

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura

**ASEGURAMIENTO DE CALIDAD A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN UN
LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO BASADOS EN
NORMATIVAS VIGENTES**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
BLANCA SOFÍA TOBAR GRANDE**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUÍMICA Y FARMACIA**

FEBRERO 2008

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

MSc. Rufino Antonio Quezada Sánchez

Secretario General

Lic. Douglas Vladimir Alfaro Chávez

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

Decano

Lic. Salvador Castillo Arévalo

Secretaria

Lic. Morena Lizette Martínez de Díaz

COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN

Coordinadora General

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

Asesora de Área de Análisis de Alimentos: Microbiológico

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos

Asesora de Área de Microbiología:

MSc. Coralia González de Díaz

Docentes Directores

Dra. Lucía Elizabeth Banegas de Salazar

Lic. Rosa Linda Montes Gómez

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Lucía Elizabeth Banegas de Salazar y Lic. Rosa Linda Montes Gómez por su asesoramiento, apoyo, paciencia y colaboración a lo largo del trabajo de graduación.

Al Comité de Graduación: Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo, MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos, MSc. Coralia González de Díaz, por su motivación.

A las autoridades de Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LECC), por abrir las puertas de sus instalaciones.

Al personal del Departamento de Análisis Microbiológico Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LECC), por su amabilidad y buena disposición durante la investigación de campo.

Y a todas las demás personas que de una u otra manera brindaron su ayuda y colaboración durante la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, por darme y llevar el control de mi vida, no dejarme sola en ningún momento, escuchar mis oraciones y permitir la culminación de mis estudios.

A mis padres, José Luis Tobar Trejo y Blanca Estela Grande Santos de Tobar, por todos sus sacrificios, paciencia, comprensión, apoyo, amor incondicional y soporte económico para la finalización de mi carrera universitaria.

A mis hermanos, Juan, Luis, Lupita y demás familia por su cariño incondicional, comprensión y apoyo en todo momento.

A Norbis Salvador Solano, por su cariño, comprensión y por brindarme palabras de aliento en todo momento.

A mis amigas por darme otra familia que también me dio su cariño y apoyo: Cristina, Rosalina, Marianela, Ana Luz, Jeanethe y a todas las demás personas que son especiales para mí.

Sofía Tobar Grande

ÍNDICE

	Pag
Resumen.	xiii
Capítulo I	
1.0 Introducción.	16
Capítulo II	
2.0 Objetivos.	18
2.1 Objetivo general.	18
2.2 Objetivos específicos.	18
Capítulo III	
3.0 Marco teórico.	20
3.1 Calidad total.	20
3.2 Normas ISO.	21
3.3 Buenas prácticas de laboratorio.	23
3.4 Requerimientos para un laboratorio de Análisis Microbiológico.	26
3.4.1 Instalaciones.	26
3.4.2 Materiales:	29
3.4.2.1 Medios de cultivo.	29
3.4.2.2 Cepas microbianas.	33
3.4.2.3 Reactivos.	41
3.4.2.4 Desinfectantes.	43

3.4.2.5 Agua desmineralizada.	47
3.4.2.6 Cristalería.	48
3.4.3 Equipos.	49
3.4.4 Personal.	53
3.4.5 Métodos.	54
3.4.6 Toma de muestras.	54
3.4.7 Control analítico.	55
3.4.8 Tratamiento de informe de resultado de análisis.	59
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico.	61
4.1 Investigación bibliográfica.	61
4.2 Investigación de campo.	61
Capitulo V	
5.0 Resultados.	
5.1 Diagrama general de causa y efecto que refleja la incidencia de las variables que influyen en la calidad de los resultados de un laboratorio de análisis microbiológico.	64
5.2 Instalaciones.	67
5.2.1 Diagrama de causa y efecto.	67
5.2.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	71
5.2.3 Análisis e interpretación de resultados.	86
5.3 Medios de cultivo.	92

5.3.1 Diagrama de causa y efecto.	92
5.3.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	95
5.3.3 Análisis e interpretación de resultados.	106
5.4 Cepas microbianas.	110
5.4.1 Diagrama de causa y efecto.	110
5.4.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	114
5.4.3 Análisis e interpretación de resultados.	122
5.5 Reactivos auxiliares.	127
5.5.1 Diagrama de causa y efecto.	127
5.5.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	130
5.6 Desinfectantes.	138
5.6.1 Diagrama de causa y efecto.	138
5.6.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	141
5.6.3 Análisis e interpretación de resultados.	153
5.7 Agua desmineralizada.	156
5.7.1 Diagrama de causa y efecto.	156
5.7.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	159
5.7.3 Análisis e interpretación de resultados.	169
5.8 Cristalería.	174
5.8.1 Diagrama de causa y efecto.	174
5.8.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	178
5.8.3 Análisis e interpretación de resultados.	191

5.9 Equipos.	195
5.9.1 Diagrama de causa y efecto.	195
5.9.2 Procedimiento específico y registros correspondientes.	198
5.9.3 Análisis e interpretación de resultados.	210
5.10 Personal.	214
5.10.1 Diagrama de causa y efecto.	214
5.10.2 Registro correspondiente.	217
5.11 Métodos.	219
5.11.1 Diagrama de causa y efecto.	219
5.12 Referencia cruzada entre la Norma ISO 9001:2000 e ISO/IEC 17025:2005.	222
Capítulo VI.	
6.0 Conclusiones.	228
Capítulo VII.	
7.0 Recomendaciones.	231
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Pág.
1. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de las variables que influyen en la calidad de los resultados de un laboratorio de análisis microbiológico.	64
2. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Instalaciones.	67
3. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Medios de cultivo.	92
4. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Cepas microbianas.	110
5. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Reactivos auxiliares.	127
6. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Desinfectantes.	138
7. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Agua desmineralizada.	156
8. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Cristalería.	174
9. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Materiales: Equipos.	195

- | | |
|--|-----|
| 10. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Personal. | 214 |
| 11. Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable Métodos. | 219 |

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1. Fotografías

RESUMEN

En un Laboratorio de Análisis Microbiológico de Control de Calidad, que consta de áreas específicamente diseñadas para la evaluación microbiológica a diversos productos: medicamentos, alimentos, aguas, desinfectantes, materias primas, productos naturales, etc., la calidad del resultado obtenido es determinante al momento de emitir el informe.

En todo proceso analítico, desde la toma de muestra hasta la emisión del resultado se encuentran variables implícitas que influyen directamente o no sobre el desarrollo del proceso, estas variables otorgan un valor agregado donde los resultados obtenidos pueden ser falso-positivos o falso-negativos.

Por lo tanto es de vital importancia identificar todas las posibles variables que puedan afectar los resultados obtenidos, y poder así evaluar su influencia sobre los mismos, por medio del control de calidad.

En el presente trabajo se evaluó por medio de diagramas de causa y efecto, las variables que influyen en la calidad de los resultados obtenidos en un Laboratorio de Análisis microbiológico, y a partir de estas variables principales se determinó cuáles son las variables secundarias implícitas que las afectan.

Consecutivamente se elaboraron procedimientos basados en los criterios de calidad propuestos en las normas destinadas al aseguramiento de calidad, para dar seguimiento normalizado a la evaluación de estas variables y por medio del monitoreo continuo registrado de manera específica se determinó el comportamiento y la posible influencia en la emisión de resultados.

Se realizó además una referencia cruzada entre las Normas ISO 9001:2000 e ISO/IEC 17025:2005 para determinar entorno al aseguramiento de calidad cuales puntos son convergentes y aquellos en que no, apoyarlos por medio de la fusión de las Normas puesta en la práctica.

Un laboratorio de Análisis Microbiológico debe contar con un Sistema de Aseguramiento de Calidad, el cual debe ser revisado periódicamente, con la finalidad de mejora continua. La documentación de los procedimientos y registros establecidos deben ser sometidos a actualizaciones posteriores conforme las normativas evolucionen, pero esté es un punto de partida para el aseguramiento de calidad por medio de la evaluación de las variables que influyen en la emisión de los resultados obtenidos.

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCIÓN

Un laboratorio de análisis microbiológico, requiere para su correcto funcionamiento de un adecuado control de calidad sobre todas las operaciones que realiza y etapas que componen dichas operaciones, las cuales deben establecerse de acuerdo al contexto de aseguramiento de calidad y así cumplir con los requisitos dictados por las normas establecidas. Su implementación, favorece la confiabilidad y reproducibilidad de las pruebas, asegura la calidad de los materiales, reactivos, medios de cultivos, cepas y equipos empleados, mejora la autoconfianza del personal, detecta fallas que pueden reflejarse en el informe de resultados y en general provee un entorno de excelencia en los aspectos del trabajo y ofrece un mejor servicio a los clientes.

Para fines de investigación, el presente trabajo pretendió como objetivo general, el aseguramiento de calidad conforme a normativas vigentes y aplicables a los resultados obtenidos en un laboratorio de análisis microbiológico, por medio de la identificación de las variables que pueden influir en la objetividad de los resultados obtenidos en el desarrollo del proceso analítico, la puesta en marcha de procedimientos establecidos y documentados que comprendan la vigilancia continua y evaluación de dichos resultados, cumpliendo así con los requisitos dictados por las normas establecidas.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Asegurar la calidad conforme a normativas vigentes y aplicables a los resultados obtenidos en un laboratorio de análisis microbiológico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

2.2.1 Identificar las variables que influyen en la calidad de los resultados de un laboratorio de análisis microbiológico.

2.2.2 Determinar de acuerdo al efecto producido los factores que influyen en las variables descritas.

2.2.3 Elaborar un procedimiento para la aplicación de control de calidad para cada una de las variables identificadas.

2.2.4 Establecer un monitoreo continuo para medir la efectividad del procedimiento propuesto.

2.2.5 Elaborar una referencia cruzada entre los puntos divergentes y convergentes de las normas establecidas conforme al aseguramiento de calidad.

CAPITULO III
MARCO TEÓRICO

3. MARCO TEÓRICO

3.1 CALIDAD TOTAL

La calidad total es el estadio más evolucionado dentro de las sucesivas transformaciones que ha sufrido el término de calidad a lo largo del tiempo, y es ahora, que incluye todas las etapas de su evolución: gestión de calidad, aseguramiento de calidad, relacionado íntimamente a los conceptos de mejora continua.

La filosofía de la calidad total proporciona una concepción global que fomenta la mejora continua en la organización y la involucración de todos sus miembros, centrándose en la satisfacción del cliente. Esta filosofía nos ayuda a comprender de donde proviene la necesidad de ofrecer una mayor calidad del servicio que se proporciona al cliente y en definitiva a la sociedad. La calidad no se ha convertido únicamente en uno de los requisitos esenciales del producto, sino que en la actualidad es un actor estratégico clave del que dependen la mayor parte de las organizaciones, no solo para mantener su posición en el mercado sino incluso para asegurar su supervivencia.⁽²⁾

El aseguramiento de la calidad, se puede definir como el esfuerzo total para planificar, organizar, dirigir y controlar la calidad en un sistema, con el objetivo de brindar la calidad adecuada. Aunque un plan de aseguramiento de calidad puede ayudar a llenar estas expectativas, es sólo un medio que respalda los objetivos fijados por la empresa. El cual debe ser revisado y actualizado

regularmente para estar seguro de que se están logrando mejoras valiosas y económicamente viables.

Un plan de aseguramiento de calidad, por sí mismo, no conduce automáticamente a mejorar los procesos de trabajo o la calidad del producto, no resuelve todos los problemas, por lo que se debe dar un enfoque más sistemático a la empresa. No es conveniente que los sistemas de calidad resulten en burocracia excesiva, papeleo o falta de flexibilidad y es conveniente hacer cambios y adiciones sólo si son necesarios para cumplir los requisitos de la norma o ayudan de alguna manera a la empresa. (22)

3.2 NORMAS ISO

El aseguramiento de la calidad nace de la evolución natural del control de calidad, haciéndose necesario crear sistemas de calidad que incorporasen la prevención y sirvieran para anticipar los errores antes que se produjeran.

Con el fin de estandarizar los sistemas de calidad de distintas empresas y sectores; con algunos antecedentes en el ámbito nuclear y militar, en 1987 Ginebra, la Organización Internacional de Normalización (ISO), publica las Normas ISO 9000, un conjunto de normas editadas y revisadas periódicamente sobre el aseguramiento de los procesos. De este modo se consolida a nivel internacional el marco normativo de la gestión y control de calidad.

Las normas son un modelo, patrón, ejemplo o criterio a seguir; y se pueden definir como una fórmula que tiene valor de regla y tiene por finalidad definir las

Características que debe poseer un objeto y los productos que han de tener una compatibilidad para ser usados a nivel internacional.⁽¹⁴⁾

La finalidad principal de las normas ISO es orientar, coordinar, simplificar y unificar los usos para conseguir menores costos y efectividad, con valor indicativo y de guía. Actualmente su uso se va extendiendo y hay un gran interés en seguir las normas existentes porque desde el punto de vista económico reduce costos, tiempo y trabajo.

Estas normas aportan las reglas básicas para desarrollar un sistema de calidad siendo totalmente independientes al fin de la empresa, producto o servicio que se proporcione. Son aceptadas en todo el mundo como un lenguaje común que garantiza la calidad continua de todo aquello que una organización ofrece.⁽⁸⁾

3.2.1 NORMA ISO 17025:2005

La norma internacional ISO/IEC 17025:2005, está basada fundamentalmente en los requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo, en donde fija los parámetros a seguir para el aseguramiento de la calidad de los resultados de los mismos, en la que estipula que un laboratorio de control de calidad debe monitorear la validez de los ensayos y calibraciones que se realizan.⁽¹²⁾

La norma ISO 17025 también indica la disposición de procedimientos que describan la realización de las actividades que exige la norma de calidad: procedimientos de ensayo y calibración, procedimientos de evaluación de la calidad, de protección de datos, de control de documentación, de revisión de

solicitudes, ofertas y contratos, de gestión de las reclamaciones, de formación de personal, de validación de métodos, de cálculo de incertidumbre, etc.

3.2.2 NORMA ISO 9001: 2000 SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

La norma ISO 9001 señala los requisitos para un sistema de gestión de la calidad que pueden ser utilizados por una organización para aumentar la satisfacción de sus clientes al satisfacer los requisitos establecidos por él y por las disposiciones legales obligatorias que sean aplicables. Asimismo, puede ser utilizada para evaluar la capacidad de la organización para satisfacer los requisitos del cliente y los de la propia organización.

La Norma ISO 9001:2000, estructurada en puntos claramente diferenciados para facilitar la comprensión y cumplimiento de sus requisitos, abarca las principales áreas de la organización y es compatible con otros sistemas de gestión. La norma promueve la aplicación de un sistema basado en procesos dentro de la organización e introduce el concepto de mejora continua para estimular su eficacia, incrementar su ventaja competitiva en el mercado y responder a las expectativas de sus clientes.

3.3 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

Constituyen un conjunto de reglas, de procedimientos operacionales y prácticas establecidas por organismos como la (Organization for Economic Cooperation and Development (OCDE), o la Food and Drug Administration (FDA), etc.), que se consideran de obligado cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en determinados tipos de investigaciones o estudios.

Entre los principios fundamentales que incluyen las BPL se encuentran:

1. Facilidades Adecuadas. Se debe contar con suficientes salas, para que el personal trabaje sin limitaciones de espacio. El propósito y el tipo de producto a analizar deben ser considerados en el diseño de un laboratorio.
2. Personal Cualificado. Es importante contar con personal cualificado.
3. Equipamientos Mantenidos y Calibrados. Emplear equipos mantenidos y calibrados de manera apropiada.
4. Procedimientos Estándares de Operación (SSOP's). Procedimientos operacionales estándares escritos. Ellos aseguran que cada uno obedezca al único procedimiento al mismo tiempo, basándose en la filosofía de "sólo lo que está escrito existe".

Uno de los conceptos más importantes en las BPLs lo constituye la verificación rutinaria realizada por una persona cualificada e independiente, y de esta manera comprobar procedimientos y resultados, asegurar que el manejo del trabajo está siendo conducido apropiadamente, asegurar que los resultados obtenidos son fiables.

Las BPLs, controlan las condiciones operacionales dentro de un establecimiento tendiendo a facilitar la realización de las operaciones que se realizan. Un adecuado programa de BPLs incluirá procedimientos relativos a manejo de las instalaciones, recepción y almacenamiento, mantenimiento de

equipos, entrenamiento e higiene de personal, limpieza y desinfección, control de plagas, etc.

Los Procedimientos Operativos Estándar de saneamiento SSOP's es parte integrante de las BPLs y debe contener los siguientes elementos: procedimientos de limpieza y desinfección a seguir antes, durante y después de las operaciones, frecuencia para la ejecución de cada procedimiento e identificación del responsable de dirigirlo, vigilancia diaria de la ejecución de los procedimientos, evaluación de la efectividad de los SSOP's y sus procedimientos en la prevención de la contaminación y toma de acciones correctivas cuando se determina que los procedimientos no logran prevenir la contaminación.

Los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) se definen, según los principios de BPL, como los procedimientos escritos que describen como realizar ensayos de rutina del laboratorio u otras actividades normalmente no detalladas en el estudio.

Sobre los Procedimientos Normalizados de Trabajo, los principios de BPL especifican, que todo laboratorio debe contar con procedimientos normalizados de trabajo escritos, evaluados, revisados y aprobados, utilizando como complemento libros de texto, métodos analíticos, artículos y manuales publicados, dirigidos a garantizar la calidad e integridad de los datos obtenidos por el laboratorio.

Deberán estar disponibles procedimientos normalizados de trabajo para actividades del laboratorio como: recepción, identificación, etiquetado, manipulación, muestreo y almacenamiento de productos de ensayo y materiales de referencia; uso, mantenimiento, limpieza y calibración de aparatos, materiales y reactivos; preparación y etiquetado de materiales, reactivos y soluciones, procedimientos de garantía de calidad, etc.

3.4 REQUERIMIENTOS PARA UN LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El laboratorio destinado al análisis microbiológico debe contar con las condiciones necesarias para llevar a cabo dicha actividad con éxito y obtener resultados confiables, asegurando que no estén influenciados por factores adversos. Es necesario considerar que se debe establecer un programa de aseguramiento de calidad que permita identificar estos factores y actuar preferiblemente en forma preventiva más que correctiva.

A partir de ello, a continuación se describe brevemente los factores involucrados en la realización del proceso de analítico.

3.4.1 INSTALACIONES

El diseño estructural de un laboratorio microbiológico debe ser el apropiado para facilitar las tareas de limpieza, tráfico de personal y eficiencia en los procedimientos, establecido en un sistema cerrado, distribuido en espacio suficiente para evitar confusiones y contaminación cruzada.

Es preciso ayudar al mantenimiento del ambiente requerido mediante la instalación de las esclusas necesarias para el acceso del personal, teniendo absolutamente clausuradas las ventanas, limitando así la entrada de contaminación grosera como fina.

Otro factor importante a considerar es la adopción de precauciones que impidan el trasiego de personal directamente del exterior del laboratorio al interior se haga en forma indirecta, para ir perdiendo contaminación durante los sucesivos pasos por diferentes zonas, así también el adecuado uso de la indumentaria requerida para este departamento, la cual debe consistir en: gabacha, gorro, mascarilla, guantes, zapateras y cuyo uso debe ser destinado estrictamente al laboratorio microbiológico.

3.4.1.1 Calidad de los materiales de construcción

Los materiales que constituyen las paredes, suelos y techos del laboratorio deben ser en forma general lisos, lavables y no deben desprender partículas, de forma que permita una fácil limpieza y sanitización.

Es preciso aplicar sobre las paredes pinturas lavables de plástico sin poros, compuestos epoxicos a base de poliamidas, clorocaucho, etc.

Los suelos deben ser de material poco atacable por reactivos y estos resultados se obtienen con pavimentos continuos de cemento recubiertos de resinas epoxicas. En todos los ángulos, para evitar la acumulación de suciedad, se debe redondear las esquinas entre pared con pared, pared con suelo y pared con techo.

Los techos deben ser lisos, con pintura antihumedad, también se recomienda la utilización de resinas epoxicas.

3.4.1.2 Mobiliario

El mobiliario debe ser construido por materiales de calidad y espesor que garanticen su solidez, utilizando materiales metálicos, los cuales deben ser lisos, continuos, sin juntas y fácilmente sanitizables.

3.4.1.3 Ventilación y control de temperatura

Las condiciones de trabajo deben mantenerse generando una atmósfera de confort, para lo cual la ventilación proporcionada con aire filtrado y/o acondicionado, contribuye a mantener estable la temperatura dentro del laboratorio, lo que permite controlar la humedad relativa y evitar cambios apreciables en el funcionamiento del instrumental y reactivos.⁽¹¹⁾

3.4.1.4 Iluminación

El laboratorio debe estar iluminado, disponiendo de cristales herméticamente cerrados, auxiliándose de iluminación artificial, por medio de lámparas empotradas en el techo, considerando las condiciones básicas de funcionalidad, asepsia y remodelación.

3.4.1.5 Limpieza, sanitización y decontaminación

Cotidianamente la realización de este procedimiento por sencillo que parezca es crítico para mantener las condiciones ambientales controladas. Diariamente, las superficies de trabajo deben ser limpiadas y sanitizadas con agentes que tengan amplio espectro de acción antimicrobiana, los cuales deben ser rotados

periódicamente. Este procedimiento contribuye al proceso de descontaminación preparando las condiciones para permitir que los agentes utilizados se adhieran a las superficies, logrando un efecto drástico de eliminación microbiana ambiental. (19)

3.4.2 MATERIALES

Son muchos los materiales usados por el laboratorio en la realización del ensayo, pero cada uno requiere de la verificación específica en el aseguramiento de calidad.

3.4.2.1 MEDIOS DE CULTIVO

En la adquisición de medios de cultivo deshidratados o preparados es necesario comprobar y registrar al fabricante, nombre del producto, fecha de recepción, cantidad, número de lote y fecha de caducidad.

La regulación y mantenimiento de las condiciones ambientales, establecen una atmósfera de confort, que en el caso de materiales sensibles a variabilidad de las mismas, pueden sufrir alteración de sus características y propiedades, tal es el caso de los medios de cultivo deshidratados que requieren consideraciones especiales en la preparación, uso y almacenamiento.(18) .

El almacenamiento de los medios de cultivo deshidratados debe realizarse de acuerdo a las instrucciones del fabricante, de caso contrario se almacenaran a temperatura ambiente en un lugar seco y protegido de la luz.

Los medios de cultivo preparados para su uso se conservaran en refrigeración: 2 a 8 °C. El tiempo de almacenamiento debe validarse por el laboratorio.

Los medios de cultivo esterilizados deben fundirse solo una vez, y mantener: 45 a 50 °C durante 8 horas como máximo, antes de su uso.

Los procedimientos tanto en la preparación, almacenamiento y uso de los mismos debe ser documentados y especificar los controles rutinarios que debe realizarse.⁽⁴⁾ En el proceso de preparación debe registrarse como mínimo: fecha de preparación, nombre medio de cultivo, cantidad de polvo deshidratado, volumen de agua, número y volumen e recipientes preparados, condiciones de esterilización en el autoclave.

El pH de los medios de cultivo, enfriados a temperatura ambiente se medirá en un potenciómetro calibrado; el control de pH debe realizarse antes del proceso de esterilización, ajustando con HCl 1N o NaOH 1N.

La esterilización debe realizarse en una máximo de tiempo de 4 horas desde el proceso de preparación. El autoclave no debe sobrecargarse, y no cerrar completamente los tapones de rosca, y después del proceso de esterilización se cerraran lo más rápido posible.

3.4.2.1.1 Control de calidad de medios de cultivo

El control de esterilidad debe realizarse antes del almacenamiento del lote esterilizado y hasta ser aprobado será utilizado, de lo contrario será rechazado.

La recuperación cuantitativa de microorganismos en los medios de cultivo debe ser comprobada para cada nuevo lote preparado, cuyo recuento o NMP debe ser al menos 66%.

3.4.2.1.2 Fallas y causas en la preparación de medios de cultivo

3.4.2.1.2.1 Valor de pH incorrecto

- Medir el pH por encima de los 25 °C.
- Sobrecalentamiento en la esterilización, vuelta a fundir o calentamiento prolongado a 50 °C.
- Solución incompleta del medio.
- Mala calidad del agua: pH no neutro.
- Recipiente mal lavado o con residuos químicos.
- Mala conservación del medio deshidratado o vencido.

3.4.2.1.2.2 Turbidez o precipitación

- Mala calidad del agua: Insuficientemente desionizada.
- Sobrecalentamiento durante su preparación.
- pH incorrecto.
- Solución incompleta.
- Recipientes insuficientemente limpios

3.4.2.1.2.3 Desviación del color

- Sobrecalentamiento durante su preparación.
- Solución incompleta.
- Alteración del pH.
- Recipientes insuficientemente limpios

3.4.2.1.2.4 Gel blando

- Bajo porcentaje de agar en el medio.
- Errores en la pesada del medio deshidratado o en los suplementos.
- Sobrecaentamiento durante la preparación.
- Mala homogenización del medio.
- Exceso de agua.

3.4.2.1.2.5 Crecimiento bacteriano pobre

- Exceso de calentamiento durante la preparación.
- Sustancias inhibidoras en el agua o en el recipiente.
- Alteración en el pH.
- Presencia de sustancias inhibidoras del crecimiento en los recipientes o agua utilizada en la preparación.

3.4.2.1.2.6 Crecimiento bacteriano intenso

- Exceso de calentamiento durante la preparación, con la consiguiente destrucción de sustancias inhibidoras selectivas.
- Alteración en el pH.

3.4.2.1.2.7 Crecimiento atípico

- Medio de cultivo erróneo o defectuosamente preparado
- El medio de cultivo ha expirado

3.4.2.1.2.8 Colonias incorrectas o desleídas

- Superficie del medio de cultivo demasiado humedad
- Sobrecaentamiento durante su preparación

3.4.2.1.2.9 Apelmazamiento de los medios de cultivo desecados

- Conservación en atmósfera excesivamente humedad
- El envase ha permanecido abierto demasiado tiempo
- El envase no quedo suficientemente cerrado después de su uso
- El medio de cultivo ha expirado

3.4.2.2 CEPAS MICROBIANAS

Todo laboratorio de análisis microbiológico debe contar con cepas de referencia que pueden ser utilizadas como control en una gran variedad de utilidades. Existen colecciones internacionales de cepas microbianas a las cuales se puede tener acceso, alternativamente pueden utilizarse otro tipo de cepas siempre y cuando se pueda comprobar que sus propiedades y características son equivalentes. Es necesario que el laboratorio cuente con un programa de conservación y mantenimiento de las cepas, y sacar provecho a la vida útil de las mismas.

3.4.2.2.1 Conservación de Cepas Bacterianas

Los métodos de conservación de las cepas estándar de control de calidad, deben asegurar que las mismas mantengan sus características típicas aun después de ser reproducidas.⁽¹⁷⁾

3.4.2.2.2 Mantenimiento del Cepario

Se debe tener especial cuidado en el mantenimiento del cepario, ya que el mismo constituye una ayuda importante en la validación de equipos, materiales,

reactivos y habilidad del personal. Debe existir un programa metódico de trasplantes de cepas, estableciendo un archivo de cada uno de los subcultivos. Las cepas se subcultivaran una vez, en la que se prepararan varios viales que se almacenaran hasta su uso, para evitar que se produzcan modificaciones.

3.4.2.2.1 Cultivos Stock

Estos representan el verdadero " Banco de Cultivos". Estos son mantenidos en un sistema cerrado de conservación, minimizando su actividad genética y fisiológica, para evitar su potencial mutación.

3.4.2.2.2 Cultivos Semistock

Este término se refiere al mantenimiento de cultivos por un periodo intermedio entre el relativamente permanente cultivo en Stock y el cultivo de cepas control para el trabajo diario.

3.4.2.2.3 Cultivos de trabajo diario

Los cultivos control para el trabajo diario, son una forma conveniente para realizar el control de calidad de pruebas de uso frecuente y que requieren una lectura comparativa al momento de su lectura.

3.4.2.2.2 Pruebas bioquímicas

3.4.2.2.2.1 prueba de catalasa

Se utiliza para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo.

Debe considerarse si se utilizan para esta prueba cultivos procedentes de agar sangre, tener la precaución de no remover restos de agar con el asa al retirar la colonia ya que los eritrocitos del medio contienen catalasa y su presencia dará un falso resultado positivo.

3.4.2.2.1.1 Método del portaobjetos:

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 18-24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio de vidrio.
- Agregar con gotero o pipeta Pasteur una gota de H_2O_2 al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.
- Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).
- Desechar el portaobjetos en un recipiente con desinfectante.
- Si se invierte el orden del método (extender la colonia sobre el agua oxigenada) pueden producirse falsos positivos.

