

IMPLEMENTACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN BIALAB

MARTHA CECILIA JAIMES ALVARADO

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2017

IMPLEMENTACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN BIALAB

MARTHA CECILIA JAIMES ALVARADO

Trabajo presentado para optar al título de Microbióloga

TUTOR: WILIAM HERNANDO SUAREZ QUINTANA

DOCENTE UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

JEFE INMEDIATA: GISELLY DAMARY PEREZ CARDONA

MICROBIÓLOGA.

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA

2017

Nota de Aceptación

JURADO 1

JURADO 2

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

PAMPLONA 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y dado una nueva oportunidad de vivir para culminar mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi padre que está en el cielo, ha sido mi ángel que nunca me ha dejado sola y me ha impulsado a realizar este reto en mi vida.

A mi madre por sus consejos, amor, apoyo y dedicación en los momentos más difíciles que he tenido. A mis hermanos que me han brindado su apoyo incondicional.

A mi querida prima Elizabeth que me ha ayudado desde el momento que decidí retomar mi carrera; ella ha estado al frente en las diligencias de la universidad.

A la Universidad de Pamplona por haberme dado esta oportunidad de culminar mi carrera, a mi tutor William Suarez, a la vicerrectora Dra. Laura Patricia Villamizar Carrillo, al jefe de la Facultad de Ciencias. Profesor Enrique Alfonso Cabeza Herrera, al Departamento de Microbiología profesora Raquel Amanda Villamizar Gallardo, a Registro y control, a la profesora Claudia Clavijo Olmos, al profesor José Félix Ortiz Lemus, a mis queridos profesores y compañeros.

¡GRACIAS A TODOS USTEDES!

DEDICATORIA

A Dios, por bendecir e iluminar mi camino.

A mis padres Roque Julio Jaimes Peña (Q.E.P.D) y Flor Herminda Alvarado por ser el pilar fundamental en todo lo que soy.

A William Suarez mi tutor y cada una de las personas que me apoyaron en este largo proceso.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
GLOSARIO	10
RESUMEN	11
INTRODUCCIÓN	12
1. RESEÑA HISTÓRICA	14
2. PROBLEMA	15
2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	15
2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	16
3. OBJETIVOS	17
3.1 OBJETIVOS GENERALES	17
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4. JUSTIFICACIÓN	18
5.MARCO CONCEPTUAL	19
5.1. GENERALIDADES DE LOS MICROORGANISMOS	19
6. MARCO LEGAL	23
7. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO	26
8. METODOLOGÍA	30

9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	44
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
11. CONCLUSIONES	64
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Plan de mantenimiento de microorganismos A ¹	34
Figura 2. Plan de mantenimiento de microorganismos B ¹	35
Figura 3. Protocolo	36

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación biológica de los microorganismos. Cepas en el Laboratorio Bialab.	45
Tabla 2. Microorganismos disponibles en el laboratorio Bialab.	46
Tabla 3. Tabla de cepas y su morfología	47
Tabla 4. Trazabilidad del cepario.	48
Tabla 5. Registros pruebas de promoción y crecimiento internas	49
Tabla 6. Formato control de calidad y esterilización de medios de cultivo	50
Tabla 7. Inventario de equipos	51
Tabla 8. Inventario material de vidrio	53
Tabla 9. Inventario medios de cultivo	55
Tabla 10. Preparación medios de cultivo	56
Tabla 11. Reactivos	58

GLOSARIO

Cultivo o material de referencia. Cultivos provenientes de una colección reconocida nacional o internacionalmente, acompañada de un certificado que especifique las características fenotípicas y genotípicas. Término colectivo que se refiere a cepas de referencia, cepas de reserva y cepas de trabajo.

Cepas de referencias (C ref). Microorganismos definidos por lo menos a nivel de género y especie catalogados muy caracterizados y de origen conocido. Para demostrar la trazabilidad debe obtenerse directamente de una colección nacional e internacional de cultivo de referencia conocido.

Cepas de reserva (Cr). Cultivo obtenido a partir de la reactivación y resiembra de un cultivo de referencia certificado y mantenido como una fuente para la preparación de cultivos de trabajo.

Cepas de trabajo (Ct). Subcultivos obtenidos de un cultivo de reserva destinados al uso como control en el trabajo diario.

ATCC. American Type Culture Collection.

RESUMEN.

El estudio realizado de Buenas Prácticas de Laboratorio en el laboratorio Bialab fue importante para la organización y aseguramiento de la calidad.

BPL se definen como el conjunto de reglas, de procedimientos operacionales y prácticas establecidas y promulgadas por determinados organismos, consideradas de obligado cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en los procesos del laboratorio. Se establecen elementos que un laboratorio debe asegurar para que los resultados de los ensayos emitidos a los clientes sean confiables y tengan validez. Un buen sistema de calidad en BPL involucra a la organización de un laboratorio.

Tener en cuenta control de: preparación y esterilización de medios de cultivo, equipos, material de vidrio, mantenimiento del cepario, saneamiento del laboratorio.

La aplicación de BPL asegura la ejecución de que los ensayos se realicen de manera detallada y controlada asegurando el buen funcionamiento de todos los equipos con sus respectivos registros y fechas de calibración.

Tener un diseño de limpieza y desinfección en las diferentes áreas, equipos, ambiente antes y después de ser utilizados en las diferentes pruebas o ensayos se reduce la proliferación de microorganismos evitando alteración en los resultados de los análisis realizados.

Con el uso de BPL en el laboratorio Bialab se asegura la gestión de calidad orientada a evaluar la validez de los resultados obtenidos, de mejorar en conjunto el funcionamiento del laboratorio y de proporcionar confianza en que se cumplan los requisitos de calidad.

INTRODUCCIÓN

Aseguramiento de la calidad son todas las actividades planificadas y sistemáticas puestas en marcha dentro del sistema de calidad y demostradas como necesarias para brindar la confianza adecuada de que una entidad cumpla con los requisitos de calidad.

Las Buenas Prácticas de Laboratorio están diseñadas para promover la calidad y validez de los resultados emitidos por laboratorios de ensayos y prestadores de servicios.

La meta del laboratorio Bialab (Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios) es obtener la acreditación ISO 17025:2005 para ello se está trabajando teniendo como base las BPL. Se solicitó visita de la Secretaria de Salud Departamental de Santander con el fin de mostrar las instalaciones y el funcionamiento para su evaluación, orientación y realización de correctivos.

Teniendo en cuenta la norma NTC 1619:2005 uno de los requisitos a evaluar es la validación de métodos; el laboratorio posee diferentes cepas de referencia almacenadas, son necesarias para los diferentes análisis microbiológicos, por eso se da enfoque al manejo y conservación de las cepas implementando BLP. Un cultivo de referencia en el laboratorio de microbiología se emplea para la evaluación de calidad de los medios de cultivo, pruebas de promoción y crecimiento, pruebas de selectividad y productividad durante la ejecución de los ensayos y controles de calidad, por eso es necesario tener el cepario en Bialab; el mantenimiento y conservación de las cepas de referencia es una herramienta eficaz para garantizar la calidad interna del mismo, el objetivo primordial es mantener las cepas puras, viables, estables genéticamente y que se asemejen en lo posible a su aislamiento inicial, teniendo en cuenta que no todos los géneros se comportan de igual forma al ser sometidos al mismo proceso.

Importante tener en cuenta la elección del medio de aislamiento o de soporte, el crio protector y la edad del cultivo del microorganismo, como condiciones básicas

para asegurar el éxito de la conservación de las cepas, se requiere cultivos de referencia necesarios para demostrar su trazabilidad, se debe elaborar e implementar un protocolo para su uso.

Los microorganismos pueden ser patógenos de humanos, animales o plantas y producir toxinas, alergias; para evitar factores de riesgo, en la manipulación se debe tener conocimiento y control de las diferentes cepas, la manipulación y modo de conservación de los cultivos de referencia debe evitar el deterioro de las cepas. contaminación cruzada, mutaciones, deterioro o alteración en sus características físicas de las cepas.

Las BPL implementadas en Bialab es fundamental en cada una de las áreas, equipos, sistemas de limpieza y desinfección, preparación de medios de cultivo, análisis microbiológicos, patrones de referencia, recepción de muestras; para garantizar los resultados emitidos a sus clientes sean confiables y tengan validez.

1. RESEÑA HISTÓRICA BIALAB

BOLÍVAR INDUSTRIAL AMBIENTAL LABORATORIOS S.A.S

Laboratorios BIALAB situados en la ciudad de Bucaramanga en la Calle 51#35-28 oficina 204. Cabecera III Etapa.

BIALAB es hijo de Laboratorios Bolívar siendo su fuerte el sector salud, en un principio se miró la necesidad de análisis en líneas hospitalarias en la sección de central de mezclas o áreas blancas. Viendo la necesidad de que estas zonas estén libres de microorganismos ya que es un punto crítico a controlar.

