	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
	PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA	Página 1 de 10

1. OBJETIVO

Evaluar la calidad de los procesos de limpieza, desinfección, esterilización, análisis de los materiales, medios de cultivos, ambientes, superficies y reactivos del área de microbiología, para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

2. ALCANCE

El control de calidad de insumos inicia desde el control de los equipos, materiales, medios de cultivos, análisis de muestras hasta la obtención de los resultados de los ensayos.

3. RESPONSABLES:

Profesional Especializado grado 12, Profesional Universitario Grado 11, Contratistas y Pasantes del laboratorio ambiental

4 DEFINICIONES:

CALIDAD: grado en que el conjunto que características inherentes cumple con los requisitos.

CONTROL: Mecanismo para garantizar la disponibilidad de los documentos vigentes que conforman el sistema de calidad.

CONTROL DE CALIDAD: son todos los mecanismos, acciones, herramientas realizadas para detectar la presencia de errores.

MANUAL DE CALIDAD: Documento que especifica el Sistema de Gestión de la Calidad (SGC) de la institución.

PROCEDIMIENTO: Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

SATISFACCIÓN DEL CLIENTE: percepción del cliente sobre el grado en que se han cumplido sus requisitos.


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD: Sistema de gestión para dirigir y controlar una organización con respecto a la calidad.

STERIKON: Bioindicador para control de autoclaves. Consiste en una ampolla que contiene caldo nutritivo, azúcar, un indicador de pH y esporas de un organismo no patógeno *Geobacillus stearothermophilus* ATCC. La resistencia térmica es tal que las esporas mueren completamente después de 15 minutos, cuando se calienta en vapor comprimido a una temperatura de $121^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. A temperaturas más bajas o a menores tiempos un pequeño número de esporas puede sobrevivir y son capaces de crecer.

5. DOCUMENTOS DE REFERENCIA:

Estándar Methods, For the examinación of Water and Wastewater, Editions 23ND.

Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J 1997. Food Microbiology: Fundamental and frontiers. American Society For Microbiology Press. Washington D.C.

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
	PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA	Página 2 de 10

Kornacki, J., Gurtler, J., Yan, Z. y Cooper, M. Evaluation of several modification of an ecometric technique for assessment of media performance. Journal of Food Protection, 2003, 66 (9), 1727-32.

6. PROCEDIMIENTO:

CODIFICACIÓN


Después de que los insumos sean esterilizados, se codifican teniendo en cuenta cada lote.

El código consiste en una combinación de números y letras. Las dos primeras letras corresponden al material o medio de cultivo, seguido de las 3 primeras letras del mes y por último el número correspondiente al día en que se realizó la esterilización. Ejemplo:


Medio de cultivo: CB (caldo brila) MES (mayo) 14 (Día de esterilización): **BRIMAY04**
Insumo: PP (puntas plásticas azules) MES (MAY) 14 (Día de esterilización): **PUZMAY04**

Para realizar el proceso de control de calidad de insumos, materiales y equipos, se tienen en cuenta los siguientes pasos:


N°	Descripción	Frecuencia	Registros
1	<p>Aire Acondicionado:</p> <p>Monitoreo de densidad bacteriana</p> <p>Use el método de sedimentación en placa para monitorear la densidad dl aire.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. La desinfección del ambiente se puede realizar mediante exposición con luz ultravioleta por 30 min. O mediante la aspersion con una solución antibacterial. 2. Exponer las placas de agar SPC, OGY y EMB al ambiente y no exceder la exposición de 15 minutos. Se pueden usar tiempos de exposición más largos, pero se puede producir pérdida de agua y reducir el potencial de crecimiento. 3. Incubar a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. 4. Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a 30°C de 3 a 5 días. <p>Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.</p>	Mensual	<p>Código: R</p> <p>MAP009-3</p> <p>Control de Limpieza y Desinfección de Equipos, Ambientes y Superficies</p>

