

OFICINA DE LABORATORIOS Y CONTROL DE CALIDAD

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Bogotá D.C
26-10-2016

OBJETIVO

Establecer los aspectos críticos y las directrices implementadas en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas del **Invima**, con el fin de asegurar la calidad y confiabilidad de los resultados de ensayo.

Coordinador

Gestionar los recursos necesarios, con el fin de asegurar que los aspectos y lineamientos contemplados en el presente documento se cumplan.

Líder técnico

Verificar que se realicen las actividades de aseguramiento de calidad para los ensayos.

Analistas Técnicos operativos Auxiliares

Responsables de la aplicación de este procedimiento.



DEFINICIÓN



El programa contempla también los aspectos relacionados con la gestión de la calidad que de manera complementaria y sistemática contribuyen a esta confianza, (programa anual de auditorías, sistema documental, quejas, manejo de trabajos no conformes, servicio al cliente, medición análisis y mejora, y revisiones por la dirección).



Evidencia Objetiva: Datos que respaldan la existencia o veracidad de algo. [NTC-ISO 9000: 2005]

Comité de Seguridad Alimentaria de AECOC:

“Se entiende trazabilidad como el conjunto de aquellos procedimientos preestablecidos y autosuficientes que permiten conocer el histórico, la ubicación y la trayectoria de un producto o lote de productos a lo largo de la cadena de suministros en un momento dado, a través de unas herramientas determinadas.”

Conocimiento

Métodos
normalizados

Método apropiado para el ensayo dentro de su alcance, publicado por organismos de normalización internacional, nacional o regional (ISO, EN, NM, ASTM, BS, DIN, IRAM, etc.) o por organizaciones reconocidas en diferentes ámbitos (AOAC, FIL-IDF, EPA, USP etc).

Método
Oficial

Es el método especificado por los organismos reglamentarios de un país, con fines de aplicaciones de normas (ejemplo; reglamento sanitario de alimentos) o estipulados por organizaciones comerciales (Referencia: FAO).

Método de
ensayo
validado

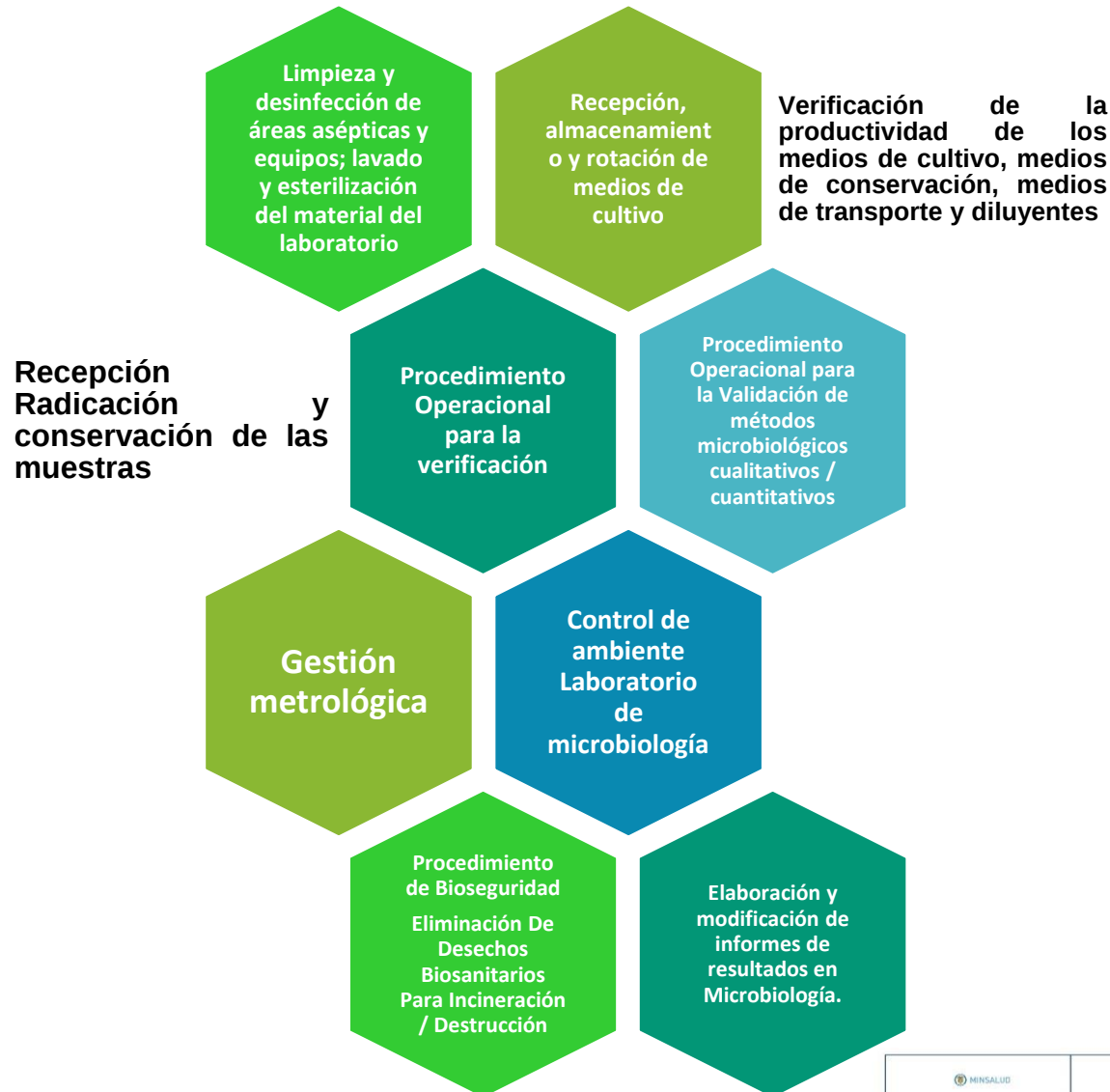
Método de ensayo aceptado para el que se han llevado a cabo estudios de validación (desempeño) con el fin de determinar su precisión y fiabilidad para un propósito específico. (Referencia: ICCVAM Guidelines for the nomination and submission of new, revised and alternative test methods, 2003).

Métodos
mejorados

Métodos in house
Ampliación del alcance
(matrices – medios)

Necesidades del
laboratorio

ACTIVIDADES INMERSAS EN EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD



Competencia
técnica del
personal



Competencia técnica del personal

La dirección del laboratorio debe asegurar la competencia de todos Los que operan equipos, realizan ensayos ,evalúan resultados y firman los ensayos.

- ✓ **Perfil del puesto.**
- ✓ **Personal autorizado.**
- ✓ **Competencia del personal.**
- ✓ **Capacitación del personal.**



Personal que posee el reconocimiento formal de su capacidad para realizar en forma correcta una determinada tarea que le ha sido asignada.



Personal autorizado

Perfil del puesto

Son los requisitos mínimos de formación académica y experiencia que debe tener el personal para acceder al puesto de trabajo.

Competencia de personal

Involucra conocimientos, habilidades, comprensión y actitudes. Evaluación (Ensayos Inter – Intra)

Capacitación de personal

- Entrenamiento
- Formación
- Capacitación

INSTALACIONES

Debe haber una separación física entre las áreas que realizan actividades incompatibles.

Deben ser capaces de facilitar la realización correcta de los ensayos.

Se deben tomar medidas para prevenir la contaminación cruzada

- La ubicación y flujo del laboratorio debe minimizar el riesgo de contaminación de las muestras y los cultivos.



- Zona de recepción y almacenamiento de muestras
- Área de siembra.
- Área de lectura, resiembra y coloraciones
- Manipulación de patógenos
- Cepario

ÁREAS



- Preparación de medios de cultivo
- Equipos
- Descontaminación
- Lavado y esterilización de material
- **Si además de los ensayos tradicionales se emplean técnicas de biología molecular, se requieren áreas adicionales**

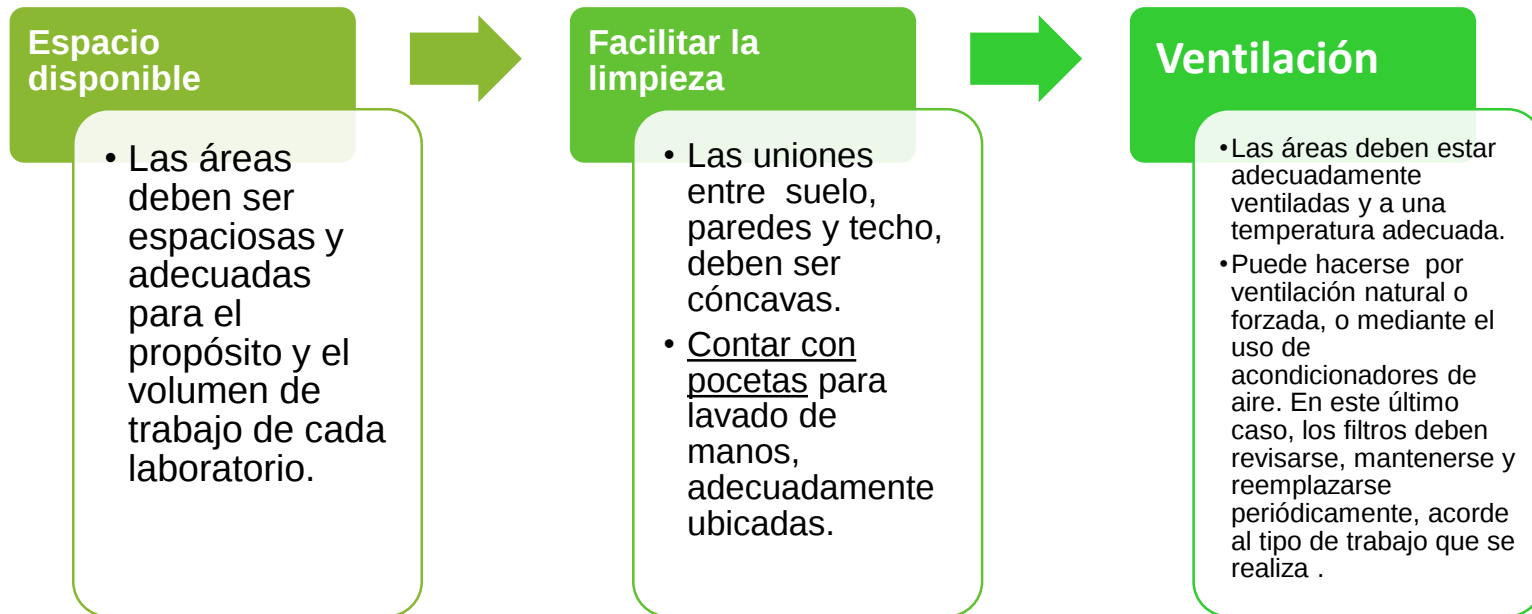
ÁREAS



- **No es aceptable** que el laboratorio de Microbiología tenga un área polifuncional

MINSA

Invima



MATERIALES

Evitar el uso de cortinas y/o persianas .

- Las paredes, suelo y techo deben ser lisos para facilitar la limpieza.
- Se deben evitar maderas rugosas y sin revestir.



DISEÑO – OTRAS MEDIDAS

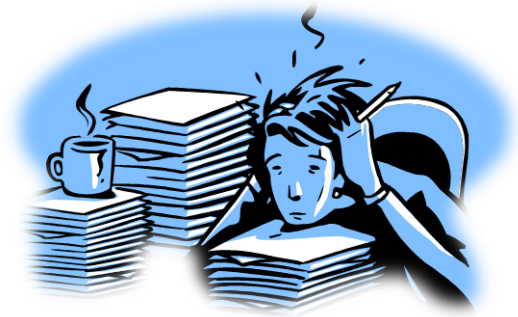
Ausencia de documentos obsoletos o ausencia de mobiliario innecesario en el área del laboratorio .

Minimizar la apertura de puertas y ventanas durante la realización del ensayo

Contar con pocetas para el lavado de manos , no manuales, el jabón debe estar en dispensadores y toallas descartables para el secado.

Los estanterías, equipos deben estar colocados de forma que se evite la acumulación de polvo.

El acceso al laboratorio debe estar restringido solo al personal técnico o a personas autorizadas.



