2) Como alternativa a *Clostridium sporogenes* y en caso de no ser requerido un esporoformador, puede utilizarse *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482.

(3) Utilizar para ensayo de esterilidad de dispositivos médicos que contienen tubos de pequeño diámetro.

NOTA: Pueden utilizarse cepas ATCC o cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivos microbianos reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections).

Tabla 2. Número mínimo de unidades a ensayar en relación al tamaño del lote

<i>Tamaño del lote *</i>	<i>Número mínimo de envases muestreados para cada medio**</i>
<i>Productos inyectables</i>	
≤ 100 unidades	10 % ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500 unidades	10
> 500 unidades	2 % ó 20 (el que sea menor)
Parenterales de gran volumen	2 % ó 10 (el que sea menor)
<i>Antibióticos sólidos</i>	
Envases de < 5 g	20
Envases de ≥ 5 g	6
Graneles y mezclas	Ver <i>Productos sólidos a granel</i>
<i>Oftálmicos y otros productos no inyectables</i>	
≤ 200 unidades	5 % ó 2 (el que sea mayor)
> 200 unidades	10
Si el producto a ensayar se presenta en la forma de envases monodosis, aplicar el esquema mostrado anteriormente para productos inyectables.	
<i>Dispositivos médicos</i>	
≤ 100 unidades	10 % ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500 unidades	10
> 500 unidades	2 % ó 20 (el que sea menor)
<i>Productos sólidos a granel</i>	
≤ 4 envases	Todos
> 4 - ≤ 50 envases	20 % ó 4 (el que sea mayor)
> 50 envases	2 % ó 10 (el que sea mayor)

* Si no se conoce el tamaño del lote, emplear el número máximo de envases indicado en esta tabla.

** Si el contenido de un envase es suficiente para inocular los dos medios, según las cantidades indicadas en las *Tablas 3 ó 4*, esta columna establece el número de envases totales a utilizar.

Tabla 3. Cantidades a ensayar de cada envase para productos líquidos

<i>Contenido del envase (mL)</i>	<i>Volumen mínimo de cada envase para cada medio</i>
< 1	Todo el contenido
1 - ≤ 40	La mitad del contenido de cada envase pero no menos de 1 mL
> 40 - ≤ 100	20 mL
> 100	10 % del volumen pero no menos de 20 mL
Antibióticos (líquidos)	1 mL

Tabla 4. Cantidades a ensayar de cada envase para productos sólidos y semisólidos

<i>Contenido del envase</i>	<i>Cantidad mínima de cada envase para cada medio</i>
< 50 mg	Contenido completo
50 mg - < 300 mg	Mitad del contenido pero no menos de 50 mg
300 mg - ≤ 5 g	150 mg
> 5 g	500 mg
Antibióticos	150 mg
Algodón, gasa	100 mg
Suturas y otros materiales descartables	Envase completo
Dispositivos médicos	Dispositivo completo
Preparaciones insolubles, cremas y ungüentos	No menos de 200 mg de contenido de cada envase