Ante la necesidad de control de ambientes, superficies y punta de guantes en estas zonas se creó el laboratorio BIALAB; se necesitaba un área fuera de laboratorio Bolívar por el flujo de análisis clínicos evitando contaminaciones cruzadas.

La acogida no fue la esperada ya que no hubo demanda de clientes como se esperaba en esta área; entonces el laboratorio se enfocó al sector de alimentos, comprando equipos y material necesarios, acondicionando las áreas de preparación de medios de cultivo, área de caracterización microbiológica y recuento y área de repique e incubación de manera independiente en el laboratorio.

Laboratorios BIALAB lleva año y medio en el sector de alimentos el cual cada día está en constante crecimiento; se está llenando los requisitos necesarios para obtener la acreditación del laboratorio.

2.PROBLEMA

2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El creciente uso de los bancos de cepas en la biotecnología y en investigaciones médicas, ha acrecentado la necesidad de mantener los cultivos microbianos de manera que las propiedades que los hacen importantes permanezcan estables, formando un conjunto de colecciones de microorganismos que constituyen la base de futuras investigaciones. (Kirsop, 1991)

Al conservar microorganismos *ex situ*, las colecciones se identifican como depósitos de recursos biológicos, importantes para favorecer el estudio de problemas que involucran microorganismos (Weng, 2003). El reconocimiento de la importancia de las colecciones microbianas como material de referencia, ha generado interés en incentivar la creación de nuevas colecciones y mejorar los estándares de calidad, con el fin de tener y acceder a materiales confiables y auténticos para la investigación.

Desde esta perspectiva se propone una investigación orientada a la estandarización del método de conservación y mantenimiento del cepario en el laboratorio Bialab.

El principal objetivo en la preservación y mantenimiento de colecciones es conservar los microorganismos *ex situ*, manteniéndolos puros y estables genética, morfológica o fisiológicamente de manera que conserven las características originales, que es lo ideal en procesos de investigación microbiológica. (Floccari, 2005).

La necesidad que da origen al proyecto es la implementación de buenas prácticas de laboratorio en Bialab sobre el manejo y control de las diferentes cepas

manipuladas como herramienta para garantizar la calidad del trabajo en el laboratorio de microbiología, en donde es importante la trazabilidad y la implementación del protocolo.

2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Dada la anterior situación problemática, se propone una investigación orientada a dar respuesta a la siguiente pregunta: ¿Qué estrategias, acciones y procedimientos deben desarrollarse para el estudio de BPL buenas prácticas de laboratorio en BIALAB?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Aplicar Buenas Prácticas de Laboratorio en Bialab para que los resultados emitidos a los clientes sean confiables y garantice los servicios prestados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Documentar fichas técnicas de las diferentes cepas de referencia almacenadas en el laboratorio Bialab.
- Elaborar el protocolo para aislar las cepas de trabajo que van a ser utilizadas en el laboratorio en condiciones óptimas para evitar mutaciones o inactivaciones.
- Diseñar tabla para la trazabilidad del cepario para mayor exactitud y seguridad en los resultados de análisis microbiológico del laboratorio Bialab.

4. JUSTIFICACIÓN

Las colecciones microbianas, son un importante recurso para la investigación, porque sirven de soporte en los estudios y permiten obviar el proceso de caracterización para estudios posteriores que dependen de las características anteriormente investigadas, además se evita el desplazamiento de búsqueda de microorganismos para estudios nuevos, con lo cual se ahorra presupuesto y tiempo. (Medina, 2011).

La investigación para la conservación de cepas, se ve beneficiado con una adecuada conservación, en el caso de que los microorganismos no puedan ser estudiados, al no disponer de una metodología adecuada.

Las colecciones microbianas, además son importantes, a nivel productivo porque genera recursos, ofreciendo servicios relacionados con el depósito de cepas, identificación, suministro de material de referencia, consultas profesionales, entrenamiento y apoyo especializado (Matthew, 2012), lo anterior es posible y es efectivo, si se preservan adecuadamente las características originales de los microorganismos y se prolonga su tiempo de supervivencia para disponer de un aprendizaje tangible. (Ledermann, 2009)

5. MARCO CONCEPTUAL

5.1 GENERALIDADES DE LOS MICROORGANISMOS

Aspergillus brasiliensis. Es un género de alrededor de 600 hongos (mohos). Los hongos se pueden clasificar en dos formas morfológicas. *Aspergillus sp* es un hongo filamentoso (compuesto de cadenas de células, llamadas hifas), el hábitat natural son el heno y el compostaje. Dentro del tipo de hifas se encuentra las no pigmentadas que reciben el nombre de hialohifomicetos. A su vez tiene dos formas de presentación: Una saprofítica que aparece un hongo con hifas septadas del que surgen los conidióforos. La estructura microscópica del *Aspergillus* es única. Tienen hifas tabiculares y conidióforas cuya cabeza está localizada en el extremo de una hifa. (ATCC, 2017)

Bacillus subtilis. Es una bacteria gram positiva, catalasa positiva, aerobio encontrado comúnmente en el suelo. *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora. Las endosporas son células de *Bacillus* especializadas, no reproductivas, producidas por algunas bacterias de la división Firmicute. Su función primaria es asegurar la supervivencia en tiempos de tensión ambiental. Son extraordinariamente resistentes a la radiación (ultravioleta, X, y gamma), a la desecación, a la lisozima, al calor, a los desinfectantes químicos y a trituración mecánicas. Las endosporas se encuentran comúnmente en el suelo y el agua donde sobreviven durante largos períodos. La posición de la endospora diferencia entre especies bacterianas y es útil en la identificación. Los tipos principales dentro de la célula son: terminales, subterminales y endospora centralmente puestos. Un ejemplo de bacterias con endosporas centrales incluye *Bacillus cereus*, mientras que *Bacillus subtilis* presenta endosporas subterminales. (Martin, 2016)

Candida albicans. Es un hongo dimórfico, es decir se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento como levadura, normalmente a 37 grados centígrados en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso a 25 grados centígrados en la naturaleza. Pertenece al filo *Ascomycota* y se reproduce de forma asexual por gemación. En forma de levadura se presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, agrupados en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo-miselio. (CCM, 2017)

Clostridium sporogenes. Género de bacteria anaerobia, bacilos Gram positivas, parásitas y saprofitas algunas de ellas que esporulan y son móviles por medio de flagelos peritricos, toman la forma de fósforo o palillo de tambor o uso de hilar. Produce putrefacción. Son organismos que se observan solo en parejas o a lo máximo en cadenas cortas. (Techne, s.f)

Escherichia coli. Bacilo corto, no esporulado, tiñe de color rosado en la tinción de Gram (Gram negativo). Motil, se mueve por medio de flagelos peritricos (rodean su cuerpo), fermentadora de lactosa, glucosa y sacarosa. Produce vitamina K y B, puede presentar plásmido o sobrevivir sin él. Bacteria que generalmente se encuentra en los intestinos animales y humanos, en aguas negras. Existen muchas especies de *E. coli*, inofensivas en su mayoría, aunque existe una variedad de *E. coli* 0157:H7 que produce una potente toxina (SHIGA), puede ocasionar enfermedades graves como el síndrome urémico hemolítico, que puede acabar en fallo renal. (OMS, 2017)

Salmonella typhimurium. Género bacteriano perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* constituidos por bacilos gram negativos intracelulares anaerobios facultativos con flagelos peritricos. Constituye un grupo importante de patógenos, presentando las dos rutas metabólicas, la oxidativa y la fermentativa. Son oxidasa negativa, fermentan la glucosa generando ácido y gas, crecen en

citrato como única fuente de energía, decarboxilan la lisina y la ornitina, suelen producir sulfuro de hidrógeno y no hidrolizan la urea. Una de las características de este género es que la mayor parte de sus integrantes no pueden fermentar la lactosa ni la sacarosa. La causa más común del envenenamiento de comida por salmonelosis es *Salmonella typhimurium*. (OMS, 2017)

Staphylococcus aureus. Microorganismo que se encuentra diseminado en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia a antibióticos. Es una amplia variedad de enfermedades infecciosas y su principal impacto es ocasionado por las cepas de *S. aureus*, que son sumamente resistentes a la metilina (MRSA) y otros antibióticos que antes eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones. Es un microorganismo capaz de producir componentes superficiales llamados toxinas y producir enzimas extracelulares, estos componentes pueden producir severas intoxicaciones dependiendo de la cantidad ingerida de alimento. (Bush y Schmidt, 2017)

Pseudomonas aeruginosa. Especie de bacteria Gram negativa aeróbica, con motilidad unipolar, es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas. Secreta una variedad de pigmentos como piocianina (azul verdoso), fluoresceína (amarillo verdosa y fluorescente), y pirrubina (rojo pardo), es a menudo identificada, de modo preliminar por su apariencia perlada y olor a uvas in vitro, la identificación clínica definitiva de *P. aeruginosa* frecuentemente incluye, tanto identificar la producción de piocianina y fluoresceína como determinar su habilidad de crecer a 42° C, capaz de crecer en combustibles como queroseno y gasóleo, ya que es un microorganismo capaz de nutrirse a partir de hidrocarburos, causando estragos de corrosión microbiana, creando una gelatina oscura que a veces se identifica inadecuadamente como un alga. (Bush y Schmidt, 2017)

Ficha Técnica de las cepas de referencia.