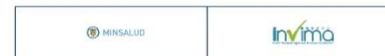
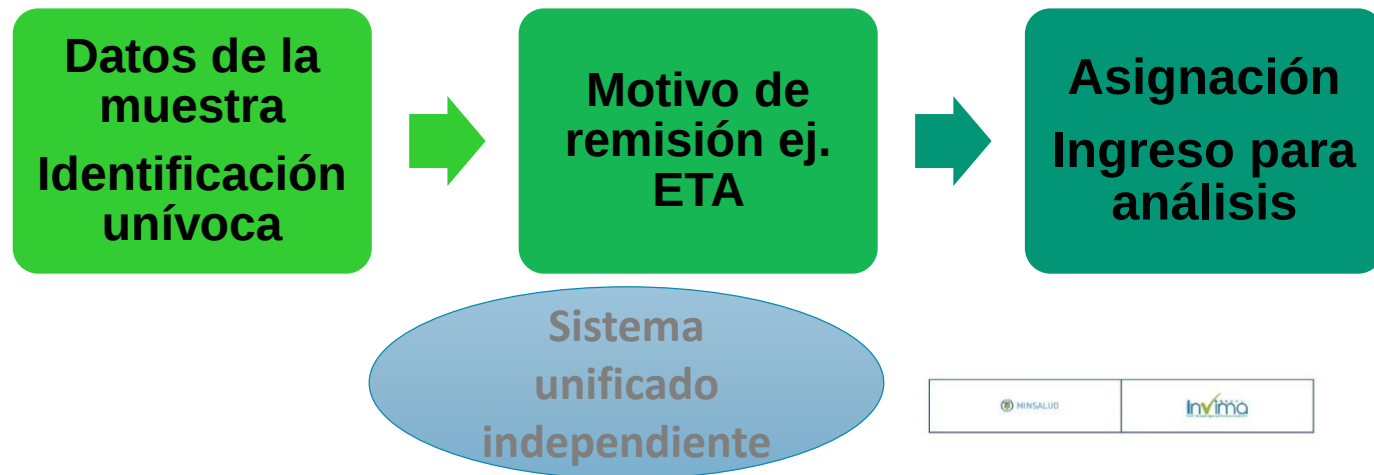
RECEPCIÓN, RADICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS



Recibir y verificar la muestra con el Acta y Oficio Remitente (original y copia) verificar temperatura y empaque fecha vencimiento , infraestructura de recepcion y almacenamiento de muestras (refrigeración, congelación o temperatura ambiente).

RADICACION DE MUESTRAS

Entrada a la base de datos



REQUISITOS PREVIOS AL ANÁLISIS

➤ Almacenamiento y rotación de medios de cultivo adquiridos a proveedores:

Verificación

- Condiciones de entrada

Almacenamiento de medios de cultivo

- Seguir instrucciones del productor con respecto a condiciones de almacenaje, fecha de vencimiento y uso.



Fabricantes o productores de medios de cultivo listos para el uso

- Deben tener un programa de calidad implementado y emitir un certificado del medio de cultivo suministrado.



Importante!

Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo. (ISO 11133:2014).

MINSALUD

Invima

ACTUALIZACIONES

➤ Almacenamiento y rotación de medios de cultivo preparados en el laboratorio:



Inventario y programación
Revisión del stock o saldo de
unidades existentes.

Acondicionar el material de
vidrio necesario para la
preparación de los medios,
cuando aplique



Registro de preparación de
medios de cultivo : Lote,
responsable etc..

Almacenamiento y
Rotación de medios de
cultivo



Verificación

Verificación de la
productividad y selectividad
de los medios preparados



Salida

Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo. (ISO 11133:2014).

MINSALUD

Invima

Bioseguridad

**DECRETO 351 DE 2014
(Febrero 19)**

Por el cual se reglamenta la gestión integral de los residuos generados en la atención en salud y otras actividades



Que de los estudios realizados y de las actividades de control, inspección y vigilancia realizadas por las autoridades sanitarias y ambientales, se concluye la necesidad de ajustar la normatividad que regula la gestión integral de los residuos generados en los servicios de atención en salud y otras actividades.



CONSERVACIÓN Y MANEJO DEL CEPARIO

Recordar

**CEPAS DE
REFERENCIA**

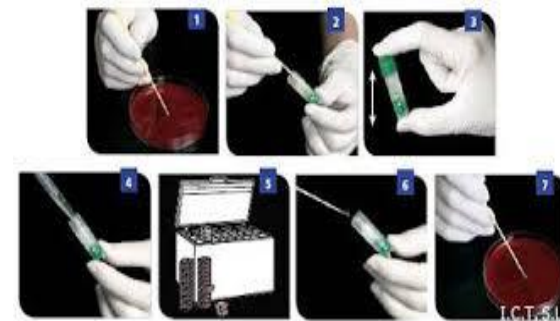
- Microorganismo obtenido directamente a partir de una colección de cultivos de referencia, es decir, una colección de cultivos pertenecientes a uno de los miembros de la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (FMCC) o las colecciones de cultivos Europea Organización (ECCO), y se define por lo menos a nivel de género y especie.

**CEPAS DE
TRABAJO**

- Son subcultivos obtenidos de un cultivo de reserva destinados al uso como control en el trabajo diario.

**CEPAS DE
RESERVA**

- Un conjunto de cultivos idénticos separados y obtenidos a partir de un solo subcultivo de la cepa de referencia, ya sea obtenido en el laboratorio o por un proveedor.



**Materiales de referencia
Verificaciones necesarias**

CONTROL DE TÉCNICAS



Procedimiento: Uso de cepas de referencia, permita comprobar microbiológicamente que la técnica obtenga los resultados esperados.



Control Negativo

Control Positivo

Control de medio

Ausencia/Presencia
Recuentos
NMP

Todas las técnicas
de aplicación

MINSALUD

Invima



Continuidad de las acciones



Intervenciones de metrología

- Mantenimiento
- Calibración
- Calificación

Hoja de vida de equipos

- Trazabilidad
- Recomendaciones
- Acciones

Medición

- Registros
- Decisiones



CONTROL DE CONDICIONES AMBIENTALES



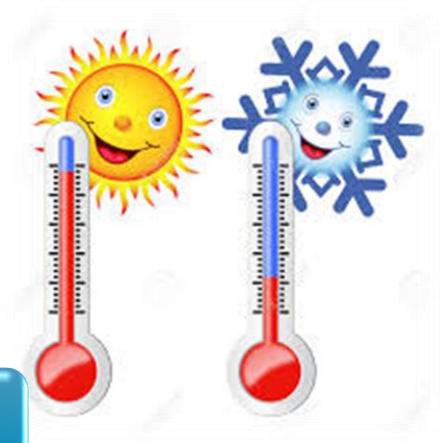
Conocimiento de las condiciones propias – Criterios establecidos por los equipos



Monitoreo de temperatura y humedad relativa



Identificación de desviaciones
Planteamiento de acciones



El laboratorio debe asegurarse que **las condiciones ambientales , bajo las cuales se realicen los ensayos microbiológicos, no invaliden los resultados, ni comprometan la calidad** requerida de los resultados.

ACTUALIZACIONES

CONDICIONES AMBIENTALES	EFFECTO POSIBLE SOBRE EL ENSAYO	LUGAR A MONITOREAR
Deficiente esterilidad biológica	Contaminación de las muestras y cultivos	Sala de siembra
Mayor polvo en suspensión en el aire	Contaminación de las muestras y cultivos	Sala de siembra
Suministro eléctrico interrumpido o deficiente	1.Variación de las condiciones de ensayo 2.Pérdida de viabilidad cepas de referencia por descongelación 3. Conservación inadecuada de la muestra, reactivos y medios de cultivo.	Funcionamiento de equipos de incubación y refrigeración

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

El laboratorio debe establecer:

- Un programa documentado de limpieza y desinfección que tenga en cuenta los resultados de vigilancia de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada .

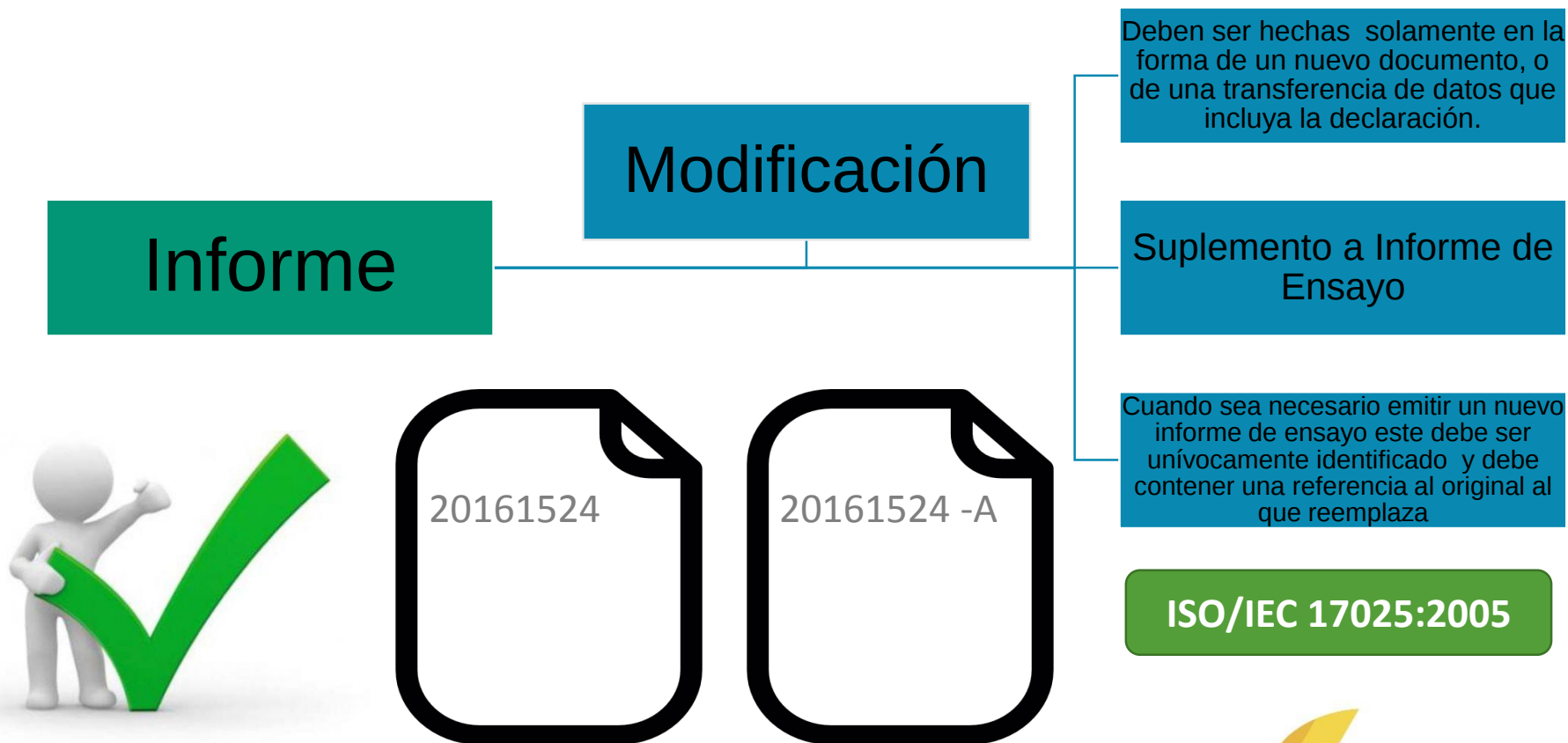


Verificación del proceso de lavado del material.

Los registros de las operaciones de limpieza deben permitir corroborar el cumplimiento del plan establecido



Los resultados de cada ensayo, calibración o serie de ensayos efectuados por el laboratorio, deben ser informados en forma exacta, clara, no ambigua y objetiva.



Objetivo de los ensayos de intercomparación

Ayudar a los laboratorios a demostrar, por medio de su funcionamiento global, la **calidad y competencia** en los ensayos involucrados, permitiendo **evaluar la capacidad analítica de un método**, tanto por comparación frente a otros laboratorios similares, como por la evolución temporal de su participación.

Con la obtención de un **material de referencia** mediante la evaluación de una muestra suficientemente homogénea, permite a los participantes confirmar el grado de cumplimiento con unos criterios establecidos por el organizador, que en caso de no satisfacerse revelaría la posible existencia de errores en los resultados, que deben ser analizados para **investigar su causa y corregirla**.





Los ensayos de aptitud se consideran una herramienta fundamental para evaluar la competencia y el desempeño de los laboratorios, y de algunos organismos de inspección, identificar problemas en los laboratorios e iniciar acciones para la mejora, además de proporcionar confianza a los clientes de los laboratorios y otras partes interesadas, tales como las autoridades reguladoras y los organismos de acreditación

OFICINA DE LABORATORIOS Y CONTROL DE CALIDAD

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas

VERIFICACIÓN INTERMEDIA

Bogotá D.C
26-10-2016

Como parte de su sistema de calidad, el laboratorio debe documentar e implantar un programa de mantenimiento, calibración y verificación del funcionamiento de sus equipos.