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		Página 4 de 10


	<p>b) Verifique el pH midiendo un frasco por lote. c) Verifique el volumen de los frascos (99±2 ml). Verificar uno por lote.</p> <ul style="list-style-type: none"> Examine botellas de agua de dilución y si observa un precipitado descarte. <p>Volver a lavar las botellas con ácido si es necesario, y preparar nuevamente el agua de dilución. Si el precipitado se repite, compre botellas de una fuente diferente.</p>		
7	<p>Freezer</p> <ul style="list-style-type: none"> Verificar la temperatura (-15 a -25°C) Descongele y limpie 	<p>Diariamente</p> <p>Anual (o con mayor frecuencia, según sea necesario)</p>	<p>Formato código: R MAP002-1 Verificación de temperatura</p>
10	<p>Incubadoras</p> <p>Verificar temperatura</p>	<p>Dos veces al día mientras este en uso</p>	<p>Formato código: R MAP002-1 Verificación de temperatura</p>
11	<p>Medios de Cultivos</p> <p>1. Verificar esterilidad y pH</p> <ul style="list-style-type: none"> En el momento de la preparación de los medios de cultivo, verificar el pH. Tomar el 1% de los medios de cultivos preparados y estériles e incubar a 35°C x 24hr. 	<p>Cada lote</p>	<p>Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología</p>
13	<p>Filtros de membrana</p> <p>Verificar esterilidad y propiedades</p> <ul style="list-style-type: none"> Inspeccione cada lote de membranas antes de uso y durante las pruebas para asegurarse de que sean redondas y flexibles. Confirme la esterilidad antes del primer uso del lote colocando un filtro de membrana en el agar e incubarlo a 35 ± 0.5 °C durante 24 h. <p><i>Nota: Después de la incubación de las muestras, las colonias deben estar bien desarrolladas con el color y forma adecuada, tal como se define en el procedimiento</i></p>	<p>Cada nuevo lote</p>	<p>Formato código R MAP006-5 Datos para Análisis Microbiológicos</p>

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		FECHA: 30-10-2019
		Página 5 de 10


	<p>de prueba. La tinta de la cuadrícula no debe canalizar el crecimiento a lo largo de la línea de tinta ni restringir el desarrollo de la colonia. Las colonias deben distribuirse uniformemente a través de la superficie de la membrana. Rechace el lote de membrana si estos criterios no se cumplen e informe al fabricante.</p>		
14	<p>Equipo de filtración por membrana</p> <p>a. Verificar la esterilidad</p> <ul style="list-style-type: none"> Con la ayuda de un hisopo estéril humedecido con cualquiera de los caldos se frota por todo el interior del embudo y porta filtro en dos direcciones. Luego el hisopo es sumergido en el caldo respectivo y es incubado a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. Observar la presencia o ausencia de turbidez. <p>b. Verificar el volumen de 100mL</p> <ul style="list-style-type: none"> Los embudos con marcas de graduaciones volumétricas, se debe comprobar la precisión de las marcas con una probeta clase A o una pipeta volumétrica. 	<p>Lote</p> <p>Inicialmente</p>	<p>Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología</p>
15	<p>Micropipetas</p> <p>a. Verificar exactitud de la dispensación y precisión</p> <p>b. Calibrar</p> <p>Importante</p> <ul style="list-style-type: none"> Mantenga la consistencia de la técnica en la acción de pipeteo, como la humectación previa, la liberación del émbolo y la profundidad de inmersión de la punta (entre 1 y 3 mm). Opere solo en posición vertical y tenga muestras y equipos a temperatura equivalente. Evite sobre marcar el rango recomendado de la micropipeta, que puede causar daños mecánicos. Verifique la precisión del volumen dispensado por cada pipeta antes de mostrar signos evidentes de que es inexacto o si el fabricante de la punta cambia. Si se usa agua para calibrar o verificar la precisión de la pipeta, recuerde que los cambios en la viscosidad del líquido pueden afectar el volumen dispensado. 	<p>Trimestral</p> <p>Anualmente</p>	<p>Formato código R MAP001-9 Verificación de material volumétrico</p>

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
	PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA	Página 6 de 10