- Nombre de la cepa
- Lote
- Referencia de catálogo.
- Fecha de elaboración
- Fecha de expedición.
- Temperatura de almacenamiento.
- Rotulación de las cepas (identificación).
- Clasificación según su especie.
- Verificación de las cepas.

En el laboratorio Bialab las cepas de referencia están almacenadas en refrigeración a 4° C, son las siguientes:

- *Aspergillus brasiliensis* ATCC
- *Bacillus subtilis* subespecie *pizizenii* ATCC.
- *Candida albicans* ATCC.
- *Clostridium porogenes* ATCC.
- *Escherichia coli* ATCC.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC.
- *Salmonella* entérica subsp. Entérica serovar *Typhimurium* ATCC.
- *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC.

6. MARCO LEGAL

LEY 09 DE 1979. Código Sanitario Nacional: artículos 22 al 35.

RESOLUCIÓN 02400 DE 1979: Ministerio de la Protección Social. ESTATUTO DE SEGURIDAD INDUSTRIAL: Determina el tipo de inmueble destinados a los lugares de trabajo, servicios de higiene, Normas generales sobre riesgos físicos químicos y biológicos en los establecimientos de trabajo, la ropa de trabajo y elementos de protección, la prevención y extinción de incendios las herramientas de trabajo. (Garay et al, 2013)

LEY 9 DE 1979, Elementos de Protección Personal Artículos 122, 123 y 124. RESOLUCIÓN 2400 DE 1979, del Ministerio del Trabajo. Capítulo II, De los Equipos y Elementos de Protección, Artículos 176, 177 y 178. Las especificaciones técnicas, de acuerdo al tipo de protección están dadas por:

Protección para la cabeza. Norma Técnica Colombiana NTC 1523

Protección para ojos y cara. Normas Técnicas Colombianas NTC 1771, 1825, 1826, 1827, 1834, 1835, 1836 y ANSI 87

Protección respiratoria. Normas Técnicas Colombianas NTC 1584, 1728, 1729, 2561, 1589, 1733.

Protección auditiva: Norma Técnica Colombiana NTC 2272, ANSI 2, 3 y 19.

Protección para las manos. Normas Técnicas Colombianas NTC 1836, 2219.

Protección para pies. Normas Técnicas Colombianas NTC 2396, 2257, 1741.

Protección para el cuerpo. Norma ANSI – ISEA 101. Norma Técnica Colombiana NTC 2021, 2037

Cinturón de seguridad: se usa en todos los trabajos en alturas, debe ser un cinturón porta herramientas normalmente a los costados.

Zapatos aislantes, antideslizantes y que ofrezcan protección contra puntas cortantes, clavos, protección al impacto de objetos que puedan caer. Ley 9 de 1979. Artículo 85. Todos los trabajadores están obligados a:

Cumplir las disposiciones de la presente ley y sus reglamentaciones, así como con las normas del reglamento de Medicina, Higiene y Seguridad que se establezca.

Usar y mantener adecuadamente los dispositivos para control de riesgos y equipos de protección personal y conservar en orden y aseo los lugares de trabajo.

Colaborar y participar en la implantación y mantenimiento de las medidas de prevención de riesgos para la salud que se adopten en el lugar de trabajo.

DECRETO 614 DE 1984: Reglamenta el programa de salud ocupacional. Requisitos de Higiene y Seguridad Industrial, y Medicina de trabajo. Plan Nacional de Salud Ocupacional.

RESOLUCIÓN 1016 DE 1989: Estructura el Programa de salud ocupacional, subprogramas de medicina preventiva, de trabajo, higiene y seguridad industrial.

CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE COLOMBIA 1991: en los Artículos 48, 78, 79, 80, 81, 87 y 366.

LEY 100 DE 1993 El artículo 26 de la Ley 100. Decreto

Ley 1295 de 1994 del Ministerio de Trabajo y Seguridad Social

DERECHOS Y DEBERES:

Decreto 1295 de 1994 del Ministerio de Gobierno. Sanciones.

ARTICULO 91. Para el trabajador:

El grave incumplimiento por parte del trabajador de las instrucciones, reglamentos y determinaciones de prevención de riesgos, adoptados en forma general o específica, y que se encuentren dentro de los programas de salud ocupacional de

la respectiva empresa, que le hayan comunicado por escrito, facultan al empleador para la terminación del vínculo o relación laboral por justa causa, tanto para los trabajadores privados como para los servidores públicos, previa autorización del Ministerio de Trabajo y Seguridad Social, respetando el derecho de defensa. (Garay et al,2013)

DECRETO 2240 DE 1996: Decreto 2676 de 2000: por el cual se dictan normas para la gestión de residuos hospitalarios.

Decreto 1543 de 1997 Presidencia de la República de Colombia “Reglamenta el manejo de la infección por VIH/SIDA y otras enfermedades de transmisión sexual. Se establece la obligación de atender a las personas infectadas por VIH/SIDA, al tiempo que las entidades de salud deben promover la educación sobre el tema a su personal, así como establecer las medidas de bioseguridad y otras para proteger. (Garay et al,2013)

RESOLUCIÓN 1164 DE 2002: por el cual se expide el Manual de Procedimientos para la Gestión Integral de Residuos Hospitalarios y Similares en Colombia.

Resolución 2183 de 2004: Ministerio de la Protección Social “Por el cual se adopta el Manual de Buenas Prácticas de esterilización para los prestadores del servicio de salud.

7. BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO.

Se establecen los elementos que un laboratorio debe asegurar para lograr que los resultados de los ensayos tengan una confiabilidad apropiada. Se determinó BPL sistema de calidad involucrada en la organización de un laboratorio: planifican, realizan, controlan, registran, archivan e informan los ensayos realizados en el laboratorio. El propósito de las buenas prácticas de laboratorio es asegurar la calidad de los datos en los estudios realizados.

Son un conjunto de reglas, procedimientos operativos y prácticas establecidas y promulgadas por un determinado organismo que se consideran obligatorias y buscan asegurar la calidad e integridad de los datos producidos.

Para las instalaciones solo exige que faciliten la realización de los ensayos y que las condiciones ambientales no invaliden los resultados ni comprometan la calidad requerida

Es importante asegurar el orden, limpieza y desinfección de laboratorio y realizar procedimiento en las diferentes áreas de trabajo, el objetivo es la reducción de contaminación y facilitar las labores de limpieza y desinfección.

Con relación a las instalaciones hay que tener en cuenta los aspectos de bioseguridad, se debe adaptar de acuerdo a los microorganismos con que se trabajen y al manejo de residuos.

Una norma de calidad establece pautas o criterios para que todas estas actividades que se realizan en el proceso no se produzcan fallas o desviaciones que afecten la calidad final del servicio.

Norma ISO IEC 17025: 2005. Por la importancia de los resultados de los laboratorios que participan en la conformidad de los productos, actualmente se exige la acreditación de los laboratorios; es un proceso donde los laboratorios deben contratar a una organización independiente y reconocida para que los evalúen y avale la garantía de los resultados, es una forma de brindar confianza a los clientes. (ICONTEC, 2005)

Con buenas prácticas de laboratorio y el cumplimiento de los requisitos necesarios para la acreditación que se estipulan en la norma ISO IEC 17025:2005 para la competencia de laboratorios de calibración y ensayos, ayudan a una correcta organización de trabajo con ahorro de tiempo y recursos resultando beneficiosos.

El objetivo principal de la norma es garantizar la competencia técnica y la facilidad de los resultados analíticos. Para ello se vale tanto de requisitos de gestión como técnicos que inciden sobre la mejora de la calidad del trabajo realizado en los laboratorios. (ICONTEC, 2005)

Esta norma permite demostrar que un laboratorio tiene la capacidad de:

- ✓ Generar resultados válidos.
- ✓ Técnicamente competentes.
- ✓ Genera un sistema de calidad.
- ✓ Control de documentos.
- ✓ Revisión de solicitudes, licitaciones, contratos.
- ✓ Control de documentación.
- ✓ Subcontratación de ensayos.
- ✓ Adquisición de servicios.
- ✓ Reclamos.
- ✓ Control de trabajos no conformes.
- ✓ Acciones preventivas y correctivas.

- ✓ Control de registros.
- ✓ Auditorías internas.
- ✓ Revisión por la dirección.

Requisitos técnicos que tienen en cuenta: Generalidades, personal, instalaciones, condiciones ambientales, métodos de calibración y ensayo, validación de métodos, equipos, trazabilidad de las mediciones, manejo de muestras, manejo de objetivos de ensayos, aseguramiento de la calidad de resultados e informe de resultados.