El mantenimiento de los equipos esenciales debe realizarse a los intervalos especificados dependiendo de factores tales como la frecuencia de uso.

Se mantendrá un registro detallado de todas las operaciones realizadas.



✓ Confirmación Metrológica:

Conjunto de operaciones requeridas para asegurarse de que el equipo de medición es conforme a los requisitos del uso previsto.

La confirmación metrológica generalmente incluye intervenciones como:

- Mantenimiento
 - Calibración
 - Verificación
 - Cualquier ajuste o reparación necesario y la subsiguiente recalibración.
 - Comparación con los requisitos metrológicos del uso previsto del equipo, así como cualquier sellado y etiquetado requerido.
- Los requisitos para el uso previsto incluyen consideraciones tales como alcance, resolución, error máximo permitido, etc.

La confirmación metrológica no se logra hasta que se haya demostrado y documentado la adecuación del equipo de medición para el uso previsto.



✓ Calibración (VIM 3ed 2.39)

Establece, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas, para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación..

Una calibración puede expresarse mediante:

- Una declaración.
- Una función de calibración.
- Un diagrama de calibración.
- Una curva de calibración.
- Una tabla de calibración.

En algunos casos, puede consistir en una corrección aditiva o multiplicativa de la indicación con su incertidumbre correspondiente.

Conviene no confundir la calibración con el ajuste de un sistema de medida, a menudo llamado incorrectamente “autocalibración”, ni con una verificación de la calibración.



✓ VERIFICACIÓN

La verificación intermedia, se entiende como una serie de pruebas que permitan comprobar el estado de calibración de los equipos de medición.

“Aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface los requisitos especificados”.

- ✓ Evaluación de la conformidad, aplicada al control legal de instrumentos de medición.
- ✓ Verificación metrológica en el proceso de confirmación metrológica ISO 10012, con aplicación en sistemas de gestión: ISO 9001, ISO 14001, ISO 22000.
- ✓ Verificación de la calibración o comprobación intermedia como se requiere en ISO/IEC 17025 con requisitos equivalentes en ISO/IEC 17020 e ISO 15189.



La verificación entre los periodos de calibración, establece una buena y necesaria practica para mantener la confianza del estado de calibración.

Asegurar que el equipo y los procesos de medición sean adecuados para su uso previsto, con el fin de alcanzar objetivos de calidad y gestionar el riesgo de obtener resultados de medición incorrectos.

El resultado de una verificación conduce a una toma de decisión en el sentido de:

- ✓ Devolver al servicio.
- ✓ Realizar ajustes.
- ✓ Reparar.
- ✓ Degradar o declarar obsoleto a un equipo.

En todos los casos se requiere que se registre por escrito la verificación y que se guarden los registros del instrumento.





¿CÓMO SE HACE?

PASO 1



- La verificación intermedia debe realizarse con un patrón de temperatura trazable (calibrado).

PASO 2



- Se debe realizar un cronograma para la ejecución de la verificación intermedia para los equipos isotérmicos lo cual lo define la organización.

PASO 3



- Programar los sensores de temperatura y el tiempo requerido para la toma de datos.

¿CÓMO SE HACE?



- Ubicar el o los sensores en la cámara del equipo.



- Se debe identificar el equipo cuando se este realizado la actividad de verificación y así evitar errores de medición.



- Descargar los datos siguiendo las instrucciones indicadas por el fabricante, si es un sensor inalámbrico, de lo contrario pasar los datos tomados manualmente a Excel.

¿CÓMO SE HACE?



- Analizar informe de verificación intermedia para toma de decisiones que aseguren que los equipos estén bajo criterios de aceptabilidad en cuanto a las tolerancias de los diferentes métodos



- Generar reporte y disponer en la carpeta del equipo diligenciando el formato de seguimiento metrológico.

EJEMPLO

Serial Number		
10019347		
CONGELADOR INV 9737	Time	Celsius(°C)
1	25/08/2016 22:19	-19,8
2	25/08/2016 22:24	-20,7
3	25/08/2016 22:29	-19,9
4	25/08/2016 22:34	-20
5	25/08/2016 22:39	-19,3
6	25/08/2016 22:44	-19,1
7	25/08/2016 22:49	-20,9
8	25/08/2016 22:54	-19,7
9	25/08/2016 22:59	-19,9
10	25/08/2016 23:04	-19,6
11	25/08/2016 23:09	-19,6
12	25/08/2016 23:14	-19,3
13	25/08/2016 23:19	-19,5
14	25/08/2016 23:24	-20,7
15	25/08/2016 23:29	-22,2
16	25/08/2016 23:34	-21,1
17	25/08/2016 23:39	-19,1
18	25/08/2016 23:44	-20
19	25/08/2016 23:49	-20
20	25/08/2016 23:54	-19,2
21	25/08/2016 23:59	-21,1
22	26/08/2016 0:04	-20,1

Rango del Equipo
-20 +/- 2

TOLERANCIA

Maximo	-22
Minimo	-18



PROMEDIO	-20,04
VALOR MAXIMO	-19,1
VALOR MINIMO	-22,2
DESVIACION ESTANDAR	0,79
MEDICION DE CORRECCION	-0,77
MEDICION APLICANDO LA CORRECCION	-20,81



DATO QUE ES
TOMADO DEL
CERTIFICADO DE
CALIBRACION

MINSALUD

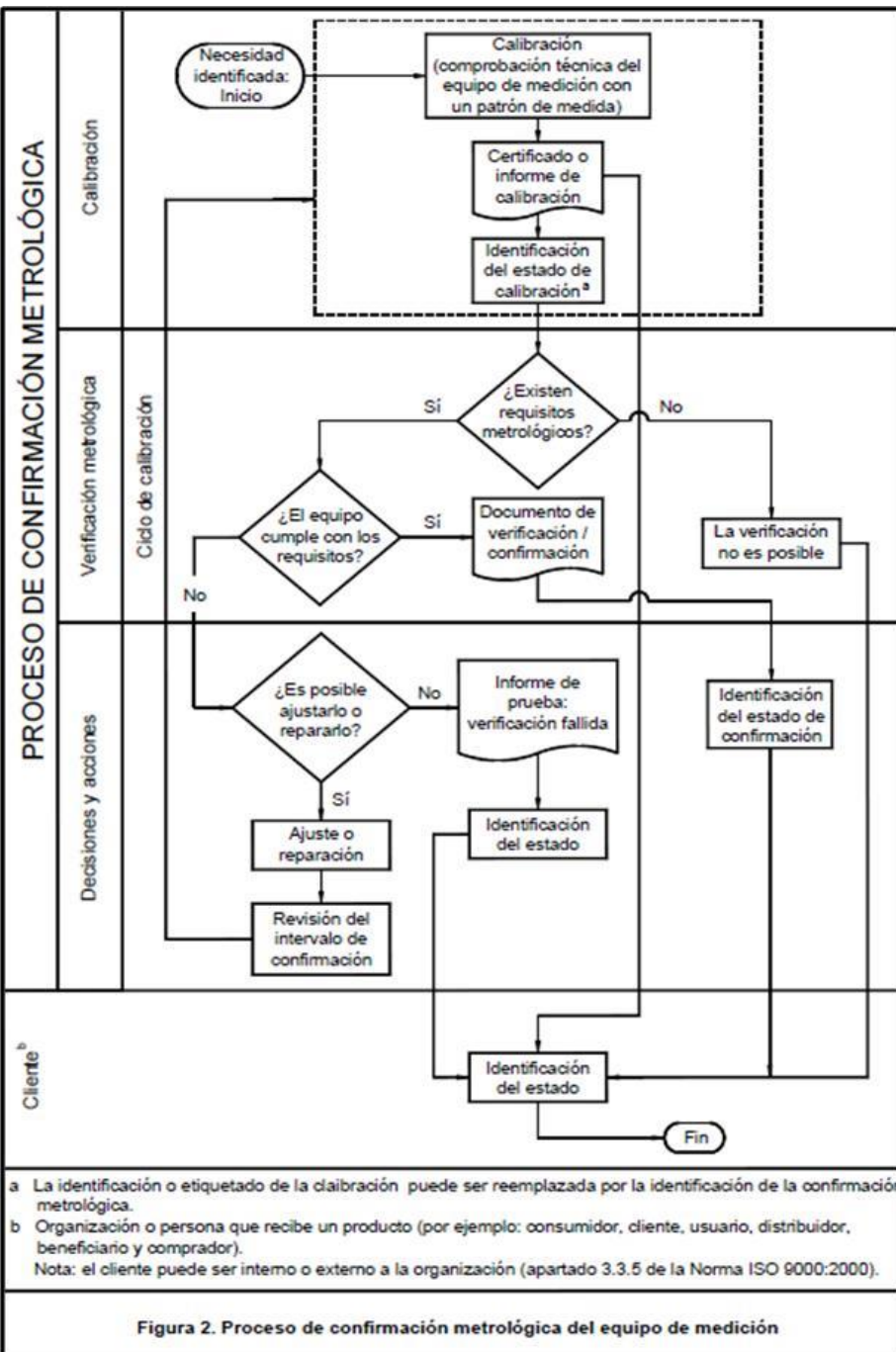
Invima

NORMA ISO 10012



MINSALUD

Invima



Tipos de intervención

✓ Mantenimiento



✓ Calibración

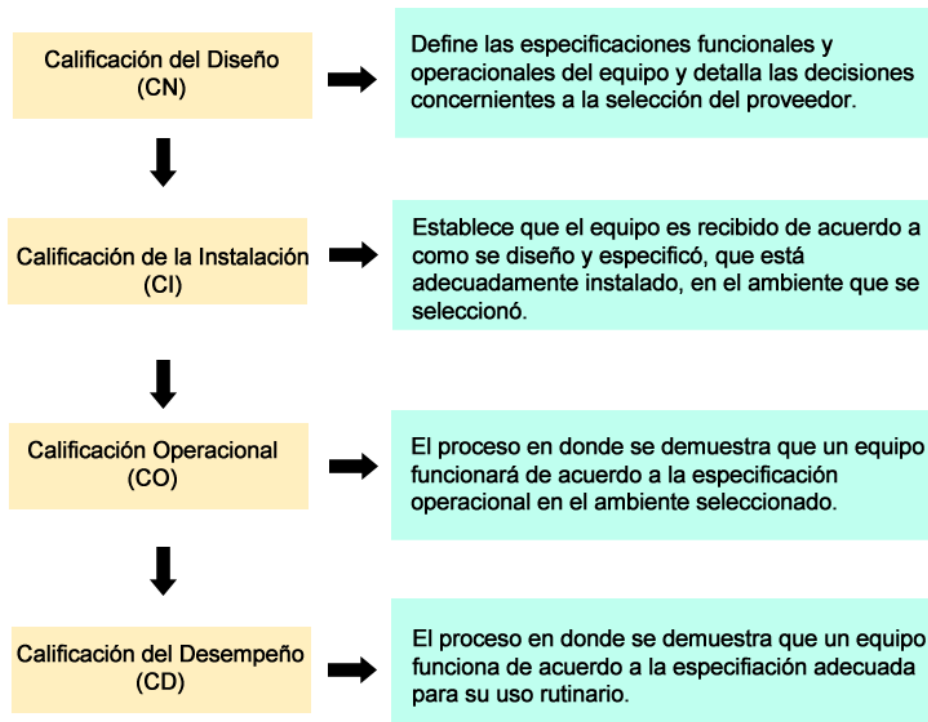


✓ Verificación



✓ Calificación





✓ Calificación

Acción de demostrar y documentar que un sistema o equipo se encuentra instalado y funciona correctamente.

Consiste en una serie de verificaciones y ensayos que se efectúan para asegurar que los equipos cumplen con las especificaciones de diseño, instalación operación y del proceso.

✓ PLAN METROLOGICO:

Definir anualmente, en el formato Plan de control de equipos o instrumentos, la programación del control de equipos, instrumentos y patrones, a través de la definición de la frecuencia con la que se ejecutan las intervenciones de mantenimiento, calibración, verificación, calificación operacional y de desempeño.

El tipo de intervenciones metrológicas y la frecuencia con que se ejecutan depende de:

- Frecuencia y condiciones de uso.
- Las recomendaciones de los proveedores y/o fabricantes de los equipos e instrumentos.
- Condiciones de almacenamiento del equipo/instrumento/patrón.
- La clasificación del equipo o instrumento.
- La ejecución de los procesos contractuales.