3.4.2.2.2 Prueba del citrato

Esta prueba sirve para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del medio

Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons. Este medio contiene citrato de sodio y fosfato de amonio como fuentes de carbono y de nitrógeno respectivamente y azul de bromotimol como indicador de pH. Sólo las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y liberarán iones amonio lo que, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una

fuerte basificación del medio que será aparente por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul.

3.4.2.2.3 Prueba de Fenilalanina Desaminasa

Esta prueba determina la capacidad de un organismo para desaminar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico por su actividad enzimática de fenilalanina desaminasa, con la consiguiente acidez resultante.

Se cultiva el microorganismo en agar fenilalanina sembrando la superficie del agar con abundante inóculo e incubando durante 12-16 horas. Seguidamente se añade 0,2ml de una solución de cloruro férrico al 10% de manera que inunde todo el crecimiento. La presencia de ácido fenilpirúvico (prueba positiva) se manifiesta por la aparición de un color característico verde oscuro o verde-azulado.

3.4.2.2.4 Prueba de Indol

Mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano. Dicha liberación se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante el enzima triptofanasa. Para la realización de esta prueba la bacteria se cultiva durante 24-48 horas en un caldo de triptona con NaCl al 0,5% (la triptona presenta abundante triptófano). Para la posterior detección del indol se usa el reactivo de Kovacs que se puede preparar con los siguientes ingredientes:

- Alcohol amílico o isoamílico (puede sustituirse por alc.butílico).....150ml
- p-dimetilamino-benzaldehído.....10g
- HCl (concentrado).....50ml

Se disuelve primero el aldehído en el alcohol y después se agrega lentamente a esta mezcla el ácido. Para el control de calidad del reactivo se pueden utilizar cultivos conocidos. Las más convenientes son *Escherichia coli* (indol+) y todas las especies de *Klebsiella* (indol-). Si la bacteria posee la enzima triptofanasa, al añadir al medio 5 gotas del reactivo de Kovacs, se producirá un anillo de color rojo en la superficie del caldo y la prueba será considerada positiva. Si esto ocurre después de 24 horas, la prueba se considera completa, pero si es negativo deberá incubarse otras 24 horas y repetirse la prueba. Por ello es conveniente hacer siempre la prueba no en el tubo incubado sino en una porción de unos 2ml que se retira de él asépticamente.

3.4.2.2.5 Prueba de la Lactosa

Esta prueba se usa para diferenciar entre las enterobacterias en general y el grupo de las coliformes. Se trata por tanto de una prueba de gran importancia debido a que los coliformes se utilizan como organismos indicadores de contaminación fecal en análisis. Una manera sencilla de realizar la prueba de la fermentación de la lactosa en enterobacterias es sembrar el microorganismo en agar McConkey, ya que este medio, además de selectivo frente a bacterias no entéricas, es diferencial ya que contiene lactosa y un indicador de pH (rojo neutro). En agar McConkey las bacterias Gram positivas ven inhibido su crecimiento debido a la presencia de sales biliares y cristal violeta y sólo crecerán las enterobacterias, pero entre ellas las que fermenten la lactosa (coliformes) liberarán productos ácidos que producirán un cambio de pH que se

detectará gracias al rojo neutro. Las colonias lactosa (+) aparecerán de color rojo o violeta contrastando con la coloración amarillenta de las colonias lactosa (-).

3.4.2.2.6 Prueba de Manitol

Sirve para detectar si los gérmenes son capaces de fermentar el manitol liberando productos ácidos que serán detectados gracias al indicador rojo de fenol que cambiará a color amarillo. Para esta prueba el medio manitol movilidad incluye 7,5 g/l de D-Manita.

3.4.2.2.7 Prueba de la movilidad

Sirve para determinar si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos que se encuentran principalmente entre los bacilos aunque existen algunas formas de cocos móviles. El medio manitol movilidad permite la realización de esta prueba gracias a ser semisólido ya que presenta solamente 3,5 g/l de agar. En estas condiciones, las bacterias móviles producirán un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria de los microorganismos. Por el contrario, las bacterias inmóviles permanecerán en la misma línea de la picadura en que se sembraron.

3.4.2.2.8 Prueba de la reducción de nitratos

Sirve para determinar la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitritos. Para ello, el medio manitol movilidad incorpora 1 g/l de potasio nitrato y para revelar la presencia de nitritos después de su incubación se añaden los reactivos A y B de Griess-Ilosvay en cantidades iguales (1ml aprox.). Un cambio

de color (rojo) dentro de los 30 seg. indica prueba completa con resultado positivo. Si no cambia de color, se agrega directamente al tubo aproximadamente 20 mg de polvo de cinc puro, totalmente exento de nitratos o nitritos, y se observa el cambio de color durante otros 30 seg., al cabo de los cuales se realiza la interpretación final.

3.4.2.2.9 Prueba de la Oxidasa

Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo que es reducido por el oxígeno molecular que produce agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. Por tanto la presencia de oxidasa va ligada a la producción de catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica. El oxígeno actúa por tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones.

3.4.2.2.9.1 Método indirecto sobre papel

- Colocar un trozo de papel de filtro de 3 x 3 cm aproximadamente en una placa de Petri.
- Agregar 2-3 gotas del reactivo de Kovacs en el centro del papel.
- Extender con el asa de siembra una colonia sobre el papel impregnado.
- La reacción de color positiva se produce a los 5-10 segundos.

3.4.2.2.10 Prueba de Rojo de metilo/ Voges-Proskauer

Estas dos pruebas forman parte del IMVIC de las colorimetrías y permiten la diferenciación dentro de las enterobacterias del grupo *coli* y *aerógenes*. Las enterobacterias son anaerobios facultativos que utilizarán la glucosa en dos fases: primero la metabolizarán aerobiamente (respiración oxibiótica) consumiendo rápidamente el oxígeno del medio, para, en segundo lugar, continuar metabolizándola por vía anaerobia (fermentación).

Para la realización de estas dos pruebas se cultiva el microorganismo en caldo RMVP y se incuba a 30°C durante un periodo de 3 días como mínimo y 5 como máximo. Al revelar las pruebas, se separa el cultivo en dos porciones de unos 2,5 ml que servirán para cada uno de los ensayos.

Rojo de Metilo: A uno de los tubos se le añade unas gotas (4-5) de solución indicadora de Rojo de Metilo. Se agita para homogeneizar y se observa la coloración. Se considera positiva si vira al rojo y negativa si permanece amarillo.

Voges-Proskauer: A la otra porción de cultivo se le añade:

- 0,6ml del Reactivo A de Voges-Proskauer (alfa-naftol 5% en etílico absoluto). El medio adquiere un aspecto lechoso.
- 0,2ml del Reactivo B de Voges-Proskauer (KOH 40%). Desaparece el aspecto lechoso y se agita fuertemente.

Si la prueba es positiva, antes de cinco minutos aparece un color rosado-violáceo, más o menos intenso, que se inicia en la parte superior del tubo. Si la prueba es negativa no aparece coloración alguna.

3.4.2.2.11 Prueba de la Ureasa

Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por acción del enzima ureasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado.

Se cultiva el microorganismo en agar urea de Christensen. Este medio se complementa después del autoclavado con 50ml/l de urea. Ésta será degradada por aquellos microorganismos capaces de producir el enzima ureasa. Esta degradación produce amoníaco que hará variar el color del indicador de amarillo a rojo, poniéndose así de manifiesto la actividad ureasa. Para revelar el resultado de esta prueba es importante tener en cuenta el tiempo de incubación ya que especies de *Proteus* vuelven alcalino el medio poco después de la inoculación y sus resultados deben ser leídos en las primeras 2-6 horas, mientras que *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* tienen actividad ureasa dentro de las 24-48 horas de incubación.

3.4.2.3 REACTIVOS

Un elemento fundamental en el trabajo diario del laboratorio, lo constituyen los reactivos, que deben ser de la mejor calidad posible, y con un porcentaje

controlado y declarado de impurezas. Debe llevarse un fichero de exigencias para la adquisición adecuada de estos reactivos y cuidar las condiciones de almacenamiento de los mismos según indicaciones de las etiquetas, que debe incluir fecha de preparación, caducidad y condiciones de almacenamiento.

Los reactivos que son utilizados en la caracterización de microorganismos por medio de reacciones bioquímicas merecen una especial atención, ya que toda falla en su funcionamiento puede generar identificaciones equivocadas. Por ello, se recomienda correr controles periódicos con las bacterias tipo y seguir estrictamente las indicaciones en cuanto almacenamiento de los reactivos, metodología de la prueba y tiempo de lectura. ⁽¹⁰⁾

3.4.2.3.1 Reactivos generales sin preparar

Son aquellos reactivos o sustancias tal cual se reciben del proveedor. En algunos casos se utilizan directamente, en su mismo estado y concentración, o se diluirán o disolverán posteriormente.

Deben ser de la mejor calidad posible, y con un porcentaje controlado y declarado de impurezas. Debe llevarse un fichero de exigencias para la reposición adecuada de estos reactivos y se cuidaran las condiciones de almacenamiento de los mismos según indicaciones de las etiquetas, que debe incluir fecha de caducidad e identificación del reactivo.

3.4.2.3.2 Productos de referencia (Estándares)

Son aquellas sustancias utilizadas para métodos de análisis relativos, que sirven como patrones estándar para referencia. Es de vital importancia que

sean de una gran calidad, que tengan pureza conocida, tanto cualitativa como cuantitativamente. La etiqueta del proveedor deberá indicar estos datos, fecha de preparación, caducidad y condiciones de almacenamiento.

3.4.2.3.3 Reactivos preparados en el laboratorio

Son los reactivos de más cuidadoso manejo y preparación, deben ser comprobados, conservados y etiquetados con arreglo a una norma estricta, generalmente la farmacopea.

En cualquier caso, es absolutamente necesario realizar una revisión periódica de estos reactivos, para la retirada de aquellos que hayan caducado; los de preparación extemporánea deben eliminarse inmediatamente después de ser usados.

3.4.2.4 DESINFECTANTES

No hay que olvidar la importancia de los desinfectantes, en cuanto a su actividad antimicrobiana, por lo cual se convierten en una herramienta necesaria en el laboratorio de microbiología. Se debe contar con más de un tipo de desinfectante, para poder rotarlo periódicamente y evitar la resistencia microbiana, optando preferiblemente por aquellos en los que difiera su mecanismo de acción. ⁽⁶⁾

3.4.2.4.1 Características que deben poseer los desinfectantes

3.4.2.4.1.1 Actividad antimicrobiana

La sustancia química deberá tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana aún a bajas concentraciones.

3.4.2.4.1.2 Solubilidad

Debe ser soluble en agua y otros disolventes, en la medida necesaria para que su uso sea eficaz.

3.4.2.4.1.3 Estabilidad

Los cambios de estabilidad de la sustancia deberán ser mínimos y no afectar considerablemente la acción germicida.

3.4.2.4.1.4 Atoxico

Debe ser letal para los microorganismos pero no dañar al manipulador.

3.4.2.4.1.5 Homogeneidad

La preparación deberá ser uniforme en su composición de manera que el o los ingredientes activos se encuentren en cada aplicación.

3.4.2.4.1.6 No debe reaccionar con material orgánico extraño

Pues al reaccionar con material orgánico la poca concentración que quede en la superficie no será suficiente para lograr el efecto deseado, además se formará una película sobre la superficie en la que se ha aplicado el desinfectante lo que aumentará la humedad de la zona y con ello la proliferación de los microorganismos.

3.4.2.4.1.7 Tóxico para los microorganismos a la temperatura ambiente

Para usar el compuesto o preparado no debe ser necesario elevar la temperatura existente de la habitación en la cual se aplicará.

3.4.2.4.1.8 Capacidad de penetración

La acción se limita al sitio de aplicación.

3.4.2.4.1.9 No corroer ni teñir la superficie en donde se ha aplicado

No debe producir hollín u otras alteraciones en los metales, teñir o dañar telas.

3.4.2.4.1.10 Propiedad desodorante

De preferencia deberá tener un olor agradable pero de lo contrario debe ser inodoro.

3.4.2.4.1.11 Capacidad detergente

Un desinfectante que a la vez sea detergente (agente limpiador) logrará dos objetivos, pues la acción limpiadora aumentará la eficacia del desinfectante.

3.4.2.4.2 Factores a considerar en la selección de un agente químico antimicrobiano

3.4.2.4.2.1 Naturaleza del material que será tratado

La sustancia debe ser compatible con el material sobre el que se aplicará.

3.4.2.4.2.2 Tipo de microorganismos

Se debe conocer el tipo de microorganismos contra el cual el desinfectante empleado es eficaz con lo que se asegura que se erradicará la bacteria, hongo o virus deseado.

3.4.2.4.2.3 Condiciones ambientales

Se debe tomar en cuenta factores ambientales como temperatura y humedad en el lugar donde se aplicará el desinfectante.

3.4.2.4.3 Clasificación de los desinfectantes

- Compuestos fenólicos
- Alcoholes

- Halógenos
- Ácidos y álcalis
- Metales pesados
- Agentes aniónicos (jabones)
- Agentes catiónicos (detergentes)
- Agentes no iónicos
- Agentes anfóteros

3.4.2.4.4 Mecanismos de acción de los desinfectantes

3.4.2.4.4.1 Agentes que lesionan la membrana celular

La integridad estructural de la membrana depende de la ordenada posición de las proteínas y lípidos que la componen.

La exposición de la bacteria a solventes y detergentes orgánicos da como resultado una desorganización estructural de la membrana e interferencia con la función normal. El efecto neto es la liberación de pequeños metabolitos desde la célula y la interferencia en el transporte activo y el metabolismo energético.

3.4.2.4.4.2 Agentes que desnaturalizan las proteínas

Las proteínas son las moléculas orgánicas más abundantes en una célula bacteriana y son fundamentales para todos los aspectos de la estructura y la función de la célula.

Provocan un desdoblamiento de la cadena polipeptídica de forma tal que las cadenas aparecen enrolladas al azar y en forma irregular.

3.4.2.4.3 Remoción de los grupos sulfídrilos

Los grupos sulfídrilos deben estar libres, al removerse deja la célula de funcionar.

3.4.2.4.4 Antagonismo químico

La célula bacteriana tiene afinidad por sustratos naturales que la nutren, si el químico se asemeja a estos sustratos se da un engaño atrayendo a la sustancia química e interfiriendo con la función de la célula.

3.4.2.5 AGUA DESMINERALIZADA

Es la materia prima básica que constituye el principal factor de control en la preparación de diluentes, medios de cultivo y reactivos, por lo que requiere del exhaustivo control fisicoquímico y microbiológico.

La calidad de agua desionizada obtenida debe comprobarse periódicamente mediante la verificación de conductividad cuyo valor recomendado es de 1 o 0.1 $\mu\text{S cm}^{-1}$ en caso contrario, se debe cambiar o regenerar las resinas intercambiadoras de iones del desionizador.

La conductividad debe ser medida, inmediatamente después de la producción de agua, ya que la exposición al aire y la absorción de dióxido de carbono produce un aumento de 0.5 a 5 μS en 15 minutos.

El pH debe ser de 6.0 a 8.0. Si el pH del agua es inferior a 5.5, se debe ebullición para eliminar el CO_2 y comprobar nuevamente el pH.

El agua desionizada y destilada se debe almacenar en recipientes de fibra de vidrio o resina epoxicas, protegido del polvo, vapores y soluciones de limpieza.

3.4.2.5.1 Idoneidad biológica del agua.

Se preparan cultivos de *Enterobacter aerogenes* en dos caldos de cultivo, uno de ellos se prepara con en agua a analizar y el otro con agua destilada de calidad para uso farmacéutico en inyección. Una diferencia superior a un 15 o 20% entre los recuentos después de 24 horas de incubación es prueba de toxicidad del agua.

El criterio de aceptación en la prueba de recuento microbiano está ligado a la experiencia de trabajo del laboratorio y debe ser fijado de acuerdo a los requerimientos de calidad; si bien, el agua es la materia prima fundamental empleada en el tratamiento y/o preparación de los insumos utilizados en el laboratorio de análisis microbiológico que están sujetos a posterior esterilización, debe requerir un nivel permisible de calidad inicial.

3.4.2.6 CRISTALERÍA

Constituye el insumo inicial en el proceso de análisis, y es un factor determinante que puede influir directamente a inconformidades en el desarrollo del mismo, por lo que su evaluación se vuelve indispensable.

El material de elección es el borosilicato resistente al calor, libre de imperfecciones, el cual debe mantenerse limpio, sin residuos. Todo material dañado debe ser retirado del uso en el laboratorio: pipetas con punta quebrada, placas petri rajadas, material de plástico rayado, etc.

Las pipetas utilizadas en microbiología son de tipo vertido o terminales, colocando un tapón de algodón en la parte superior se evita la contaminación cruzada al utilizar equipo de aspiración.

Las puntas de las pipetas automáticas no están graduada y el volumen de vertido depende del tipo de pipeta, por lo que se debe verificar periódicamente: pesando en balanza analítica calibrada, varias veces el volumen vertido por la pipeta utilizando agua a 20 °C.

La pipeta automática debe limpiarse periódicamente o cada vez que el líquido con hisopo de algodón impregnado con etanol al 70%

El lavado de cristalería debe realizarse con detergente a 70 °C, enjuagado abundante con agua limpia a 80 °C y enjuague final con agua desionizada, escurrido y secado en horno a 80-90 °C en posición invertida. No debe utilizarse mezcla crómica para remover residuos. El material nuevo debe sumergirse en agua destilada durante una noche antes de su utilización y comprobar pH final neutro.

El material de vidrio lavado debe estar brillante, libre de acidez o alcalinidad y residuos tóxicos.

3.4.3 EQUIPOS

Todo buen laboratorio debe estar dotado con el equipo necesario para llevar a cabo los procedimientos de muestreo, medición y ensayo. Pero no basta tenerlo, sino asegurar que este funcionando de manera óptima, por lo que se

debe establecer procedimientos documentados de operación, mantenimiento y limpieza, redactados en forma clara y accesible al personal en todo momento.

Es necesario establecer un contrato con el proveedor con visitas periódicas y programadas, para llevar a cabo el mantenimiento preventivo y calibración externa cuando sea necesario.

Todo equipo debe ser evaluado por un programa de Control de Calidad en base a las instrucciones del proveedor y las regulaciones internas del laboratorio. Debe mantenerse un libro récord de todo lo realizado al respecto, con el nombre del instrumento, fecha, resultado y comentarios. ⁽¹⁷⁾

3.4.3.1 Programa de limpieza, mantenimiento y conservación

El instrumental debe someterse a los correspondientes procesos de limpieza, mantenimiento y conservación.

3.4.3.1.1 Limpieza

Cada aparato debe limpiarse según una norma adecuada y con una frecuencia determinada. El proveedor debe dar los datos sobre como hacer dicha limpieza y cuales piezas pueden ser desmontadas y montadas por personal interno capacitado del laboratorio, sin que se produzcan desajustes en el aparato. La frecuencia será determinada basándose en la utilización del instrumental. La casa distribuidora realizara la limpieza en profundidad. el procedimiento de limpieza debe estar descrito en el registro técnico correspondiente.

3.4.3.1.1 Mantenimiento y conservación

Todos los equipos de precisión utilizados en el control de calidad requieren un mantenimiento preventivo. Un programa de mantenimiento preventivo es esencial para asegurar la exactitud, longevidad del instrumento, y por lo tanto su utilización. El chequeo periódico recomendado es importante para minimizar el daño o la necesidad de servicio y reparación.

La mayoría de los instrumentos requieren para su mantenimiento un experto especializado, herramientas y medios de control necesarios para ello, por lo que es necesario establecer con el proveedor un contrato de mantenimiento, con visitas periódicas y programadas.

3.4.3.2 Manual Estándar de Procedimientos Operacionales

El Manual Estándar de Procedimientos Operacionales debe ser organizado, conteniendo un listado de los equipos debe incluir: nombre, marca, modelo, número de serie, fecha de recibo y número de inventario de la institución.

Los nuevos equipos requieren una inspección técnica especializada previa para garantizar su función habilidad y seguridad eléctrica.

El Manual debe incluir el récord de mantenimiento preventivo, periodicidad de la inspección y fallas del instrumento. El Manual debe estar accesible en todo momento.

3.4.3.3 Manual de Instrucciones del Uso del Instrumento

Estos Manuales deben estar incluidos en el Manual de Operaciones del instrumento, redactados en forma clara, en el idioma de los usuarios, inclusive la documentación del entrenamiento del personal.

Cada manual debe incluir precauciones de seguridad y los procedimientos de limpieza y cuidado del instrumento. Los Manuales deben incluir instrucciones básicas para resolver problemas menores y un récord de incidencias, que incluye el tipo de problema, los pasos tomados para resolverlo y la acción correctiva para evitarlo en el futuro.

3.4.3.4 Calibración y verificación del Instrumental

La calibración del instrumental y aparatos de medida y la verificación de su funcionamiento se realizara a intervalos periódicos por el personal especializado interno o técnico de la casa proveedora. Los equipos que requieren un exacto nivel de precisión para obtener un resultado seguro, requieren de una calibración periódica. La fecha de la calibración, frecuencia y resultado, deben ser mantenidos en un libro récord dentro del laboratorio.

Es preciso calibrar todo tipo de material de control de calidad, desde material volumétrico hasta instrumental de precisión. Se debe disponer de estándares de referencia adecuados para la calibración, ya sean sustancias químicas u otros instrumentos ya calibrados.

3.4.4 PERSONAL

El personal constituye la herramienta fundamental para llevar a cabo toda actividad dentro del laboratorio. El personal debe estar calificado, contar con capacidad académica, actualización constante y con los elementos indispensables para su labor. Se debe evaluar la carga de trabajo de cada miembro, con el fin de prevenir una sobrecarga que podría conducir a cometer errores o producir accidentes.

3.4.4.1 Evaluación del personal

Se debe llevar un registro profesional, acerca de la evaluación académica, habilidad técnica, interpretación de muestras desconocidas, reporte sobre su capacidad de trabajo, asistencia a programas de educación continuada, responsabilidad, evaluación profesional anual, al que todo nuevo empleado, debe ser sometido, evaluado y certificado en las fases pre-analíticas, analíticas y post-analíticas de funcionamiento del laboratorio.

Es importante definir que miembros del personal están calificados y autorizados para ejecutar procedimientos analíticos específicos, así como para utilizar determinados equipos, describiendo sus funciones, responsabilidad y autoridad.

3.4.4.2 Programa de docencia

Un elemento fundamental en el mantenimiento apropiado de la competencia del personal es el programa de educación continuada. Se debe llevar un control sobre la participación individual del personal en el programa, su asistencia y actividad, lo cual formará parte de su evaluación anual.⁽¹³⁾

3.4.5 MÉTODOS

Para que el laboratorio trabaje bajo procedimientos reproducibles, es necesario establecer los métodos con los que se va a efectuar el análisis, en todas sus fases. Esta información debe ser documentada, manteniendo la versión actualizada disponible a todo el personal.

Los métodos de análisis deben basarse en normas establecidas internacionales o nacionales; pero existen métodos no normalizados, desarrollados intralaboratorio que deben ser validados antes de ser ejecutados, con más rigor que los ya establecidos.

La validación es la confirmación del cumplimiento de un requisito con uso específico, en el cual se debe evaluar las variables con que se lleva a cabo a partir de los resultados obtenidos; las variables a considerar son: rango, precisión, incertidumbre, selectividad del método, reproducibilidad, robustez, límite de detección, etc.⁽⁴⁾

3.4.6 TOMA DE MUESTRAS

Para realizar el muestreo es necesario establecer un procedimiento adecuado para llevarlo a cabo, en el que se garantice que la muestra es representativa del universo o lote, en donde no se alteren las características propias de la misma; debe especificarse el material e instrumentos a utilizar, el cual debe ser estéril; y establecer la responsabilidad del personal debidamente calificado para realizar esta operación.

Se debe considerar el tipo de muestra, y las condiciones en que se encuentra, las cuales deben mantenerse durante el transporte, hasta el momento del análisis, el cual debe realizarse lo más pronto posible.

Registrar toda información relevante de la muestra, es necesaria para su debida identificación, en la que se incluirá: lugar, fecha, hora, condiciones de muestreo y alguna otra observación relevante.

El laboratorio al recibir la muestra debe contar con un sistema de identificación y establecer la rastreabilidad de la misma. La muestra debe almacenarse hasta que se hayan obtenido los resultados de análisis, o a criterio de acuerdo a política interna del laboratorio; posteriormente, deben eliminarse y aquellas que presenten contaminación deben descontaminarse antes de ser eliminadas.⁽⁴⁾

3.4.7 CONTROL ANALÍTICO

El control de la calidad analítica debe ser incluido y evaluado de manera integral como parte del aseguramiento de la calidad de un laboratorio. El control de calidad en los análisis microbiológicos se basa principalmente en comparar la variabilidad observada, con la esperada.

Es necesario llevar controles a lo largo del proceso analítico como una medida de autocontrol y obtener datos sobre la robustez del procedimiento, con lo que se facilita la selección de métodos para su normalización.

Los gráficos de control son de las herramientas más importantes para el control de calidad rutinario. ⁽⁹⁾

3.4.7.1 Controles de primer nivel

El primer nivel de control es el que ejecuta y evalúa el técnico analista encargado del procedimiento como una medida de autocontrol. Es aconsejable introducir este tipo de control a todas las series analíticas. Se considera que una serie analítica esta constituida por un grupo d análisis que se realizan bajo las mismas condiciones: mismo técnico analista, lote de medios de cultivo, reactivos, equipo, intervalo de tiempo, etc.

Los controles de primer nivel incluyen:

- Blancos
- Inoculaciones en paralelo
- Muestras control negativo y/o positivo
- Recuento de colonias en diferentes volúmenes

3.4.7.1.1 Blancos

Con el fin de evaluar las condiciones de esterilidad a lo largo de todo el proceso analítico, es preciso emplear muestras blanco en todas las series analíticas. La habitual practica de incluir una placa con medio o tubo con caldo sin inocular, no es suficiente, ya que solamente cubre e un aspecto del procedimiento analítico. Lo ideal es emplear una muestra estéril, que puede ser agua o diluyente y someterla al mismo proceso que las muestras analizadas.

3.4.7.1.2 Inoculaciones en paralelo

Se inocula por duplicado, triplicado, etc., un determinado volumen del analito siguiendo el mismo proceso de análisis.

3.4.7.1.3 Muestras control negativo y/o positivo

— Muestras control positivo

Se analiza una muestra estable y homogénea, que presente un recuento medio dentro de un determinado orden de magnitud, de una cepa representativa de los microorganismos diana que se pretende determinar en el análisis. Las muestras se pueden obtener mediante el empleo de cultivos puros o con muestras naturalmente contaminadas.

— Muestras control negativo

Se analiza una muestra estable y homogénea, que se presente una concentración adecuada de una cepa representativa de microorganismos no-diana.

3.4.7.1.4 Recuento de colonias en diferentes volúmenes

En microbiología es necesaria la utilización de diluciones a partir de la muestra, esto es debido a la gran variabilidad en las concentraciones microbianas que existen en las muestras naturales, y a las limitaciones respecto al número máximo de colonias que se pueden contar en una placa. Lo habitual es trabajar con diluciones decimales.

3.4.7.1.5 Gráficos de control

Los gráficos de control son de las herramientas más importantes para el control de calidad rutinario. En su forma más simple, los gráficos de control se construyen situando las líneas que marcan los límites de advertencia y acción simétricamente por encima y por debajo del valor medio esperado.

3.4.7.2 Controles de segundo nivel

Los controles de segundo nivel se deben llevar a cabo de una forma periódica y serán efectuados por una persona independiente del técnico analista. El principal objetivo de los controles de segundo nivel es garantizar la reproducibilidad entre diferentes analistas o equipos. Por lo tanto, el uso continuo de los controles de segundo nivel permite obtener datos sobre la robustez del procedimiento, con lo que se facilita la selección de métodos para su normalización nacional o internacional.

3.4.7.2.1 Recuento duplicado

El conteo de colonias de una placa más de una vez permite obtener datos para calcular el error de recuento. El recuento duplicado aplicado de una forma sistemática es una herramienta potente para el control de calidad. Para ello, se debe seleccionar de forma aleatoria un número adecuado de placas sobre las que se realizara el recuento duplicado. Esto debe realizarse de tal forma que el analista no conozca en el primer recuento que placas han sido seleccionadas para el segundo conteo.

Cuando el recuento lo repite la misma persona, no existe componente sistemático. En este caso el error se obtiene a partir de los pares de recuentos bajo condiciones de repetibilidad.

Cuando participan diferentes personas, la variabilidad incluye componentes sistemáticos y aleatorios. Los datos pueden utilizarse para estudiar el error consenso del recuento.