El Ministerio de Salud y Protección social. Resolución Número 1619 de 2015. (15 de mayo).

Que la ley 9 de 1979 contiene una serie de disposiciones de carácter sanitario que contribuyen en la preservación, restauración y mejoramiento de las condiciones sanitarias relacionadas con la salud humana, contemplando normas generales para productos, servicios y establecimientos objetos de inspección y vigilancia, así como señalando procedimientos y medidas sanitarias que se deben aplicar para su control.

Por otra parte, el decreto 2323 del 2006 organizó la Red Nacional de Laboratorios y reglamentó su gestión, definiendo las competencias de los Laboratorios Nacionales Referencia y de las entidades territoriales y señalando que dichos laboratorios deben definir los estándares de calidad para la autorización de laboratorios que ofrezcan realizar análisis de interés en salud pública y de vigilancia y control sanitario.

Con posterioridad a la expedición del decreto 2323 del 2006, el Gobierno Nacional, estableció la figura del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) y determinó las funciones de sus dependencias mediante el decreto 2078 del 2012.

La función de definir los estándares de técnicos para la realización de análisis o pruebas de laboratorio por terceros, en materias de su competencia e impartir las respectivas autorizaciones, así como la supervisión en el cumplimiento de los estándares de calidad a los laboratorios e instituciones para realizar análisis o pruebas de laboratorio, autorizados por esa entidad.

Norma ISO 9001: 2015. Norma de calidad y gestión continua de calidad establecida por la organización internacional para la estandarización, aplica a toda organización o actividad sistemática de gestión y herramientas específicas como las auditorias; verifican que los sistemas de gestión cumplan con los estándares de calidad.

8. METODOLOGÍA

La organización y mantenimiento del cepario, permite disponer de una serie de cepas de referencia con una información confiable para ser utilizadas en las diferentes áreas de la ciencia y tecnología. Su almacenamiento permite tener estabilidad y reproducibilidad de características típicas, morfológicas, fisiológicas de cada una de ellas. Para la recuperación de las cepas de referencia a partir de Liofilizados, se debe estandarizar la técnica de adecuación y saber el propósito al cual va a ser asignado el cerapio en el laboratorio de microbiología de Bialab, se debe tener en cuenta como requisito importante:

Instrucciones del fabricante de la prueba para el mantenimiento del microorganismo.

Identificación de las cepas de referencia existentes en almacenamiento.

El propósito de los análisis a realizar en el laboratorio a partir de las cepas de trabajo son los siguientes:

- ✓ Pruebas de promoción y crecimiento.
- ✓ Pruebas de selectividad y productividad.
- ✓ Pruebas internas (retos).
- ✓ Pruebas de especificidad.

En las pruebas de promoción y crecimiento para medios de cultivo el propósito de la técnica es determinar la susceptibilidad del medio de cultivo usando los diferentes análisis microbiológicos, se debe realizar por cada lote de medio de cultivo adquirido, asegurando las propiedades nutritivas de los medios.

Verificar los componentes básicos, correcta formulación de los medios, procedimiento y preparación correcta.

Eliminación de contaminación por agentes bacterianos, condiciones de empaque, almacenamiento y selectividad de los medios de cultivos mediante pruebas con cepas promotoras y cepas inhibitorias.

Los criterios de aceptación de la prueba de selectividad y productividad: se mira la recuperación o supervivencia de microorganismos, la productividad para medio no selectivo debe ser mayor a 50%, La productividad en medios selectivo debe ser mayor a 30. Para medios líquidos la recuperación de los inóculos de referencia debe estar entre 10 – 100%. En la prueba de productividad se evalúa la capacidad de un medio de cultivo de favorecer o permitir el desarrollo de un microorganismo.

https://www.nodointeractivo.com/index.php?option=com_content&view=article&id=21&Itemid=36

En la prueba de selectividad se evalúa la capacidad de un medio de cultivo de inhibir el crecimiento o desarrollo de un microorganismo que no tenga una reacción positiva en dicho medio.

Pruebas Internas Retos. (Pruebas de desinfectantes).

En las Pruebas de Especificidad del medio de cultivo se determina si el medio si está dando viraje para el microorganismo.

En las pruebas de esterilidad el propósito es confirmar las propiedades nutritivas del medio de cultivo del nuevo lote mediante una concentración conocida baja de microorganismos.

El medio debe ser siempre probado en caldo.

La procedencia de las cepas del laboratorio Bialab fueron adquiridas del laboratorio Microbiologics reconocido internacionalmente como lo es la marca comercial ATCC (Americans Type Culture Collection), el cual cuenta con la licencia de utilizar y vender esta marca comercial de productos derivados de los cultivos ATCC; presentando buena estabilidad en refrigeración.

El material de referencia es importante en el aseguramiento de la calidad de los ensayos que el laboratorio realiza, para asegurar que están bajo control y no influye en el resultado final.

ATCC ampliamente reconocida por su trayectoria y recomendada en varias normas ISO, se hace mención específica de identificación de la cepa, según el catalogo ATCC.

Los cultivos suministrados por el proveedor cumplen tres requisitos importantes:

- ❖ Pureza.
- ❖ Autenticidad.
- ❖ Estabilidad.

La pureza supone ausencia de contaminación lo que se consigue trabajando en condiciones asépticas.

La autenticidad requiere disponer de personal cualificado con buenos conocimientos en microbiología.

La estabilidad esta inversamente relacionada con el número de subcultivos, por lo que estos deben reducirse al mínimo. (SEM, 2006)

Para la estandarización de cepas de trabajo es necesario a nivel cualitativo como a nivel cuantitativo.

Cuando se realizan análisis microbiológicos en los que se incluyen pruebas bioquímicas, se recomienda la utilización de cepas de referencia como control positivo para comparar y valorar los resultados del análisis.

La acreditación de nuevos procedimientos de análisis microbiológicos en laboratorios requiere de ensayos de validación con respecto a los procedimientos estándar, lo que incluye una valoración de su sensibilidad. Para ello se requiere de un cultivo cuantificado que puede ser preparado por el propio laboratorio a partir de un cultivo de referencia, bien obtenerse como material de referencia certificado. (SEM, 2006)

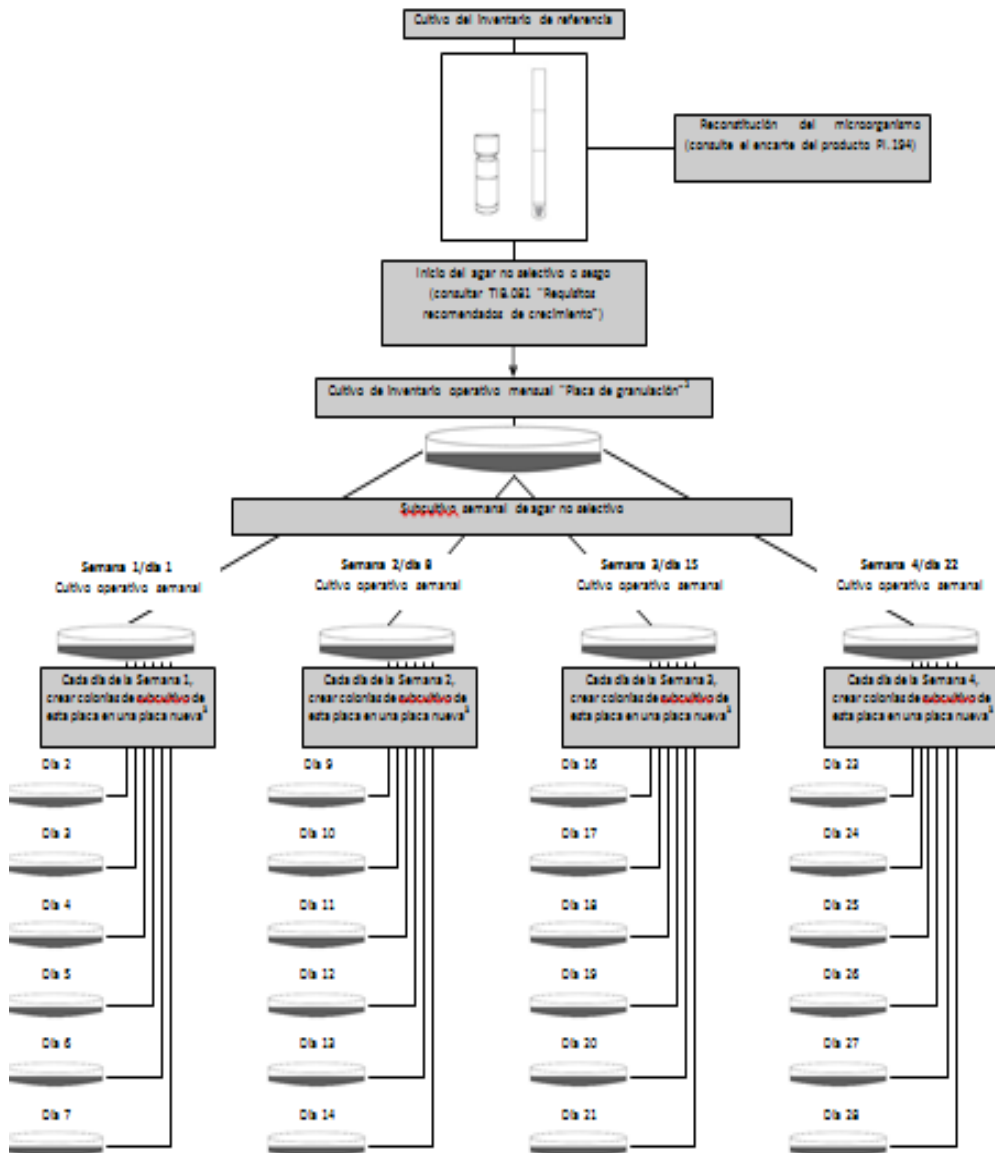
Los métodos de conservación a largo plazo son los mejores, ya que con ellos se detiene el crecimiento de las células microbianas. Así se garantiza al máximo la estabilidad genética, evitando la aparición de nuevas generaciones. Los métodos de conservación pertenecientes a este grupo son congelación y liofilización.