GESTIÓN METROLÓGICA

		LABORATORIO:				AÑO DE VIGENCIA:					FECHA DE ACTUALIZACIÓN:												
ITEM	EQUIPO O INSTRUMENTO	Nº IDENTIFICACIÓN	CLASIFICACION	FECHA DE LA ULTIMA ACTIVIDAD	FRECUENCIA ESTABLECIDA	PLAN	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	EVIDENCIA DE EJECUCIÓN	OBSERVACIONES			
				Mantenimiento		Programado																	
						Ejecutado																	
				Calibración		Programado																	
						Ejecutado																	
				Verificación		Programado																	
						Ejecutado																	
				<u>Verificación Interna</u>		Programado																	
						Ejecutado																	
				Calificación operacional		Programado																	
						Ejecutado																	
				Calificación de desempeño		Programado																	
						Ejecutado																	

Tomado de: PA06-GM-LABS-F003. Plan de control de equipos o instrumentos. Versión: 03 Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas.

✓ FICHA TECNICA:

En lo posible debería tener la siguiente información Nombre equipo , modelo , serie.

Características metrológicas : exactitud , precisión , escala de medición , rango de medición, rango de uso, características ambientales del equipo y condiciones de instalación.

- Resolución : Mínima variación de la magnitud medida que da lugar a una variación perceptible de la indicación correspondiente.
- Exactitud: Proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando.
- Precisión: Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.
- Rango: Conjunto de valores de la variable medida que están comprendidos dentro de los límites superior e inferior de la capacidad de medición y transmisión del instrumento.

GESTIÓN METROLÓGICA

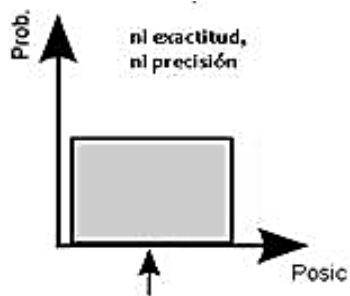
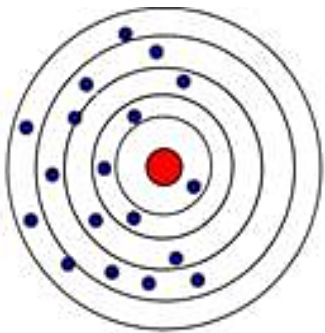
INFORMACION GENERAL				
Nombre				
Marca				
Fabricante				
Modelo				
Serial (S/N)				
No. Inventario INVIMA				
No de identificación				
Característica Metrológica a controlar				
Código de Manual y/o Guía operativa o Instructivo				
Ubicación del equipo				
Fecha de recepción del equipo				
Tipo de equipo (Anexo 2 procedimiento PA06-GM-LABS-P001 Gestión metrológica)				
FOTOGRAFIA DEL EQUIPO O INSTRUMENTO o DISPOSITIVO				
DESCRIPCION DE COMPONENTES Y ACCESORIOS				
No. Inventario INVIMA	Descripción	Modelo	Serie	
CARACTERISTICAS METROLOGICAS				
CARACTERISTICA	APLICA		MEDIDA	UNIDADES
	Si	No		
Exactitud				
Precisión				
Escala de medición (Resolución)				

Tomado de: PA06-GM-LABS-F001. Ficha técnica de equipo o instrumento. Versión: 03 Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas.

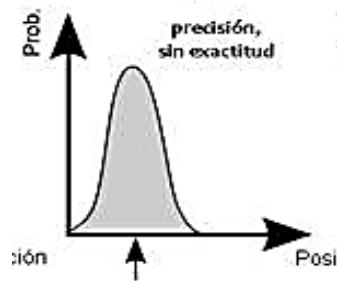
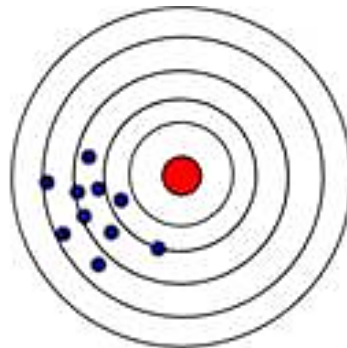
MINSALUD

Invima

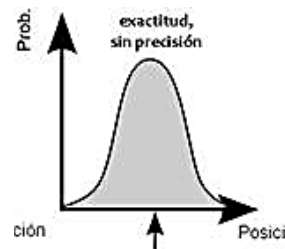
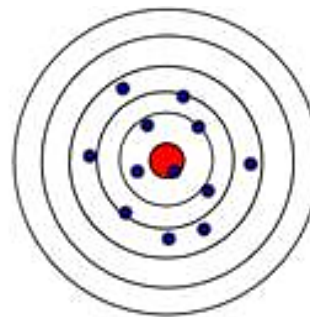
Caso 1



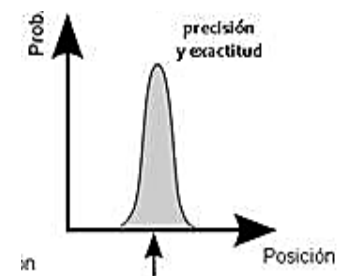
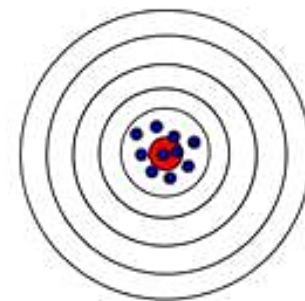
Caso 2



Caso 3



Caso 4



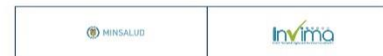
✓ SEGUIMIENTO METROLOGICO

Un historial de intervenciones metrológicas dentro del formato

- Nombre de equipo, instrumento, patrón o juego de patrones
- Número de identificación.
- Fecha: Corresponde a la fecha en que se realiza la intervención.
- Actividad: Corresponde al tipo de intervención metrológica realizada (mantenimiento, calibración, verificación interna o externa, calificación).
- Descripción de la actividad: Se describe la intervención que se le realizó y la situación que da origen a la actividad metrológica, cuando aplique.
- Resultado de la actividad: Se describe el estado final del equipo, instrumento, patrón o juego de patrones.
- Evidencia: Se relaciona el documento asociado a la actividad
- Ejecutado por: Se consignan el nombre del proveedor o del personal que realizó la actividad.
- Seguimiento diligenciado por: se consigna el nombre o firma de la persona encargada de realizar el seguimiento de la actividad.
- Observaciones: Se consigna cualquier consideración adicional.

✓ EVIDENCIAS

Los soportes e informes de las actividades metrológicas y seguimientos de servicios técnicos realizados.



GESTIÓN METROLÓGICA

Nombre Equipo o Instrumento:										Número de Identificación:									
Fecha (AAAA-MM-DD)			Actividad								Descripción de la actividad	Resultado de la actividad	Evidencia	Ejecutado por:	Seguimiento diligenciado por:	Observaciones			
			Mantenimiento		Calificación		Verificación		Calibración	Otra, Cuál?									
			Preventivo	Correctivo	Instalación	Operacional	Desempeño	Interna									Externa		

Tomado de: PA06-GM-LABS-F002. Seguimiento metrológico. Versión: 03 Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas.

Guía operativa y/o instructivo del Equipo

Instrumento, patrón o juego de patrones, en los que se pueden establecer instrucciones básicas de operación, condiciones de uso, limpieza, verificaciones de rutina y/o manipulación y para los patrones o juegos de patrones debe incluir adicionalmente instrucciones de traslado o transporte cuando sea requerido.

- El manual del fabricante (cuando se encuentre disponible y sea posible archivarlo dentro de la carpeta) y cuando aplique una traducción simple al español. Este manual es controlado de acuerdo al procedimiento Control de Documentos como documento externo.



GESTIÓN DOCUMENTAL EN METROLOGÍA

Plan de control de equipos

- Plan Metrológico

Ficha técnica

- Formato

Seguimiento metrológico

- Formato

Equipo Fuera de servicio

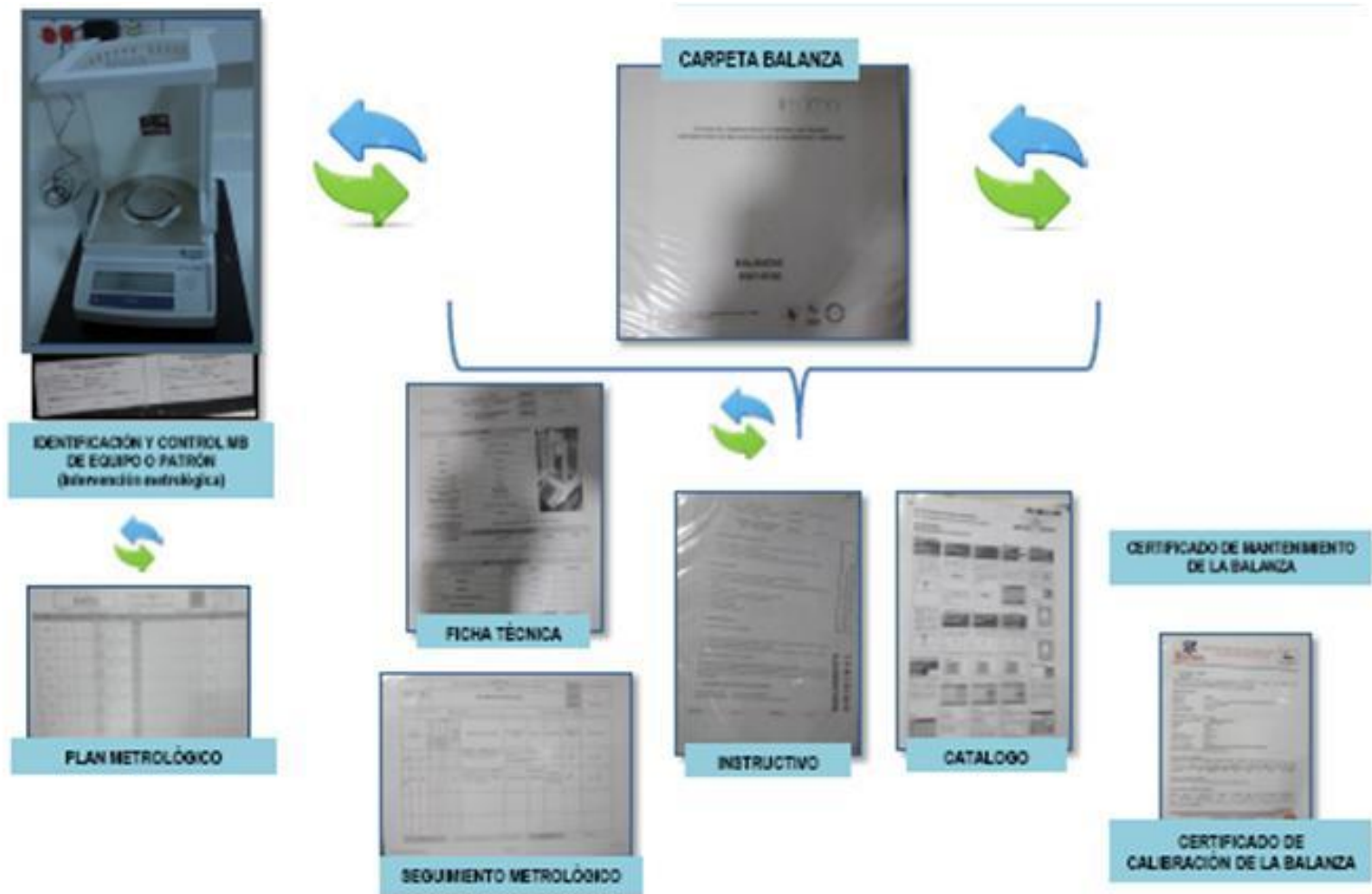
- Formato para evidenciar el estado del equipo

identificación equipo

- Código interno o inventario desde almacén



ORGANIZACIÓN



✓ Trazabilidad

Propiedad del resultado de una medición por la cual este puede relacionarse a una referencia a través de una cadena ininterrumpida de calibraciones, debidamente documentadas, cada una de las cuales contribuye con una incertidumbre de medición.



Propiedad del resultado de una medición o el valor de un patrón por el cual puede ser relacionado con los patrones de referencia, usualmente nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones, teniendo establecidas las incertidumbres.

Según las normas internacionales ¿Quién debe efectuar los servicios de calibración?