3.4.8 TRATAMIENTO E INFORME DE RESULTADO DE ANÁLISIS

Después de finalizado el proceso analítico a la muestra, los resultados obtenidos deben registrarse en un formato determinado y archivarse junto con toda la información pertinente de la muestra.

Los datos deben reportarse en una manera clara, coherente y objetiva, conteniendo toda la información necesaria para la interpretación del mismo, los cuales deben ser redactados por el analista calificado, y cuando sea necesario, se debe incluir opiniones e interpretaciones, y documentar las bases sobre las cuales se han hecho.⁽¹⁷⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO:

La presente investigación es un estudio de tipo bibliográfico y experimental que consistió en:

1. Investigación bibliográfica.
2. Investigación de campo.

4.1 Investigación bibliográfica:

Consistió en la recopilación de información en las bibliotecas de las Universidades de El Salvador, así también consulta de artículos en línea.

4.2 Investigación de campo:

Se llevo a cabo en el departamento de análisis microbiológico de Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LECC). En el cual se implementó el criterio de mejora continua con el establecimiento del aseguramiento de calidad para los resultados obtenidos, a partir con el que actualmente dispone.

El aseguramiento de calidad involucra los factores que influyen en la calidad de los resultados obtenidos en un laboratorio de análisis microbiológico, comenzando desde las instalaciones mismas, hasta el personal involucrado en el desarrollo y ejecución del informe. En el cual los procedimientos empleados deben estar documentados y redactados bajo un formato definido, con el fin de

ayudar en forma sistemática al ejecutamiento de la calidad dentro del laboratorio.

Un mejor análisis se aplica, utilizando el diagrama de causa y efecto conocido también como espina de pescado, que servirá para la explicación de las variables que influyen en la calidad de los resultados.

CAPITULO V
RESULTADOS

5.1 DIAGRAMA GENERAL DE CAUSA Y EFECTO

CAUSA		EFEECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	Resultados erróneos
A. Instalaciones	1. Infraestructura	
	2. Condiciones ambientales	
B. Personal	3. Educación	
	4. Capacitación	
	5. Experiencia	
	6. Destreza	
C. Equipo	7. Calibración	
	8. Verificación	
D. Materiales	9. Cristalería	
	10. Agua desmineralizada	
	11. Cepas microbianas	
	12. Medios de cultivo	
	13. Reactivos auxiliares	
	14. Desinfectantes	
E. Métodos	15. Validación	
	16. Verificación	

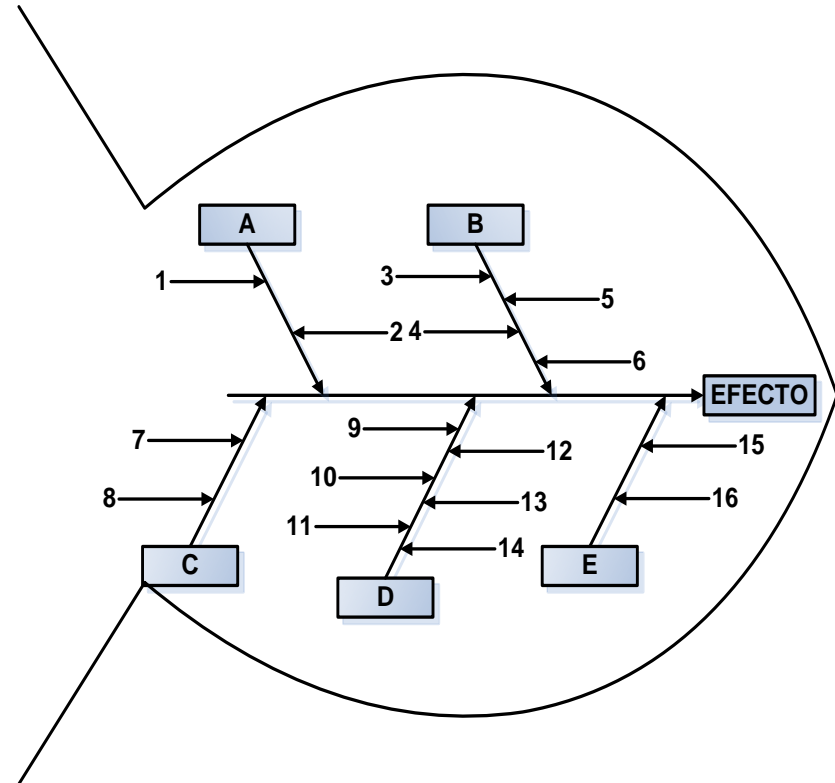


Figura No. 1: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LAS VARIABLES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD DE LOS RESULTADOS DE UN LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

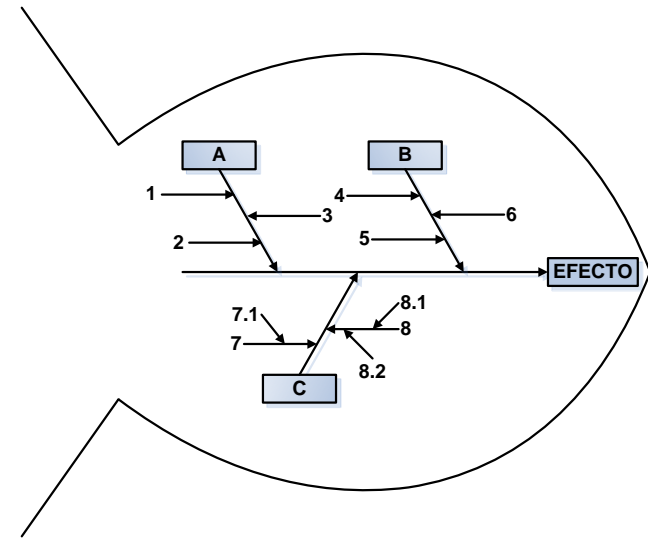
El diagrama principal refleja de manera grafica las variables principales que influyen directamente en la calidad de resultados obtenidos en un laboratorio de análisis microbiológico.

Estas variables se encuentran relacionadas entre sí, dando por entendido que tanto en relación como en forma individual el efecto producido infiere en resultados falso-positivos o falso-negativos, obtenidos a lo largo del desarrollo del análisis los cuales pueden sumarse, al igual que su incerteza, por lo que es de prioridad velar que cada uno de estos factores puedan ser tratados bajo medidas de control y disminuir así la probabilidad de aportar valor agregado al resultado obtenido.

5.2 INSTALACIONES

5.2.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFECTO
PRINCIPAL	SECUNDARIA	TERCIARIA	
A. Personal	1. Calificación		Resultados erróneos
	2. Acceso restringido		
	3. Aplicación de normas		
B. Condiciones ambientales	4. Calidad del aire		Contaminación ambiental
	5- Temperatura		
	6 Humedad		
C. Diseño	7. Infraestructura	7.1. Materiales	
	8. Distribución de áreas y equipo	8.1. Áreas: Ensayo/auxiliares	
		8.2. Flujo del proceso	



Procedimientos y documentos aplicables:

Procedimiento y registro de monitoreo ambiental y de superficies.

Procedimiento y registro de limpieza, sanitización y decontaminación de áreas y superficies.

Procedimiento y registro de temperatura ambiental.

Figura No. 2: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE *INSTALACIONES*

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable instalaciones.

La infraestructura y los materiales utilizados para llevarla a cabo deben adecuarse a los requerimientos de las normas, es decir, las paredes, pisos, y techos deben ser lisos, no porosos y sus puntos convergentes no deben formar ángulos entre sí, facilitando la limpieza; el laboratorio debe contar de iluminación natural y/o artificial empotrada en el techo; la ventilación se llevara a cabo a través de aire acondicionado y filtros especiales de acuerdo a la necesidad de cada una de las áreas, con la cual se permita mantener condiciones ambientales como temperatura y humedad controlada.

El diseño mismo del laboratorio debe permitir un flujo del proceso organizado para lo cual es necesario delimitar áreas y equipos propios para cada tipo de análisis a realizar y áreas adyacentes para la circulación rutinaria. La distribución de áreas y equipo debe ser tal que prevenga y/o disminuya la posible contaminación cruzada, es decir se deben de clasificar y adecuar de tal forma que se pase de un área controlada a otra de control crítico para liberar contaminación en el transporte, en la cual la instalación de esclusas con presión positiva juega un papel indispensable. En este sentido el laboratorio se vuelve un lugar de acceso restringido en donde solo personal necesario y calificado puede ingresar, el cual debe conocer y aplicar la normativa específica requerida en el laboratorio que debe estar documentada y su alcance.

De esta manera se pretende asegurar un entorno controlado libre de contaminación natural o agregada por el mismo personal, es necesario entonces monitorear cada uno de estos factores en un registro específico y de acuerdo a un procedimiento establecido, documentado y accesible para llevar a cabo su ejecución y así promover un ambiente controlado y de confort.

5.2.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para el control de calidad en las instalaciones de un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica al proceso de limpieza, sanitización y decontaminación realizado en un laboratorio de análisis microbiológico y el respectivo monitoreo ambiental, de superficies y temperatura.

C. POLÍTICAS

1. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
2. Los materiales utilizados en el proceso de limpieza en un laboratorio de análisis microbiológico deben ser de tela que no desprenda fibras o mota.
3. Después del proceso de decontaminación se realiza el monitoreo completo de superficies para cada una de las áreas de un laboratorio de análisis microbiológico, que incluye la evaluación de techo, pared, mesas y piso; junto con el monitoreo del aire.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

- Tubos de ensayo
- Beakers
- Placas Petri
- Pipetas Morh
- Hisopos
- Mascones
- Atomizadores
- Cinta adhesiva gruesa
- Paños y trapeadores que no desprendan mota

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

Reactivos

- Solución detergente a concentración específica
- Solución sanitizante a concentración específica
- Solución formalina 0.1%
- Permanganato de potasio grado reactivo
- Solución salina

Medios de cultivo

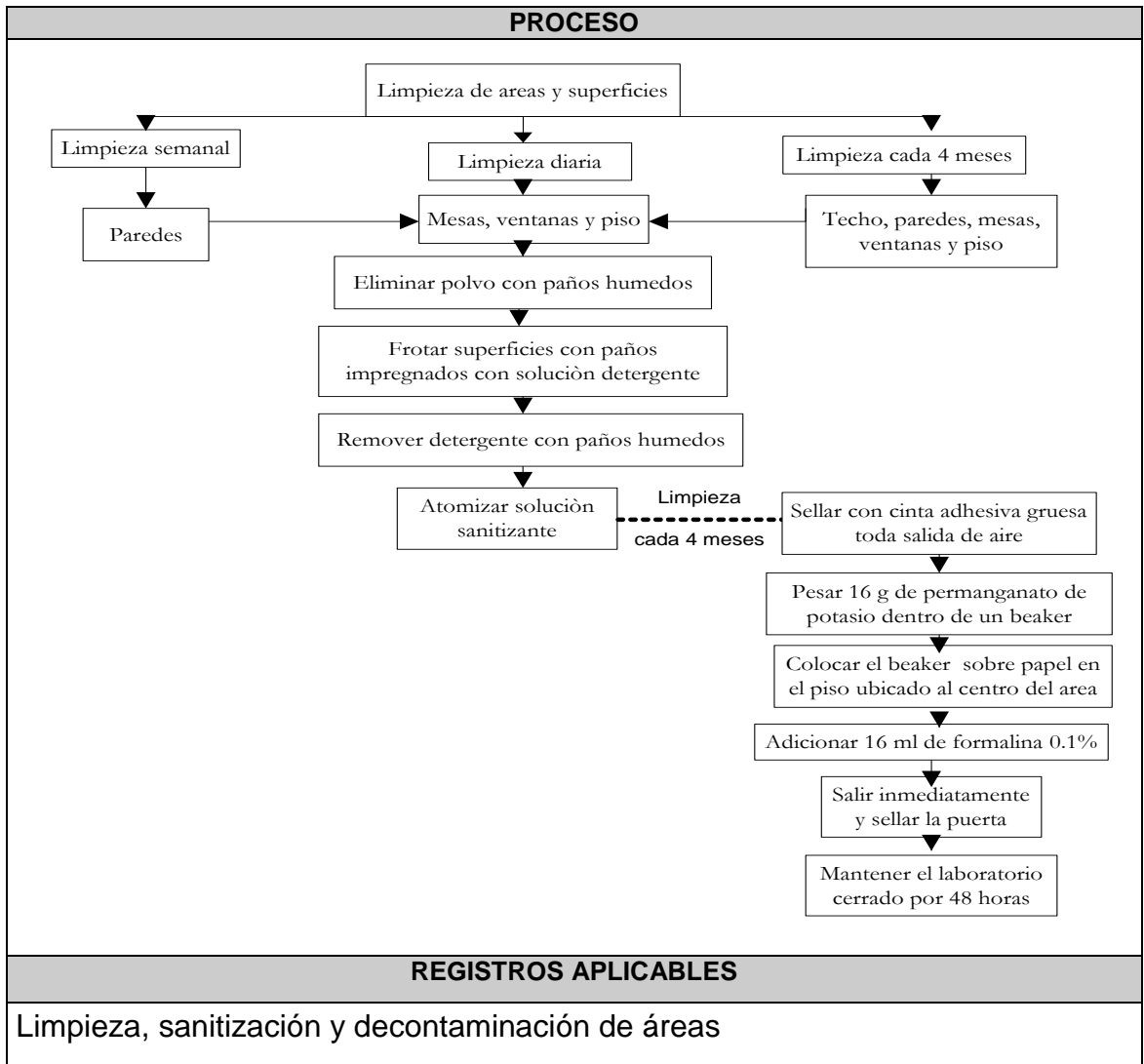
- Caldo LMX
- Agar tripticasa soya
- Agar papa dextrosa acidificado con ácido tartárico

Equipo

- Termómetros calibrados
- Balanza granataria o semianalítica
- Incubadora
- Cocinas o hot plate
- Contador de colonias
- Contador de partículas

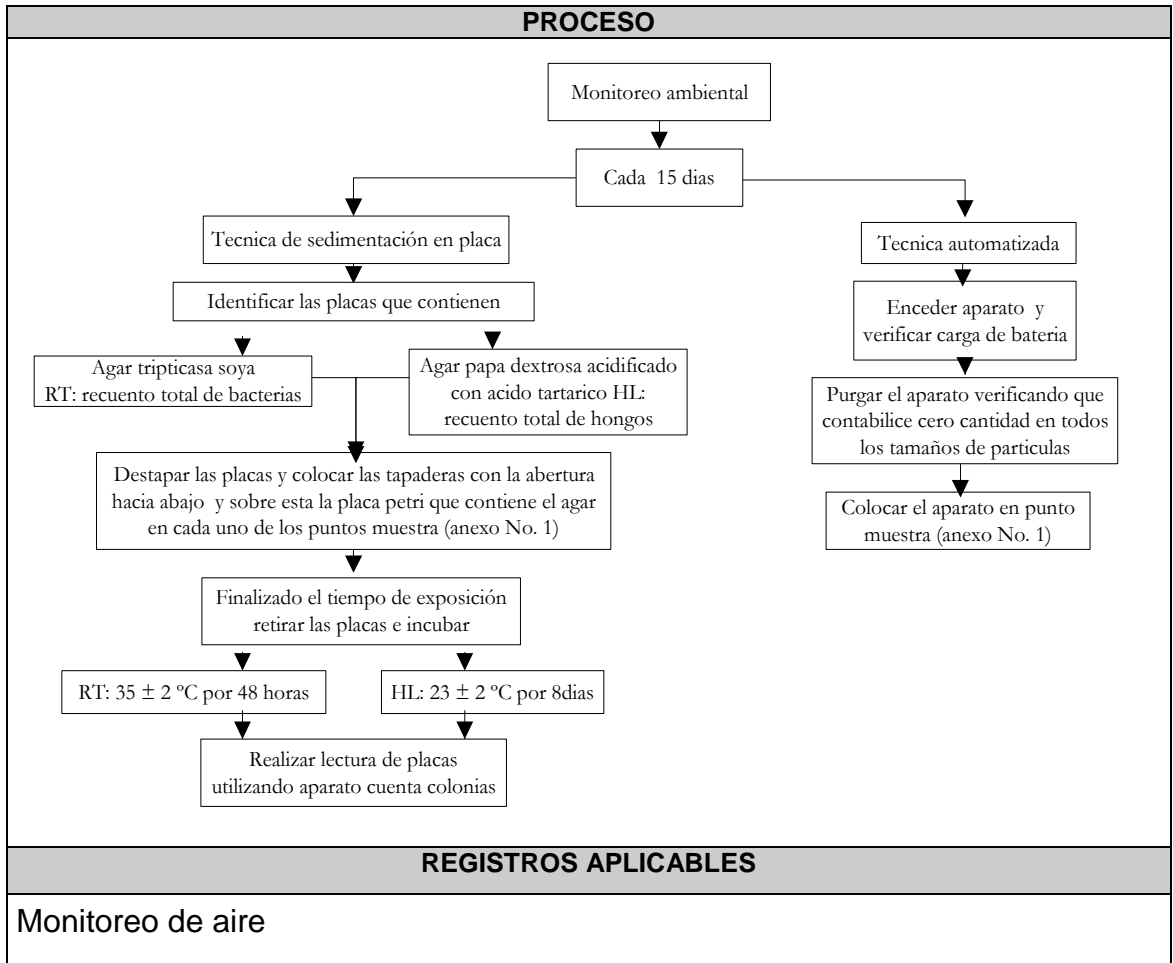
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 11
	Código:
INSTALACIONES	No. de edición:
	Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO

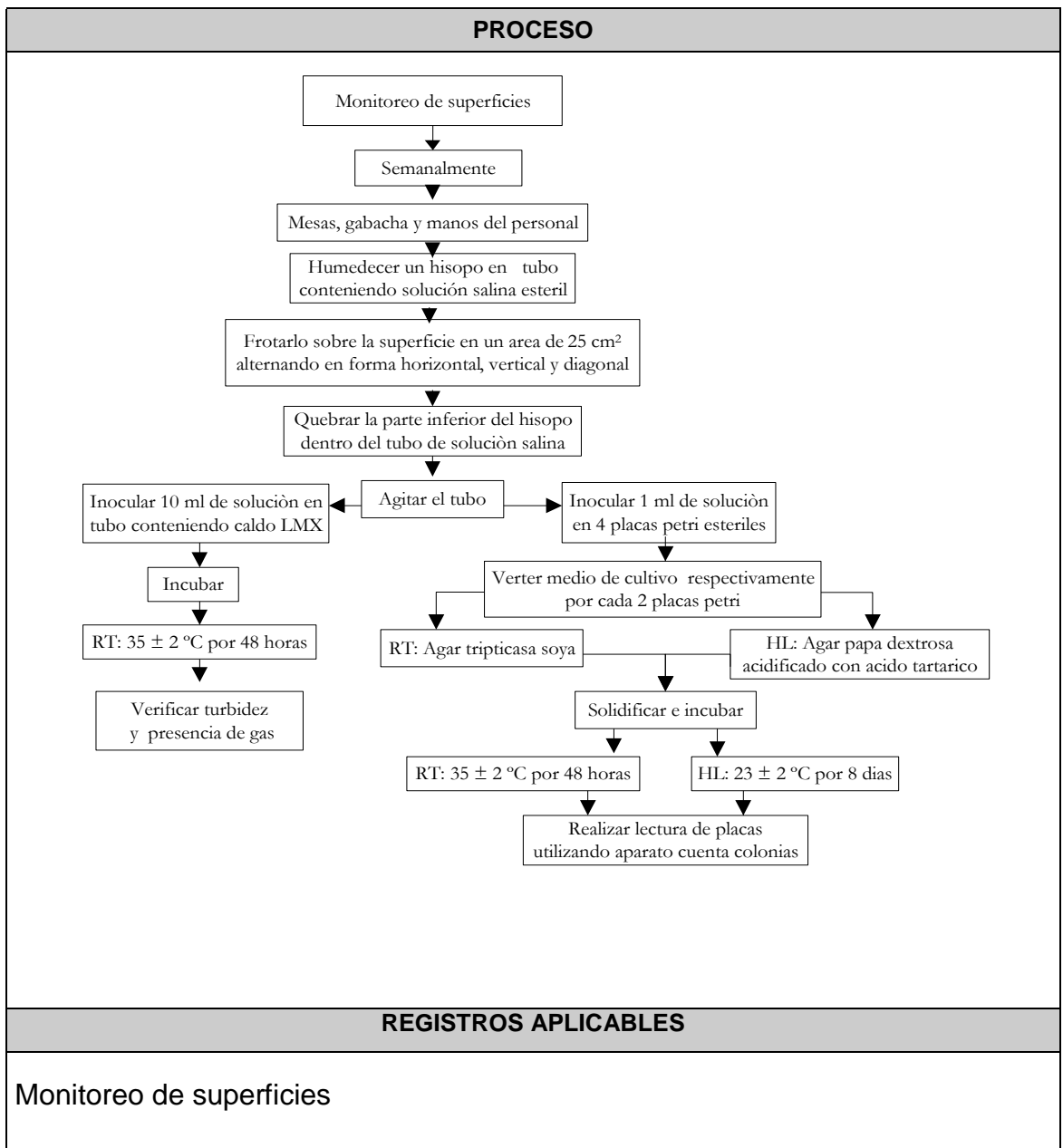


PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 6 de 11
	Código:
INSTALACIONES	No. de edición:
	Fecha de revisión:



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:
PROCESO	
<pre> graph TD A[Monitoreo de temperatura] --> B[Diariamente] B --> C[En la parte central de cada area de trabajo colocar por 15 minutos un termometro calibrado sin que el bulbo este en contacto con la superficie] C --> D[Verificar temperatura] </pre>	
REGISTROS APLICABLES	
Monitoreo de temperaturas	

H. LIMITES

Frecuencia sugerida de prueba básica a crítica para ambientes controlados

Área de la prueba	Frecuencia para realización de la prueba
Clase 100 o las designaciones de cuarto limpio	En cada cambio de operación
Soporte de áreas inmediatamente adyacentes de áreas clase 100 (clase 10,000)	En cada cambio de operación
Otros soportes de áreas (clase 100,000)	Dos veces por semana
Potencial producto/recipiente en contacto áreas	Dos veces por semana
Otra áreas de apoyo a las áreas del proceso aséptico pero no en contacto con el producto	Una vez por semana

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 8 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

Clases de limpieza de acuerdo al conteo de partículas aéreas por metro cúbico

Nombre de la clase	Tamaño de partícula				
	0.1 Um	0.2 Um	0.3 Um	0.5 Um	5 Um
1	1,240.00	265.00	106.00	35.30	–
10	12,400.00	2,650.00	1,060.00	353.00	–
100	–	26,500.00	10,600.00	3,530.00	–
1000	–	–	–	35,300.00	247.00
10,000	–	–	–	353,000.00	2,470.00
100,000	–	–	–	3,530,000.00	24,700.00

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 9 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

Clasificación de área
Clase de aire en áreas dentro del laboratorio de análisis microbiológico

Área	Clase de aire		Tiempo de exposición	UFC máximo Recuento total de bacterias	UFC máximo Recuento total de Mohos
Preparación	100000		20	3	3
Alimentos	-----		15	15	15
Productos farmacéuticos no estériles	critica	100	2h 40 min	1	1
	adyacente	1000	2h 35 min	2	2
Productos farmacéuticos estériles	critica	100	2h 40 min	1	1
	adyacente	1000	2h 35 min	2	2
Durante el ensayo de esterilidad	100 con movimiento		Tiempo de análisis	1	1

Clase de aire en áreas dentro del laboratorio de análisis microbiológico

Área	Clase de aire		Número máximo permitido de partículas por m ³ de tamaño igual o superior a		Número máximo permitido de microorganismos viables por m ³
			0.5μ	5μ	
Preparación	100000		3500000	20000	500
Productos farmacéuticos no estériles	critica	100	3500	-----	menor a 1
	adyacente	1000	35000	2000	menor a 5
Productos farmacéuticos estériles	critica	100	3500	-----	menor a 1
	adyacente	1000	35000	2000	menor a 5

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 10 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Bad Dürkheim. Consenso sobre Buenas Prácticas de Laboratorio 1990. Alm. 1999 Aseguramiento de la calidad y Buenas prácticas de laboratorio Paris F.
2. Devosa M. y otros 1976. Control de calidad durante la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos 1 ed. Madrid Esp. Castilla.
3. ENAC (Entidad Nacional de la Acreditación Esp) 2000 Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos 3 ed.
4. Guzmán D. y otros 2000. Propuesta de un sistema de acreditación para un laboratorio de evaluación microbiológico de productos farmacéuticos. Trabajo de graduación. Licenciatura en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador.
5. ISO (Organización Internacional de Normalización) 1999 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo 1 ed La Paz Co.
6. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

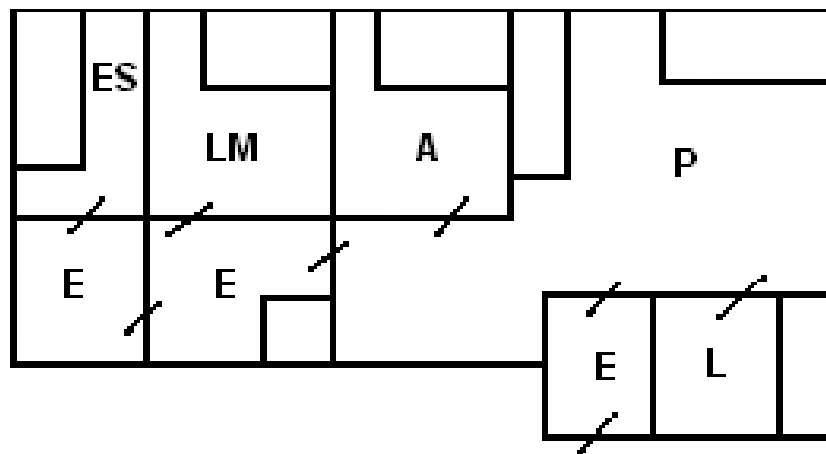
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 11 de 11 Código:
INSTALACIONES	No. de edición: Fecha de revisión:

7. Palomeque E. 1996 Good manufacturing practices 1 ed. Madrid Esp
Centro de estudios superiores de la industria farmacéutica.
8. The United States Pharmacopeical Convention. The United States
Pharmacopeia 25 ed National formulary 20. USA.

J. ANEXOS

ANEXO No. 1

ESQUEMA DEL DEPARTAMENTO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y PUNTOS DE MUESTREO PARA MONITOREO AMBIENTAL, SUPERFICIES, TEMPERATURA Y DECONTAMINACIÓN.



ES: Área de esterilidad

LM: Área de límites microbianos

A: Área de alimentos y aguas

P: Área de preparación de material

L: Área de lavado

E: Exclusa

REGISTRO	Código
LIMPIEZA, SANITIZACIÓN Y DECONTAMINACIÓN DE ÁREAS	Edición Fecha de revisión

FECHA	ÁREA				LIMPIEZA				SANITIZACIÓN				DECONTAMINACIÓN	REALIZO	VERIFICO
	ES	LM	AL	PREP	D1	D2	D3	D4	S1	S2	S3	S4	Formaldehido/ K ₂ MnO ₄		

ES: Esterilidad
 LM: Limites microbianos
 AL: Alimentos
 PREP: Preparación

D: Detergente
 D1:
 D2:
 D3:
 D4:

S: Sanitizante o desinfectante
 S1:
 S2:
 S3:
 S4:

5.2.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
LIMPIEZA, SANITIZACIÓN Y DECONTAMINACIÓN DE ÁREAS	Edición Fecha de revisión

FECHA	ÁREA				LIMPIEZA				SANITIZACIÓN				DECONTAMINACIÓN	REALIZO	VERIFICO
	ES	LM	AL	PREP	D1	D2	D3	D4	S1	S2	S3	S4	Formaldehido/ K ₂ MnO ₄		
070806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
080806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
090806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
100806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
110806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
140806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
150806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
160806	x	x	x	x	x				x					ST	RM
221206							x			x			x	ST	RM

ES: Esterilidad
LM: Limites microbianos
AL: Alimentos
PREP: Preparación

D: Detergente
D1: Lauril sulfato
D2: Detergente
D3:
D4:

S: Sanitizante o desinfectante
S1: IPA 70%
S2: Gluconato de clorhexidina al 10%
S3:
S4:

MONITOREO AMBIENTAL DE ÁREAS

Las áreas en el laboratorio de análisis microbiológico: Esterilidad, Límites microbianos, Alimentos y Preparación, son monitoreadas cada 15 días, para evaluar la carga microbiana presente en el ambiente, por medio de la técnica de exposición en placa.

De acuerdo al Anexo No.1 del *“procedimiento específico INSTALACIONES”* se colocaron en puntos específicos y durante el tiempo determinado placas conteniendo agar tripticasa soya para evaluación de bacterias y placas conteniendo agar papa dextrosa para evaluación de mohos y levaduras.