Los crioviales para el mantenimiento de cepas están diseñados para facilitar la inoculación, manipulación y conservación de cepas microbianas, las ventajas más marcadas son que ahorran resiembras, contaminaciones y mutaciones, al tratarse siempre de la primera generación inoculada. Numerosas cepas se mantienen así aisladas vivas durante años. (SEM, 2006)

Los crioviales vienen con tapón alto que dificulta el contacto de los dedos con las cepas. (Crioteca, 2010)

Los siguientes diagramas fueron tomados del laboratorio donde se adquirieron las cepas de referencia el cual sugirió el protocolo a seguir para su mantenimiento y aislamiento.

Figura 1. Plan de mantenimiento de microorganismos A¹

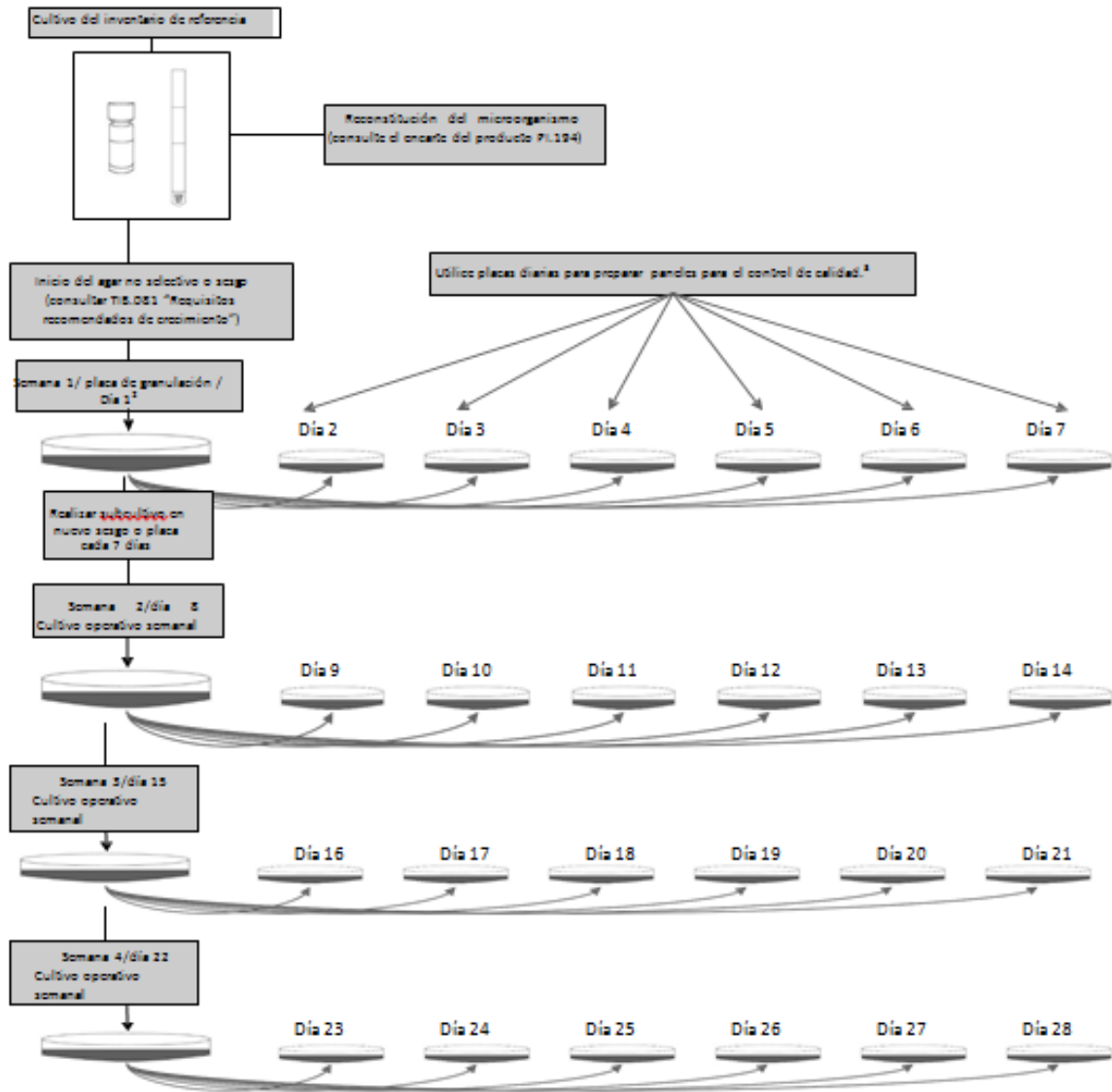


Tomado de: <https://es.slideshare.net/camiloSh/microorganismmaintenance-spanish>

Septiembre 28/09/2017.

Martes 19 diciembre del 2017

figura 1. Plan de mantenimiento de microorganismos B¹



Tomado de: <https://es.slideshare.net/camiloSh/microorganismmaintenance-spanish>

Septiembre 28/09/2017.

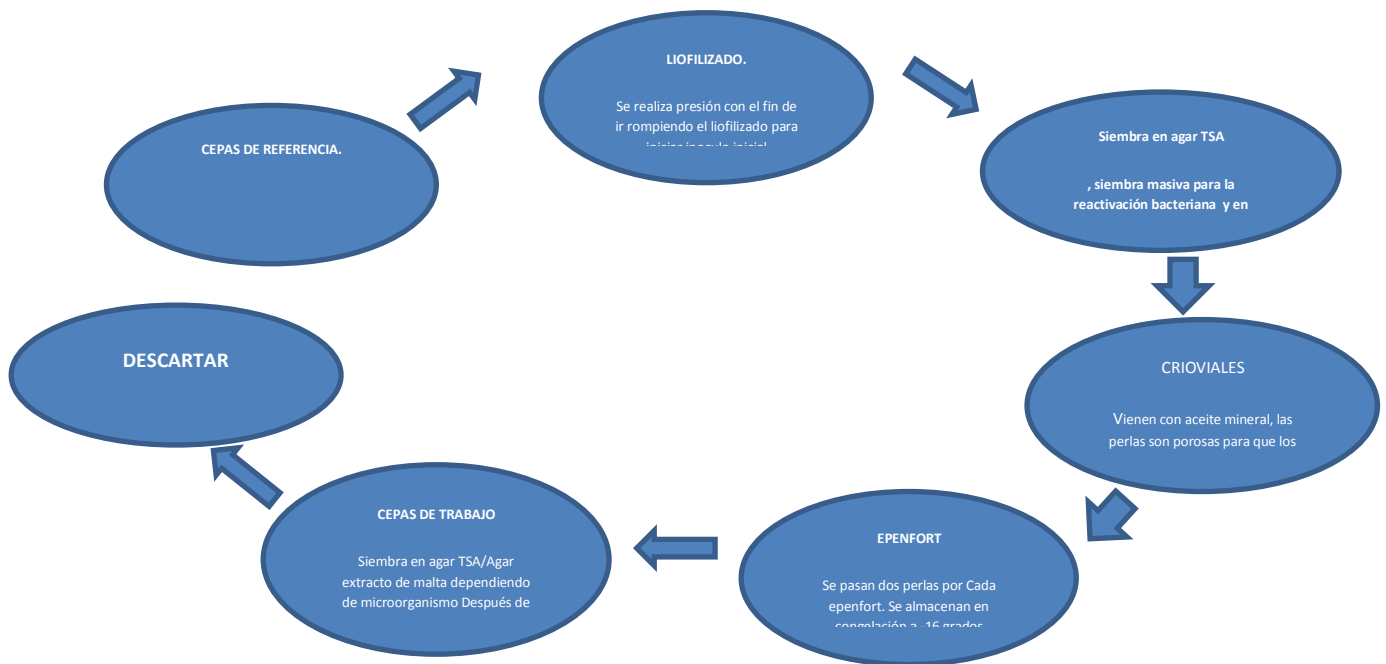
Martes 19 diciembre del 2017.