La selección de su proveedor de servicios de calibración es tan importante como la calibración misma; un laboratorio de metrología calificado, debe contar con los siguientes requisitos:



CADENA DE TRAZABILIDAD



CADENA DE TRAZABILIDAD

1. Sistema de calidad basado en la norma ISO/IEC 17.025 :2005
2. Patrones de referencia de alta exactitud, **trazables** a patrones nacionales o internacionales.
3. Procedimientos de calibración basados en normas y recomendaciones nacionales o internacionales.
4. Instalaciones con condiciones ambientales controladas que aseguren la reproducibilidad de sus servicios.
5. Personal altamente especializado en metrología.

La ILAC considera que los elementos necesarios para confirmar la trazabilidad metrológica son: una cadena de trazabilidad metrológica ininterrumpida a un patrón internacional o a un patrón nacional, una incertidumbre de medida documentada, un procedimiento de medida documentado, una competencia técnica reconocida, la trazabilidad metrológica al SI y los intervalos entre calibraciones (véase ILAC P-10:2002).



CONCLUSIONES

- ✓ Un patrón para realizar la verificación pone fin a las dudas y nos puede advertir a tiempo de un mal desempeño.
- ✓ Resolvemos preguntas que surgen de la falta de confianza en los resultados de las mediciones.
- ✓ Se reitera de la importancia de realizar verificaciones intermedias de esta manera podremos cumplir con los lineamientos de la norma NTC ISO 17025:2005
- ✓ una verificación intermedia, no es sustituto de una calibración.
- ✓ Los mantenimientos programados al equipo de medición no se deben aplazar por la razón de que los equipos cumplen satisfactoriamente una verificación intermedia.





OFICINA DE LABORATORIOS Y CONTROL DE CALIDAD

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas

CONTROL DE TÉCNICAS

Bogotá D.C
26-10-2016

CONTROL DE TÉCNICAS

OBJETIVO

Establecer un procedimiento que mediante el uso de cepas de referencia ATCC permita comprobar microbiológicamente que la técnica aplicada haya obtenido los resultados esperados sin presentar desviaciones.



ALCANCE

El procedimiento aplica para todas las técnicas que se lleven a cabo dentro del Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas.



CONDICIONES PREVIAS

- ✓ Procedimiento de Bioseguridad.
- ✓ Procedimiento de Aseguramiento de la Calidad de los Resultados de Ensayo.
- ✓ Procedimiento de la metodología a aplicar en el análisis de la(s) muestra(s).



CONTROL DE TÉCNICAS



MATERIALES Y EQUIPOS

MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

MATERIAL DE REFERENCIA

CONDICIONES AMBIENTALES

DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO



MINSALUD

Invima

**TODOS POR UN
NUEVO PAÍS**
PAZ EQUIDAD EDUCACIÓN

CONTROL DE TÉCNICAS

1.
VERIFICACIÓN
DE CEPAS

2.
PERIODICIDAD
DE CONTROL
DE TÉCNICAS

3.
MANEJO
DE LAS
CEPAS
PARA EL
CONTROL
DE
TÉCNICAS

4.
MONTAJE DE
CONTROLES

5.
PROCEDIMIE
NTO SIEMBRA
DE LAS CEPAS

6.
LECTURA Y
DISPOSICIÓN
FINAL DE
CONTROLES

7.
REPORTE DE
RESULTADOS

8.
CONFIRMACIÓN
A RESULTADOS
POSITIVOS



MINSALUD

Invima



CONTROL DE TÉCNICAS

1. VERIFICACIÓN DE CEPAS



Cada vez que se empiece un criovial:

- ✓ Verificar la viabilidad y pureza de la cepa ATCC procedente del cepario en medios a los cuales aplique ésta como control negativo o positivo.
- ✓ Registrar dicha verificación.

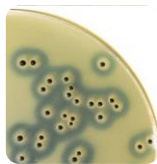
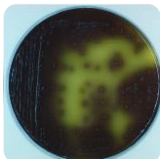
Sí los resultados de la verificación anterior son conformes, habilitar la cepa para su uso en controles de técnicas.

2. PERIODICIDAD DE CONTROL DE TÉCNICAS



Cada vez que se monte la técnica.

Nota: Los medios de cultivo, tendrán control de esterilidad del medio solo una vez en la semana (mismo lote).



MINSALUD

Invima



CONTROL DE TÉCNICAS

3. MANEJO DE LAS CEPAS PARA EL CONTROL DE TÉCNICAS

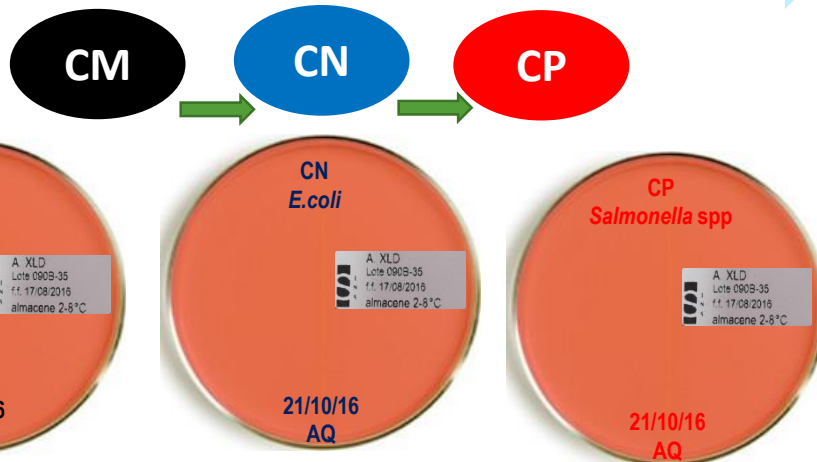
- ✓ **La cabina de bioseguridad debe estar totalmente limpia y desinfectada.** Ésta, no debe ser empleada para ningún otro fin si se va a realizar el montaje de controles de técnica.
- ✓ **Asegurarse que tiene todos los medios que va emplear para la evaluación de la (s) técnica (s).**
- ✓ **Verificar cuáles son las cepas ATCC que necesita para la técnica a evaluar.**

ANEXO 1. CEPAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DE TÉCNICAS

Medio	Cepa Utilizada <u>CN</u>	Cepa Utilizada <u>CP</u>	Medio	Cepa Utilizada <u>CN</u>	Cepa Utilizada <u>CP</u>
Agar Plate Count	<u>No aplica</u>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Caldo Half Fraser	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115
Caldo Lactosado Simple	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>E. coli</i> ATCC 25922	Caldo Fraser		
Caldo Lactosado Doble			Caldo EB		
Caldo Brilla			Agar PALCAM		
Caldo Indol			Agar OXFORD		
			Agar ATN	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115

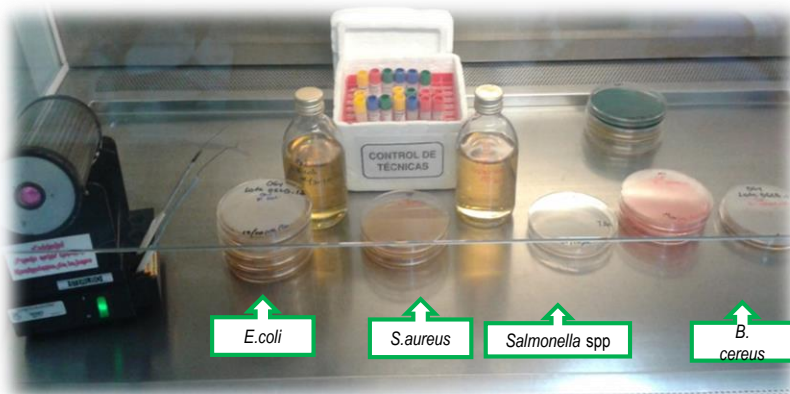
CONTROL DE TÉCNICAS

4. MONTAJE DE CONTROLES



SOLICITUD DE CONTROLES DE TÉCNICA															
Formulario		Responsable:													
MAÑANA (pm)															
PARAMETROS	LUNES	MARTES	MIERCOLES	JUEVES	VIERNES										
	Temperatura	Humedad	Presión	pH	Conductividad	Temperatura	Humedad	Presión	pH	Conductividad	Temperatura	Humedad	Presión	pH	Conductividad
Temperatura															
Humedad															
Presión															
pH															
Conductividad															
TARDE (pm)															
PARAMETROS	LUNES	MARTES	MIERCOLES	JUEVES	VIERNES										
Temperatura															
Humedad															
Presión															
pH															
Conductividad															

- ✓ Marcación de medios de cultivo (código colores).
- ✓ Escribir en cada uno de los controles el nombre de la cepa a utilizar, fecha y siglas del responsable.
- ✓ Realizada la marcación, agrupar por microorganismos los medios.



MINSALUD

Invima

**TODOS POR UN
NUEVO PAÍS**
PAZ EQUIDAD EDUCACIÓN

CONTROL DE TÉCNICAS

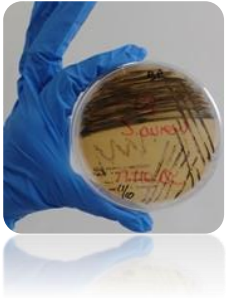
5. PROCEDIMIENTO SIEMBRA DE LAS CEPAS



Se sugiere el siguiente orden en la utilización de las cepas:

Escherichia coli ATCC 25922.
Staphylococcus aureus ATCC 6538.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027.
Salmonella typhimurium ATCC 14028.
Listeria monocytogenes ATCC 19115.
Escherichia coli O157 ATCC 35150.
Campylobacter jejuni subespecie *jejuni* ATCC 33560.
Campylobacter coli ATCC 43478.
Vibrio cholerae O1.
Bacillus cereus ATCC 11778.
Bacillus spizizenii ATCC 6633.
Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763





CONTROL DE TÉCNICAS

6. LECTURA Y DISPOSICIÓN FINAL DE CONTROLES

7. REPORTE DE RESULTADOS

IDENTIFICACION DE CEPAS REFERENCIA

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ec	<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	Sf	<i>Escherichia coli</i> O157 ATCC 35150	EcO	<i>Vibrio furnissii</i> NCTC 11218	Vf
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Sa	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	St	<i>Campylobacter jejuni</i> subespecie <i>jejuni</i> ATCC 33560	Cj	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	Sc
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ATCC 49444	Sp	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	Lm	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 43478	Cc	<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939	Re
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Pa	<i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119	Liv	<u><i>Campylobacter lari</i> ATCC 35221</u>	<u>Cl</u>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Bc
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Ef	<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	Lin	<i>Vibrio choleraea</i> O1	Vc	<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633	Bs

Registrar la sigla de la cepa utilizada en cada control, según el cuadro de identificación de cepas de referencia y reportar los resultados como:

S → Cuando el control es satisfactorio.

NS → Cuando el resultado no es satisfactorio.

NA → Cuando No Aplica al ensayo evaluado.

Nota: CM: Control Medio CN: Control Negativo CP: Control Positivo

CONTROL DE TÉCNICAS

6. LECTURA Y DISPOSICIÓN FINAL DE CONTROLES

7. REPORTE DE RESULTADOS

		LABORATORIOS INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS INVIMA						CÓDIGO: P001-MR-402-F007					
								VERSIÓN: 07					
								VIGENTE: 2015-05-11					
CONTROL DE TÉCNICAS								Hoja N°:					
Fecha:		Cod. Analista:											
RECuento MICROORGANISMOS MESOFILOS							NMP COLIFORMES			RECuento <i>E. coli</i>			
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado	MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar Plate Count							Caldo Brill 2%						
RTO ESPORAS AEROBIAS/ANAEROBIAS							NMP COLIFORMES (en agua)			RECuento ENTEROBACTERIAS			
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado	MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Cisteinado tipo respiratorio							Caldo lactosado simple						
							Caldo lactosado doble			Agar YRBG			
RTO MONOS Y LEYADURAS							RECuento DE ESPORAS C.S.B.			RECuento <i>Stafilococo coagulasa positivo</i>			
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado	MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar OGY							Agar SES						
DETECCIÓN DE <i>Salmonella</i> spp.							DETECCIÓN DE <i>Listeria monocytogenes</i>			DETECCIÓN <i>Escherichia coli</i> O 157:H7			
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado	MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agua peptona tamponada							Caldo EB						
Caldo Rappaport-Vassiliadis							Caldo half fraser						
Caldo Muller Kaufman							Caldo fraser						
Caldo M							Agar Oxford						
										Caldo tripticase de soya modificado con novobiocina+carbamioácidos Caldo tripticase de soya modificado con novobiocina Agar MucConkey con sorbitol adicionado con cefalexima+tetraciclina			