17	pH-metro Verificar antes de uso	Cada uso	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología
18	Conteo de placas a. Realizar análisis duplicados <ul style="list-style-type: none"> Realice un análisis por duplicado por lote de muestras o según sea necesario. <p><i>Nota: Los análisis repetidos de muestras ambientales pueden generar recuentos muy diferentes y solo pueden considerarse estimaciones.</i></p> b. Repetir conteos <ul style="list-style-type: none"> Para las evaluaciones de rendimiento rutinarias, los analistas deben repetir los recuentos en muestras positivas al menos una vez al mes y registrar los resultados. Al comparar dos analistas, cada uno debe contar la misma placa una vez. Los recuentos replicados por un analista deben coincidir dentro del 5% (repetibilidad); los conteos hechos por dos o más analistas deben estar de acuerdo dentro del 10% (reproducibilidad). Si los recuentos no concuerdan dentro del margen aceptable, determine por qué y corrijalos según sea necesario. 	Cada Lote Mensual	Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología Carta de control de duplicados (Método Filtración por membrana)
19	Agua grado reactivo Controlar la calidad Ver cuadro: <i>Calidad del agua grado reactivo usada en los análisis microbiológicos</i>	Anual	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología Informes de análisis de absorción atómica

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		Página 7 de 10

20	<p>Refrigerador</p> <ul style="list-style-type: none"> Mantener la temperatura entre 2 y 8°C. Verificar la temperatura usando ya sea un termómetro sumergido en agua destilada o solución de glicerol, o sensor de temperatura digital, colocados en los estantes superior e inferior de cada área de uso. 	Diariamente	Formato Código R-MAP002-1 Verificación de temperatura
21	<p>Frascos de muestras</p> <p>Use botellas de vidrio o plástico de borosilicato reutilizables, no reactivas, taparosca o bolsas plásticas esterilizadas preparadas comercialmente con abrazaderas de tamaño suficiente.</p> <p>Las botellas o bolsas deben ser lo suficientemente grandes como para recoger la muestra necesaria y aun así tener un espacio de cabeza adecuado 2.5 cm para permitir que la muestra se agite en el contenedor.</p> <p>Pruebe la esterilidad de al menos el 1% de cada lote esterilizado en el laboratorio o de cada lote preesterilizado comprado a un proveedor.</p>	Cada lote	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología
24	<p>Luces ultravioletas de onda corta (254 nm):</p> <p>1) Pruebe con un medidor de U.V o Chequeo de recuento en placa</p> <ul style="list-style-type: none"> Exponga las placas extendidas que contienen 200 a 300 UFC/ml de una suspensión bacteriana seleccionada durante 2 min. Incubar las placas a 35 ° C durante 48 y luego contar las colonias. Reemplace el bulbo si el recuento de colonias no se reduce en un 99%. También es aconsejable preguntar al fabricante por la vida útil esperada de la bombilla y luego hacer un seguimiento del uso por hora. <p><i>Nota: Cuando esté en uso, desconecte las lámparas mensualmente y limpie las bombillas con un paño suave humedecido con etanol (70% de etanol/30% de agua de grado reactivo).</i></p>	Trimestral	Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología
25	<p>a. Equipos del laboratorio de microbiología: Antes de iniciar la limpieza y desinfección</p> <ul style="list-style-type: none"> Retirar la fuente de energía. Despejar el equipo para permitir su limpieza. 		Formato código: R MAP009-3 Control de limpieza y desinfección de

