

 <b>Corpoguajira</b>	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
	<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>	VERSIÓN: 6
		FECHA: 30-10-2019

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 de 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 examination 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 brilla) 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:

Nº	Descripción	Frecuencia	Registros
1	<b>Aire Acondicionado:</b> <b>Monitoreo de densidad bacteriana</b> Use el método de sedimentación en placa para monitorear la densidad del aire. <ol style="list-style-type: none"> <li>La desinfección del ambiente se puede realizar mediante exposición con luz ultravioleta por 30 min. O mediante la aspersión con una solución antibacterial.</li> <li>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.</li> <li>Incubar a <math>35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}</math> por 24-48h.</li> <li>Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a <math>30^{\circ}\text{C}</math> de 3 a 5 días.</li> </ol> Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.	Mensual	Código: R <b>MAP009-3</b> Control de Limpieza y Desinfección de Equipos, Ambientes y Superficies

	MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL	CODIGO: MA-P-009 VERSION: 6 FECHA: 30-10-2019
	PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA	Página 3 de 10

2	<p><b>Autoclave</b></p> <p>a) Verificar el tiempo de esterilización (Verificar el tiempo de los tres ciclos del equipo empleando un cronometro).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ≤15min ciclo de acondicionamiento,</li> <li>• 15min ciclo de esterilización y</li> <li>• ≥15 min ciclo de escape</li> </ul> <p>b) Comprobar la eficacia de la esterilización en el tiempo y la temperatura de esterilización normales del medio usando un indicador biológico (por ejemplo, <i>Geobacillus stearothermophilus</i> disponible comercialmente en tiras, suspensiones o cápsulas de esporas, preferiblemente en una concentración 1x106).</p> <p>Coloque el indicador en una cristalería que contenga un líquido para simular el rendimiento real de la esterilización en autoclave en los medios.</p> <p>Colocar el bioindicador en la autoclave junto con la carga que se va a esterilizar. Luego del éxito del proceso de esterilización se comprueba con la incubación de dicho bioindicador durante 24-48 horas a <math>60 \pm 2^\circ\text{C}</math> (se recomienda colocar una ampolla no esterilizada para servir como control). El no crecimiento de <b><i>Geobacillus stearothermophilus</i></b> indica una adecuada esterilización. Las ampollas se deben colocar en los lugares donde las condiciones son menos favorables para la esterilización.</p>	Semanal  Mensual	Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología  .
4	<p><b>Cabina de Flujo Laminar</b></p> <p>a) <b>Inspeccionar el flujo de aire</b></p> <p>Descontamine las superficies de trabajo antes y después de cada uso y después de cualquier derrame de material viable.</p> <p>Exponer las placas de agar SPC, OGY y EMB por determinado tiempo mientras se analiza e incubar a <math>35 \pm 0.2^\circ\text{C}</math> por 24-48h.</p> <p>Incubar el medio de cultivo para hongos de 25 a <math>30^\circ\text{C}</math> de 3 a 5 días.</p> <p>Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.</p>	Cada uso	Código: R MAP009-3 Control de Limpieza y Desinfección de Equipos, Ambientes y Superficies  Formato código R MAP006-5 Datos para análisis microbiológicos
6	<p><b>Agua de dilución</b></p> <p>Verificar la esterilidad y el volumen.</p> <p>Antes de usar cada lote, realice una prueba de esterilización.</p> <p>a) Realizar una siembra de 1 ml en caldo peptona, nutritivo ó BHI. Incuba a <math>35^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}</math> por 24-48hr. Observar ausencia o presencia de turbidez.</p>	Cada lote	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología

**MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL**

CÓDIGO: MA-P-009

VERSIÓN: 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.</p> <p>c) Verifique el volumen de los frascos (<math>99\pm2</math> ml). Verificar uno por lote.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Examine botellas de agua de dilución y si observa un precipitado descarte.</li></ul> <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><b>Frezeer</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Verificar la temperatura (-15 a -25°C)</li><li>• Descongele y limpie</li></ul>	Diariamente  Anual (o con mayor frecuencia, según sea necesario)	Formato código: R MAP002-1 Verificación de temperatura
10	<p><b>Incubadoras</b></p> <p>Verificar temperatura</p>	Dos veces al día mientras este en uso	Formato código: R MAP002-1 Verificación de temperatura
11	<p><b>Medios de Cultivos</b></p> <p>1. Verificar esterilidad y pH</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• En el momento de la preparación de los medios de cultivo, verificar el pH.</li><li>• Tomar el 1% de los medios de cultivos preparados y estériles e incubar a 35°C x 24hr.</li></ul>	Cada lote	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología
13	<p><b>Filtros de membrana</b></p> <p><b>Verificar esterilidad y propiedades</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Inspeccione cada lote de membranas antes de uso y durante las pruebas para asegurarse de que sean redondas y flexibles.</li><li>• Confirme la esterilidad antes del primer uso del lote colocando un filtro de membrana en el agar e incubarlo a <math>35 \pm 0.5</math> °C durante 24 h.</li></ul> <p><b>Nota:</b> Despues 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</p>	Cada nuevo lote	Formato código R MAP006-5 Datos para Análisis Microbiológicos