CONTROL DE TÉCNICAS



6. LECTURA Y DISPOSICIÓN
FINAL DE CONTROLES

7. REPORTE DE
RESULTADOS

							
Fecha: _____							
RECuento MICROORGANISMOS MESOFILOS							
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultad	Cepa CN	Resultad	
Agar Plate Count	XYZ	S	Ec	S	NA	NA	
RTO ESPORAS AEROBIAS/ANAEROBIAS							
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultad	Cepa CN	Resultad	
Cisteinado tipo respiratorio							
RTO MOHOS Y LEYADURAS							
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultad	Cepa CN	Resultad	
Agar DGY	XYZ	S	Sc	S	Ec	NS	
DETECCIÓN DE <i>Salmonella</i> spp.							
MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultad	Cepa CN	Resultad	
Agua peptona tamponada	XYZ	S	ST	S	Ec	S	
Caldo Rappaport-Vassiliadis							
Caldo Muller Kauffman							
Caldo M							



MINSALUD

Invima


**TODOS POR UN
NUEVO PAÍS**
 PAZ EQUIDAD EDUCACIÓN

CONTROL DE TÉCNICAS

8. CONFIRMACIÓN A RESULTADOS POSITIVOS

CONFIRMATORIAS

NMP *Pseudomonas aeruginosa*

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Caldo acetamida						

NMP COLIFORMES

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar EMB						

RECUESTO *Estafilococo coagulasa positivo*

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Caldo BHI						
Plasma de Conejo						

DETECCIÓN *Escherichia coli* O157:H7

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar cromogénico ID <i>E.coli</i> O157						
Agar cromogénico <i>E.coli</i> O157						
Agar de selección para <i>E. coli</i> O157 de origen humano (SRM)						
Dynal anti- <i>E.coli</i> O157						
Agar TBX						
Caldo triptófano						
Solución azulina estéril						
Agar Lisina + Hierro Descarboxilasa						
Agar UREA						
Agar Citrato de Simmons						
Agar Motilidad GI						
Caldo Glucosa						
Caldo Isotosa						
Caldo sacarosa						
Caldo Sorbitol						

DETECCIÓN DE *Salmonella* spp.

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar XLD						
Agar Hektoen						
Agar cromogénico SM2						
Agar LIA						
Agar TSI						
Agar Urea						
API 20 E						
RAPID 20E						
Caldo glucosa						
Caldo Isotosa						
Caldo sacarosa						
Caldo aminoácido lisina						
Caldo arginina						
Caldo Ornitina						
Caldo nitrato						

NMP COLIFORMES FECALES

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Caldo brillis 2%						
Caldo indol						

DETECCIÓN *Vibrio cholerae*

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar nutritivo + NaCl						
Anticuerpo polyvalente						

DETECCIÓN DE *Listeria monocytogenes*

MEDIO	LOTE	CM	Cepa CP	Resultado	Cepa CN	Resultado
Agar Oxford						
Agar Bismum						



OFICINA DE LABORATORIOS Y CONTROL DE CALIDAD

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AMBIENTES

Bogotá D.C
26-10-2016

Medición de la calidad del aire: se realiza mediante la captación y el análisis de muestras para determinar si hay algún contaminante (biológico) que sobrepase los límites permitidos o muestre una clara tendencia hacia ello.

Justificación: Los microorganismos presentes en el aire son un riesgo potencial de contaminación áreas que requieran calidad de aire controlado.

Alcance: Este procedimiento se aplicará al control de los puntos establecidos por los Laboratorios de Microbiología, con el fin de garantizar los resultados obtenidos en el mismo.

ISO 14698:2003: establece los principios y la metodología básica de un sistema formal de **control de la contaminación biológica** para evaluar y controlar biocontaminantes, cuando la tecnología de **cuartos asépticos** se aplica a tal efecto. Se especifican los métodos requeridos para vigilancia de las zonas de riesgo y de aplicación de las medidas de control adecuadas para el nivel de riesgo.

- ✓ INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Cleanrooms and associated controlled environments -- Biocontamination control -- **Part 1: General principles and methods. ISO 14698-1:2003.** 2 ed. Geneva. Suiza: ISO, 2003. p.32.
- ✓ INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Cleanrooms and associated controlled environments -- Biocontamination control -- **Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data. ISO 14698-2:2003.** 1 ed. Geneva. Suiza: ISO, 2003. p.11.
- ✓ INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Cleanrooms and associated controlled environments -- Part 1: **Classification of air cleanliness by particle concentration. ISO 14644-1:2015.** 2 ed. Geneva. Suiza: ISO, 2015. p.37.

TÉCNICAS DE MUESTREO AMBIENTAL

Variables	Sedimentación	Recuento en medio líquido	Filtración
Procedimiento Exposición de placas de Petri al ambiente durante un cierto tiempo (evitando deshidratación)  	Exposición de placas de Petri al ambiente durante un cierto tiempo (evitando deshidratación)  	 • Medio de cultivo. • NMP, inclusión en agar, filtración).	• Aire + filtro • Sobre medio sólido • O a partir del líquido de lavado. 
Expresión de resultados	• UFC. • No por volumen de aire. • Cualitativos.	• UFC/m3 de aire • Cuantitativos	
Insumos	• Cajas de Petri (90 mm) • Agar plate count (mesófilos). • Agar Sabouraud/OGY: mohos y levaduras.	• Medios de cultivo (sedimentación). • Bomba de vacío. • Material de vidrio. • Agua de Peptona	• Medios de cultivo (sedimentación). • Filtros (membrana celulosa). • Líquido de lavado para membrana filtrante.
Ventaja	• Se puede realizar en las condiciones habituales de trabajo y en tiempo real. • Económico y requiere muy poco tiempo de dedicación.	• No hay riesgo de desecación del medio de cultivo. • Exactitud en el recuento	• Las mismas que el medio líquido. • Puede producirse la muerte de microorganismos por desecación con volúmenes de muestreo superiores a 250 L.

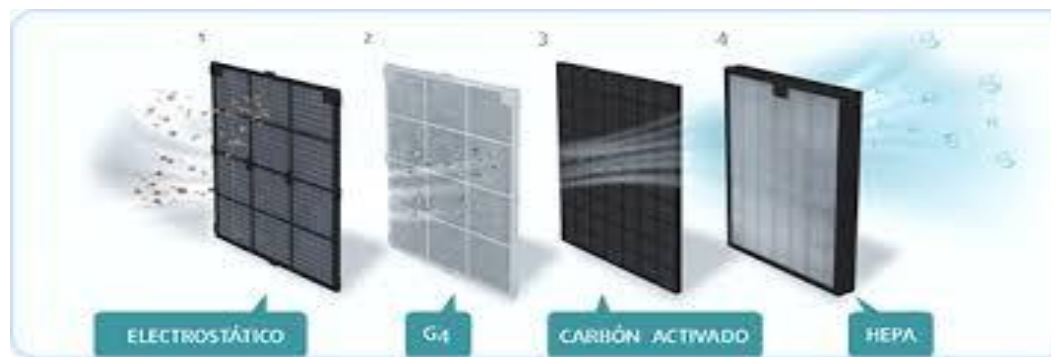
Aire Limpio: libre de partículas sucias y de microorganismos.

Tratamientos para obtener aire libre de contaminantes:

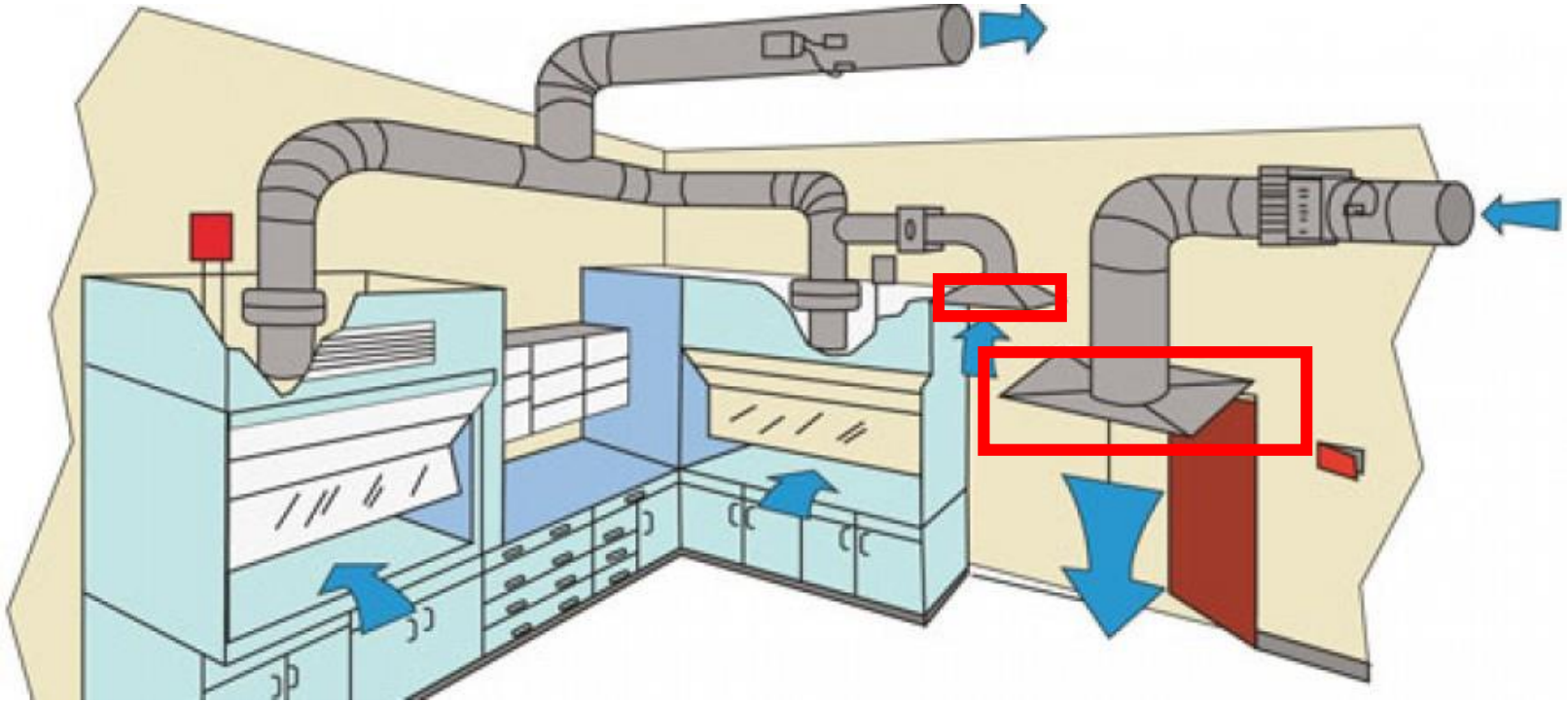
- ✓ El aire de entrada atraviesa un prefiltro (retiene partículas grandes)
- ✓ Precipitador electrostático (atracción de partículas cargadas eléctricamente)

Filtros de Alta Eficiencia: estos filtros denominados HEPA y ULPA por sus iniciales en inglés (High Efficiency Particulate Air y Ultra Low Penetration Air), retienen el 99.97 y el 99.99% respectivamente, de partículas tan pequeñas como 0.3 micrones.

Compuestos por fibra de vidrio y con diámetros entre 0.2 y 0.5 micrones, entrelazada de forma aleatoria y espaciadas entre sí más de 0.3 μm .



DEFINICIONES



Área Biolimpia: espacio delimitado en el cual la contaminación ambiental, en términos de partículas y de microorganismos, así como la carga microbiana en las superficies (muros, cielos, pisos, equipos, máscaras, gorros, delantales, cubre calzados, guantes se encuentran dentro de los límites especificados para ella.

Humedad relativa: es la humedad que contiene una masa de aire, en relación con la máxima humedad absoluta que podría admitir sin producirse condensación, conservando las mismas condiciones de temperatura y presión atmosférica. Esta es la forma más habitual de expresar la humedad ambiental, en porcentaje (%).

Nivel de alerta: nivel establecido por el usuario en el contexto de ambientes controlados, enviando una alerta temprana de una desviación de las condiciones normales, el cual, cuando es excedido, debería generar un incremento en la atención del proceso.

Placas de sedimentación: recipiente adecuado (ejemplo cajas de petri) de un tamaño adecuado. Que contiene un medio de cultivo estéril, el cual es dejado en exposición sin tapa por un tiempo definido para recolectar partículas viables presentes en el aire.