Se tiene un protocolo a seguir partiendo de las cepas de referencia.

La manipulación de las cepas de referencia se debe realizar en el área de repique incubación; en la cabina de bioseguridad y el personal debidamente protegido con implementos de bioseguridad.

Por motivo de espacio, por la cantidad de material a utilizar y por tiempo, en el laboratorio Bialab se toman medidas internas para seguir con otro método o protocolo de aislamiento de cepas de referencia para la obtención de cepas de trabajo. Basados en la norma técnica colombiana (ICONTEC, 2008).

Figura:3 Protocolo



CEPAS DE REFERENCIA

Registrar las cepas de referencia que van a ser manipuladas para los análisis con:

- Fecha del pase de la cepa.
- Nombre del microorganismo.
- Referencia.
- Lote.
- Código del catálogo.
- Fecha de vencimiento.
- Medio de cultivo para reconstituir la cepa.
- Temperatura de almacenamiento.
- Control de calidad.
- Morfología de la colonia.
- Aspecto de la colonia.
- Temperatura de almacenamiento

Al realizar control de calidad de pureza y viabilidad, registrar resultados:

- Coloración de Gram: morfología.
- Características de las colonias en medios selectivos.
- Pruebas bioquímicas.

CEPAS DE RESERVA:

Obtenida a partir de la cepa de referencia. Se rotulan los crioviales:

- Identificación de las cepas.
- Nombre de la cepa.

- Numero de referencia de la cepa.
- Fecha del pase de la cepa.
- Numero de viales.
- Temperatura de almacenamiento.
- Código.

Se inocula el desarrollo microbiano obtenido asépticamente en el medio líquido sobre nadante que contiene los crioviales. En caso de no tener crioviales las cepas se mantienen en agar tripticasa de soya en tubo inclinado y mantener con aceite mineral para lograr su preservación.

Para la reconstitución de muestras liofilizadas de cepas bacterianas se utiliza caldo de soya triptona (tryptone Soya Broth: TSB). Se esteriliza en autoclave. Después de la esterilización el pH del medio debe ser equivalente a 6,9 +/- 0,2 cuando se mide a 20 grados centígrados. (Icontec, 2008)

Agar Triptona (Tryptone Soya Agar, TSA). Para el mantenimiento de cepas Bacterianas. Se almacena a 35 grados centígrados y entre 18- 24 horas. Para bacterias.

Para la reconstitución de muestras liofilizadas de levaduras y mohos. Esterilizar en autoclave. Después de la esterilización el pH de medio debe ser equivalente a 6,9 +/- 0,2 cuando se mide a 20 grados centígrados. (Icontec, 2008)

Para el mantenimiento de cepas de mohos y levaduras, efectuar recuentos viables, se realiza en Agar de extracto de soya (Malta Extracto Agar MEA). Se almacena a 25 grados centígrados y entre 42-48 horas para levaduras.

Mezclar invirtiéndolos crioviales para obtener una completa distribución de los microorganismos y remover el líquido sobrenadante con pipeta estéril o una punta.

El sobrenadante de los crioviales se desecha en solución de hipoclorito de sodio al 5%, si se utilizan tubos se almacenan en refrigeración, la manipulación de las cepas de reserva para producción de las cepas de trabajo se realizará evitando descongelamiento y la contaminación del criovial, utilizar nevera para trasladar la cepa conservando la cadena de frío, el repique se realiza en cabina de bioseguridad biológica.

CEPAS DE TRABAJO:

Se obtienen a partir de las cepas de reserva sobre un medio solido no selectivo Incubando en condiciones adecuadas, se rotulan las cepas de trabajo:

- Nombre de la bacteria.
- Fecha de repique.
- Medio de cultivo.
- Lote del medio.
- Temperatura.
- Tiempo de estabilidad.

Las cepas de trabajo se siembran en medios selectivos, la temperatura y tiempo depende del microorganismo, para hacer seguimiento de las características morfológicas del microorganismo se elimina del cepario los crioviales vencidos.

PREPARACIÓN MEDIOS DE CULTIVO.

Las prácticas enfocadas a la realización de medios de cultivo permiten comprender los diferentes requerimientos necesarios para cada microorganismo por ello, el medio de cultivo constituye el aporte de nutrientes indispensables para el crecimiento de los microorganismos, la composición precisa dependerá de la

especie que se quiera cultivar, porque las necesidades nutricionales varían considerablemente.

Hay microorganismos muy poco exigentes que crecen bien en medios de laboratorio normales y microorganismos muy exigentes que necesitan determinadas sustancias como vitaminas, suero o sangre para crecer. (Aquihuatl, Sepúlveda, & Barragán, 2012).

En el laboratorio Bialab la preparación de medios de cultivos para los análisis microbiológicos garantiza la adecuada preparación, conservación, identidad de los medios preparados en el laboratorio, asegurando su idoneidad para la realización de ensayos, cumpliendo con los estándares de calidad.

Material y Equipos a utilizar:

- Agua estéril.
- Medios de cultivo.
- Frascos shock tapa rosca.
- Tubos de ensayo.
- Agitador de vidrio.
- Probetas.
- Erlenmeyer.
- Balanza.
- Plancha de calentamiento análoga.
- Papel aluminio.
- Autoclave.
- Incubadora.
- Nevera.
- Cinta indicadora para esterilización.

Se realiza limpieza y desinfección al área de preparación de medios de cultivo. Se utiliza los implementos adecuados de bioseguridad (bata, cofia, guantes, tapabocas y gafas).

Para realizar el pesaje del medio de cultivo, se tiene en cuenta las instrucciones que viene en el empaque.

El agua estéril se mide en una probeta, luego se pasa a un frasco shock con el agar que se pesó anteriormente. Se mueve continuamente con el agitador de vidrio para disolver el agar.

Luego se coloca en la plancha de calentamiento hasta ebullición para que las partículas se disuelvan totalmente.

Se pasa a la autoclave para realizar la esterilización del medio de cultivo a (121°C/15 minutos) se coloca cinta control para verificar la esterilización, se rotula el frasco shock con nombre del agar, fecha (año, mes, día) de elaboración y quien elaboro.

Ya listo el medio se sirve en cajas de Petri en la cabina de bioseguridad, para realizar los diferentes análisis en el laboratorio, o se almacena en la incubadora a 50°C. Las cajas servidas con el agar que no se vayan a utilizar se almacenan en la nevera a 4°C, en bolsas selladas, marcadas con nombre del medio y fecha de elaboración.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN ÁREAS Y EQUIPOS

El diseño de un sistema de limpieza y desinfección de las áreas del laboratorio Bialab permite controlar la presencia de microorganismos en áreas, equipos y ambientes de manera tal que se asegure la inocuidad de todos los elementos que pueden influir en los resultados de los análisis realizados; de esta

manera se garantiza la calidad y confiabilidad de los resultados de los ensayos realizados, se da cumplimiento a las especificaciones técnicas exigidas.

Los productos de limpieza y desinfección deben aplicarse teniendo en cuenta las especificaciones de la ficha técnica, se almacena en área específica destinada para tal fin, deben estar rotulados y en sus recipientes originales, cuando no están en uso deben estar siempre suspendidos sin que tengan contacto con el piso y usados para tal fin.

Las sustancias de limpieza y desinfección utilizadas en el laboratorio son las siguientes. Detergente industrial:

-Zumo jabón visoft. Disolver la cantidad teniendo en cuenta lo que se va a limpiar, en la cantidad de agua necesaria para cumplir con la concentración establecida. 10% para equipos, 30% para áreas, 20% para herramientas.

Las sustancias utilizadas en la desinfección son:

-Hipoclorito de sodio 13%.

-Alcohol industrial 95%.

9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

(Actividades realizadas en el laboratorio Bialab a partir de septiembre 4 a diciembre 30 de 2017 asistiendo los días lunes, miércoles y jueves de 8 a.m. - 6p.m.)

-Inventarios de equipos.

-Inventario Material de vidrio.

-Inventario medio de cultivo.

-Llamadas a empresas de alimentos para dar a conocer los servicios de laboratorio Bialab

-Aseo general del laboratorio.

-Limpieza y desinfección de equipos.

-Limpieza y desinfección en áreas y superficies.

-Crear formatos en el sistema de cómputo para inventario de material de vidrio.

-Crear formatos en el sistema de cómputo para inventario medios de cultivo.

-Organizar carpeta de inventario de equipos.

-Mirar fecha de calibración y mantenimiento de equipos.