Los datos del recuento de colonias, obtenidos del monitoreo realizado se encuentran dentro de los límites establecidos en el mismo procedimiento.

Área	Clase de aire		Tiempo de exposición	UFC máximo Recuento total de bacterias	UFC máximo Recuento total de Mohos
Preparación	100000		20	3	3
Alimentos	-----		15	15	15
Productos farmacéuticos no estériles	critica	100	2h 40 min	1	1
	adyacente	1000	2h 35 min	2	2
Productos farmacéuticos estériles	critica	100	2h 40 min	1	1
	adyacente	1000	2h 35 min	2	2
Durante el ensayo de esterilidad	100 con movimiento		Tiempo de análisis	1	1

REGISTRO	Código
MONITOREO DE AIRE POR MÉTODO SEDIMENTACIÓN EN PLACA	Edición Fecha de revisión

FECHA	DENTRO FLUJO LAMINAR		FUERA FLUJO LAMINAR		ESCLUSA		INCUBADORA		DENTRO CABINA BIO-SEGURIDAD		FUERA CABINA BIO-SEGURIDAD		REJILLA		ALIMENTOS		PREPARACIÓN		REALIZO	VERIFICO	
	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	ST	RM	
21/07/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ST	RM
07/08/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5	2	ST	RM
21/08/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ST	RM
04/09/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ST	RM
19/09/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	ST	RM	
02/10/06	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ST	RM
16/10/06	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ST	RM
30/10/06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	ST	RM	
13/11/06	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	ST	RM
27/11/06	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	ST	RM
11/12/06	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	ST	RM	

MONITOREO DE SUPERFICIES DE ÁREAS

En cada una de las áreas establecidas en el laboratorio de análisis microbiológico: Esterilidad, Límites microbianos, Alimentos y Preparación, después del proceso de limpieza y sanitización con el uso del detergente y sanitizante correspondientes al esquema de rotación establecido, se lleva a cabo el monitoreo de superficies por medio de técnica de hisopado y posterior inoculación por placa vertida, determinando la carga microbiana presente para bacterias, mohos, y microorganismos patógenos.

Semanalmente el monitoreo se enfoca en la superficie de mesas de trabajo en cada una de las áreas; posteriormente al proceso de decontaminación o cuando sea necesario, se evalúa de forma completa las áreas, monitoreando además el techo, paredes y piso.

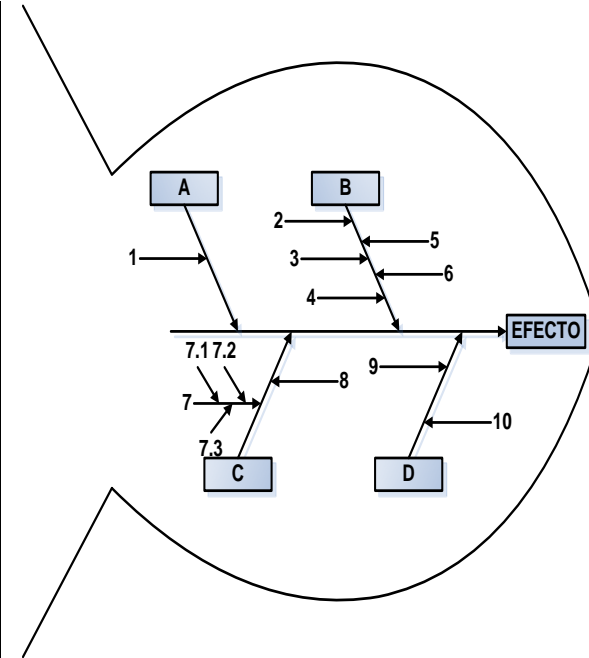
REGISTRO	Código
MONITOREO DE SUPERFICIES DE ÁREAS	Edición Fecha de revisión

FECHA	ÁREA	TECHO		PARED		PISO		MESA		REALIZO	VERIFICO	OBSERVACIÓN
		RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL	RTB	HL			
21/07/06	ESTERILIDAD	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	LIMITES MICROBIANOS	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	ALIMENTOS	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	PREPARACIÓN	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
25/07/06	ESTERILIDAD	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	LIMITES MICROBIANOS	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	ALIMENTOS	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
	PREPARACIÓN	-	-	-	-	-	-	0	0	ST	RM	
07/08/06	ESTERILIDAD	0	0	0	0	0	0	0	0	ST	RM	
	LIMITES MICROBIANOS	0	0	0	0	0	0	0	0	ST	RM	
	ALIMENTOS	0	0	0	0	2	0	0	0	ST	RM	
	PREPARACIÓN	0	0	1	0	5	0	0	0	ST	RM	

5.3 MEDIOS DE CULTIVO

5.3.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFEECTO
PRIMARIO	SECUNDARIO	TERCIARIA	
A. Personal	1. Calificación		Valor de pH incorrecto
B. Proceso de preparación	2. Cristalería		
	3. Agua desmineralizada		
	4. Homogenización		
	5. Temperatura		
	6. Valor de pH		
C. Proceso de esterilización	7. Equipo	7.1. Tiempo	Cambio en características físicas en medios de cultivo
		7.2. Presión	
		7.3. Temperatura	
	8. Indicadores biológicos/químicos		
D. Almacenamiento	9. Fecha pos-esterilización		
	10. Contenedores		



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de compra y existencia de medios de cultivo

Procedimiento y registro de preparación, esterilización y almacenamiento de medios de cultivo

Figura No. 3: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: MEDIOS DE CULTIVO.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Medios de cultivo.

Los medios de cultivo es el elemento esencial como fuente de nutrición para los microorganismos que se pretenden evaluar, recuperar o aislar, por lo que deben efectuarse controles a cada medio de cultivo adquirido y/o lote preparado. La adquisición de medios de cultivos basada en la calificación de la casa fabricante y proveedor debe basarse en el certificado de calidad y evaluaciones periódicas intralaboratorio.

La preparación de los medios de cultivo debe realizarse en cristalería limpia y agua desmineralizada evaluadas ambas previamente; siguiendo las instrucciones del fabricante y constatando las características esperadas.

Antes del proceso de esterilización el medio preparado debe colocarse en el contenedor definitivo para su almacenamiento y evaluar el pH obtenido antes y después del proceso de esterilización, el cual debe registrarse y monitorear las condiciones de operación.

El almacenamiento de los medios de cultivo deshidratado debe estar destinado en un área que los proteja de interacciones ambientales: luz, humedad, temperatura. En el caso de medios de cultivo preparados, el tiempo de almacenamiento debe ser el mínimo requerido para evitar posible contaminación bajo condiciones dictadas por fabricante.

Los procedimientos para la realización de cada operación deben estar documentados y registrarse en un formato establecido.

5.3.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 99 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para la preparación, conservación y verificación de los medios de cultivo utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica a los medios de cultivo utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. La adquisición de medios de cultivo deshidratado será registrada “registro compra de medios de cultivo” y se realizara control de calidad antes de su puesta en uso.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
3. Para el almacenamiento de los medios de cultivo deshidratados debe asignarse un lugar definido dentro del laboratorio de análisis microbiológico, el cual debe estar libre de humedad.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 100 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

4. Los frascos que contienen medio de cultivo liofilizado deben mantenerse debidamente cerrados, y aquellos que se han solidificado deben descartarse.
5. Los medios de cultivo ya preparados deben almacenarse en refrigeración a 2-8°C, debidamente etiquetados, por un periodo de tiempo no mayor a dos meses siendo evaluados.
6. Los medios de cultivo vertidos en placa, deben almacenarse con la tapa hacia abajo, dentro de bolsas plásticas debidamente identificadas.
7. Los medios de cultivo esterilizados deben fundirse solo una vez, y mantener: 45 a 50 °C durante 8 horas como máximo, antes de su uso.

D. RESPONSABILIDADES

3. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
4. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 101 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

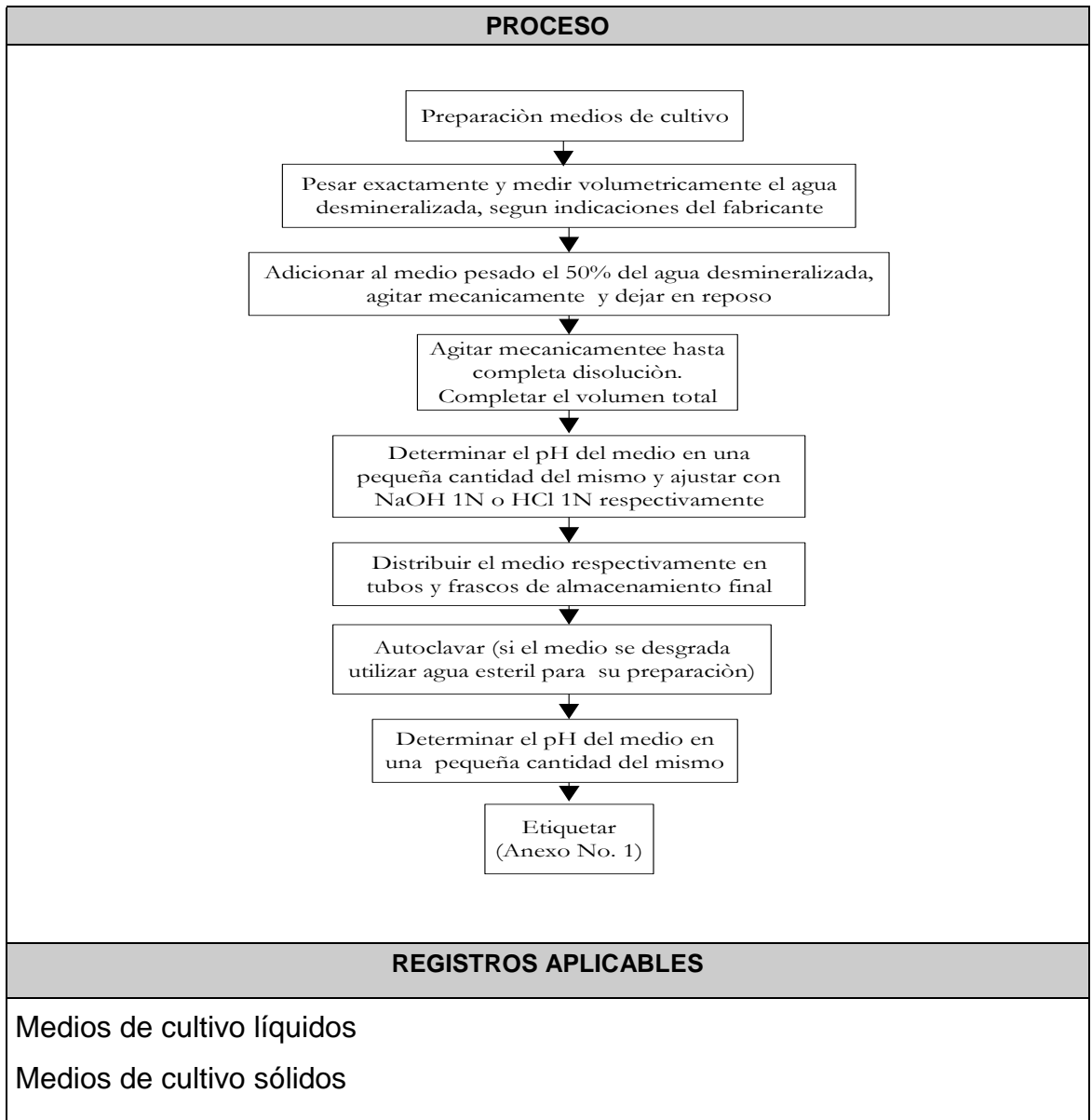
- Tubos de ensayo
- Frascos
- Pipetas Morh
- Beakers
- Erlenmeyers
- Placas petri

Equipo

- Incubadora
- Aparato cuenta colonias
- Autoclave
- Refrigeradora
- Potenciómetro
- Hot plate
- Agitador magnético
- Balanza granataria o semianalitica

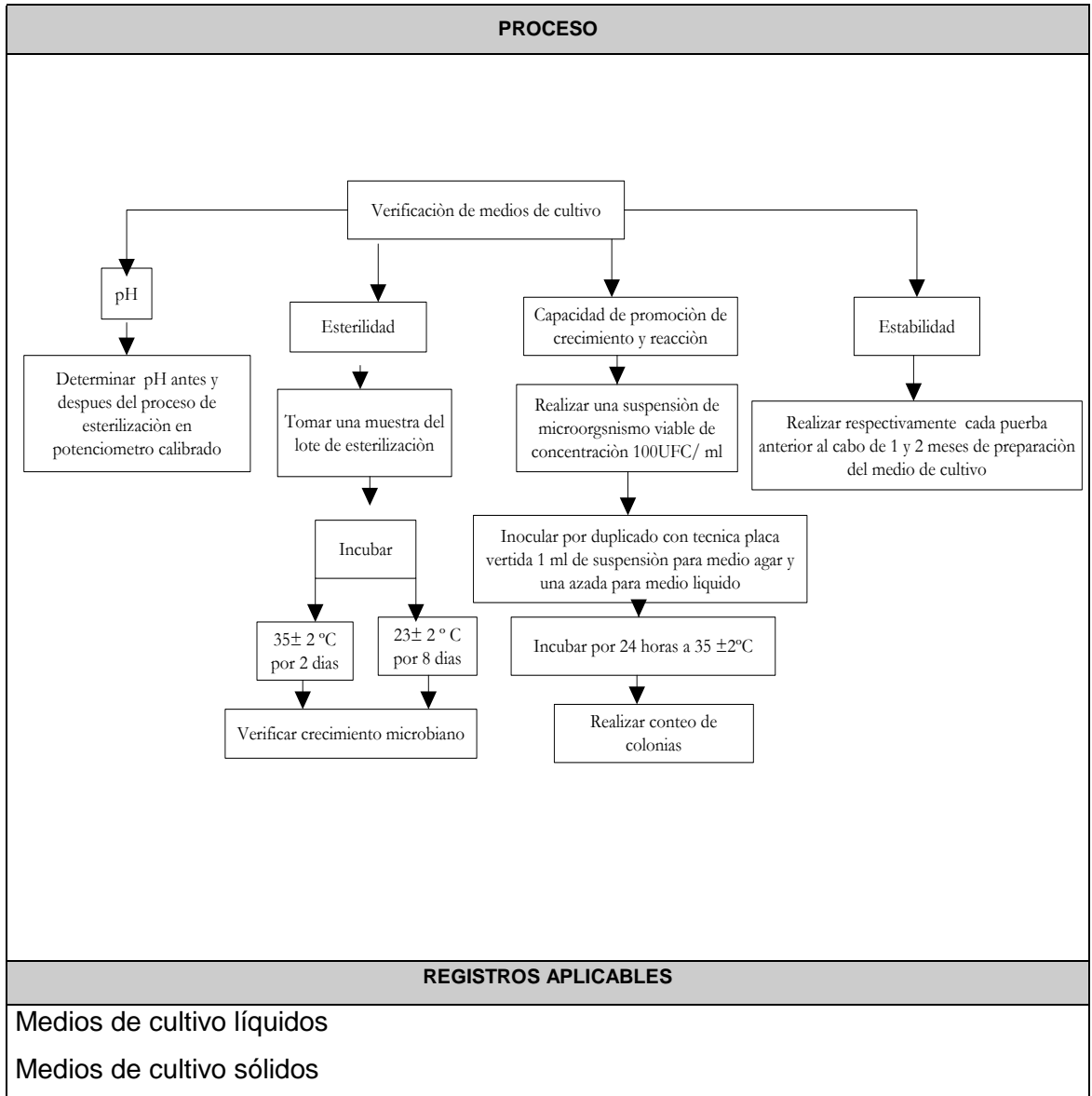
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 102 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 7
	Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición:
	Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 104 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LÍMITES

PRUEBA	LÍMITE
Aspecto	Debe cumplir especificaciones del fabricante
Determinación de pH proceso de esterilización	Debe cumplir especificaciones del fabricante
Antes	
Después	
Esterilidad	Debe ser estéril
Promoción de crecimiento	No menos del 50-80%
Estabilidad	Debe cumplir las especificaciones de aspecto, pH y esterilidad

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Cospin O. Siete Herramientas básicas para el control de calidad (en línea). Disponible en: <http://www.monografias.com>
2. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7 ed. México 2000 Publicaciones e impresiones de calidad Tomo 1.
3. Garfield F. 1993 Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos, 1 ed. editado por la AOAC internacional (Association of official analytical chemists) Trad. UNA García.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 7 Código:
MEDIOS DE CULTIVO	No. de edición: Fecha de revisión:

4. ISO (Organización Internacional de Normalización) 1999 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo 1 ed La Paz Co.
5. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.
6. The United States Pharmacopeical Convention. The United States Pharmacopeia 25 ed National formulary 20. USA 2002.

J. ANEXOS

Anexo No. 1 Etiqueta para medios de cultivo preparados

Nombre del medio de cultivo
Fecha de preparación
Fecha de vencimiento
Preparado por: Nombre técnico

REGISTRO	Código
MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS	Edición Fecha de revisión

Nombre:				Marca:						
lote:		Fecha de vencimiento:			Fecha de apertura:					
Determinaciones	Aspecto	pH		Esterilidad			Nombre microorganismo de ensayo:			
		antes	después	Turbidez			Promoción de crecimiento		Verificación de microorganismo	
				T₁	T₂	Resultado	P₁	P₂	% recuperación	Tinción Gram
Recién preparado										
Fecha										
1º mes										
Fecha										

PREPARACIÓN										
Fecha										
Cantidad pesada										
Volumen de agua										
pH										
ESTERILIZACIÓN										
Autoclave	Código:		Código:		Código:		Código:		Código:	
	Código:		Código:		Código:		Código:		Código:	
Tiempo (min)										
Temperatura (°C)										
Presión (Lb/P)										
<i>Indicador biológico</i>										
Marca										
Lote										
Fecha vencimiento										
Produce color morado	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
<i>Indicador químico</i>										
Lote										
Fecha vencimiento										
Produce color negro	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
pH										

T_x:Tubo No. x

P_x: Placa No. x

REGISTRO	Código
MEDIOS DE CULTIVO SÓLIDO	Edición Fecha de revisión

Nombre:		Marca:	
Lote:	Fecha de vencimiento:	Fecha de apertura:	

Determinaciones	Aspecto	pH		Esterilidad			Nombre microorganismo:					
		antes	después	UFC/ml			Promoción decrecimiento		Verificación de microorganismo			
				P ₁	P ₂	Resultado	P ₁	P ₂	% recuperación	Tinción Gram	Morfología	Medio diferencial
Recién preparado												
Fecha												
1º mes												
Fecha												

PREPARACIÓN											
Fecha											
Cantidad pesada											
Volumen de agua											
pH											
ESTERILIZACIÓN											
Autoclave	Código:			Código:			Código:			Código:	
	Código:			Código:			Código:			Código:	
Tiempo (min)											
Temperatura (°C)											
Presión (Lb/P)											
Indicador biológico											
Marca											
Lote											
Fecha vencimiento											
Produce color morado	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI
Indicador químico											
Lote											
Fecha vencimiento											
Produce color negro	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI
pH											

P_x: Placa No. x

5.3.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS	Edición Fecha de revisión

Nombre: CASOY BULLON CALDO		Marca: MERCK
lote: 561159	Fecha de vencimiento: 2011/02/02	Fecha de apertura: 12/10/06

Determinaciones	Aspecto	pH		Esterilidad			Nombre microorganismo de ensayo: <i>Staphilococcus aureus</i>			Verificación de microorganismo		
		antes	después	Turbidez			Promoción de crecimiento			Tinción Gram	Morfología	Medio diferencial
				T ₁	T ₂	Resultado	P ₁	P ₂	% recuperación			
Recién preparado Fecha: 12/10/06	Líquido, transparente color ámbar	7.1	7.3	N	N	Conforme	80	86	83	Cocos, Gram. (+) en forma de racimos	Colonias redondas, color negro brillante, rodeadas por una zona clara de inhibición.	Baird parker agar
1º mes Fecha: 22/11/06		7.1	7.3	N	N	Conforme	82	87	84			

PREPARACIÓN						
Fecha	12/10/06	19/10/06	23/11/06	06/11/06	13/11/06	15/11/06
Cantidad pesada	30 g	30 g	30 g	30 g	30 g	30 g
Volumen de agua	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L	1 L
pH	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1	7.1
ESTERILIZACIÓN						
Autoclave	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406
	Código:	Código:	Código:	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min.)	15	15	15	15	15	15
Temperatura (°C)	121	121	121	121	121	121
Presión (lb/P)	15	15	15	15	15	15
Indicador biológico						
Marca	3M	3M	3M	3M	3M	3M
Lote	200804JB	200804JA	200804JA	200804JA	200804JA	200804JA
Concentración	4.2 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁵
Fecha vencimiento	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008
Produce color morado	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Indicador químico						
Lote	200807AB	200807AB	200807AB	200807AB	200807AB	200807AB
Marca	3M	3M	3M	3M	3M	3M
Produce color negro	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
pH	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3

T_x: Tubo No. x

P_x: Placa No. x

REGISTRO	Código
MEDIOS DE CULTIVO SÓLIDO	Edición Fecha de revisión

Nombre: Trypticase soya agar		Marca: MERCK
Lote: 586258612	Fecha de vencimiento: 2011/ 03/ 14	Fecha de apertura: 08/08/06

Determinaciones	Aspecto	pH		Esterilidad			Nombre microorganismo: <i>Staphilococcus aureus</i>			Verificación de microorganismo		
		antes	después	UFC/ml			Promoción decrecimiento			Tinción Gram	Morfología	Medio diferencial
				P ₁	P ₂	Resultado	P ₁	P ₂	% recuperación			
Recién preparado Fecha: 080806	Semisólido, transparente color ámbar	5.5	5.6	0	0	Conforme	80	92	86	Cocos, Gram. (+) en forma de racimos	Colonias redondas, color negro brillante, rodeadas por una zona clara de inhibición.	Baird parker agar
1º mes Fecha: 250906		5.5	5.6	0	0	Conforme	82	86	84			

PREPARACIÓN						
Fecha	08/08/06	18/08/06	30/08/06	11/09/06	25/09/06	
Cantidad pesada	117 g	117 g	117 g	117 g	117 g	
Volumen de agua	3 L	3 L	3 L	3 L	3 L	
pH	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	
ESTERILIZACIÓN						
Autoclave	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código:
	Código:	Código:	Código:	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min)	15	15	15	15	15	
Temperatura (°C)	121	121	121	121	121	
Presión (lb/P)	15	15	15	15	15	
Indicador biológico						
Marca	3 M	3M	3M	3 M	3M	
Lote	200804JB	200804JB	200804JB	200804JB	200804JB	
Concentración	4.2 x 10 ⁻⁵	4.2 x 10 ⁻⁵	4.2 x 10 ⁻⁵	4.2 x 10 ⁻⁵	4.2 x 10 ⁻⁵	
Fecha vencimiento	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008	
Produce color morado	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Indicador químico						
Lote	200807AB	200807AB	200807AB	200807AB	200807AB	
Marca	3 M	3M	3M	3 M	3M	
Produce color negro	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
pH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	

P_x: Placa No. x

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de análisis microbiológico, tanto en caldo como agar, son preparados de acuerdo a indicaciones del fabricante; donde no todos requieren proceso de esterilización posterior a la preparación; por lo tanto, se preparan con agua estéril previamente evaluada.

Para aquellos que necesitan esterilización posterior se monitorea el proceso de esterilización, tiempo, temperatura, presión y viraje de color en indicadores químico/físicos y/o biológicos.

Todos los medios de cultivo son evaluados de acuerdo a sus características organolépticas, físicas y microbiológicas.

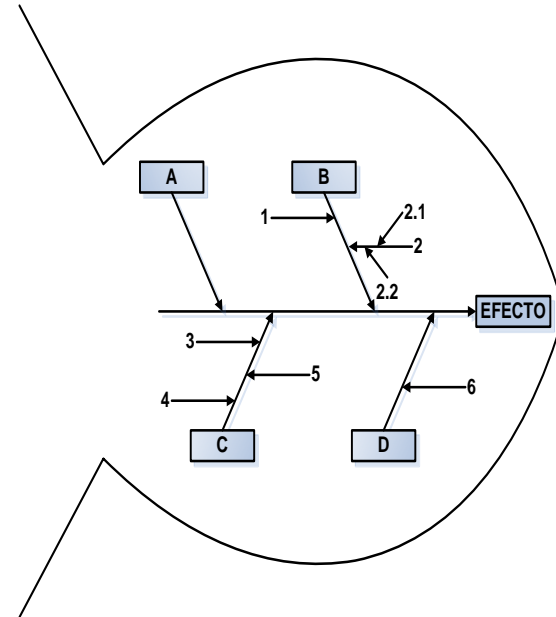
Los datos obtenidos se encuentran dentro de los parámetros establecidos en el *“procedimiento específico MEDIOS DE CULTIVO”*

PRUEBA	LIMITE
Aspecto	Debe cumplir especificaciones del fabricante
Determinación de pH proceso de esterilización	Debe cumplir especificaciones del fabricante
Antes	
Después	
Esterilidad	Debe ser estéril
Promoción de crecimiento	No menos del 50-80%
Estabilidad	Debe cumplir las especificaciones de aspecto, pH y esterilidad

5.4 CEPAS MICROBIANAS

5.4.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	TERCIARIA	
A. Calidad inicial			Invalidación de métodos Resultados erróneos
B. Conservación	1. Repique de cepas		
	2. Condiciones de almacenamiento	2.1. Temperatura	
		2.2. Asignación de áreas	
C. Verificación	3. Pruebas bioquímicas		Caracterización atípica de medios de cultivo
	4. Morfología		
	5. Técnica de tinción		
D. Personal	6. Calificación		



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de compra y existencia de cepas microbianas.

Procedimiento y registro de preparación, mantenimiento y conservación de cepas microbianas

Figura No. 4: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE RELEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: CEPAS MICROBIANAS.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Cepas microbianas.

Las cepas microbianas constituyen la base de comparación, identificación y cuantificación utilizada en metodologías analíticas; es entonces necesario mantener al cepario viable para poder realizar con éxito dicha metodología.

La adquisición de cepas debe estar respaldada por un certificado de análisis que constate su calidad inicial, la cual debe verificar el laboratorio, evaluando su morfología y aplicando técnicas que aseguren su pureza, tal es el caso de tinciones y pruebas bioquímicas. Estas características propias de cada microorganismo deben conservarse durante el tiempo declarado de vida útil, y debe llevarse a cabo siguiendo las indicaciones del proveedor y manteniendo las medidas de seguridad de almacenamiento dentro del laboratorio, para lo que es indispensable destinar la ubicación específica y condiciones en la que se deben conservar. El cepario debe clasificarse de acuerdo a las necesidades propias del laboratorio y mantener siempre un “stock” de cultivo de cada una de las cepas, las cuales deben estar identificadas, conteniendo: el nombre, género, número o codificación del proveedor, fecha de vencimiento, condiciones de almacenamiento, etc.

El repique oportuno de las cepas para su utilización debe ser el mínimo necesario para evitar la mutación de las cepas; la verificación periódica es necesaria. Estas operaciones las debe realizar solo personal autorizado y calificado, siguiendo instrucciones de seguridad, prevención y acción en caso

de accidentes, los que deben especificarse por escrito en un procedimiento accesible al personal. También es necesario documentar la adquisición de las cepas, puesta en marcha y repiques realizados.