MUESTREO POR SEDIMENTACIÓN

Selección de áreas a muestrear y establecimiento de criterios

Marcar las cajas indicando el punto muestreado, área, fecha e iniciales del encargado del proceso

Servir los medios (OGY y Plate Count) en las cajas previamente marcadas separar una caja de cada medio control de esterilidad de los mismos

Colocar una placa abierta de Agar Plate Count y Agar OGY en cada punto a muestrear

Exponer las cajas en los puntos establecidos durante **30 minutos**

Tapar y recoger las placas al terminar el tiempo establecido de exposición

Incubar a la temperatura y tiempo correspondiente

SELECCIÓN DE ÁREAS A MUESTREAR

HEPA



SELECCIÓN DE ÁREAS A MUESTREAR

HEPA



SELECCIÓN DE ÁREAS A MUESTREAR

FILTRO 65% DE RETENCIÓN



Los valores de calidad ambiental admisibles dependen del tipo de área.

Ejemplo establecimiento de criterios:

- Cabinas de Bioseguridad 0 UFC
- Ambiente muy limpio <10 UFC

ÁREA	Rango de recuento Microorganismos mesófilos	Rango de recuento de mohos y levaduras
• Cabinas de bioseguridad	0 UFC	0 UFC
• Mesones Áreas asépticas	6 UFC en promedio en las dos áreas.	
• Esclusa de áreas asépticas.	Entre 10 a 20 UFC en promedio.	

- **Nivel de alerta:** Puntos fuera de control, evaluar variables ambientales (T° y HR).
- Determinar actividades y responsables.

MUESTREO POR SEDIMENTACIÓN

Selección de áreas a muestrear y establecimiento de criterios

Marcar las cajas indicando el punto muestreado, área, fecha e iniciales del encargado del proceso

Servir los medios (OGY y Plate Count) en las cajas previamente marcadas separar una caja de cada medio control de esterilidad de los mismos

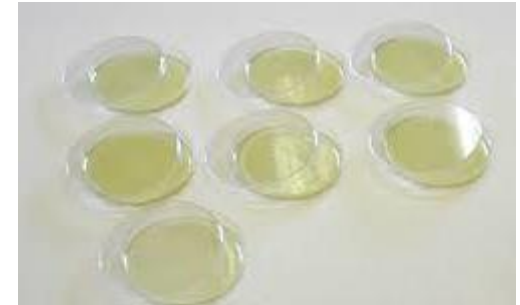
Colocar una placa abierta de Agar Plate Count y Agar OGY en cada punto a muestrear

Exponer las cajas en los puntos establecidos durante **30 minutos**

Tapar y recoger las placas al terminar el tiempo establecido de exposición

Incubar a la temperatura y tiempo correspondiente

MUESTREO POR SEDIMENTACIÓN



- Pasado el periodo de incubación, hacer recuento del número de colonias y reportar los resultados en un formato adecuado.
- **Recuento de mesófilos:** se realizará un único informe a las 48 horas indicando el número de UFC.
- **Recuento de Mohos y levaduras:** si el resultado es negativo se realizarán informes provisionales durante la incubación y el informe definitivo a los 7 días.
- El resultado del control ambiental en cabinas se reporta en formato individual.
- En mesones se puede reportar un solo resultado por área, realizando la suma de todas las colonias encontradas en los diferentes puntos verificados.

REPORTE DE RESULTADOS

EJEMPLO

ÁREA	Rango de recuento Microorganismos mesófilos	Rango de recuento de mohos y levaduras
• Cabinas de bioseguridad	0 UFC	0 UFC
• Mesones Áreas asépticas	6 UFC en promedio.	
• Esclusa de áreas asépticas.	Entre 10 a 20 UFC en promedio.	

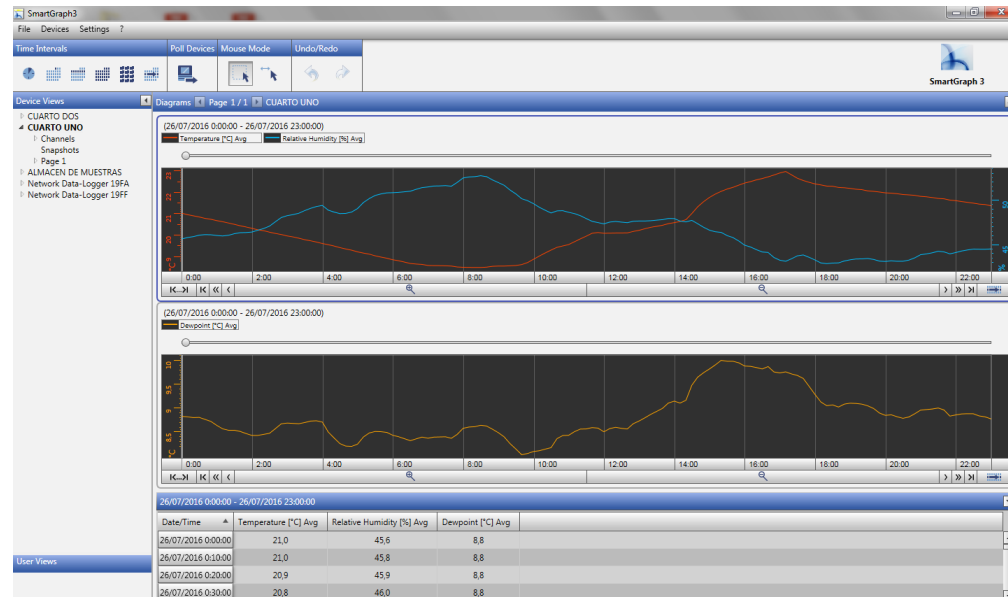
Área: **Cuarto de siembra mesón** Año: _____

MES	Realiza	Verifica	PARAMETRO	Recuento Semana I			Recuento Semana II			Recuento Semana III			Recuento Semana IV			Recuento Semana V			Valor promedio	
				Lote	R		Lote	R		Lote	R		Lote	R		Lote	R		I (°C)	HR (%)
ENERO			Mesófilos M y L	0	OGY-1	S	3	OGY-2	S	0	OGY-3	S	6	OGY-4	S	10	OGY-5	NS		
FEBRERO			Mesófilos M y L																	
MARZO			Mesófilos M y L																	

Variables ambientales modificadas ??
Proceso de limpieza y desinfección??
Fallas de sistema de aire??

ANÁLISIS DE RESULTADOS

- El análisis se debe realizar de acuerdo a los rangos establecidos previamente en el laboratorio (DATOS HISTORICOS).
- Se requiere controlar datos de temperatura y humedad relativa.



Software Registro T° y HR



OFICINA DE LABORATORIOS Y CONTROL DE CALIDAD

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas

LAVADO Y ESTERILIZACIÓN DE MATERIAL

Bogotá D.C
26-10-2016

- ✓ **Desinfección:** proceso mediante el cual se eliminan muchos microorganismos de una superficie inanimada, excepto las formas esporuladas.
- ✓ **Detergente:** agente químico utilizado para la eliminación de la suciedad insoluble en agua.
- ✓ **Estéril:** condición libre de microorganismos viables.
- ✓ **Esterilización:** proceso químico o físico mediante el cual se eliminan todas las formas vivas de microorganismos incluyendo las formas esporuladas.

Resolución 02183/2004. MPS: Colombia

- ✓ **Limpieza:** Proceso u operación de remoción de residuos de alimentos u otras materias extrañas.
- ✓ **Lote:** Una cantidad definida de materia prima, material de envase o empaque, o producto elaborado en un solo proceso o en una serie de procesos, de tal manera que puede esperarse que sea homogéneo.
- ✓ **Muestra:** Cantidad de unidades o parte de un todo, extraída con criterio racional, para asegurar que la misma representa al material a analizar.
- ✓ **Trazabilidad:** capacidad para rastrear o localizar un producto por medio de identificaciones registradas después de ser despachado.

Decreto N° 2007 MPS Colombia

LAVADO DE MATERIAL

El laboratorio debe tener un instructivo y/o procedimiento:

- ✓ Descontaminación de material de vidrio.
- ✓ Enjuague con agua caliente y jabón neutro.
- ✓ Enjuague con agua corriente y con agua destilada (verificación).
- ✓ Secado.



LAVADO DE MATERIAL

Material contaminado:

- ✓ Esterilización
- ✓ Lavado del material esterilizado
- ✓ Esterilización de material limpio

Material limpio:

- ✓ Remojar el material con detergente 2-4 h
- ✓ Lavar con cepillo y esponja
- ✓ Enjuagar 3 veces.



LAVADO DE MATERIAL

ITEM	ACTIVIDAD	IN SUMO	IMPLEMENTOS DE ASEO
Material de vidrio	1. Esterilizar el material contaminado para inactivar microorganismos patógenos antes de proceder al lavado. 2. Retirar los residuos (líquidos-agares). 3. Dejar en remojo durante 24 horas con el detergente. 4. Remover con ayuda de un churrusco la suciedad del material. 5. Enjuagar con agua de llave, hasta remover el detergente. 6. Enjuagar nuevamente con agua destilada. 7. Pasar el material a secado (55°C).	Detergente: Extrán al 3%	Churrusco, esponja
Pipetas	1. Poner a hervir las pipetas durante 30 minutos en el detergente rotándolas frecuentemente. 2. Enjuagar con agua de llave, dejándola correr durante 30 minutos. 3. Enjuagar por inmersión en agua destilada durante 10 minutos. 4. Pasar el material a secado (55°C). 5. Obturar las pipetas con algodón. El algodón demasiado ajustado ofrece resistencia y dificulta la absorción de las sustancias. El algodón demasiado flojo puede deslizarse hacia el ensanchamiento de la pipeta. 6. Empacar en papel Stericlin de forma individual.	Detergente: Extrán al 3%.	No aplica
Láminas portaobjetos	1. Colocar las láminas en una bandeja con el detergente y calentar. 2. Frotar suavemente las láminas con una gasa. 3. Enjuagar con agua de llave. 4. Enjuagar con agua destilada. 5. Colocar el material en el desinfectante. 6. Secar el material.	Detergente: Extrán al 3% Desinfectante: alcohol isopropílico o Etílico al 70%	Gasa
Material de metal	1. Poner a hervir el material durante 10 minutos en el detergente rotándolo frecuentemente. 2. Remover la suciedad del material ejerciendo acción mecánica. 3. Enjuagar con agua de la llave, hasta remover el detergente. 4. Enjuagar nuevamente con agua destilada. 5. Dejar secar al ambiente.	Detergente: Extrán al 3%	Cepillo o esponja.
Material de cerámica	1. Examinar y descartar el material roto, rayado, desportillado o que presente fisuras. 2. Dejar el material en remojo por 30 minutos con el detergente. 3. Remover la suciedad del material. 4. Enjuagar con agua de la llave, hasta remover el detergente. 5. Enjuagar nuevamente con agua destilada. 6. Dejar secar al ambiente.	Detergente: Extrán al 3%	Cepillo o esponja.

Tomado de: PA05-GF-402-P002 Limpieza y desinfección de áreas asépticas, biología molecular y equipos; lavado y esterilización del material del laboratorio. Versión: 05. Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas

Preparación de detergentes y desinfectantes:

Aplicar la siguiente formula:

✓ $V_i \times C_i = V_f \times C_f$

Donde:

- ✓ V_i : Volumen inicial del desinfectante.
- ✓ C_i : Concentración inicial del desinfectante.
- ✓ V_f : Volumen final de la solución a preparar.
- ✓ C_f : Concentración final del desinfectante.

Ejemplo:

A partir del desinfectante de hipoclorito al 5.25% preparar 2000mL al 1%,

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f$$

$$V_i \times 5.25\% = 2000\text{mL} \times 1\%$$

$$V_i = \frac{2000\text{mL} \times 1\%}{5.25\%}$$

$$V_i = 381\text{mL}$$

A partir del desinfectante de hipoclorito 5.25% medir en una probeta 381mL (V_i), y llevar a 2000mL con agua destilada. Agregar la solución a un balde.