- Documentar fichas técnicas del cepario.
- Archivar en el sistema cómputo microorganismos del cepario.
- Ayudar en solicitud de compras y calibración de equipos.
- Realizar llamadas para cotizar mantenimiento de cabinas de bioseguridad, incubadora, Balanzas, micro pipetas, autoclave.
- Ayudar a pasar cuaderno de datos primarios de análisis de alimentos.
- Preparación de medio de cultivo y esterilización.
- Levantamiento de información para instructivo de uso de equipos.
- Toma de lectura de temperaturas en dos tiempos mañana y tarde a las incubadoras de: 50 °C, 35°C y 25°C, nevera industrial, nevera de refrigeración y congelación. (T: 4°C, -1°C, -16°C) y humedad relativa.
- Recibir muestra de alimentos para analizar.
- Traer agua destilada para la preparación de medios del laboratorio Bolívar.
- Llevar material de desecho al laboratorio Bolívar.
- Lavado y desinfección del material de vidrio.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Tabla 1. Clasificación biológica de los microorganismos. Cepas en el Laboratorio Bialab.

Nombre de la cepa	Reino	Filo	Clase	Orden	Familia	Género
<u>Aspergillus</u> <u>brasiliensis</u> ATCC.	Fungi	Ascomycota	Eurotiomicetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>
<u>Bacillus</u> <u>subtilis</u> ATCC.	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>
<u>Candida</u> <u>albicans</u> ATCC	Fungi	Deuteromycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	<i>Candida</i>
<u>Clostridium</u> <u>sporogenes</u> ATCC.	Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>
<u>E.</u> <u>coli</u> ATCC	Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>
<u>Salmonella</u> <u>typhimurium</u> ATCC.	Bacteria	Proteobacteria	Gamma Proteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Salmonella</i>
<u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u> ATCC.	Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>
<u>Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u> ATCC	Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>

Tabla 2. Microorganismos disponibles en el laboratorio Bialab.

Nombre de la cepa	Lote	Catalogo	Fecha Ingreso	Fecha Expedición	Referencia
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC.	392-522-1	0392X	2016/11/23	2018-04	ATCC16404
<i>Bacillus subtilis</i> subespecie <i>spizizenii</i> ATCC.	486-423-2	0392X	2016/11/23	2018-02	ATCC6633
<i>Candida albicans</i> ATCC.	443-632-1	0443X	2016/11/23	2018-08	ATCC10231
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC.	487-227-1	0487X	2016/11/23	2018-07	ATCC11437
<i>E. coli</i> ATCC.	483-567-1	0483X	2016/11/23	2018-05	ATCC8739
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC.	363-257-1	0363X	2016/11/23	2018-09	ATCC14028
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.	485-336-2	0485X	2016/11/23	2018-02	ATCC6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	693-103-2	0693X	2016/11/23	2018-02	ATCC15442

Tabla 3. Tabla de cepas y su morfología

NUMERO ÚNICO DE IDENTIFICACIÓN	NOMBRE	MEDIO SELECTIVO DE RECONSTITUCIÓN	MORFOLOGÍA DE LA COLONIA	ASPECTO DE LA COLONIA	COLORACIÓN DE GRAM
1	<u>Aspergillus brasiliensis</u> – ATCC				
2	<u>Bacillus subtilis</u> – ATCC				
3	<u>Candida albicans</u> – ATCC				
4	<u>Clostridium sporogenes</u> –ATCC				
5	<u>Escherichia coli</u> – ATCC				
6	<u>Salmonella typhimurium</u> – ATCC				
7	<u>Staphilococcus aureus</u> – ATCC				
8	<u>Pseudonomas aeruginosa</u> –ATCC				

TABLA 5. Registros pruebas de promoción y crecimiento internas.

REGISTRO PRUEBAS DE PROMOCIÓN Y CRECIMIENTO INTERNAS											
MEDIO DE CULTIVO											
CANTIDAD RECIBIDA			LOTE			MARCA					
FECHA DE RECIBIDO						FECHA DE VENCIMIENTO					
FECHA DE ANÁLISIS											
FECHA DE CONTROL DE CALIDAD	NUMERO DE LOTE INTERNO		PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO	DIFERENCIA EN LOGARITMO ($\leq 0,15$ LOG)	PRUEBA DE SELECTIVIDAD	UNIDAD EN USO	FECHA DE LECTURA	RESPONSABLE			
		MICROORGANISMOS	UFC. INOC	UFC. RECUP		UFC. INOC	UFC. RECUP				
REVISADO POR:								FECHA DE REVISIÓN			

Tabla 7. Inventario de Equipos

CODIGO	NOMBRE DEL EQUIPO	UBICACIÓN	REFERENCIA
BL-AU-001	Autclave: Stericlinic	Área de preparación de Medios de cultivo	15032016-61
BL-NE-002	Nevera Industrial	Área de preparación de Medios de cultivo	J162F20M
BL-IN-003	Estufa incubadora – Memmert– MPI	Área de preparación de Medios de cultivo	DIN 400 50 IP-20
BL-BS-004	Baño serológico – Memmert – MPI 50	Área de preparación de Medios de cultivo	D-91120
BL-BA-005	Balanza Digital OHAUS	Área de preparación de Medios de cultivo	B5 41543009
BL-PC-006	Plancha de calentamiento análoga	Área de preparación de Medios de cultivo	TPL 29 – FTHP-13
BL-JA-007	Jarra de anaerobiosis	Área de repique e incubación	1900-01-00
BL-MP-008	Microscopio Olympus	Área de caracterización microbiológica y recuento	GA0010
BL-CC-009	Cuenta colonias	Área de caracterización microbiológica y recuento	216 R=CCD
BL-CB-010	Cabina bioseguridad	Área de repique e incubación	BA206-05
BL-CB-011	Cabina bioseguridad.	Área de siembra tipo B	BA206-06
BL-RG-012	Refrigerador y congelador	Área de repique e incubación	607TRBSOR533
BL-IN-	Incubadora Bacterias	Área de repique e incubación	D32779

013	35°C			
BL-IN-014	Incubadora Auxiliar 50°C		Área de repique e incubación	D115780
BL-IN-015	Incubadora Auxiliar 25°C		Área de caracterización microbiológica y recuento	D1150792
BL-PH-016	Peachímetro con conductividad		Área de caracterización microbiológica y recuento	M108
BL-AV-017	Agitador Vortex		Área de caracterización microbiológica y recuento	BOE8055000
BL-SF-018	Sistema de filtración por vacíos		Área de caracterización microbiológica y recuento	KP-475
BL-TH-019	Termohigrómetro digital		Área de caracterización microbiológica y recuento	TTH-002
BL-MP-020	Micropipetas. 10-100ul/100-1000ul		Área de caracterización microbiológica y recuento	VAP-500/ VAP-600

Tabla 8

Material de Vidrio

NOMBRE	CAPACIDAD (ml)	UNIDAD	AREA
FRASCOS SHOCK TAPA ROSCA	1000	7	Todo el material está almacenado en el área de preparación de medios de cultivo
	500	12	
	250	27	
	100	7	
	50	5	
VASOS DE PRECIPITADO	1000	1	
	500	1	
	50	1	
PIPETAS	10	5	
	5	10	
	2	5	
	1	4	
PROBETAS	1000	1	
	500	1	
	250	1	
	100	1	
ERLENMEYER	1000	1	
	500	1	
	200	1	
TUBOS DE ENSAYO		150	
CAJAS PETRI GRANDES		1000	

DESECHABLES			
CAJAS		647	
PETRI PEQUEÑAS DESECHABLES		2	
VIDRIO RELOJ		2	
ASAS HOCKEY		2	
AGITADORES		2	
PORTA Y CUBRE OBJETOS		50	Área de caracterización microbiológica y recuento

Tabla 9. Inventario de medios de Cultivo.