5.4.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para la propagación, conservación y verificación de cepas microbianas utilizadas en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica a las cepas microbianas utilizadas en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. La adquisición de cepas microbianas será registrada “registro compra de cepas microbianas” y se realizara control de calidad antes de su puesta en uso, conforme lo indica el procedimiento del proveedor.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
3. El manejo de las cepas microbianas debe realizarse dentro de la cámara de bioseguridad.
4. Las cepas deben ser debidamente identificadas, por medio de una etiqueta que debe incluir: nombre, género, lote, fecha de propagación, fecha de caducidad, condiciones de almacenamiento.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

- Pipetas Morh
- Placas petri
- Tubos de ensayo
- Porta y cubre objetos
- Asas desechables
- Bandeja
- Mechero

Reactivos

- Lugol
- Safranina

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

- Cristal violeta
- Alcohol-cetona

Equipo

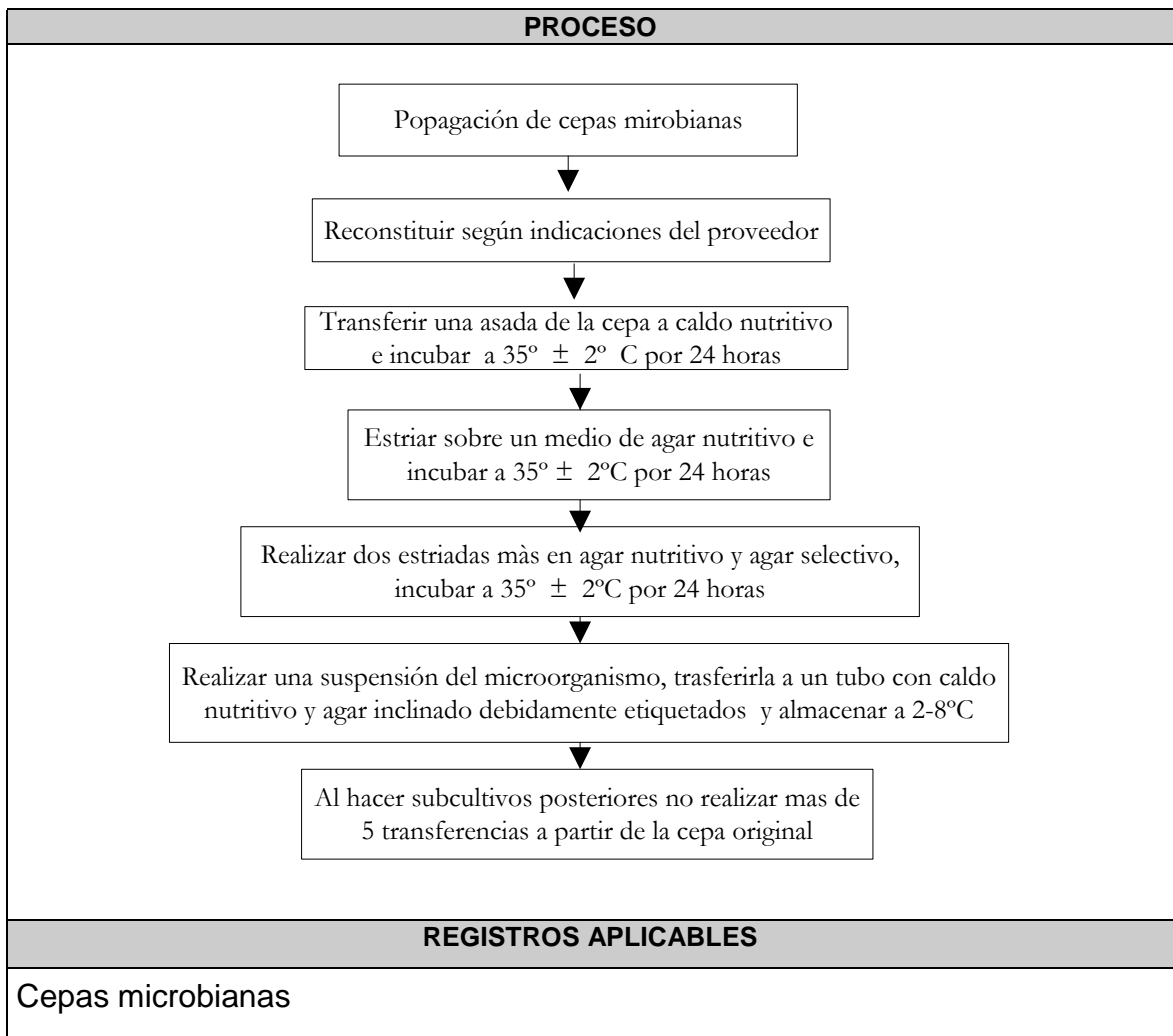
- Incubadora
- Aparato cuenta colonias
- Microscopio
- Cámara de bioseguridad
- Refrigeradora

Medios de cultivo

- Agar nutritivo
- Caldo nutritivo
- Agar selectivo

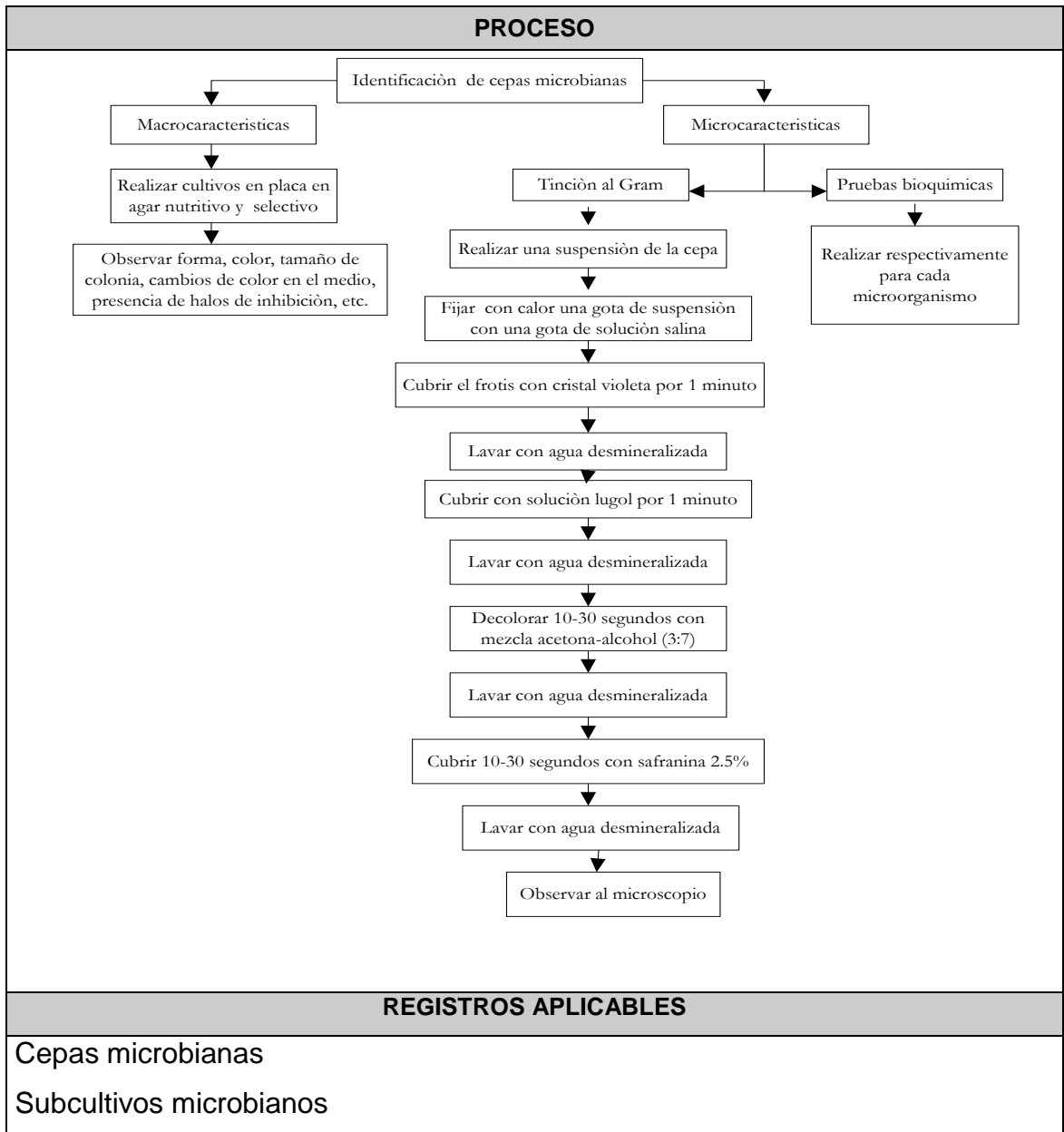
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 6 de 6 Código:
CEPAS MICROBIANAS	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LIMITES

La macro-micro morfología y pruebas bioquímicas deben corresponder a la cepa microbiana evaluada.

I. BIBLIOGRAFÍA

1. ENAC (Entidad Nacional de la Acreditación Esp) 2000 Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos 3 ed.
2. Jawetz E. y otros.1999 microbiología medica 16 ed. México D.F. Manual moderno.
3. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

J. ANEXOS

No aplica.

REGISTRO	Código
CEPAS MICROBIANAS	Edición Fecha de revisión

INFORMACIÓN GENERAL

Nombre	
Procedencia	
Lote	
Fecha de vencimiento	
Observación	

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Prueba	Especificaciones	Resultado
Medio selectivo		
Tinción al Gram.		
Pruebas bioquímicas		

5.4.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
CEPAS MICROBIANAS	Edición Fecha de revisión

INFORMACIÓN GENERAL

Nombre	<i>Staphylococcus aureus</i>
Procedencia	ATCC 29737
Lote	3123479
Fecha de vencimiento	12/07
Observación	Calidad: cepa pura.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Prueba	Especificaciones	Resultado
Medio selectivo	Colonias redondas, color negro brillante, rodeadas por una zona clara de inhibición.	Conforme
Agar Baird Parker		
Tinción al Gram.	Cocos, Gram. (+) en forma de racimos	Conforme
Pruebas bioquímicas		
Coagulasa	Gelificación del plasma. Positivo	Conforme
Catalasa	Producción de burbujas. Positivo	Conforme

REGISTRO	Código
SUBCULTIVOS DE CEPAS MICROBIANAS	Edición Fecha de revisión

INFORMACIÓN GENERAL

CEPA	<i>Staphylococcus aureus</i>
Lote	3123479
Procedencia	ATCC 29737
fecha de vencimiento	12/07

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Fecha		13/01/06	24/02/06	15/03/06	20/04/06
Prueba	Especificaciones	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado
Medio de cultivo selectivo	Colonias redondas, color negro brillante, rodeadas por una zona clara de inhibición.	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Baird Parker					
Tinción al Gram	Cocos, Gram. (+) en forma de racimos	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Pruebas bioquímicas					
Coagulasa	Gelificación del plasma. Positivo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Catalasa	Producción de burbujas. Positivo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

CEPAS MICROBIANAS

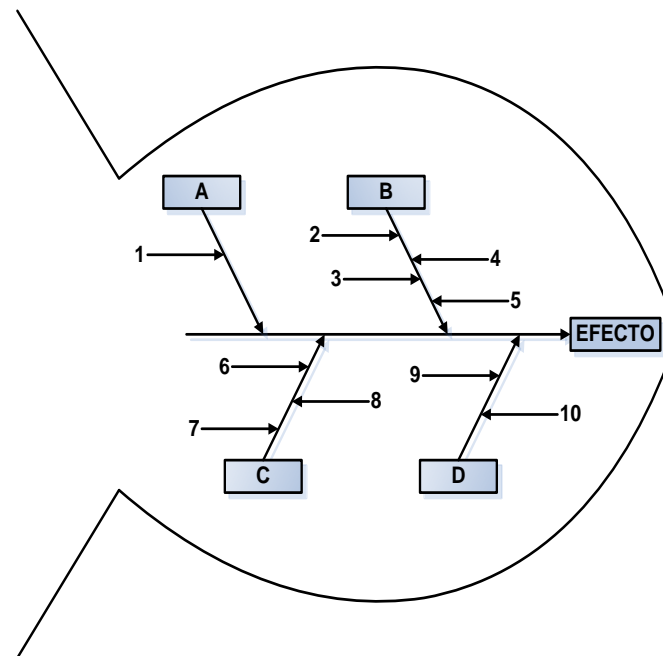
Las cepas microbianas se evalúan periódicamente a lo largo de su vida útil, por medio de sus características morfológicas. Constatando la tipología específica por inoculación en medios nutritivos y selectivos; y utilizando técnicas comprobatorias como tinción al Gram y pruebas bioquímicas.

En la evaluación de las cepas utilizadas en el laboratorio de análisis microbiológico, los datos obtenidos se encuentran de acuerdo a los parámetros específicos para cada una de las cepas.

5.5 REACTIVOS AUXILIARES

5.5.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA		EFECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	
A. Personal	1. Calificación	Cambio en características físicas
B. Proceso de preparación	2. Cristalería	
	3. Agua desmineralizada	
	4. Homogenización	
	5. Valor de pH	
C. Equipo	6. Calibración	Caracterización microbiana atípica
	7. Mantenimiento	
	8. Verificación	
D. Almacenamiento	9. Fecha de expiración	
	10. Condiciones ambientales	



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de compra y existencia de reactivos

Procedimiento y registro de preparación, almacenamiento y verificación de reactivos

Figura No. 5: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: *REACTIVOS AUXILIARES*.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Reactivos auxiliares.

Los reactivos utilizados en el laboratorio de análisis microbiológico son escasos, sin embargo requieren de control, principalmente los preparados en el laboratorio, cuyo proceso debe realizarse en cristalería y agua desmineralizada evaluada previamente, los cuales deben ser preparados por personal calificado bajo procedimientos escritos.

Los reactivos deben estar identificados conteniendo: fecha de preparación y expiración, condiciones de almacenamiento, etc.

Los reactivos utilizados para tinción de microorganismos debe evaluarse con su puesta en uso y luego periódicamente para garantizar su calidad.

5.5.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 5 Código:
REACTIVOS AUXILIARES	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para la preparación, almacenamiento y verificación de los reactivos utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica a los reactivos utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. La adquisición de reactivos auxiliares será registrada “registro compra de reactivos auxiliares” y se realizará control de calidad antes de su puesta en uso.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.

D. RESPONSABILIDADES

5. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
6. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 5 Código:
REACTIVOS AUXILIARES	No. de edición: Fecha de revisión:

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

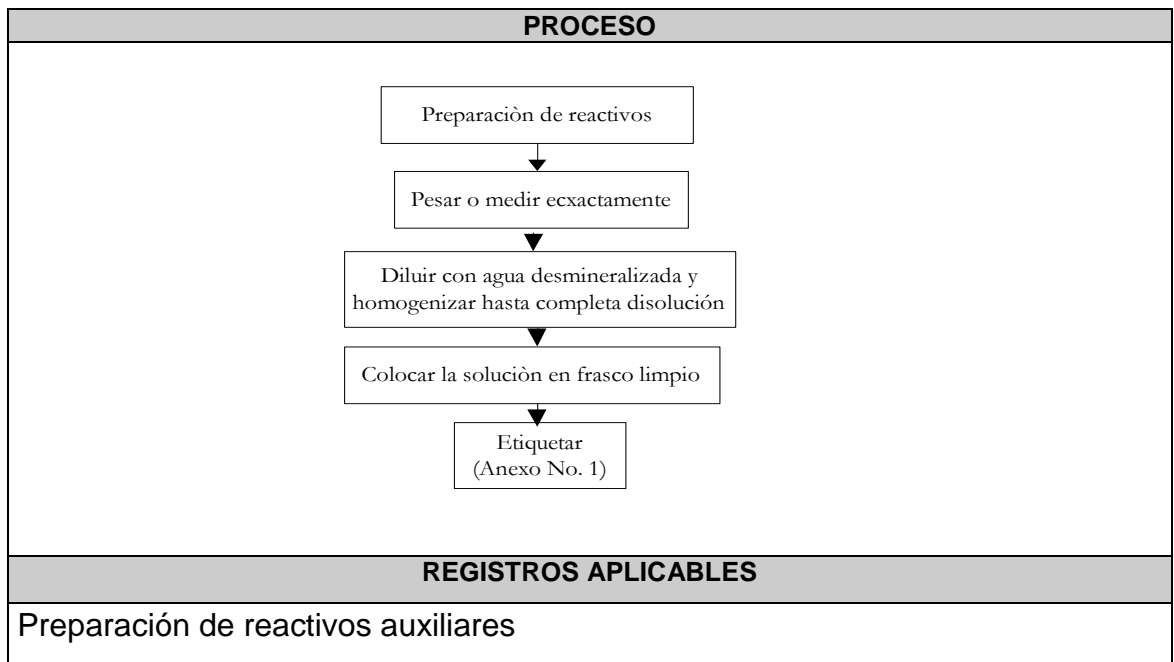
- Frascos
- Tubos
- Balones volumétricos
- Pipetas Morh
- Beakers

Equipo

- Balanza granataria o semianalitica
- Potenciómetro
- Refrigeradora
- Agitador mecánico

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 5 Código:
REACTIVOS AUXILIARES	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO



G. CONTROL DE CALIDAD

Todos los reactivos adquiridos deben tener su certificado de control de calidad y verificar por medio de inspección visual sus características físicas, cuando sea necesario también debe evaluarse sus propiedades físicas y microbiológicas cuando aplique.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 5 Código:
REACTIVOS AUXILIARES	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LÍMITES

Deben cumplir con lo declarado en el certificado de calidad y producir el efecto esperado de acuerdo a su uso.

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

J. ANEXOS

Anexo No. 1 Etiqueta para frasco que contenga reactivo

Nombre y concentración del reactivo
Fecha de preparación:
Fecha de vencimiento:
Condiciones de almacenamiento:
Preparado por: Nombre técnico

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 5 Código:
REACTIVOS AUXILIARES	No. de edición: Fecha de revisión:

Anexo No. 2
Lista de reactivos auxiliares usados comúnmente en el laboratorio
de análisis microbiológico

- Hidróxido de sodio 1N TS
- Acido clorhídrico 1N TS
- Acido tartárico
- Cloruro de sodio
- Solución buffer pH 7.2
- Reactivos de tinción al Gram
- Azul de bromotimol

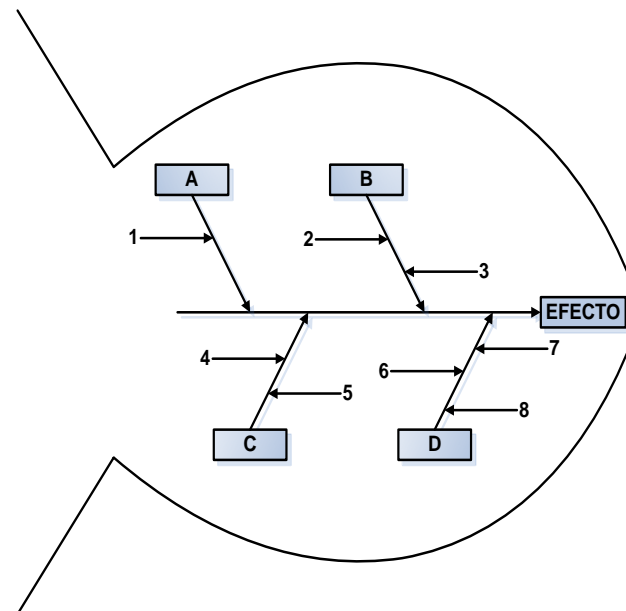
REGISTRO	Código
COMPRA DE REACTIVOS AUXILIARES	Edición Fecha de revisión

FECHA	NOMBRE	LOTE	FABRICACIÓN/ VENCIMIENTO	CANTIDAD	PROVEEDOR	DIRECCIÓN/TELÉFONO
OBSERVACIÓN:						

5.6 DESINFECTANTES

5.6.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA		EFEECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	Contaminación ambiental
A. Personal	1. Calificación	
B. Proceso de preparación	2. Cristalería	
	3. Agua desmineralizada	
C. Frecuencia de uso	4. Resistencia microbiana	
	5. Espectro antimicrobiano	
D. Equipo	6. Calibración	
	7. Mantenimiento	
	8. Verificación	



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de compra y existencia de desinfectantes

Procedimiento y registro de preparación, almacenamiento y verificación de desinfectantes

Figura No. 6: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: *DESINFECTANTES*.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Desinfectantes.

Los productos de limpieza conforman un auxiliar indispensable para mantener un ambiente controlado dentro del laboratorio, por eso es importante su evaluación, la que debe realizarse antes de su puesta en uso y comprobar así sus propiedades antimicrobianas. Los desinfectantes deben rotarse periódicamente para evitar la resistencia microbiana y se deben usarse preferiblemente aquellos que difieran entre sí en su mecanismo de acción.

La preparación de las soluciones desinfectantes debe efectuarse para ser utilizada durante un periodo corto, para asegurar su potencial antimicrobiano y evitar el almacenamiento; su elaboración debe llevarse a cabo utilizando agua de comprobada calidad y en recipientes limpios.

La adquisición y existencia de desinfectantes debe registrarse, al igual que la preparación, almacenamiento y verificación de los mismos, para lo cual debe existir un procedimiento establecido.

5.6.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para la preparación, almacenamiento y verificación de soluciones desinfectantes utilizadas en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica a soluciones desinfectantes utilizadas en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. La adquisición de desinfectantes será registrada “registro compra de desinfectantes” y se realizará control de calidad antes de su puesta en uso.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
3. Las soluciones desinfectantes serán rotadas periódicamente cada 3 meses, junto a las soluciones utilizadas para la limpieza del laboratorio de análisis microbiológico.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

- Tubos de ensayo
- Beaker
- Placas petri
- Loops
- Pipetas Morh
- Frasco atomizador

Medios de cultivo

- Caldo Muller Hinton
- Caldo Letten
- Medios selectivos
- Buffer fosfato pH 7.2

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

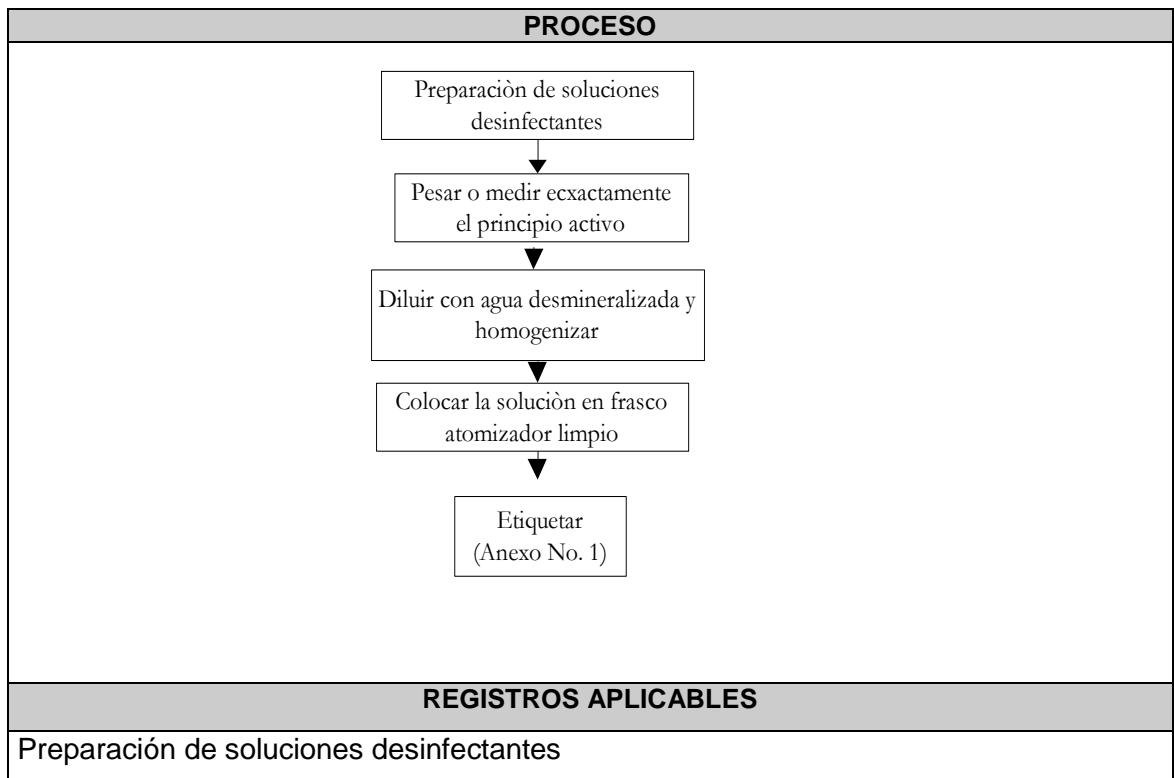
- Caldo LMX
- Agar papa dextrosa
- Tripticasa soya agar

Equipo

- Balanza semianalitica o granataria
- Incubadora
- Aparato cuenta colonias
- Cámara de bioseguridad

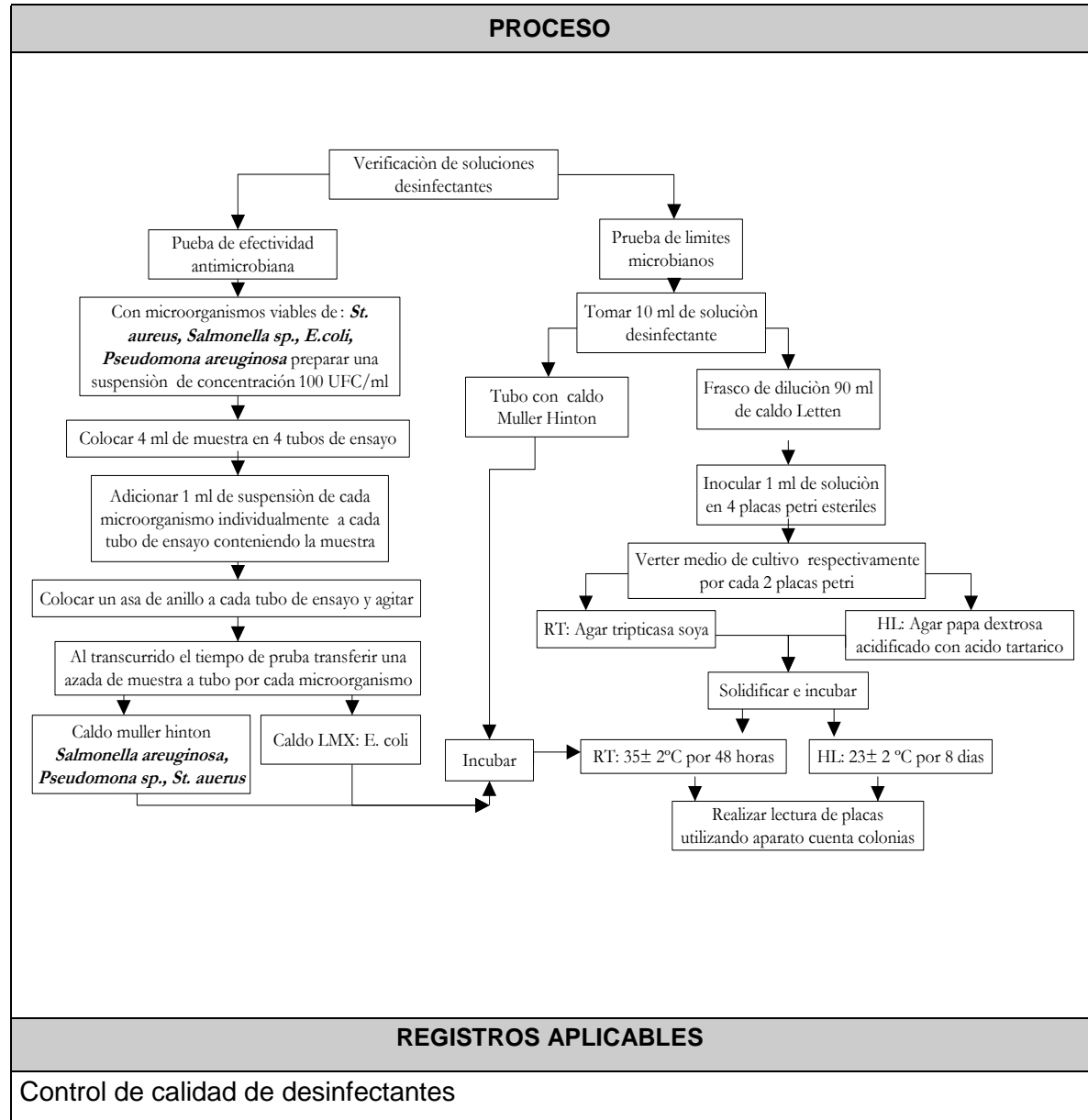
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 8
	Código:
DESINFECTANTES	No. de edición:
	Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



REGISTROS APLICABLES

Control de calidad de desinfectantes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 6 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LIMITES

PRUEBA	LIMITE
Recuento de bacterias heterótrofas mesofilas	Menor a 10 UFC/ml
Recuento total de mohos y levaduras	Menor a 10 UFC/ml
Microorganismos patógenos	Ausencia
Efectividad antimicrobiana Microorganismos prueba: <i>Pseudomona areuginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphilococcus aureus</i> , <i>Salmonella sp.</i> Tiempo de contacto: 5 minutos	No debe presentar turbidez

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

J. ANEXOS

Anexo No. 1 Etiqueta para atomizador que contenga el desinfectante

Nombre y concentración del desinfectante
Periodo de utilización
Preparado por: Nombre técnico

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 8 Código:
DESINFECTANTES	No. de edición: Fecha de revisión:

Anexo No.2

Espectro de actividad, sinergismos y antagonismos de desinfectantes y antisépticos.