LAVADO DE MATERIAL

DETERGENTES		
SOLUCIÓN	VOLUMEN DE SOLUCIÓN	VOLUMEN DE AGUA
EXTRAN al 3%	3mL	Llevar a 100mL
	30mL	Llevar a 1000mL
	60mL	Llevar a 2000mL
EXTRAN al 5%	5mL	Llevar a 100mL
	50mL	Llevar a 1000mL
	100mL	Llevar a 2000mL
DETERGENTE-DESINFECTANTE		
SOLUCIÓN	VOLUMEN DE SOLUCIÓN	VOLUMEN DE AGUA
SURFANIOS	10mL	Llevar a 4000mL
	20mL	Llevar a 8000mL
DESINFECTANTES		
SOLUCIÓN	VOLUMEN DE SOLUCIÓN	VOLUMEN DE AGUA
ALCOHOL al 70%	DIRECTO	No Aplica
ANIOS		
HIPOCLORITO 5,25%		
HIPOCLORITO 5,25% al 2,5%	47,6mL	Llevar a 100mL
	476mL	Llevar a 1000mL
	952mL	Llevar a 2000mL

Tomado de: PA05-GF-402-P002 Limpieza y desinfección de áreas asépticas, biología molecular y equipos; lavado y esterilización del material del laboratorio. Versión: 05. Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas

VERIFICACIÓN LAVADO DE MATERIAL

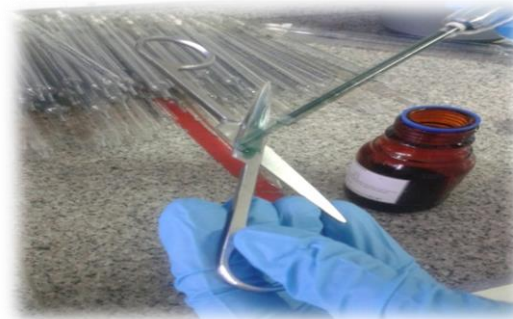
Verificación

✓ Residuos de detergente:

Aplicar azul de bromotimol sobre el material muestreado:

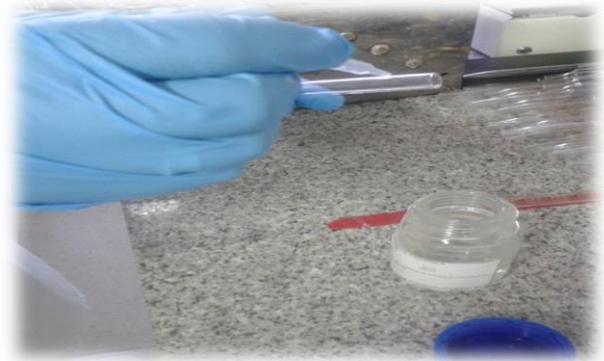
✓ CONFORME :azul

✓ NO CONFORME : amarillo, ácido. Azul-verdoso, pH neutro.



Verificación

- ✓ Residuos de hipoclorito:
Adicionar nitrato de plata 0,001N sobre el material muestreado.
- ✓ CONFORME: Sin precipitado
- ✓ NO CONFORME: Con precipitado.



Verificación

- ✓ Residuos de grasa:
Realizar un enjuague con agua destilada sobre el material muestreado.
- ✓ CONFORME: no formación de película.
- ✓ NO CONFORME: formación de película.



ESTERILIZACIÓN DE MATERIAL

- ✓ Empacar en papel para esterilización.
- ✓ Identificar con cinta indicadora.

EQUIPO	MATERIAL	TEMPERATURA/ TIEMPO
HORNO	Vasos de precipitado	180 °C/ 90 min
	Probetas	
	Erlenmeyer	
	Morteros	
AUTOCLAVE	Tubos de Centrifuga	121 °C/ 20 min
	Puntas Plásticas	
	Rastrillos Plásticos	
	De Metal (tijeras, pinzas entre otros)	
	Pipetas	
	Tubos de Serología	
	Tubos de Dilución	



Tomado de: PA05-GF-402-P002 Limpieza y desinfección de áreas asépticas, biología molecular y equipos; lavado y esterilización del material del laboratorio. Versión: 05. Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas

PROCESO DE ESTERILIZACIÓN

- ✓ Recepción.
- ✓ Limpieza.
- ✓ Secado.
- ✓ Empaque.
- ✓ Identificación y/o rotulado.
- ✓ Almacenamiento.
- ✓ Transporte.
- ✓ Distribución.



Métodos de esterilización

- ✓ Esterilización a vapor.
- ✓ Método más barato, seguro y ampliamente utilizado.
- ✓ Mecanismo de acción: eliminación de microorganismos por desnaturalización de las proteínas.
- ✓ Calor seco.
- ✓ Transferencia de energía de calor por contacto
- ✓ Mecanismo de acción: destruyen los microorganismos por deshidratación impidiendo su reproducción.
- ✓ Con oxido de etileno.

Indicadores de esterilización

✓ **Indicadores químicos:** responden mediante un cambio físico o químico frente a una condición física dentro de la cámara del esterilizador. (fallas del personal o averías), no asegura producto estéril.

- Monoparámetros: miden una sola característica T°C.

- Multiparámetros: miden temperatura y tiempo.

- Integradores: exposición, vapor, temperatura, tiempo.



Indicadores de esterilización

- ✓ **Indicadores biológicos (IB):** monitorean el proceso de esterilización mediante microorganismos estandarizados (esporas bacterianas) resistentes al método de esterilización monitoreado.

Demuestran si las condiciones fueron las adecuadas para lograr la esterilización.

La esterilización es asegurada por la combinación de los resultados de los indicadores físicos (electrónicos y mecánicos, químicos y biológicos).



Indicadores de esterilización

Si se obtiene un cultivo del IB positivo, se debe revisar :

- ✓ Probar nuevamente con otro IB
- ✓ Examinar y analizar los registros del monitoreo físico
- ✓ Dejar el esterilizador en cuarentena hasta que salgan nuevos resultados.
- ✓ Revisar la cantidad de cargas colocadas, empaques, ubicación del indicador, revisión con el proveedor.



Trazabilidad

- ✓ Cada lote de material esterilizado debe ser identificado con la fecha de esterilización, se puede realizar a medida que el lote va ingresando al autoclave o después cuando los paquetes esten fríos y secos.

Registros del esterilizador:

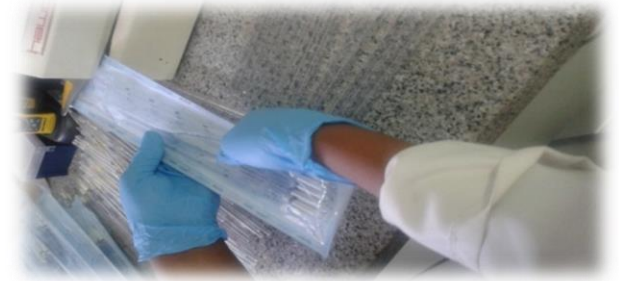
- ✓ Numero de lote.
- ✓ Contenido de la carga.
- ✓ Variables físicas del proceso.
- ✓ Nombre del operario.
- ✓ Resultados de las pruebas realizadas.



Recomendaciones

✓ Secado

El material debe estar completamente seco antes de iniciarse el proceso de esterilización, el vapor generado puede ocasionar manchas.



✓ Sellado

El cierre debe impedir totalmente el paso de polvo o suciedad al interior de los paquetes.

Almacenamiento del material estéril

- ✓ Lugar protegido libre de polvo, insectos, roedores.
- ✓ Superficies lisas y lavables.
- ✓ Fácil acceso e identificación de los materiales.
- ✓ Temperatura ambiente (15-25°C) y humedad (40-60%)
- ✓ Preferiblemente en cajones o estantes cerrados o estantería. separada del piso, techo y pared.
- ✓ Organizados de acuerdo a la fecha de esterilización.
- ✓ El área no debe tener ventiladores.

Fases del ciclo de esterilización

- ✓ **Fase de calentamiento:** con el orificio de ventilación abierto se admite o se genera vapor saturado en la cámara hasta cumplir con las condiciones deseadas. El orificio de ventilación se cierra y se continua admitiendo o generando vapor saturado en la cámara hasta alcanzar la temperatura y la presión correspondiente.
- ✓ **Fase de exposición:** el vapor saturado mantiene la temperatura de esterilización en la cámara durante el tiempo prescrito.
- ✓ **Fase de enfriamiento:** Puede ser diferente para varios tipos de productos finaliza cuando la presión de la cámara es igual a la de la atmosfera o cuando se logra una temperatura segura.

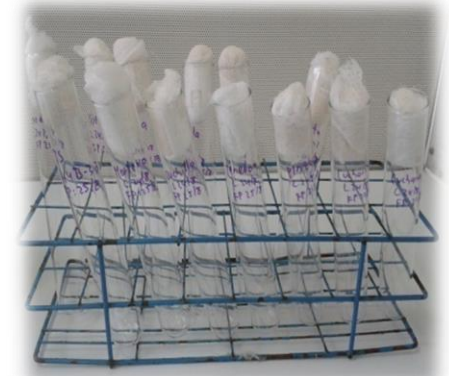
Muestreo

- ✓ Menos de 50 unidades:
Tomar aleatoriamente por tipo de material lavado 1% del inicio y 1% final.
- ✓ Más de 50 unidades:
Tomar aleatoriamente por tipo de material lavado 5% del inicio y 5% final.



Verificación microbiológica:

- ✓ Alistar tubos estériles de 20 X 25mm.
Un tubo por cada elemento a probar.
- ✓ Adicionar 5 mL de Caldo Tripticasa Soya (CTS) aproximadamente a cada tubo.
- ✓ Realizar el enjuague de cada material a probar en cada tubo y/o adicionar el material e incubar los tubos a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 -14 días.
- ✓ Realizar control del medio incubándolo a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7-14 días.



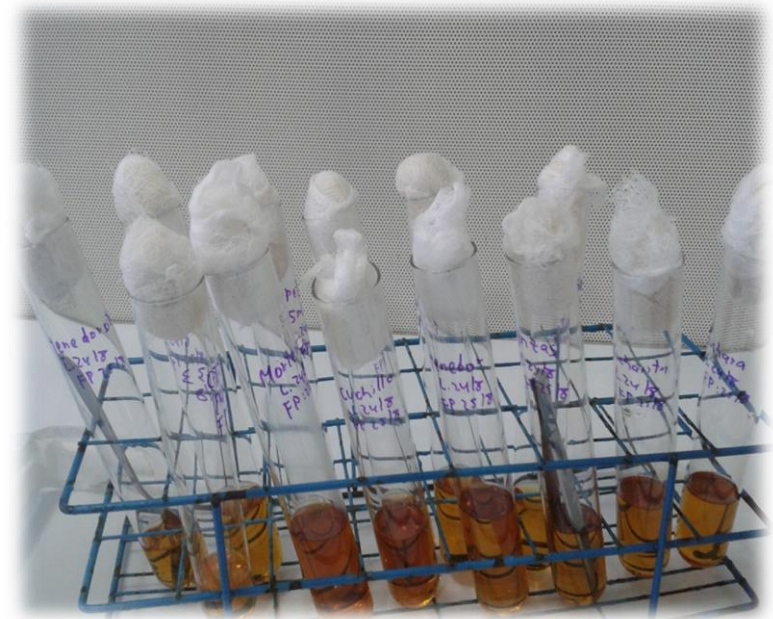
Resultados

CONFORME:

No hay crecimiento de microorganismos (medio transparente).

NO CONFORME:

Hay crecimiento de microorganismos (medio turbio).



VERIFICACIÓN DEL MATERIAL



- ✓ Registrar los resultados obtenidos.
- ✓ El material lavado debe ser retenido(cuarentena) hasta obtener el resultado de la prueba.
- ✓ Si se presentan resultados NO CONFORMES, el material debe volverse a lavar y repetir la prueba de verificación.

VERIFICACIÓN DEL MATERIAL

VERIFICACIÓN LAVADO										VERIFICACIÓN ESTERILIZACIÓN								
FECHA DE LAVADO	MATERIAL (INCLUIR CANTIDAD POR TIPO)	CONTROLES EN NÚMERO						RESPONSABLE	VERIFICADO POR	FECHA DE ESTERILIZACIÓN	FECHA PRUEBA DE ESTERILIZACIÓN	MATERIAL (INCLUIR CANTIDAD POR TIPO)	CONTROL DEL MEDIO (Lote)	CONCEPTO		RESPONSABLE	VERIFICADO POR	OBSERVACIONES
		POSITIVE	NEGATIVO	POSITIVE	NEGATIVO	POSITIVE	NEGATIVO							C	N			

Tomado de: PA05-GF-402-F007 Verificación lavado y esterilización del material. Versión: 04. Laboratorio Microbiología de Alimentos y Bebidas

- RESOLUCIÓN 02183 DE 2004. Por la cual se adopta el Manual de Buenas Prácticas de Esterilización para Prestadores de Servicios de Salud. MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL. (En línea)- <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=14316> Recuperado el 28 de Abril de 2014.
- Real farmacopea europea 4 edición; 2002 Esterilidad apartado 2.6.1.
- INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. 2014. limpieza y desinfeccion de áreas asépticas, biología molecular y equipos; lavado y esterilizacion del material del laboratorio PA05-GF-402-P002. Versión 05. Invima. Bogotá, Colombia.

