	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
		FECHA: 06-01-2023
<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>		Página 1 de 9

## 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 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:

Estandar Methods, For the examination of Water and Wastewater, Editions 23RD.

	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
		FECHA: 06-01-2023
<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>		Página 2 de 9

## 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 tres primeras letras corresponden al material o medio de cultivo, seguido de las 3 primeras letras del mes y por último el número de dos dígitos correspondiente al día en que se realizó la esterilización.

Ejemplo: 1. **Medio de cultivo:** Caldo EC (CEC), **Mes:** Mayo (MAY) y **Día:** 14; entonces el código será: **CECMAY14**

Ejemplo 2. **Insumo:** Frascos de vidrio (FRA), **Mes:** Enero (ENE) y **Día:** 4; entonces el código será: **FRAENE04**


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><b>Aire Acondicionado:</b></p> <p><b>Monitoreo de densidad bacteriana</b></p> <p>Use el método de sedimentación en placa para monitorear la densidad dl aire.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 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>2. Exponer las placas de agar SPC, OGY y EMB al ambiente y no exceder la exposición de 15 minutos. <i>Evitar emplear tiempos de exposición más largos, ya que se puede producir pérdida de agua y reducir el potencial de crecimiento.</i></li> <li>3. Incubar a <math>35 \pm 0.2^{\circ}\text{C}</math> por 24-48h.</li> <li>4. Incubar el medio de cultivo para Hongos de 25 a <math>30^{\circ}\text{C}</math> de 3 a 5 días.</li> </ol> <p>Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.</p>	Mensual	Código: R MAP009-3 Control de Limpieza y Desinfección de Equipos, Ambientes y Superficies
2	<p><b>Autoclave</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar el tiempo de esterilización (Verificar el tiempo de los tres ciclos del equipo empleando un cronometro). <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\leq 15</math>min ciclo de acondicionamiento,</li> <li>• 15min ciclo de esterilización y</li> <li>• <math>\geq 15</math> min ciclo de escape</li> </ul> </li> <li>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</i>)</li> </ol>	<p>Semanal</p> <p>Mensual</p>	Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología


	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
		FECHA: 06-01-2023
<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>		Página 3 de 9

N°	Descripción	Frecuencia	Registros
	<p><i>stearotherophilus</i> disponible comercialmente en tiras, suspensiones o cápsulas de esporas, preferiblemente en una concentración 1x10<sup>6</sup>).</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 60 ± 2°C (se recomienda colocar una ampolleta no esterilizada para servir como control). El no crecimiento de <b><i>Geobacillus stearotherophilus</i></b> indica una adecuada esterilización. Las ampollas se deben colocar en los lugares donde las condiciones son menos favorables para la esterilización.</p>		
3	<p><b>Cabina de Flujo Laminar</b></p> <p>a) <b>Inspeccionar el flujo de aire</b> 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 35 ± 0.2°C por 24-48h.</p> <p>Incubar el medio de cultivo para hongos de 25 a 30°C de 3 a 5 días. Realizar el recuento de las colonias y reportar como UFC/tiempo de exposición.</p>	Cada uso	<p>MAP009-3 Control de Limpieza y Desinfección de Equipos, Ambientes y Superficies</p> <p>Formato R MAP006-5 Datos para análisis microbiológicos</p>
4	<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 35°C± 0,2°C por 24-48hr. Observar ausencia o presencia de turbidez.</p> <p>b) Verifique el pH midiendo un frasco por lote.</p> <p>c) Verifique el volumen de los frascos (99±2 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>	Cada lote	<p>Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología</p>
5	<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>	<p>Anual (o con mayor frecuencia, según sea necesario)</p>	<p>Formato código: R MAP002-1 Verificación de temperatura</p>




	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
		FECHA: 06-01-2023
<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>		Página 5 de 9


N°	Descripción	Frecuencia	Registros
10	<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>	<p>Trimestral</p> <p>Según indique el programa de aseguramiento metrológico</p>	<p>Formato código R MAP002-15 Informe de comprobación intermedia y/o ajustes de equipos o material volumétrico</p>
11	<p><b>pH-metro</b></p> <p>Verificar antes de uso</p>	<p>Cada uso</p>	<p>Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología</p>
12	<p><b>Conteo de placas</b></p> <p>a. <b>Realizar análisis duplicados</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Realice un análisis por duplicado por lote de muestras o según sea necesario.</li> </ul> <p><i>Nota: Los análisis repetidos de muestras ambientales pueden generar recuentos muy diferentes y solo pueden considerarse estimaciones.</i></p> <p>b. <b>Repetir conteos</b></p> <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>	<p>Cada Lote</p> <p>Mensual</p>	<p>Código: R MAP009-2 Controles de Calidad Periódicos del Área de Microbiología</p> <p>Carta de control de duplicados</p>

	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
	<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>	FECHA: 06-01-2023
Página 6 de 9		

N°	Descripción	Frecuencia	Registros
13	<p><b>Agua grado reactivo</b></p> <p>Controlar la calidad</p> <p><b>Ver cuadro:</b> <i>Calidad del agua grado reactivo usada en los análisis microbiológicos</i></p>	Anual	Código: R MAP009-1 Controles de Calidad Rutinarios del Área de Microbiología
14	<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
15	<p><b>Frascos de muestras</b></p> <p>Use botellas de vidrio o plástico de borosilicato reutilizables, no reactivas, tapa rosca 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
16	<p><b>Luces ultravioletas de onda corta (254 nm):</b></p> <p><b>1) Pruebe con un medidor de U.V o Chequeo de recuento en placa</b></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><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
17	<p><b>a. 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> </ul>		Formato código: R MAP009-3 Control de

	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
		FECHA: 06-01-2023
<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>		Página 7 de 9

N°	Descripción	Frecuencia	Registros
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Despejar el equipo para permitir su limpieza.</li> <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 una solución desinfectante, 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 (según indique la etiqueta)</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> </ul>		limpieza y desinfección de equipos, ambientes y superficies

	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
	<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>	FECHA: 06-01-2023
Página 8 de 9		

N°	Descripción	Frecuencia	Registros
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Introducir la punta del hisopo en el diluyente 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> <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 MICROBIOLÓGICOS**

Pruebas	Frecuencia de monitoreo	Límites mínimos aceptables
<b>Pruebas químicas</b>		
Conductividad	día continuo o uso	$<2\mu\text{S}/\text{cm}$ 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, sección 1080C.





	<b>MEDICIÓN Y ANALISIS AMBIENTAL</b>	CODIGO: MA-P-009
		VERSION: 7
	<b>PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL AREA DE MICROBIOLOGIA</b>	FECHA: 06-01-2023
		Página 9 de 9

### 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 ítem 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)
7	6 de enero de 2023	Modificación del ejemplo de la codificación de medios de cultivos e insumos en el inicio del ítem 6. Procedimientos, eliminación de 2 ítems de la bibliografía.

### APROBACIÓN DEL DOCUMENTO

Acción	Funcionario	Firma
Actualizado por:	Jaiker Gómez Sierra Profesional Especializado Grado 19 Laboratorio Ambiental	
Revisado por:	Juan Carmona Arango Profesional Especializado Grado 12 Laboratorio Ambiental	
Aprobado por:	Jaiker Gómez Sierra Profesional Especializado Grado 19 Laboratorio Ambiental	