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		Página 8 de 10

<ul style="list-style-type: none"> • Preparar la solución de limpieza de 2 al 5% y desinfección al 1% o de acuerdo a las indicaciones contenidas en la etiqueta del producto. • Emplear siempre un paño desechable • Aplicar la solución en la parte interna y externa del equipo. • Enjuagar con agua limpia y secar con papel absorbente. • Tener en cuenta las indicaciones del fabricante del equipo antes de emplear las soluciones de limpieza y desinfección. • Realizar la desinfección con Tego o alcohol, según indique el manual de cada equipo. Dejar actuar de 10 a 15 min. • Realizar el control microbiológico de la efectividad del tratamiento de limpieza y desinfección. • Realizar la verificación del procedimiento empleando un hisopo o escobillón estéril, humedecer en 9 ml de caldo BHI ó Agua Peptona, frota por toda la superficie en direcciones distintas, rotándolo ligeramente. • Coloca en el diluyente por 20 min. • Homogenizar y sembrar 0.1ml en superficie en placas de agar SPC, OGY y EMB • También se puede realizar siembras directamente en los medios de cultivos, haciendo girar el hisopo por toda la superficie del agar e incubar a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. • Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a 30°C de 3 a 5 días. <p>Contar el crecimiento de las colonias típicas de cada medio de cultivo e Informar como UFC y reportar.</p> <p>b. Superficies del área de microbiología:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Despejar los espacios y retirar las partículas visibles • Preparar la solución de limpieza (Extran al 2 o 5%) • Con la ayuda de un paño desechable, frotar la superficie. • Retirar con ayuda un paño desechable • Aplicar la solución desinfectante (Tego al 1% o Hipoclorito de sodio 5.24%) • Dejar actuar de 10 a 15 min. • Retirar el producto y secar con papel adsorbente. • Realizar el control microbiológico de la efectividad del tratamiento de limpieza y desinfección. • Con la ayuda de un hisopo estéril humedecido en caldo caldo BHI ó Agua Peptona, se frota un área entre 24 y 30 cm², por lo menos en dos direcciones • Introducir la punta del hisopo en el diluyente por 20min. • Tomar 0.1ml y sembrar en placas con agar SPC, OGY y EMB e incubar a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. 	<p>equipos, ambientes y superficies</p>
--	---

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		Página 9 de 10


	<ul style="list-style-type: none"> • También se puede realizar siembras directamente en los medios de cultivos, haciendo girar el hisopo por toda la superficie del agar e incubar a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. • Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a 30°C de 3 a 5 días. • Se cuenta el número de colonias, calcular el número de UFC/cm² <p>c. Ambientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La desinfección del ambiente se puede realizar mediante exposición con luz ultravioleta por 30 min. O mediante la aspersión con una solución antibacterial. • Exponer las placas de agar SPC, OGY y EMB por determinado tiempo en el área e incubar a $35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24-48h. • Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a 30°C de 3 a 5 días. <p>Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.</p>		
--	---	--	--

Cuadro N° 1: CALIDAD DEL AGUA GRADO REACTIVO USADA EN LOS ANALISIS MICROBIOLOGICOS

Pruebas	Frecuencia de monitoreo	Límites mínimos aceptables
Pruebas químicas		
Conductividad	día continuo o uso	<2µmhos/cm (µmsiemens/cm) a 25°C
Carbono orgánico total	Mensualmente	<1.0 mg/L
Metales pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, y Zn)	Anualmente*	<0.05 mg/L
Metales pesados, total	Anualmente*	<0.10 mg/L
Cloro residual total	Mensualmente o con cada uso	<0.1 mg/L
Pruebas bacteriológicas		
Recuento en placa de heterótrofos	Mensualmente Para una nueva fuente	<500 UFC/MI o NMP < 500/MI Student's $t \leq 2.78$
Prueba de calidad de agua**	Anualmente	0.8-3.0 ratio

*o más frecuentemente si hay un problema

** esta prueba de calidad del agua no es necesaria para agua tipo II o mejor, como se define en los métodos estándar 1080C o agua de calidad media o superior, como se define en Standard methods, sección 1080C.

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 6
		FECHA: 30-10-2019
PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA		Página 10 de 10

CONTROL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	13 de junio de 2014	Creación del procedimiento de control de calidad de insumos
2	5 de agosto de 2014	Inclusión de los responsables del procedimiento y los documentos de referencia. Además de la modificación del código
3	8 de julio de 2015	Corrección de ortografía, se actualizo la codificación del formato empleado y los ítems del procedimiento.
4	27 de octubre de 2016	Modificación del tem 6. PROCEDIMIENTO
5	21 de enero de 2019	Actualización de acuerdo a la nueva edición 23 del Standard Methods
6	30 de octubre de 2019	Modificación de los códigos de los formatos (en los registros)

APROBACIÓN DEL DOCUMENTO		
Acción	Funcionario	Firma
Actualizado por:	Jaiker Gómez Sierra Profesional Especializado Grado 12 Laboratorio Ambiental	
Revisado por:	Samuel Lanao Robles Subdirector Gestión Ambiental	
Aprobado por:	Yerlis Caraballo Roble Representante de la Dirección	