DESINFECTANTES	MICROORGANISMOS						
	Bacterias Gram+/Gram-	Microbacterias	Esporas	Hongos	Virus	Antagonismo	Sinergismo
Aldehídos	+++ +++	++	++	++	++	Amoniaco	Humedad >50%
Compuestos clorados	+++ +++	+-	+	++	+	Materia orgánica Tiosulfonatos Sulfuros Sales ferrosas	-----
Compuestos yodados	+++ +++	++	++	+++	+	Materia orgánica Compuestos de Hg Tiosulfonato de sodio	Jabones Amonio cuaternario
Compuestos de amonio cuaternario (cationicos)	+++ +++	++	+-	+-	+-	Materia orgánica	Cresol
Fenoles	+++ +-	+-	+-	++	+-	Materia orgánica Amonio cuaternario Jabones Alcohol para el hexaclorofeno	Sales de sodio y potasio Sales metálicas

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO

Página 8 de 8

Código:

DESINFECTANTES

No. de edición:

Fecha de revisión:

Anexo No.3

Desinfectantes de uso corriente con indicación de las diluciones empleadas, propiedades y posibles aplicaciones (tomada del Manual de Bioseguridad, de la OMS)

	Dilución empleada	Tiempo de contacto 10 min		Microorganismos inactivados				Características principales							Posibles aplicaciones			
		Virus lipídicos	Amplio espectro	Bacterias vegetativas	Virus lipídicos	Virus no lipídicos	Esporas bacterianas	Conservación > 1 semana	Corrosivo	Residuo	Inactivado por la materia orgánica	Irritante cutáneo	Irritante ocular	Irritante respiratorio	Toxico	Superficie de trabajo	Cristalería sucia	Decontaminación de la superficie del equipo
Compuestos de amonio cuaternario	1-20	10	NE	+	+			+			+	+	+	+	+	+	+	
compuestos fenolicos	10-50	10	NE	+	+	..		+	+	+		+	+	+	+	+	+	
Hipocloritos	5-10	10	30	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yodoforos	0.075-16	10	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Alcohol etílico	700-850	10	NE	+	+	..		+					+	+	+	+	+	
Alcohol isopropílico	700-850	10	NE	+	+	..		+					+	+	+	+	+	
Solución de formaldehido	2-80	10	30	+	+	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+	
Glutaraldehido	20	10	30	+	+	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+	

REGISTRO	Código
CONTROL DE CALIDAD DE DESINFECTANTES	Edición Fecha de revisión

FECHA	NOMBRE	PRINCIPIO ACTIVO (nombre y concentración)	LOTE	FECHA FABRICACIÓN/ VENCIMIENTO	PROVEEDOR	LIMITES MICROBIANOS						EFECTIVIDAD MICROBIANA						
						RTB		HL		EC	Salm	St A	Ps A	5 minutos				
														EC	Salm	St A	Ps A	

RTB: Recuento Total de Bacterias
 HL: Recuento de Hongos y Levaduras

Salm.: *Salmonella sp.*
 St. A.: *Staphylococcus Aureus*

Ps. A.: *Pseudomona Areuginosa*
 E. C: *Echerichia Coli*

REGISTRO	Código
COMPRA DE DESINFECTANTES	Edición Fecha de revisión

FECHA	NOMBRE	PRINCIPIO ACTIVO (nombre y concentración)	LOTE	FABRICACIÓN/ VENCIMIENTO	CANTIDAD	PROVEEDOR	DIRECCIÓN/TELÉFONO

OBSERVACIÓN:

5.6.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
CONTROL DE CALIDAD DE DESINFECTANTES	Edición Fecha de revisión

FECHA	NOMBRE	PRINCIPIO ACTIVO (nombre y concentración)	LOTE	FECHA FABRICACIÓN/ VENCIMIENTO	PROVEEDOR	LIMITES MICROBIANOS						EFECTIVIDAD MICROBIANA					
						RTB		HL		EC	Salm	St A	Ps A	5 minutos			
														EC	Salm	St A	Ps A
191006	Etanol 90º	Etanol	01003	-----	<i>Confidencial</i>	0	0	0	0	-	-	-	-	C	C	C	C
191006	Gluconato de clorhexidina 10%	Gluconato de clorhexidina	D908 03/06 03/08	0		0	0	0	-	-	-	-	C	C	C	C	
191006	IPA 70%	Isopropanol	A-7H1	-----		0	0	0	0	-	-	-	-	C	C	C	C

RTB: Recuento Total de Bacterias
 HL: Recuento de Hongos y Levaduras
 C: Conforme

Salm.: *Salmonella sp.*
 St. A.: *Staphylococcus Aureus*
 NC: No conforme

Ps. A.: *Pseudomona Areuginosa*
 E. C.: *Echerichia Coli*

DESINFECTANTES

Las soluciones desinfectantes utilizadas en el laboratorio de análisis microbiológico, fueron evaluadas a las concentraciones utilizadas, determinando posible carga microbiana, por medio de técnica de vertido en placa, evaluando bacterias, mohos y presencia de microorganismos patógenos.

Posteriormente se determino el grado de efectividad ante microorganismos patógenos en un tiempo establecido de 5 minutos.

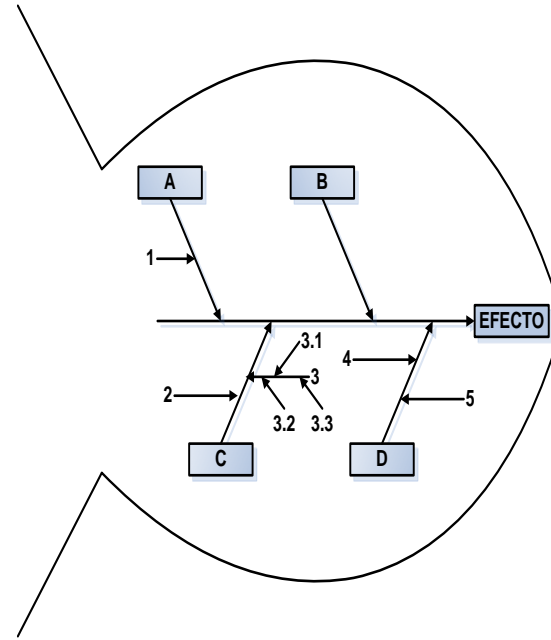
De acuerdo a los límites establecidos en el “*procedimiento específico DESINFECTANTES*” las soluciones desinfectantes evaluadas se encuentran conforme a las especificaciones.

PRUEBA	LIMITE
Recuento de bacterias heterótrofas mesofilas	Menor a 10 UFC/ml
Recuento total de mohos y levaduras	Menor a 10 UFC/ml
Microorganismos patógenos	Ausencia
Efectividad antimicrobiana Microorganismos prueba: Pseudomona areuginosa, Escherichia coli, Staphilococcus aureus, Salmonella sp. Tiempo de contacto: 5 minutos	No debe presentar turbidez

5.7 AGUA DESMINERALIZADA

5.7.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFEECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	TERCIARIA	
A. Personal	1. Calificación		Valor de pH incorrecto
B. Proceso de desmineralización			
C. Proceso de esterilización	2. Indicadores biológicos/químicos		Cambio en características físicas de medios de cultivo
	3. Equipo	3.1 Tiempo	
		3.2 Precisión	
3.3 Temperatura			
D. Almacenamiento	4. Fecha pos-esterilización		
	5. Contenedores		



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de controles fisicoquímicos y microbiológicos

Figura No. 7: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: AGUA DESMINERALIZADA.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Agua desmineralizada.

Como todos los insumos utilizados en los procesos microbiológicos el agua debe cumplir también con un nivel de calidad requerido para su uso, por lo que es necesario evaluar sus características fisicoquímicas y microbiológicas, de acuerdo a un procedimiento establecido.

El agua también se utiliza en forma estéril para la preparación de medios que no se someten a esterilización o como diluyente, por lo que es necesario monitorear el proceso de esterilización que incluye el funcionamiento del autoclave, y la utilización de indicadores biológicos y/o químicos.

El agua procesada debe almacenarse en contenedores limpios, que indiquen el tipo de agua contenida; si el agua es estéril debe indicar la fecha de esterilización y vencimiento.

5.7.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para el almacenamiento y verificación del agua desmineralizada utilizada en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica al agua desmineralizada utilizada en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. Este procedimiento será efectuado por el personal técnico y supervisado por el jefe del laboratorio.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

- Tubos de ensayo
- Beakers
- Pinzas
- Tijeras
- Pipetas Morh
- Placas petri

Medios de cultivo

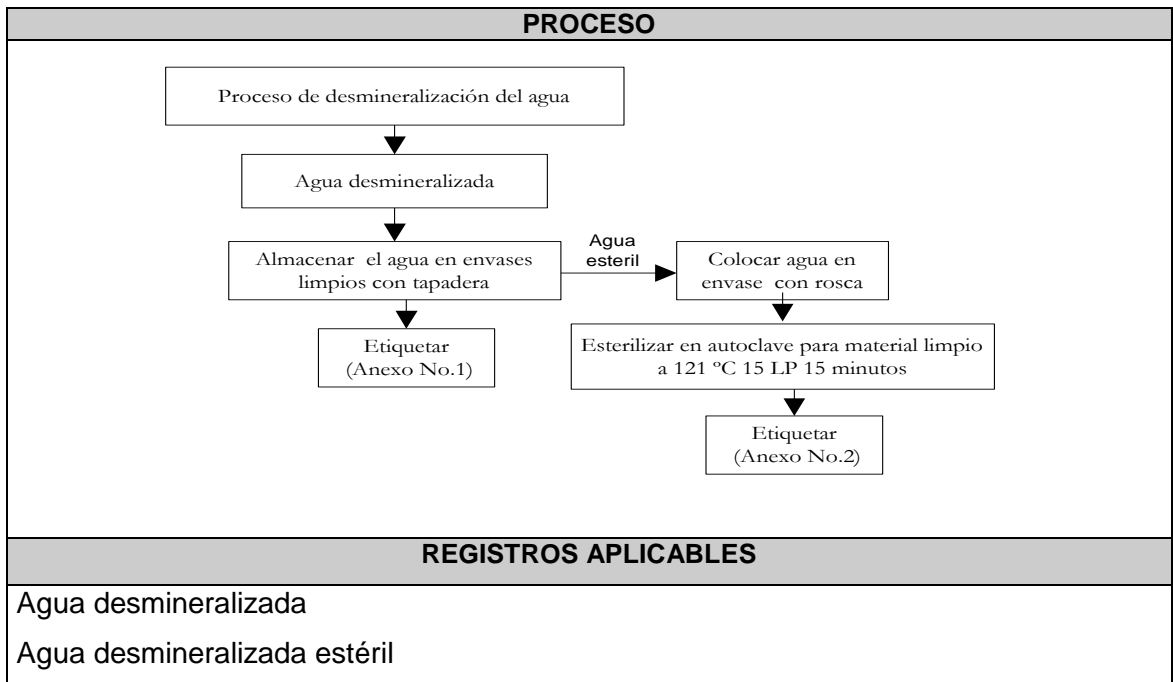
- Caldo LMX
- Caldo EC
- Agar cuenta placas
- Caldo Tioglicolato
- Caldo tripticasa soya

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

Equipo

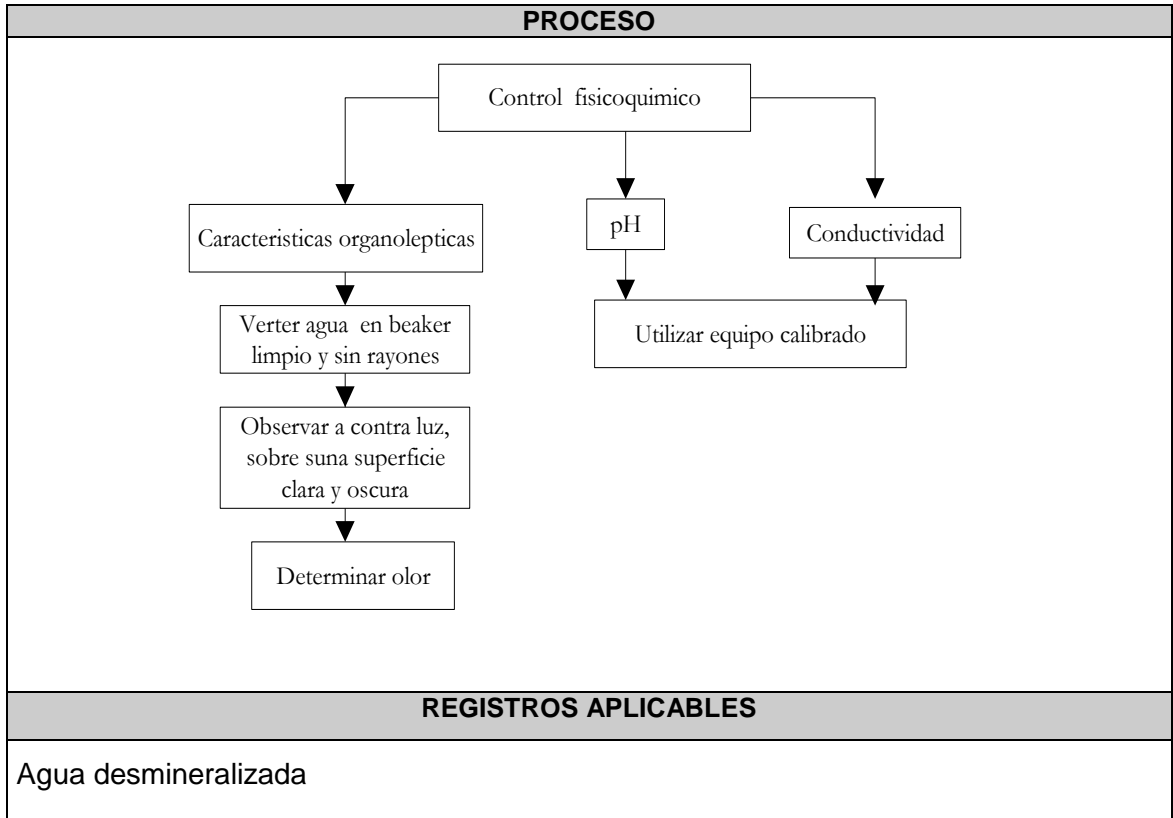
- Incubadora
- Equipo de filtración por membrana
- Aparato cuenta colonias
- Conductivímetro
- Potenciómetro

F. SISTEMA OPERATIVO

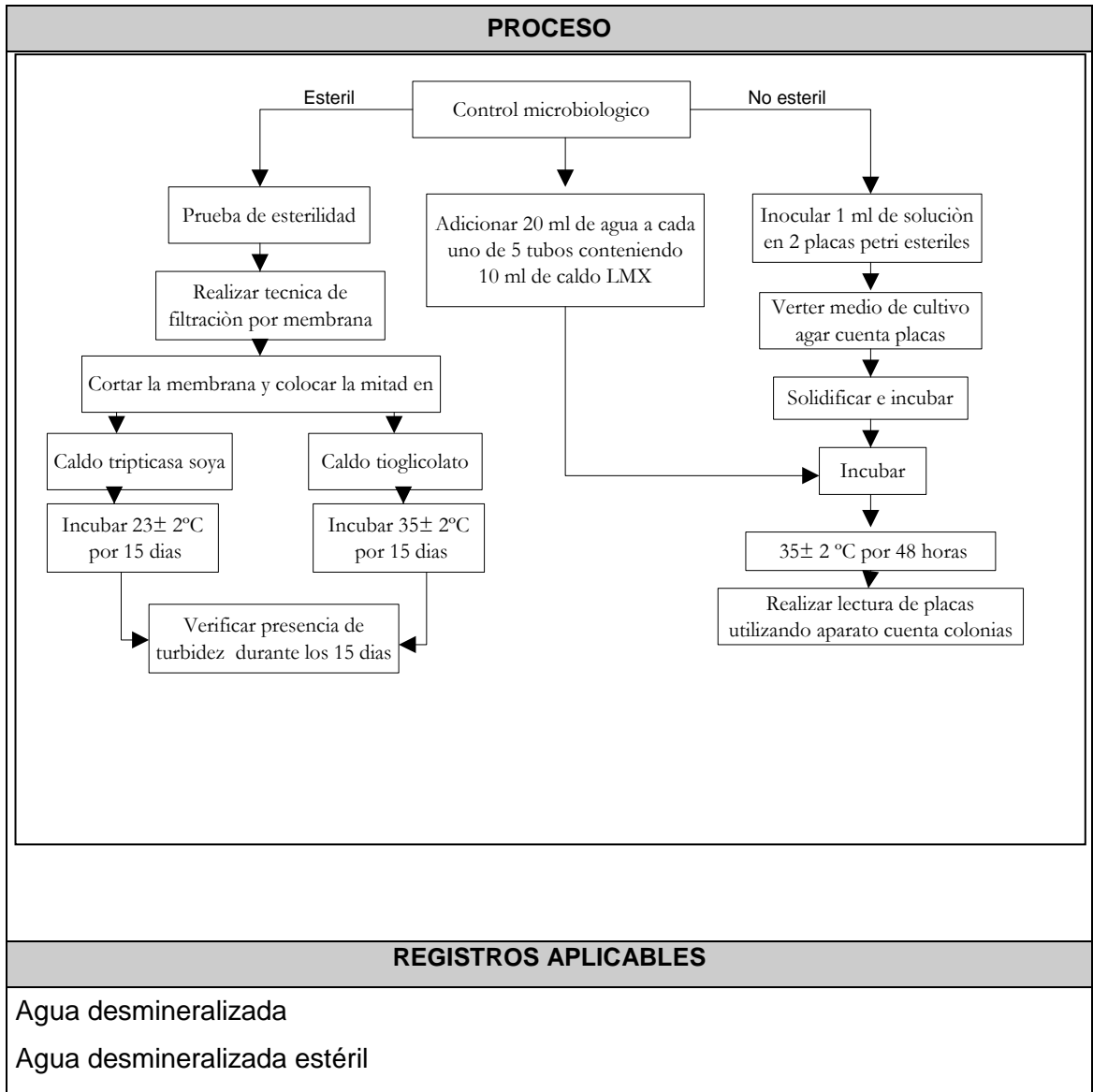


PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 7
	Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición:
	Fecha de revisión:



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 6 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LÍMITES

Determinaciones físicas

PRUEBA	LÍMITES
Características organolépticas	Incolora, inodora, libre de partículas extrañas
Conductividad	0.1-1.0 $\mu\text{s cm}^{-1}$
pH	6.0 - 8.0

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Devosa M. y otros 1976. Control de calidad durante la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos 1 ed. Madrid Esp. Castilla.
2. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7 ed. México 2000 Publicaciones e impresiones de calidad Tomo 1.
3. Garfield F. 1993 Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos, 1 ed. editado por la AOAC internacional (Association of official analytical chemists) Trad. UNA García.
4. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.
5. Lara G. y otros Manual del proceso integral del control de calidad en microbiología (en línea). Disponible en: http://www.memorias_gif

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 7 Código:
AGUA DESMINERALIZADA	No. de edición: Fecha de revisión:

6. The United States Pharmacopeical Convention. The United States Pharmacopeia 25 ed National formulary 20.

J. ANEXOS

Anexo No. 1 **Etiqueta para envases que contengan agua desmineralizada**

Nombre: Agua desmineralizada Fecha de desmineralización:

Anexo No. 2 **Etiqueta para envases que contengan agua desmineralizada estéril**

Nombre: Agua desmineralizada estéril Fecha de esterilización: Fecha de vencimiento: Nombre del técnico:
--

REGISTRO	Código
AGUA DESMINERALIZADA	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones				
DETERMINACIONES FÍSICAS				
Características organolépticas				
Conductividad				
pH				

DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

RTB			LMX	EC	RTB			LMX	EC	RTB			LMX	EC	
		T ₁					T ₁					T ₁			
Directo					Directo					Directo					
P ₁	P ₂	T ₃			P ₁	P ₂	T ₃			P ₁	P ₂	T ₃			
		T ₄					T ₄					T ₄			
		T ₅					T ₅					T ₅			
RESULTADO				RESULTADO				RESULTADO				RESULTADO			

T_x / P_x: Tubo / Placa No. x
N: No presenta cambio el medio de cultivo

RTB: Recuento total de bacterias mesofilas aerobias

REGISTRO	Código
AGUA DESMINERALIZADA ESTÉRIL	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones				
ESTERILIZACIÓN				
Autoclave	Código:	Código:	Código:	Código:
	Código:	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min)				
Temperatura (°C)				
Presión (lb/P)				
<i>Indicador biológico</i>				
Marca				
Lote				
Fecha de vencimiento				
Produce color morado	SI	NO	SI	NO
<i>Indicador químico</i>				
Lote				
Fecha vencimiento				
Produce color negro	SI	NO	SI	NO
DETERMINACIONES FÍSICAS				
pH antes				
pH después				
DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS				
Esterilidad				
Observación:				

5.7.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
AGUA DESMINERALIZADA	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones	07/08/06	04/09/06	02/10/06	06/11/06
DETERMINACIONES FÍSICAS				
Características organolépticas	Líquido transparente, incoloro	Líquido transparente, incoloro	Líquido transparente, incoloro	Líquido transparente, incoloro
Conductividad	0.5 $\mu\text{s cm}^{-1}$	0.3 $\mu\text{s cm}^{-1}$	0.3 $\mu\text{s cm}^{-1}$	0.3 $\mu\text{s cm}^{-1}$
pH	6.5	6.5	6.7	6.5

DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS

RTB		LMX	EC	RTB		LMX	EC	RTB		LMX	EC	RTB		LMX	EC				
	T ₁	N	N		T ₁	N	N		T ₁	N	N		T ₁	N	N				
Directo		T ₂	N	N	Directo		T ₂	N	N	Directo		T ₂	N	N	N				
P ₁	P ₂	T ₃	N	N	P ₁	P ₂	T ₃	N	N	P ₁	P ₂	T ₃	N	N	N				
0	0	T ₄	N	N	0	0	T ₄	N	N	0	0	T ₄	N	N	0	0	T ₄	N	N
		T ₅	N	N			T ₅	N	N			T ₅	N	N					
RESULTADO				RESULTADO				RESULTADO				RESULTADO							
Conforme				Conforme				Conforme				Conforme							

T_x / P_x: Tubo / Placa No. x

N: No presenta cambio el medio de cultivo

RTB: Recuento total de bacterias mesofilas aerobias

AGUA DESMINERALIZADA

El agua desmineralizada obtenida dentro del laboratorio se evalúa periódicamente física y microbiológicamente, manteniendo un registro de la calidad que presenta, por medio de la evaluación microbiológica que comprende el recuento total de bacterias por técnica de placa vertida, coliformes totales y fecales por medio de número más probable.

Los datos obtenidos en la evaluación de las características organolépticas y propiedades físicas se encuentran conforme a los límites establecidos en el *“procedimiento específico AGUA DESMINERALIZADA”*

PRUEBA	LIMITES
Características organolépticas	Incolora, inodora, libre de partículas extrañas
Conductividad	0.1-1.0 $\mu\text{s cm}^{-1}$
pH	6.0 - 8.0

REGISTRO	Código
AGUA DESMINERALIZADA ESTÉRIL	Edición Fecha revisión de

Fecha/ Determinaciones	28/08/06	04/09/06	22/09/06	20/10/06
ESTERILIZACIÓN				
Autoclave	Código: MICAU0198	Código: MICAU0198	Código: MICAU0198	Código: MICAU0198
	Código:	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min.)	15	15	15	15
Temperatura (°C)	121	121	121	121
Presión (lb/P)	15	15	15	15
<i>Indicador biológico</i>				
Marca	3 M	3 M	3 M	3 M
Lote	20804JB	20804JB	20804JB	20804JB
Concentración	4.2×10^{-5}	4.2×10^{-5}	4.2×10^{-5}	4.2×10^{-5}
Fecha de vencimiento	04/2008	04/2008	04/2008	04/2008
Produce color morado	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
<i>Indicador químico</i>				
Lote	20807AB	20807AB	20807AB	20807AB
Marca	3 M	3 M	3 M	3 M
Produce color negro	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
DETERMINACIONES FÍSICAS				
pH antes	6.5	6.5	6.5	6.5
pH después	6.8	6.8	6.8	6.8
DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS				
Esterilidad	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Observación:				

AGUA ESTÉRIL

El agua desmineralizada luego de la evaluación inicial y posterior al proceso de esterilización debe cumplir con los parámetros de calidad establecidos.

De esta manera se comprueba que el proceso de esterilización es efectivo, manteniendo constantes las condiciones del autoclave en cada carga del proceso de esterilización: tiempo: 15 minutos, temperatura: 121°C, presión: 15 LP, por medio de indicadores químico/físicos y/o biológicos, obteniendo el viraje de color en la cinta indicadora de incoloro a negro y la ausencia de viraje de color en el indicador biológico.

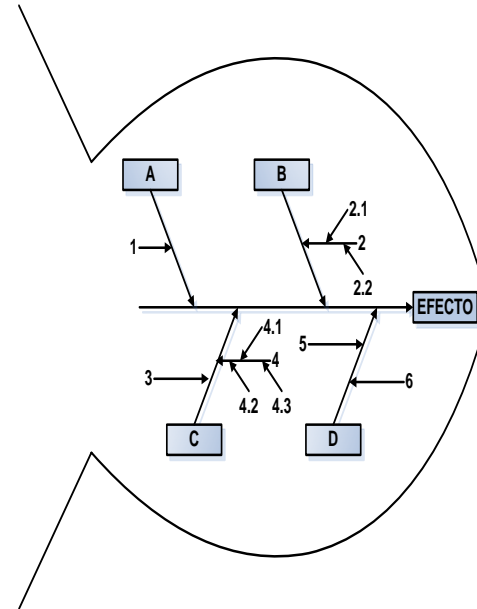
Al realizar la prueba de esterilidad, por técnica de filtración por membrana y posterior método turbidimétrico; al cabo de 14 días no se observa turbidez en los tubos de tioglicolato incubados a $24^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y tripticasa soya incubados a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

De igual manera se determinó el valor de pH obtenido antes y después del proceso de esterilización.

5.8 CRISTALERÍA

5.8.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	TERCIARIA	
A. Personal	1. Calificación		Valor de pH incorrecto
B. Proceso de lavado	2. Valor de pH	2.1. Detergente	
		2.2. Agua desmineralizada	
C. Proceso de esterilización	3. Indicadores biológicos/químicos		Crecimiento microbiano atípico, pobre o intenso
	4. Equipo	4.1. Tiempo	
		4.2. Presión	
		4.3. Temperatura	
D. Almacenamiento	5. Fecha pos-esterilización		
	6. Humedad		



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de compra y existencia de cristalería

Procedimiento de lavado, esterilización y almacenamiento de cristalería

Figura No. 8: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE MATERIALES: CRISTALERÍA.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable materiales: Cristalería.

La cristalería a utilizar en un laboratorio de análisis microbiológico debe cumplir con los factores de calidad requeridos, cuyas especificaciones deben registrarse y llevarse a cabo mediante procedimientos escritos y establecidos.

Es importante que el material de vidrio adquirido corresponda idealmente al tipo A, y que se encuentre en perfecto estado sin ranuras, o astillado.

El proceso de lavado debe ser tal que al finalizar el valor de pH corresponda al neutro, en el que se debe considerar la utilización de detergentes aniónicos y agua de comprobada calidad; pero, el lavado no basta, y al tratarse de ensayos microbiológicos se requiere además, de la esterilización del material, y para llevarlo a cabo se debe designar el proceso de esterilización a realizar, es aquí que debe controlarse el tiempo, presión y temperatura en que se ejecuta y verificar por medio de indicadores químicos y/o biológicos sometidos simultáneamente con cada lote al proceso de esterilización; cada lote de material sometido a esterilización debe identificarse con nombre, fecha de esterilización y vencimiento. El material esterilizado debe almacenarse en un lugar apropiado protegido de humedad

Es importante registrar cada operación de acuerdo a un procedimiento establecido y documentado.

Debe destinarse un autoclave exclusivamente para material contaminado que será autoclavado antes de lavarse o desecharse.

El personal a cargo debe estar capacitado para el tratamiento correcto de material contaminado y manejo del equipo, cuyas instrucciones operativas deben estar plasmadas en documentos a su alcance.

5.8.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 181 de 7 Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para el lavado, preparación, almacenamiento y verificación de la cristalería e insumos utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica a la cristalería e insumos utilizados en un laboratorio de análisis microbiológico.