	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009 VERSION: 6 FECHA: 30-10-2019
	<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>	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><b>Equipo de filtración por membrana</b></p> <p>a. Verificar la esterilidad</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Con la ayuda de un hisopó 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°C ± 0.2°C por 24-48h. Observar la presencia o ausencia de turbidez.</li> </ul> <p>b. Verificar el volumen de 100mL</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Los embudos con marcas de graduaciones volumétricas, se debe comprobar la precisión de las marcas con una probeta clase A o una pipeta volumétrica.</li> </ul>	Lote  Inicialmente	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología
15	<p><b>Micropipetas</b></p> <p>a. Verificar exactitud de la dispensación y precisión</p> <p>b. Calibrar</p> <p><b>Importante</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>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).</li> <li>Opere solo en posición vertical y tenga muestras y equipos a temperatura equivalente.</li> <li>Evite sobre marcar el rango recomendado de la micropipeta, que puede causar daños mecánicos.</li> <li>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.</li> <li>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.</li> </ul>	Trimestral  Anualmente	Formato código R MAP001-9 Verificación de material volumétrico

	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	<b>Conteo de placas</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. <b>Realizar análisis duplicados</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Realice un análisis por duplicado por lote de muestras o según sea necesario.</li> </ul> <p><b>Nota:</b> Los análisis repetidos de muestras ambientales pueden generar recuentos muy diferentes y solo pueden considerarse estimaciones.</p> </li> <li>b. <b>Repetir conteos</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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.</li> <li>• Al comparar dos analistas, cada uno debe contar la misma placa una vez.</li> <li>• 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).</li> <li>• Si los recuentos no concuerdan dentro del margen aceptable, determine por qué y corríjalos según sea necesario.</li> </ul> </li> </ul>	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	<b>Agua grado reactivo</b>  Controlar la calidad  <b>Ver cuadro:</b> Calidad del agua grado reactivo usada en los análisis microbiológicos	Anual	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología  Informes de análisis de absorción atómica

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

20	<p><b>Refrigerador</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mantener la temperatura entre 2 y 8°C.</li> <li>• 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.</li> </ul>	Diariamente	Formato Código R-MAP002-1 Verificación de temperatura
21	<p><b>Frascos de muestras</b></p> <p>Use botellas de vidrio o plástico de borosilicato reutilizables, no reactivas, taparoscas 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><b>Luces ultravioletas de onda corta (254 nm):</b></p> <p>1) Pruebe con un medidor de U.V o Chequeo de recuento en placa</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Exponga las placas extendidas que contienen 200 a 300 UFC/ml de una suspensión bacteriana seleccionada durante 2 min.</li> <li>• Incubar las placas a 35 ° C durante 48 y luego contar las colonias.</li> <li>• Reemplace el bulbo si el recuento de colonias no se reduce en un 99%.</li> <li>• También es aconsejable preguntar al fabricante por la vida útil esperada de la bombilla y luego hacer un seguimiento del uso por hora.</li> </ul> <p>Nota: Cuando esté en uso, desconecte las lámparas mensualmente y límpie las bombillas con un paño suave humedecido con etanol (70% de etanol/30% de agua de grado reactivo).</p>	Trimestral	Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología
25	<p>a. <b>Equipos del laboratorio de microbiología: Antes de iniciar la limpieza y desinfección</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Retirar la fuente de energía.</li> <li>• Despejar el equipo para permitir su limpieza.</li> </ul>		Formato código: R MAP009-3 Control de limpieza y desinfección de

**MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL**

CÓDIGO: MA-P-009

VERSIÓN: 6

FECHA: 30-10-2019

**PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA**

Página 8 de 10

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

**MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL**

CÓDIGO: MA-P-009

VERSIÓN: 6

FECHA: 30-10-2019

**PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA**

Página 9 de 10

	<ul style="list-style-type: none"><li>• También se puede realizar siembras directamente en los medios de cultivos, haciendo girar el hisopo por toda la superficie del agar e incubar a <math>35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}</math> por 24-48h.</li><li>• Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a <math>30^{\circ}\text{C}</math> de 3 a 5 días.</li><li>• Se cuenta el número de colonias, calcular el número de UFC/cm<sup>2</sup></li></ul> <p><b>c. Ambientes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• La desinfección del ambiente se puede realizar mediante exposición con luz ultravioleta por 30 min. O mediante la aspersión con una solución antibacterial.</li><li>• Exponer las placas de agar SPC, OGY y EMB por determinado tiempo en el área e incubar a <math>35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}</math> por 24-48h.</li><li>• Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a <math>30^{\circ}\text{C}</math> de 3 a 5 días.</li></ul> <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
<b>Pruebas químicas</b>		
Conductividad	día continuo o uso	<2 $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ ( $\mu\text{msiemens}/\text{cm}$ ) a $25^{\circ}\text{C}$
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
<b>Pruebas bacteriológicas</b>		
Recuento en placa de heterótrofos	Mensualmente Para una nueva fuente	<500 UFC/MI o NMP < 500/MI Student's $t \leq 2.78$
<b>Prueba de calidad de agua**</b>	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 tem ds , 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 actualizó 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	