C. POLÍTICAS

1. La adquisición de cristalería e insumos serán registrados “registro compra de cristalería e insumos”.
2. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
3. El material esterilizado se almacenará en lugar destinado y debidamente identificado, libre de humedad.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 182 de 7 Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición: Fecha de revisión:

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

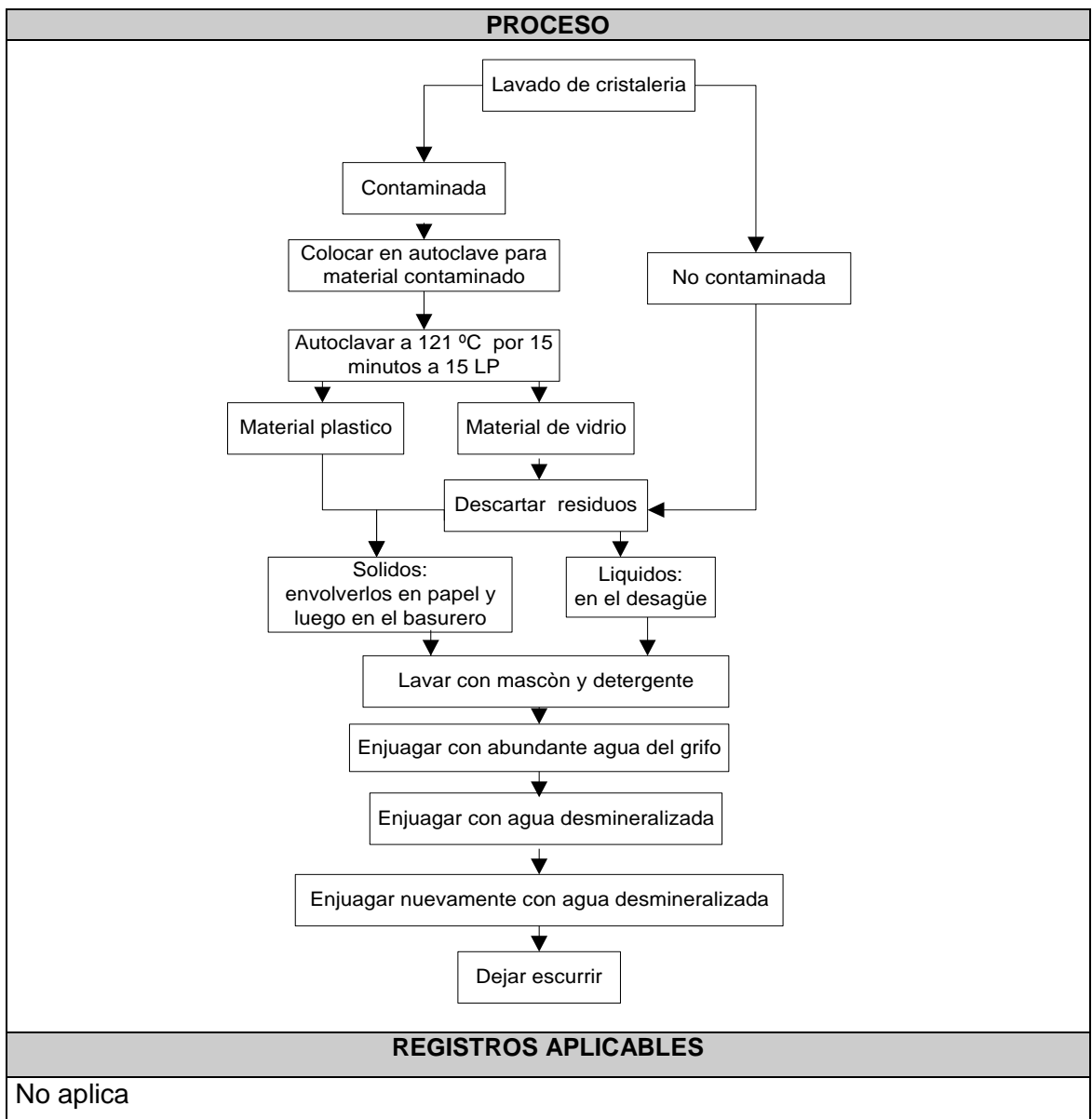
- Papel de empaque
- Indicadores químicos
- Indicadores biológicos
- Tirro

Equipo

- Autoclaves
- Horno eléctrico

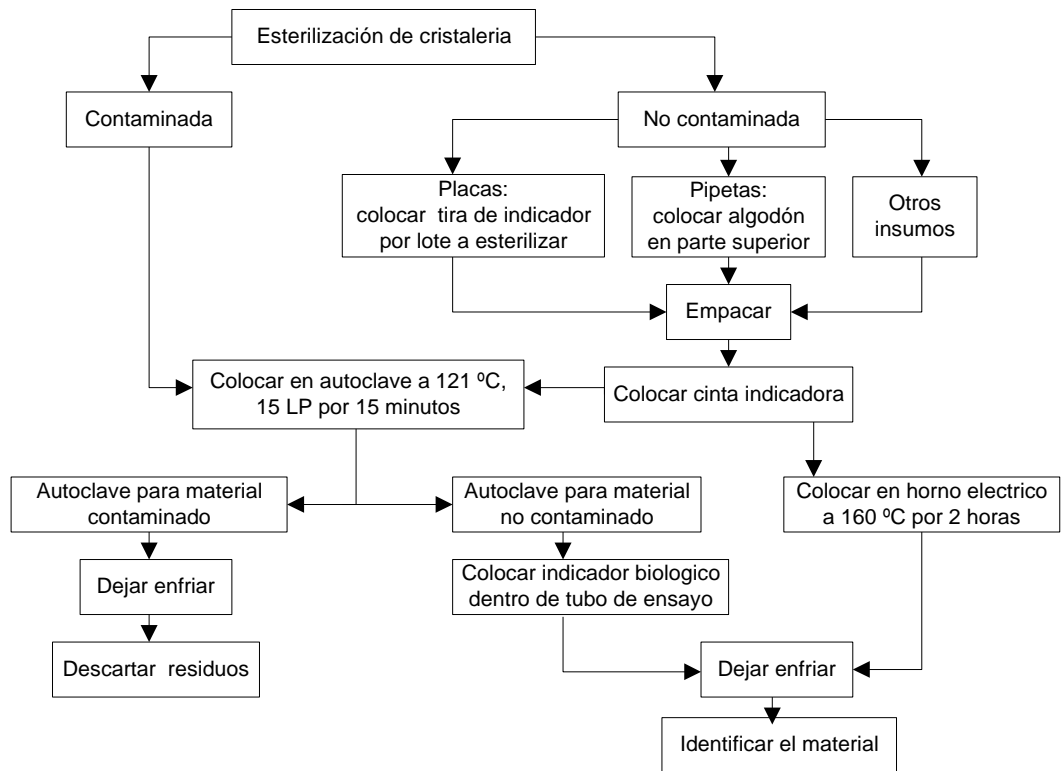
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 183 de 7 Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 7
	Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición:
	Fecha de revisión:

PROCESO

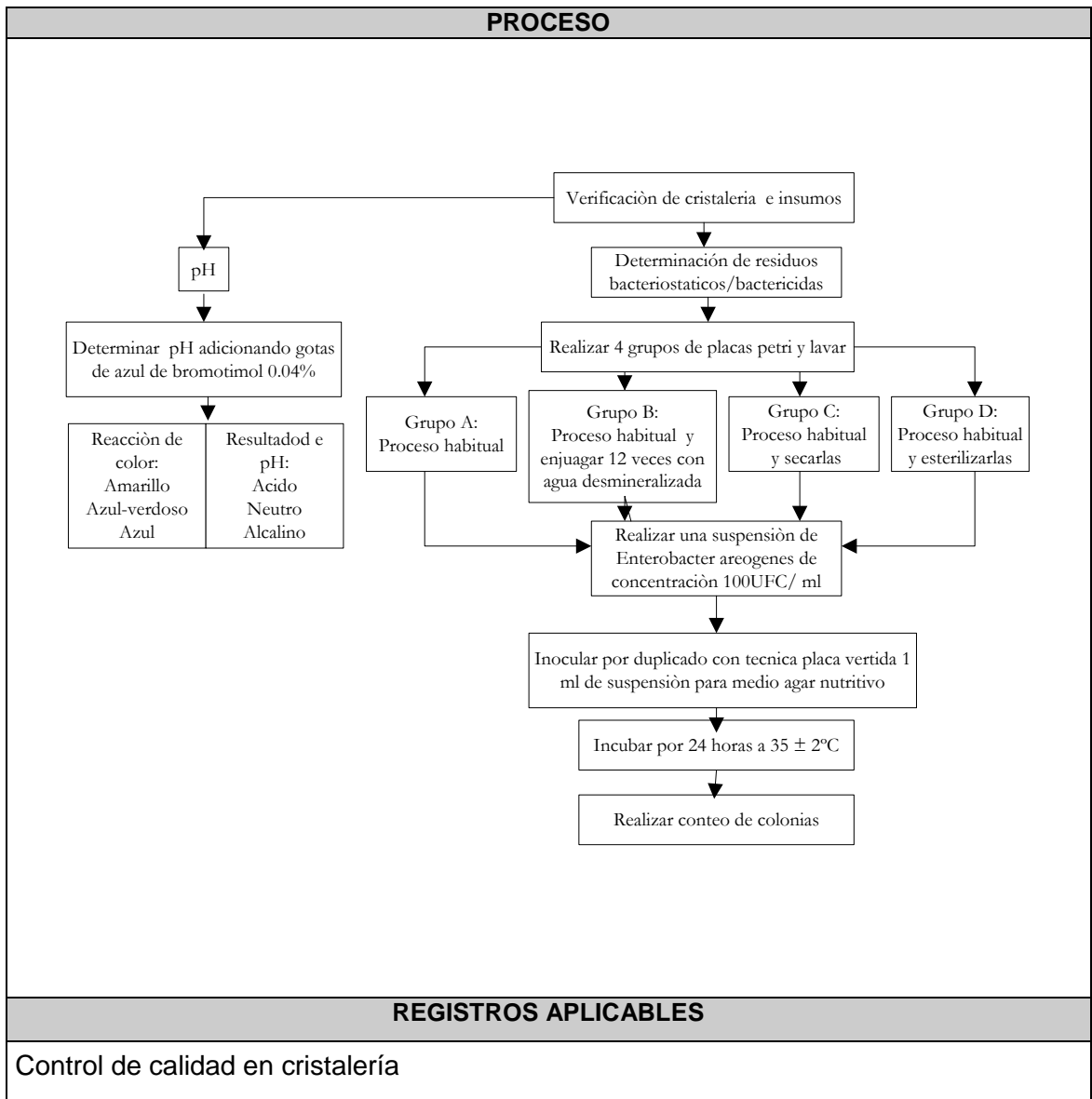


REGISTROS APLICABLES

Esterilización de cristalería e insumos

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 7
	Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición:
	Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 186 de 7 Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición: Fecha de revisión:

H. LÍMITES

DETERMINACIÓN	LÍMITE
pH	Neutro
Esterilidad	Debe ser estéril
Toxicidad residual	Ausente

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Devosa M. y otros 1976. Control de calidad durante la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos 1 ed. Madrid Esp. Castilla.
2. ENAC (Entidad Nacional de la Acreditación Esp) 2000 Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos 3 ed.
3. Garfield F. 1993 Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos, 1 ed. editado por la AOAC internacional (Association of official analytical chemists) Trad. UNA García.
4. ISO (Organización Internacional de Normalización) 1999 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo 1 ed La Paz Co.
5. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 7 Código:
CRISTALERÍA E INSUMOS	No. de edición: Fecha de revisión:

J. ANEXOS

Anexo No. 1 Determinación de sustancias bactericidas y bacteriostáticas en placas petri.

Diferencia de recuento de UFC	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Resultado
Menor al 15% (X)	X	X	X	X	No existe residuo de detergente con propiedades bactericidas o bacteriostáticas
Mayor al 15% (X)	X	X	X	X	Presencia de residuos inhibitorios en el detergente
Menor al 15% (X) y Mayor al 15% (Y)	X Y	X	 Y		Presencia de residuos inhibitorios en el detergente que desaparecen con el lavado habitual del laboratorio

REGISTRO	Código
ESTERILIZACIÓN DE CRISTALERÍA E INSUMOS POR CALOR HÚMEDO	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones			
Insumos			
ESTERILIZACIÓN			
Autoclave	Código:	Código:	Código:
	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min)			
Temperatura (°C)			
Presión (lb/P)			
<i>Indicador biológico</i>			
Marca			
Lote			
Fecha de vencimiento			
Produce color morado	SI	NO	SI NO
<i>Indicador químico</i>			
Lote			
Fecha vencimiento			
Produce color negro	SI	NO	SI NO
DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS			
Esterilidad			
Observación:			

REGISTRO	Código
ESTERILIZACIÓN DE CRISTALERÍA E INSUMOS POR CALOR SECO	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones			
Insumos			
ESTERILIZACIÓN			
Horno mecánico	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min)			
Temperatura (°C)			
<i>Indicador químico</i>			
Lote			
Fecha vencimiento			
Produce color negro	SI	NO	SI NO
DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS			
Esterilidad			
Observación:			

5.8.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
ESTERILIZACIÓN DE CRISTALERÍA E INSUMOS POR CALOR HÚMEDO	Edición Fecha de revisión

Fecha/ Determinaciones	06/04/06	20/07/06	25/10/06
Insumos	Frascos	Frascos Tubos	Frascos
ESTERILIZACIÓN			
Autoclave	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406	Código: MICAU0406
	Código:	Código:	Código:
Tiempo (min)	15	15	15
Temperatura (°C)	121	121	121
Presión (lb/P)	15	15	15
<i>Indicador biológico</i>			
Marca	3M	3M	3M
Lote	200804JB	200804JB	200804JB
Concentración	4.2×10^5	4.2×10^5	4.2×10^5
Produce color morado	SI NO	SI NO	SI NO
<i>Indicador químico</i>			
Lote	200807AB	200807AB	200807AB
Marca	3M	3M	3M
Produce color negro	SI NO	SI NO	SI NO
DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS			
Esterilidad	Conforme	Conforme	Conforme
Observación:			

REGISTRO	Código
CONTROL DE CALIDAD EN CRISTALERÍA	Edición Fecha de revisión

Fecha	Insumos					Determinaciones					Observación
	Placas petri	Pipetas	Frascos	Tubos	Otros	pH			Toxicidad residual	Esterilidad	
						Acido	Neutro	Alcalino			
						amarillo	azul/ verde	azul			
240106				x			x			x	
240106	x						x		x	x	
060406		x					x			x	
060406			x				x			x	
200706		x					x			x	
200706	x						x		x	x	
200706			x				x			x	
200706				x			x			x	
251006	x						x		x	x	
251006			x				x			x	

CRISTALERÍA E INSUMOS

La cristalería utilizada en el laboratorio de análisis microbiológico debe cumplir con las condiciones necesarias de calidad, por lo que requiere de un monitoreo periódico.

La prueba de esterilidad para el material evaluado demostró conformidad. El material evaluado fue enjuagado con agua peptonada y esta se sometió al proceso de filtración por membrana, del cual se obtuvieron resultados que demuestran conformidad con la especificación.

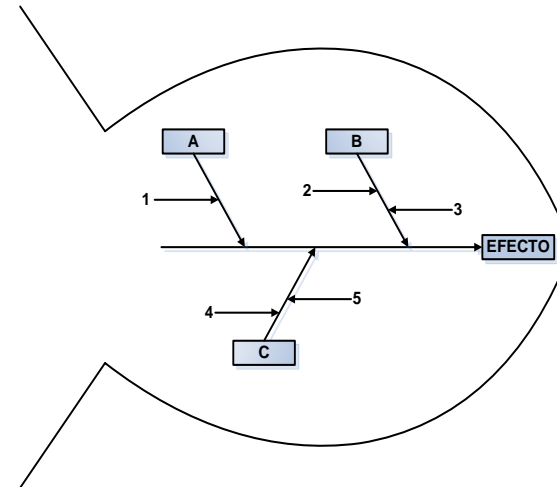
El pH se evaluó por reacción de color con un indicador cromogénico, obteniendo como resultado, luego de enjuague repetidos con agua desmineralizada previamente evaluada, resultados aceptables conforme al *“procedimiento específico CRISTALERÍA E INSUMOS”*.

DETERMINACIÓN	LIMITE
pH	Neutro
Esterilidad	Debe ser estéril
Toxicidad residual	Ausente

5.9 EQUIPOS

5.9.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA		EFECTO
PRINCIPAL	SECUNDARIA	
A. Personal	1. Calificación	Resultados erróneos
B. Calibración	2. Verificación	
	3. Precisión	
C. Mantenimiento	4. Limpieza	
	5. Frecuencia de uso	



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de equipo

Manual de instrucciones de uso, mantenimiento, calibración y verificación de equipo

Procedimiento y registro de temperatura

Figura No. 9: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE EQUIPOS.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable: Equipos.

Los equipos utilizados en el laboratorio de microbiología son diversos y cumplen con una finalidad específica por lo tanto todos deben mantener sus condiciones físicas y técnicas en perfecto estado y estas deben ser monitoreadas diariamente, para los equipos de precisión debe mantenerse un programa de calibración con verificación periódica, contemplado en un registro.

El mantenimiento debe establecerse de acuerdo a la frecuencia de uso, en que se considera la limpieza superficial y la proporcionada por el proveedor en base al mantenimiento externo.

La ubicación de los equipos debe ser tal que proporcione la seguridad del personal y la longevidad del mismo, el flujo del proceso debe facilitarse y no debe obstaculizar el tráfico dentro de las instalaciones.

La manipulación de los equipos debe realizarse por personal capacitado y bajo las instrucciones establecidas en un procedimiento establecido.

Una de las causas principales que incide en los resultados obtenidos son los materiales o insumos utilizados en el desarrollo del proceso analítico, entre los que se encuentran: cristalería, reactivos, agua desmineralizada, cepas microbiana, medios de cultivo y desinfectantes; que serán descritos individualmente a continuación.

5.9.2 Procedimiento específico y registros correspondientes

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 1 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

A. OBJETIVO

Establecer el procedimiento de limpieza, sanitización y verificación de su efectividad en los equipos de un laboratorio de análisis microbiológico.

B. ALCANCE

Se aplica al proceso de limpieza y sanitización realizado en los equipos de un laboratorio de análisis microbiológico y el respectivo monitoreo de superficies y temperatura.

C. POLÍTICAS

1. Las actividades realizadas serán escritas en el registro correspondiente.
2. Los materiales utilizados en el proceso de limpieza en un laboratorio de análisis microbiológico deben ser de tela que no desprenda fibras o mota.
3. El equipo utilizado cotidianamente será limpiado y sanitizado, antes y después de su uso, y/o cuando sea necesario.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 2 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

D. RESPONSABILIDADES

1. Cumplimiento de este procedimiento: Personal técnico.
2. Verificación del cumplimiento de este procedimiento: Jefe del departamento de análisis microbiológico.

E. MATERIALES, REACTIVOS, EQUIPO Y/O MEDIOS DE CULTIVO

Materiales

- Paños que no desprendan mota
- Frascos atomizadores
- Hisopos
- Mascones no abrasivos
- Placas Petri
- Pipetas Morh

Reactivos

- Solución detergente a concentración específica
- Solución sanitizante a concentración específica
- Tubos con solución salina

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 3 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

Medios de cultivo

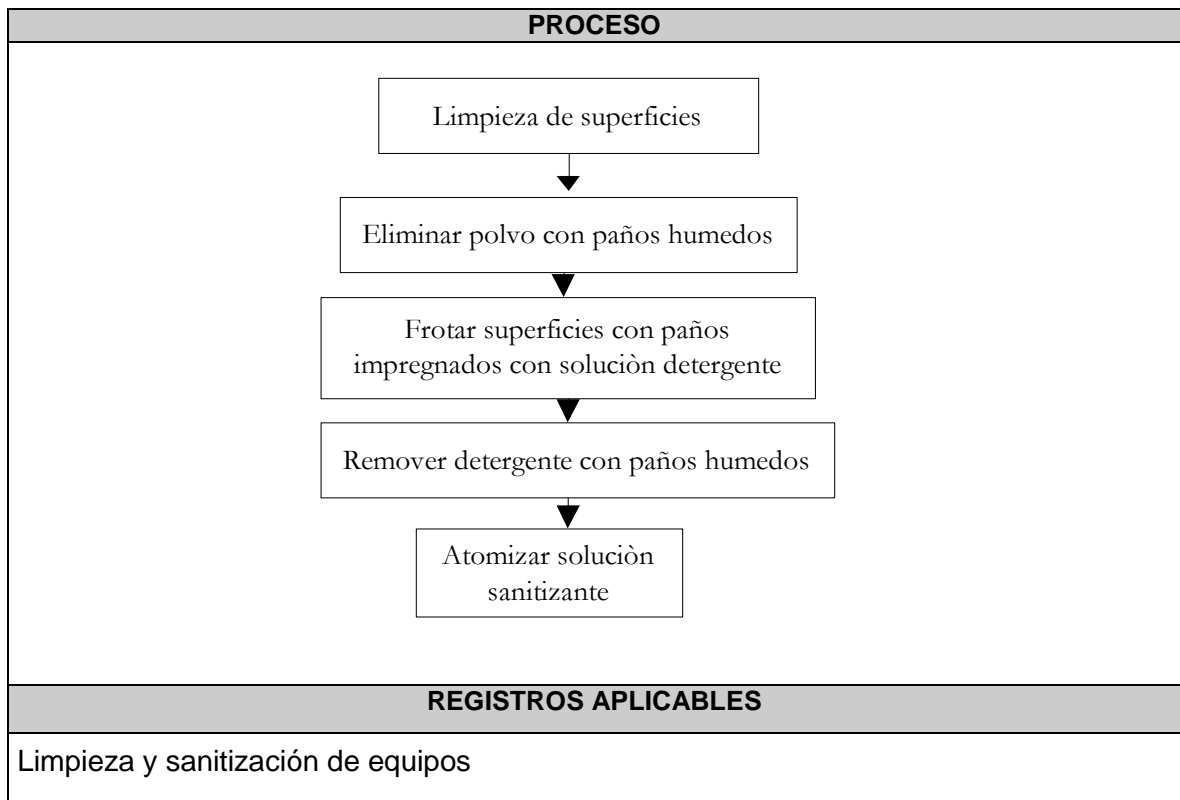
- Agar tripticasa soya
- Agar papa dextrosa acidificado con acido tartárico
- Caldo LMX

Equipo

- Termómetros calibrados
- Incubadora

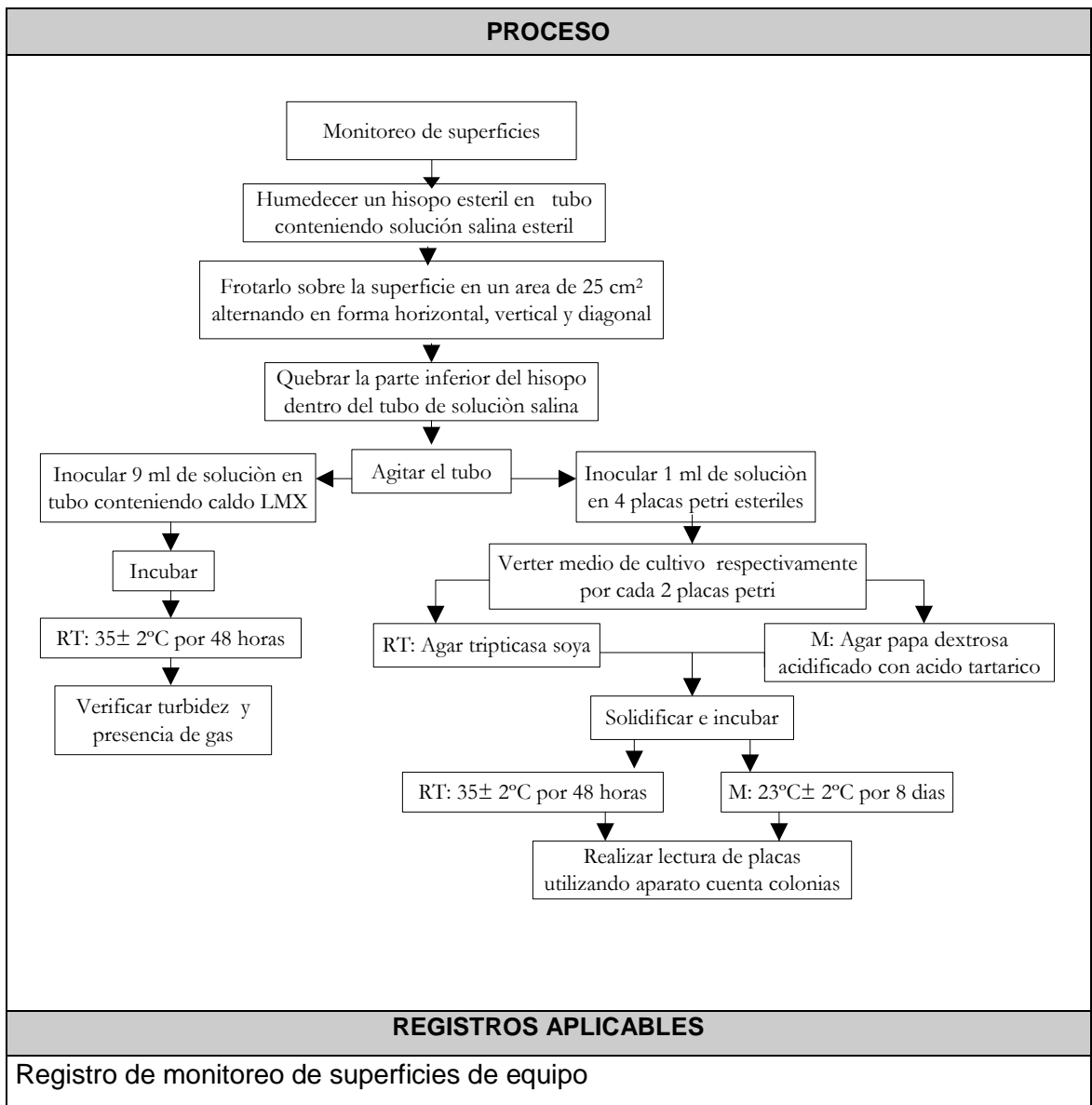
PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 4 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

F. SISTEMA OPERATIVO

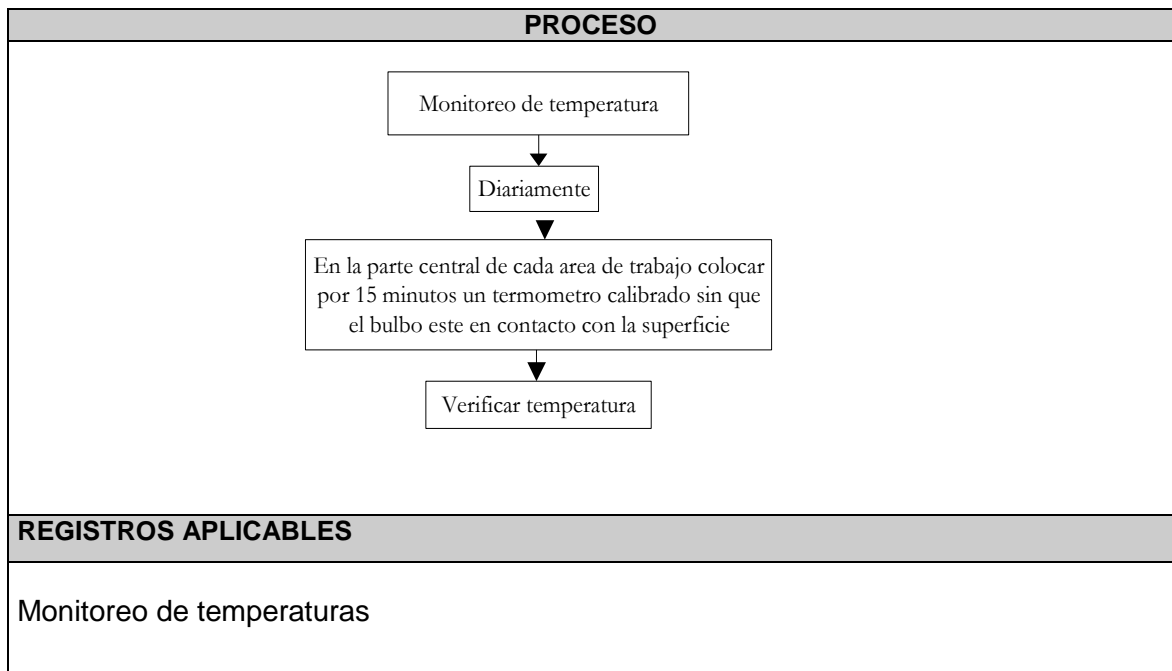


PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 5 de 9
EQUIPOS	Código:
	No. de edición:
	Fecha de revisión:

G. CONTROL DE CALIDAD



PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 6 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:



H. LÍMITES

Determinaciones microbiológicas

PRUEBA	LIMITE
Recuento de bacterias heterótrofas mesofilas	Menor a 10 UFC/ml
Recuento total de mohos y levaduras	Menor a 10 UFC/ml
Microorganismos patógenos	Ausencia

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 7 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

I. BIBLIOGRAFÍA

1. Bad Dürkheim. Consenso sobre Buenas Prácticas de Laboratorio 1990. Alm. 1999 Aseguramiento de la calidad y Buenas prácticas de laboratorio Paris F.
2. ENAC (Entidad Nacional de la Acreditación Esp) 2000 Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos 3 ed.
3. ISO (Organización Internacional de Normalización) 1999 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo 1 ed La Paz Co.
4. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 8 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

J. ANEXOS

ANEXO No. 1 Directrices para el mantenimiento de equipos

TIPO DE APARATO	REQUISITO	FRECUENCIA SUGERIDA
Incubadoras	Limpiar y desinfectar las superficies internas	Mensualmente
Refrigeradoras		Cada 3 meses o cuando sea necesario
Congeladores y estufas		Anualmente o cuando sea necesario
Baños maría	Vaciar, limpiar, desinfectar y rellenar	Mensualmente o cuando sea necesario
Autoclaves	Verificar características para carga y ciclos	Inicialmente cada 2 años, después de reparación/modificación.
	Verificar temperatura y tiempo	Con cada uso.
Cabinas de bioseguridad	Verificar características técnicas	Inicialmente cada año, después de reparación/modificación.
	Control microbiológico	Semanalmente
	Verificar velocidad del aire	Con cada uso.

PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO	Página 9 de 9 Código:
EQUIPOS	No. de edición: Fecha de revisión:

Cabinas de flujo laminar	Verificar características técnicas	Inicialmente cada año, después de reparación/modificación.
	Verificar esterilidad	Semanalmente
Microscopios	Verificar alineación	Diariamente/con cada uso
Potenciómetros	Calibrar ajustando con un mínimo de tampones	Diariamente/con cada uso

Balanzas	Ajustar el cero y verificar con la pesa control	Diariamente/con cada uso
Desionizadores	Verificar conductividad	Semanalmente
	Verificar contaminación microbiana	Mensualmente
Centrifugas	Verificar velocidad frente a tacómetro calibrado	Anualmente
jarra de anaerobiosis	Verificar frente a indicador de anaerobiosis	Con cada uso
Condiciones ambientales del laboratorio	Vigilar la contaminación microbiana del aire y superficies.	Semanalmente

REGISTRO	Código
LIMPIEZA, SANITIZACIÓN DE EQUIPOS	Edición Fecha de revisión

FECHA	EQUIPO		LIMPIEZA				SANITIZACIÓN				REALIZO	VERIFICO
	NOMBRE	CÓDIGO	D1	D2	D3	D4	S1	S2	S3	S4		

D: Desinfectante
D1: Lauril sulfato
D2: Detergente
D3:
D4:

S: Sanizante
S1: IPA 70%
S2: Gluconato de clorhexidina 10%
S3:
S4:

5.9.3 Análisis e interpretación de resultados

REGISTRO	Código
LIMPIEZA, SANITIZACIÓN DE EQUIPOS	Edición Fecha de revisión

FECHA	EQUIPO		LIMPIEZA				SANITIZACIÓN				REALIZO	VERIFICO
	NOMBRE	CÓDIGO	D1	D2	D3	D4	S1	S2	S3	S4		
24/07/06	Baño maría	MIC-BM0198	x				x				ST	RM
24/07/06	Baño maría	MIC-BM0202	x				x				ST	RM
24/07/06	Refrigeradora	MIC-RE0301	x				x				ST	RM
24/07/06	Refrigeradora	MIC-RE0201	x				x				ST	RM
25/07/06	Incubadora	MIC-IN0295	x				x				ST	RM
25/07/06	Incubadora	MIC-IN0186	x				x				ST	RM
25/07/06	Autoclave	MIC-AU0406	x				x				ST	RM

D: Desinfectante
D1: Lauril sulfato
D2: Detergente
D3:
D4:

S: Sanitizante
S1: IPA 70%
S2: Gluconato de clorhexidina 10%
S3:
S4:

REGISTRO	Código
MONITOREO DE SUPERFICIES DE EQUIPO	Edición Fecha de revisión

FECHA	NOMBRE DEL EQUIPO	Código	RTB		HL		LMX	REALIZO	VERIFICO	OBSERVACIÓN
24/07/06	Baño maría	MIC- BM0198	0	0	0	0	-	ST	RM	
24/07/06	Baño maría	MIC- BM0202	0	0	0	0	-	ST	RM	
24/07/06	Refrigeradora	MIC- RE0301	0	0	0	0	-	ST	RM	
24/07/06	Refrigeradora	MIC- RE0201	0	0	0	0	-	ST	RM	
25/07/06	Incubadora	MIC- IN0295	0	0	0	0	-	ST	RM	
25/07/06	Incubadora	MIC- IN0186	1	0	0	0	-	ST	RM	
25/07/06	Autoclave	MIC- AU0406	0	0	0	0	-	ST	RM	

EQUIPOS

Los equipos ubicados en el departamento de análisis microbiológico deben cumplir las exigencias para el área y el fin para el cual están destinados.

Los equipos periódicamente son sometidos a mantenimiento efectuado por personal técnico del laboratorio; el que consiste en la limpieza y sanitización respectiva de acuerdo a un programa establecido o cada vez que este sea requerido.

Utilizando el detergente y sanitizante correspondientes al esquema de rotación ya establecidos se realizó el procedimiento de limpieza y sanitización. Luego que los equipos fueran lavados y sanitizados se realizó el respectivo monitoreo de superficies, por medio de un hisopado de los mismos y sembrando por técnica de placa vertida; en las cuales no se reportó conteo para bacterias ni hongos y ausencia de microorganismos patógenos.

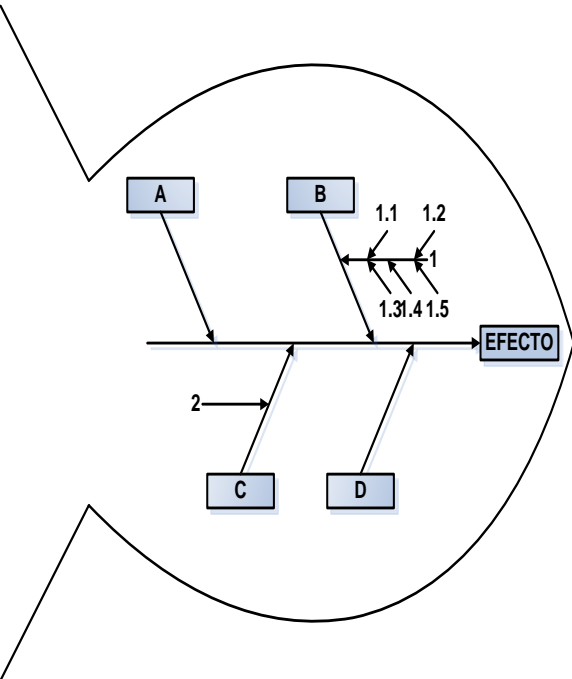
De acuerdo a los parámetros de calidad microbiológica establecidos en el *“procedimiento específico EQUIPOS”* los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites permitidos.

PRUEBA	LIMITE
Recuento de bacterias heterótrofas mesofilas	Menor a 10 UFC/ml
Recuento total de mohos y levaduras	Menor a 10 UFC/ml
Microorganismos patógenos	Ausencia

5.10 PERSONAL

5.10.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA			EFECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	TERCIARIA	
A. Educación			Resultados erróneos
B. Capacitación	1. Formación en técnicas básicas	1.1. Equipo	
		1.2. Métodos	
		1.3. Lavado de cristalería	
		1.4. Toma de muestras	
		1.5. Preparación de medios y reactivos	
C. Experiencia	2. Cumplimiento de normas		
D. Destreza			



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro profesional del personal: Descripción de puesto, Calificación del personal, Programa de capacitación continua.

Figura No. 10: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE: PERSONAL.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable: Personal

Esta claro que el personal es el motor para cualquier actividad dentro del laboratorio, por lo que su intervención en cada una de las operaciones realizadas requiere de evaluación, que debe registrarse y documentarse.

El personal debe contar con un grado académico de acuerdo a la responsabilidad de las actividades a realizar, sin embargo el conocimiento no basta y su aplicación constituye la experiencia y destreza adquirida con el transcurso del tiempo.

En torno a la mejora continua es indispensable mantenerse actualizado y la capacitación técnica es el mejor aliado para cumplir con dicho propósito.

5.10.2 Registro correspondiente

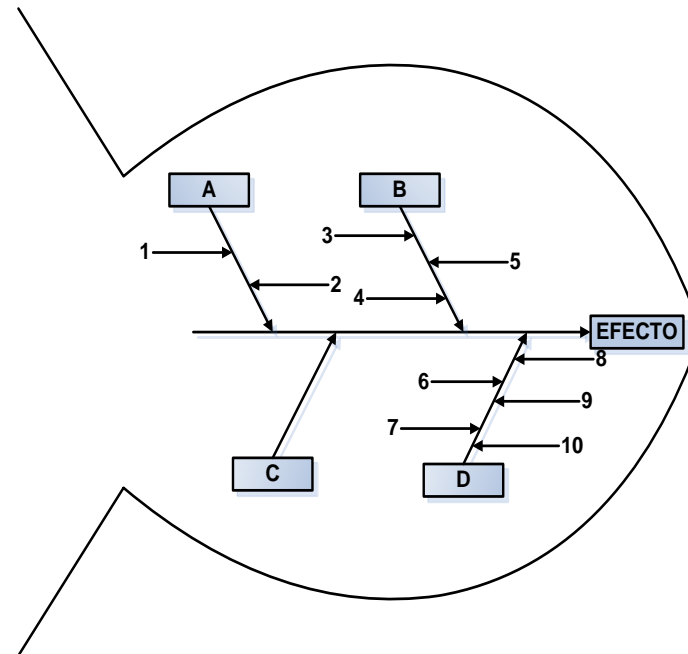
REGISTRO	Código
PERSONAL	Edición Fecha de revisión

DATOS PERSONALES			
Nombre			
Dirección			
Teléfono			
Estado Civil			
D.U.I.			
N.I.T.			
I.S.S.S.			
AFP			
Nacionalidad			
Lugar y fecha de nacimiento			
Profesión			
Rubrica			
Firma			
En caso de emergencia			
Nombre/teléfono			
Dirección			
Parentesco			
Enfermedad padecida			
Medicamento recetado			
Nombre medico/teléfono			
FORMACIÓN PROFESIONAL			
Educación	Centro educativo	Periodo	Título obtenido
Básica			
Media			
Superior			
Otros:			
DESCRIPCIÓN DE PUESTO			
Departamento			
Cargo			
Funciones			
Jefe inmediato			
Jefe superior			

5.11 MÉTODOS

5.11.1 Diagrama de causa y efecto

CAUSA		EFEECTO
PRIMARIA	SECUNDARIA	Resultados erróneos
A. Personal	1. Calificación	
	2. Transcripción de resultados	
B. Equipo	3. Calibración	
	4. Verificación	
	5. Mantenimiento	
C. Flujo de proceso		
D. Validación	6. Verificación	
	7. Especificidad	
	8. Repetibilidad	
	9. Reproducibilidad	
	10. Limite de detección	



Procedimientos y documentos aplicables:

Registro de técnicas básicas de análisis.

Figura No. 11: DIAGRAMA DE CAUSA Y EFECTO QUE REFLEJA LA INCIDENCIA DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIABLE *MÉTODOS*.

Diagrama de causa y efecto que refleja la incidencia de los factores que influyen en la variable: Métodos.

La metodología aplicada para la evaluación analítica de un producto debe estar respaldada por normas vigentes, o pueden ser desarrolladas y/o adaptadas intralaboratorio lo cual requiere de una evaluación exhaustiva, para su puesta en marcha.

La validación de estas técnicas es un proceso arduo y riguroso que avala la objetividad del resultado obtenido, en donde se debe considerar su reproducibilidad, repetitividad, límite de detección, especificidad, y verificación continua del mismo, en especial cuando se incluye una variable en el proceso establecido.

El flujo del proceso debe estar de acuerdo al orden lógico que la metodología establece y de esta manera evitar en lo posible la contaminación cruzada, en este sentido el material y equipo a utilizar debe disponerse en el área establecida en que se llevará a cabo la prueba, el equipo debe estar calibrado y ser verificado periódicamente; el personal que ejecute la operación analítica debe tener la suficiente y comprobada experiencia.

El laboratorio puede contar idealmente con un protocolo en que establezca la metodología utilizada, interpretación de resultados, límites permisibles y la referencia establecida en que basa sus técnicas de análisis.

**5.12 REFERENCIA CRUZADA ENTRE LA NORMA ISO 9001:2000 E
ISO/IEC 17025:2005**

**REFERENCIA CRUZADA ENTRE LA NORMA ISO 9001:2000 E
ISO/IEC 17025:2005**

ISO 9001:2000	ISO/IEC 17025: 2005
Capitulo 1	Capitulo 1
Capitulo 2	Capitulo 2
Capitulo 3	Capitulo 3
4.1	4.1, 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4, 4.1.5, 4.2, 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4
4.2.1	4.2.2, 4.2.3, 4.3.1
4.2.2	4.2.2,4.2.3, 4.2.4
4.2.3	4.3
4.2.4	4.3.1, 4.12
5.1	4.2.2, 4.2.3
5.1a	4.1.2, 4.1.6
5.1b	4.2.2
5.1c	4.2.2
5.1d	4.15
5.1e	4.1.5
5.2	4.4.1
5.3	4.2.2
5.3a	4.2.2
5.3b	4.2.3
5.3c	4.2.2
5.3d	4.2.2
5.3e	4.2.2
5.4.1	4.2.2c
5.4.2	4.2.1
5.4.2a	4.2.1
5.4.2b	4.2.1
5.5.1	4.1.5a,f,h
5.5.2	4.1.5i
5.5.2a	4.1.5i
5.5.2b	4.11.1
5.5.2c	4.2.4
5.5.3	4.1.6

**REFERENCIA CRUZADA ENTRE LA NORMA ISO 9001:2000 E
ISO/IEC 17025:2005**

ISO 9001:2000	ISO/IEC 17025: 2005
5.6.1	4.15
5.6.2	4.15
5.6.3	4.15
6.1a	4.10
6.1b	4.4.1, 4.7,5.4.2, 5.4.3 ,5.4.4, 5.10.1
6.2.1	5.2.1
6.2.2a	5.2.2, 5.5.3
6.2.2b	5.2.1, 5.2.2
6.2.2c	5.2.2
6.2.2d	4.1.5k
6.2.2e	5.2.5
6.3.1a	4.1.3, 4.12.1.1, 4.12.1.3, 5.3
6.3.1b	4.12.1.4, 5.4.7.2, 5.5, 5.6
6.3.1c	4.6, 5.5.6, 5.6.3.4, 5.8, 5.10
6.4	5.3.1, 5.3.2, 5.3.3,5.3.4, 5.3.5
7.1	5.1
7.1a	4.2.2
7.1b	4.1.5a, 4.2.1, 4.2.3
7.1c	5.4,5.9
7.1d	4.1, 5.4, 5.9
7.2.1	4.4.1, 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5, 5.4, 5.9, 5.10
7.2.2	4.4.1, 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5, 5.4, 5.9, 5.10
7.2.3	4.4.2, 4.4.4, 4.5, 4.7, 4.8
7.3	5, 5.4, 5.9
7.4.1	4.6.1, 4.6.2, 4.6.4
7.4.2	4.6.3
7.4.3	4.6.2
7.5.1	5.1, 5.2, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9
7.5.2	5.2.5, 5.4.2, 5.4.5
7.5.3	5.8.2
7.5.4	4.1.5c, 5.8

**REFERENCIA CRUZADA ENTRE LA NORMA ISO 9001:2000 E
ISO/IEC 17025:2005**

ISO 9001:2000	ISO/IEC 17025: 2005
7.5.5	4.6.1, 4.12, 5.8, 5.10
7.6	5.4, 5.5
8.1	4.10, 5.4, 5.9
8.2.1	4.10
8.2.2	4.11.5, 5.14
8.2.3	4.11.5, 4.14, 5.9
8.2.4	4.5, 4.6, 4.9, 5.5.2, 5.5.9, 5.8, 5.8.3, 5.8.4, 5.9
8.3	4.9
8.4	4.10, 5.9
8.5.1	4.10, 4.12
8.5.2	4.11, 4.12
8.5.3	4.9, 4.11, 4.12
8.2.2	4.11.5, 5.14
8.2.3	4.11.5, 4.14, 5.9
8.2.4	4.5, 4.6, 4.9, 5.5.2, 5.5.9, 5.8, 5.8.3, 5.8.4, 5.9
8.3	4.9
8.4	4.10, 5.9
8.5.1	4.10, 4.12
8.5.2	4.11, 4.12
8.5.3	4.9, 4.11, 4.12

La conformidad del sistema de gestión de calidad implementado por un laboratorio, con los requisitos de la Norma ISO 9001, no constituye por si sola una prueba de la competencia del laboratorio para producir datos y resultados técnicamente validos, y tampoco significa que el sistema de gestión de calidad implementado cumple todos los requisitos de la norma.

Por tanto la armonización entre normas se vuelve de vital importancia para completar esos vacios, o reforzar aquellos puntos donde estas concuerdan, amparándose así a requisitos siempre normalizados.

La Norma ISO/IEC 17025 contiene varios requisitos relativos a la competencia técnica que no están contemplados en la Norma ISO 9001:2000.

La alineación con la norma ISO 9001:2000, se puede apreciar también en la incorporación de vocabulario específico, aunque se destaca la carencia del tratamiento de la gestión orientada a los procesos, que constituye la columna de la Norma ISO 9001:2000.

Por otra parte, con respecto a los requisitos reglamentarios y de seguridad relacionados con el funcionamiento de los laboratorios, la norma aclara específicamente que no los comprende. Sin embargo, los incorpora a través de un sistema de gestión integrado.

Si un laboratorio de ensayo y calibración cumple los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025:2005, actuará bajo un sistema de gestión de calidad para sus actividades que también cumplirá los principios de la Norma ISO 9001.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

- 6.1. Aplicando la norma ISO/IEC 17025:2005, y en el trabajo cotidiano, se identificaron las principales variables que afectan la calidad de los resultados en un laboratorio de análisis microbiológico, obteniendo como resultado las siguientes variables: Instalaciones, personal, equipos, materiales y métodos.
- 6.2. Partiendo del establecimiento de las variables mencionadas se puede aseverar que el incumplimiento de los lineamientos y especificaciones establecidas en las norma ISO/IEC 17025: 2005 y otros tratados compéndiales, con respecto a las variables principales y secundarias producirán resultados erróneos en los análisis llevados a cabo en un laboratorio de análisis microbiológico.
- 6.3. El éxito del aseguramiento de calidad esta basado en la asimilación y comprensión de la importancia del mismo, en donde todo el personal involucrado desde la toma de muestras hasta la redacción del informe de resultados, debe participar activamente.
- 6.4. La implementación del aseguramiento de calidad requiere el esfuerzo conjunto del personal, para lo cual la formación y motivación continua es indispensable.
- 6.5. Toda actividad realizada en un laboratorio debe estar documentada, basada en un registro o procedimiento específico, en que se plasme la información de la actividad a ejecutar y como llevarla a cabo, esta documentación debe estar disponible para todo el personal, y debe estar sujeta a revisiones periódicas de mejora continua.

- 6.6. El aseguramiento de calidad incluye la organización, estructura, responsabilidades, actividades, recursos, y acciones que en conjunto desarrollan procedimientos y métodos sistematizados que garantizan la capacidad de organización para cumplir con los requisitos de calidad.
- 6.7. La norma ISO/IEC 17025:2005, sobre requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, y la norma ISO 9001:2000, de sistemas de gestión de calidad, no se encuentran acopladas totalmente, sin embargo se complementan.
- 6.8. El alcance de la norma ISO/IEC 17025:2205 sostiene que la acreditación de los laboratorios no certifica su sistema de gestión, siendo la acreditación y la certificación acciones separadas.
- 6.9. La norma ISO/IEC 17025:2005 con respecto a los requisitos de gestión de la norma ISO 9001:2000, enfatiza en el involucramiento directo de la alta gerencia, y la mejora continua de la eficacia del sistema de gestión; en cuanto a requisitos técnicos establece la formación del personal e implementación de acciones correctivas y preventivas sobre aseguramiento de calidad de los ensayos y calibraciones.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

- 7.1. Deben monitorearse en forma periódica las variables identificadas y mantener un registro de control ya que son un parámetro de las posibles causas que podrían estar influyendo de una forma directa o no sobre la veracidad de los resultados analíticos realizados en un laboratorio de análisis microbiológico.
- 7.2. Facilitar mediante la puesta en marcha de los procedimientos propuestos, la perspectiva de los parámetros y condiciones a evaluar, contribuyendo de esta manera al seguimiento de mejora continua establecido por un laboratorio de análisis microbiológico.
- 7.3. Que la metodología analítica debe estar documentada por medio de un diagrama de flujo que contenga el resumen del método oficial, incluyendo materiales a utilizar, procedimiento, interpretación de resultados, límites permisibles y referencia a normas o bibliografía en que está basada.
- 7.4. Modificar procedimientos de análisis mediante la revisión bibliográfica de normativas actualizadas, implementando así el concepto de mejora continua.
- 7.5. Establecer periódicamente auditorías internas para evaluar el desempeño del personal y el cumplimiento de los procedimientos propuestos basados en normativas vigentes.

- 7.6. Establecer análisis en paralelo intralaboratorio e interlaboratorio evaluando la variabilidad en los resultados obtenidos, como medida de autocontrol.
- 7.7. Que el personal se mantenga bajo un programa de formación continua, para lo que capacitaciones de actualización son indispensables, y así fomentar conciencia desde la alta gerencia, hasta el personal técnico sobre la importancia del aseguramiento de calidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bad Dürkheim. Consenso sobre Buenas Prácticas de Laboratorio 1990. Alm. 1999 Aseguramiento de la calidad y Buenas prácticas de laboratorio Paris F. 12p
2. Cospin O. Siete Herramientas básicas para el control de calidad (en línea) Consultado el 04 Junio 2005. Disponible en: <http://www.monografias.com>
3. Devosa M. y otros 1976. Control de calidad durante la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos 1 ed. Madrid Esp. Castilla 144-173 p.
4. ENAC (Entidad Nacional de la Acreditación Esp) 2000 Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos 3 ed. si 27p
5. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7 ed. México 2000 Publicaciones e impresiones de calidad Tomo 1 289-296p
6. Garfield F. 1993 Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos, 1 ed. editado por la AOAC internacional (Association of official analytical chemists) Trad. UNA García 181 p.
7. Gonzáles C. Conceptos generales de calidad total (en línea) Consultado el 14 Mayo 2005. Disponible en: <http://www.monografias.com>

8. Gutiérrez P. Calidad Total (en línea) Consultado el 04 Junio 2005. disponible en: <http://www.monografias.com>
9. Guzmán D. y otros 2000. Propuesta de un sistema de acreditación para un laboratorio de evaluación microbiológico de productos farmacéuticos. Trabajo de graduación. Licenciatura en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador 319 p.
10. Hernández H. Generaciones de la calidad (en línea) Consultado el 04 Junio 2005. Disponible en: <http://www.monografias.com>
11. ISO (Organización Internacional de Normalización) 1999 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo 1 ed La Paz Co 35p
12. Jauregui M.1996 Manual de aseguramiento de calidad ISO 9000 1 ed. México D.F. Mc Graw Hill interamericana 87p.
13. Jawetz E. y otros.1999 microbiología medica 16 ed. México D.F. Manual moderno 41-42 y 799p
14. Lara G. y otros Manual del proceso integral del control de calidad en microbiología (en línea) consultado el 21 Mayo 2005. Disponible en: http://www.memorias_gif
15. Lightfoot N. y otros Directrices para el Aseguramiento de la Calidad de análisis microbiológico de alimentos y aguas. 1 ed. Acribia 233p.

16. Palomeque E. 1996 Good manufacturing practices 1 ed. Madrid Esp
Centro de estudios superiores de la industria farmacéutica 243-256 y
365-397p
17. Puigdomenech G. Microbiología Concepto e historia (en línea)
consultado el 21 Mayo 2005. Disponible en: <http://www.monografias.com>
18. The United States Pharmacopeical Convention. The United States
Pharmacopeia 25 ed National formulary 20. USA 2002 206-2212p
19. Ushikawua K. 1995 ¿Que es el control total de calidad? La modalidad
Japonesa 1 ed. Colombia Norma 39-96 y 179-199 p

GLOSARIO (7)

Área crítica: es un área limpia, diseñada para prevenir la contaminación microbiana, en la cual existe un alto nivel de control microbiológico, ya que en ella tienen lugar pasos del proceso donde no se permite la contaminación microbiana.

Área controlada: área donde el nivel de control del ambiente aplicado al y/o los pasos de fabricación minimiza el riesgo de contaminación microbiana

Área de apoyo: área limpia adyacente a las áreas donde se realiza el procesamiento aséptico.

Calibración: Conjunto de operaciones que permiten establecer, en condiciones específicas, la relación existente entre los valores indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, o los valores representados por una medida o un material de referencia, y los valores correspondientes obtenidos mediante un patrón de referencia.

Cepas de referencia: Microorganismos definidos en género y especie, catalogados y descritos según sus características y preferiblemente de origen conocido. Normalmente obtenidos de una colección nacional o internacional reconocida.

Cepas de reserva: Cepas idénticas obtenidas mediante un único subcultivo de una cepa de referencia.

Condiciones de operación: condición donde la instalación se encuentra funcionando normalmente, según el procedimiento de operación definido con el número especificado de personal trabajando.

Condiciones de reposo: condición donde la instalación cuenta con el equipamiento de producción instalado y operando, pero no con el personal de producción presente.

Cultivo de trabajo: subcultivo primario obtenido de una cepa de reserva.

Desinfección: proceso donde se emplea un agente antimicrobiano con el objetivo de destruir microorganismos patógenos en objetos inanimados.

Esterilidad: ausencia de microorganismos vivos.

Esterilización: destrucción y/o remoción de toda forma de vida por medio de agentes físicos o químicos.

Exactitud: grado de concordancia entre los resultados del método evaluado y los obtenidos utilizando un método de referencia reconocido.

Indicadores biológicos: preparaciones estandarizadas de microorganismos seleccionados para comprobar la efectividad de los procesos de esterilización.

Indicadores químicos: se utilizan para comprobar que se ha llegado a la temperatura de esterilización en el punto en que son colocados.

Límite de cuantificación: número mínimo de microorganismos dentro de una variabilidad definida que puede determinarse en las condiciones experimentales del método evaluado. Aplicado a análisis microbiológicos cuantitativos.

Límite de detección: número mínimo de microorganismos que pueden ser detectados, pero en cantidades que no pueden estimarse con precisión. Aplicado a análisis microbiológicos cualitativos.

Linealidad: capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

Lote: conjunto de artículos o unidades producidas a través de un mismo proceso de fabricación.

Material de referencia: material o sustancia cuyas propiedades tienen valores suficientemente homogéneos y claramente establecidos como para poder ser utilizados en la calibración de un aparato, la evaluación de un método de medida o la asignación de valores a materiales.

Método de referencia: método altamente investigado, que describe con claridad y exactitud las condiciones y los procedimientos necesarios para medir los valores de una o más propiedades y que ha demostrado tener una exactitud y una precisión apropiadas para el uso que pretende hacerse del mismo, de manera que puede utilizarse para evaluar la exactitud de otros métodos empleados para realizar la misma medición y, en particular, para caracterizar un material de referencia. En general se trata de un método normalizado nacional o internacional.

Muestra: parte de una población o subconjunto de un conjunto de unidades, obtenidas con el fin de investigar las propiedades de la población o conjunto de procedencia.

Muestreo: técnica que consiste en seleccionar un número reducido de elementos, de tal manera que las conclusiones que se obtengan puedan ser generalizadas al universo de origen.

Repetibilidad: grado de concordancia entre los resultados de sucesivas mediciones del mismo analito realizadas en las mismas condiciones de medición.

Reproducibilidad: grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo analito realizadas en diferentes condiciones de medición.

Sanitización: proceso que se realiza en las áreas limpias clasificadas, con el fin de reducir la contaminación microbiológica a un nivel permisible establecido en una norma correspondiente.

Validación: confirmación, mediante la aportación de pruebas objetivas, de que se han cumplido los requisitos para el uso pretendido o una aplicación específica.

Verificación: confirmación, mediante la aportación de pruebas objetivas, de que se han cumplido los requisitos establecidos.

ANEXOS

ANEXO No. 1

**LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE
CONTROL DE CALIDAD.**

INSTALACIONES



Limpieza de superficies



Techo



Pared



Superficies



Ventanas



Piso

Sanitización de superficies



Solución sanitizante de turno

Decontaminación de áreas



Insumos:

Formalina

Permanganato de potasio



Sellado en ventanas y puertas

EQUIPO



Esterilizadores por calor húmedo



Baño de agua controlado





Medios de cultivo preparados

Utensilios de limpieza



Seguridad laboral