NOMBRE: MEDIO DE CULTIVO	LOTE	REFERENCIA	FECHA DE VENCIMIENTO
Buffer Peptona tamponada	5349760	02-277-500	09/2020
Agar Sabouraud Cloranfenicol	105923	02-166-500	06/2021
Agar Extracto de Malta	105343	01-111-500	12/2020
Agar Letten	105908	01-236-500	06/2020
Agua Peptona tamponada	106449	02-277-500	01/2022
Agar Plate Count	105545	01-161-500	11/2019
Agar Rappapor vassiliadis Broth	105633	02-379-500	03/2020
Agar Sabouraud Dextrosa	106254	01-165-500	11/2020
Agar Triptona de Soya(TSA)	105467	01-200-500	02/2021
Caldo Tioglicolate	104405	02-166-500	11/2019
Caldo triptona y soya (TSB)	105432	02-200-500	01/2021
Agar XLD	106346	02-189-500	01/2020
Agar Colistant Chromogénico	106069	01-618-500	09/2020
Agar MacConkey	105538	01-118-500	03/2021

Tabla 10. Preparación medios de cultivo

	MEDIOS DE CULTIVO	CANTIDAD		ELABORO
		GRAMOS	MILILITROS	
2017-10-06.	Agar MacConkey	25,75 gr	500ml	Martha Jaimes
	Agua peptona	1 gr	1000 ml	
	Agar Sabouraud dextrosa	32,5 gr	500 ml	
	Agar Plate count	23,5 gr	1000 ml	
2017-10-09.	Agua peptona	1 gr	1000 ml	Martha Jaimes
2017-10-11.	Agua peptona	1 gr	1000 ml	Martha Jaimes
	Agar Sabouraud dextrosa	32,5 gr	500 ml	
	Agar Plate count	11,75 gr	500 ml	
2017-10-12.	Caldo TSB.	15 gr	500 ml	Martha Jaimes
	Agua peptona	1,5 gr	1.500 ml	
	Agar Sabouraud dextrosa	65 gr	1000 ml	
2017-10-23.	Agar TSA	20 gr	500 ml	Martha Jaimes
	Agar Plate count	11,75 gr	500 ml	
	Agar MacConkey	41,2 gr	800 ml	
	Agua peptona	1,5 gr	1.500 ml	
2017-10-25.	Agar Plate count	11,75 gr	500 ml	Martha Jaimes
	Agar Sabouraud dextrosa	32,5 gr	500 ml	
	Agua peptona	1 gr	1000 ml	
	Agar Plate count	11,75 gr	500 ml	
2017-10-30.	Agar Sabouraud dextrosa	65 gr	1000 ml	Martha Jaimes
	Agar TSA	40 gr	1000 ml	

	Agar MacConkey	25,75 gr	500 ml	
	Agua peptona	1 gr	1000 ml	Martha Jaimes
2017--11-08.	Agar Plate count	11,75 gr	500 ml	Martha Jaimes
	Agar Sabouraud dextrosa	32,5 gr	500 ml	
	Agar MacConkey	25,75 gr	500 ml	
	Agua peptona	1,5 gr	1.500 ml	
2017-11-20.	Agar Plate count	23,5 gr	1000 ml	Martha Jaimes
	Agar Sabouraud dextrosa	65 gr	1000 ml	
	Agar MacConkey	51,5 gr	1000 ml	
2017-11-23.	Agua peptona	1 gr	1000 ml	
	Agar Baird Parker	15,15 gr	240 ml	Martha Jaimes
	Agua peptona	1,5 gr	1000 ml	
2017-11-29.	Agar Sabouraud dextrosa	65 gr	1000 ml	Martha Jaimes
	Agar Plate count	14,1 gr	600 ml	
	Agar Colistant cromogénico	15,12 gr	400 ml	
	Agua peptona	2 gr	2000 ml	
	Agar Sabouraud dextrosa	32,75 gr	500 ml	
	Agar MacConkey	13 gr	250 ml	
2017- 12-04.	Agar Plate count	23,5 gr	1000 ml	Martha Jaimes
	Agar Colistant cromogénico	19 gr	500 ml	
	Caldo BHI	7,4 gr	200 ml	
	Agar Baird Parker	15,15 gr	240 ml	

Tabla 11. Reactivos

NOMBRE	LOTE	REFERENCIA	FECHA DE VENCIMIENTO
TWEEN 80	1736	TW-00801000	06/2023
Aceite de inmersión	HX6836199	1.04699.0500	31/03/2019
Fucsina Básica	C16D03	02658	30/11/2018
Lugol	C16B72	03304	30/10/2018
Azul lactofenol	180E11	06349	05/2018
Cristal Violeta	C16B62	05589	30/09/2018
Hidróxido de Potasio	S16D26	07773	3/11/2018
Alcohol Acetona	C16C97	00471	30/11/2018
Solución clorhídrica	21-150-5100	CN4510	05/2018

Al realizar el estudio de Buenas prácticas de Laboratorio en Bialab se mejora la organización, distribución y el buen funcionamiento del laboratorio.

- La clasificación biológica de los ocho microorganismos existentes en el cepario del laboratorio Bialab se conoce el reino, filo, clase, orden, familia, genero para tener conocimiento sobre los microorganismos que se están manipulando.
- Al diseñar el protocolo de aislamiento y conservación de las cepas de referencia basado en la norma NTC 5593, es primordial porque de ahí depende la supervivencia del microorganismo manteniendo en condiciones óptimas; estabilidad, pureza, viabilidad siendo sometido a temperaturas, tiempo, medios de cultivo ideales para su conservación, el almacenar los viales a congelación a una temperatura no superior a -70 grados centígrados se logra la conservación de microorganismos prolongando su vida útil por cinco años. El cultivo inicial debe almacenarse durante un tiempo no superior a dos meses en refrigeración a una temperatura inferior a 8 grados centígrados.
- El tener y llevar registros de cada uno de los microorganismos del cepario con lote, número de catálogo, fecha de ingreso, fecha de expedición, número de referencia, se tiene control en el inventario del cepario. Las cepas de referencia traen estiques con datos los cuales se colocan en cada hoja de la ficha técnica de las cepas para certificar la procedencia y en caso de presentarse inconvenientes sean reportados con sus respectivos datos.
- En la tabla de cepas y su morfología se registra con numero único de identificación del microorganismo en el cepario de Bialab, medio de cultivo selectivo en el cual se va a reconstituir masivamente teniendo control de tiempo y temperaturas adecuadas, registrando morfología y aspecto de las colonias, dependiendo de la coloración indicada. Esto para identificación y control de calidad del microorganismo

- El objetivo es tener trazabilidad de cada una de las cepas de referencia llevando control de calidad, cepas de reserva, cepas de trabajo, con estos registros se tiene seguridad y control en cada uno de los países que se realizan en el cepario, con sus respectivas fechas, tiempos y temperaturas adecuadas, medios de cultivos y certeza en la cantidad disponibles de cepas de trabajo con que se realizan los diferentes análisis microbiológicos.
- En el formato de registro de pruebas de promoción y crecimiento internas, se registra datos del medio de cultivo que ingresa al laboratorio para realizar los análisis de promoción y crecimiento y pruebas de selectividad, con fecha de control y calidad de la prueba, número de lote interno dependiendo de la cantidad de medios que ingresan al laboratorio, los microorganismos a inocular en el medio de cultivo a analizar, se registra la diferencia de UFC inoculadas y UFC recuperadas para hallar el logaritmo, (menor o igual a 0,15) mirando si el medio es selectivo o no para el microorganismo. Este análisis es importante porque nos asegura que el medio cumple con los estándares de calidad.
- El formato de control de calidad y esterilización de los medios de cultivo es para llevar control en el proceso de su esterilización, mirando el viraje de la cinta indicadora, selectividad y productibilidad de los medios de cultivo, tiempo y temperaturas de incubación, se comprueba el proceso de esterilización en el archivo de computo llevando registro de fecha, hora, temperatura, tiempo, libras de presión y la gráfica obtenida. Con esto se tiene certeza que la esterilización es la esperada. Es aconsejable tener un indicador biológico para este proceso ya que hay microorganismos resistentes a altas temperaturas.

Se mira la selectividad del medio de cultivo con una cepa control, el método de control es cualitativo, su criterio si es apto o no, se mira la reacción característica con la identificación de la colonia.

- Para la productividad del medio de cultivo se tiene un medio de referencia, método de control cuantitativo, la recuperación del microorganismo debe ser mayor del 70%, el logaritmo es mayor o igual a 0,15 log, la reacción característica es el tipo de colonias esperadas.
Se mira la estabilidad y recuperación del microorganismo en el medio de cultivo si cumple con los estándares de calidad.
- Al elaborar las fichas técnicas de los equipos es importante saber datos del fabricante, instrucciones de mantenimiento, fechas de calibración, marca, códigos internos, referencias, registros de temperaturas mañana y tarde, así se lleva control para saber que los equipos que se están utilizando si cumplen con los parámetros exigidos, Si están funcionando correctamente, se tiene seguridad en los resultados de los análisis microbiológicos emitidos a los clientes son confiables. Los datos están archivados en el computador con foto del equipo y en físico.
En la identificación de los equipos se lleva un código interno asignado a cada uno con las iniciales de Bialab (BL), iniciales del nombre del equipo, el número consecutivo colocándolo en el equipo, lugar visible y de color llamativo, también se registra el área donde se encuentra ubicado y la referencia.
- Con el inventario del material de vidrio se lleva control de la existencia, sus pérdidas o salidas y los ingresos, registrando fechas, proveedor, costos, se lleva archivo en el computador para cada uno.
- En la preparación de los medios de cultivo se lleva control de: fecha de elaboración, gasto de medios utilizados, cantidad de agua destilada y la persona que elaboro, teniendo en cuenta los requisitos para su elaboración y protección.
- En el inventario de los diferentes reactivos se registra: nombre, lote, referencia, fecha de vencimiento; para conocer los reactivos que tiene el laboratorio. Recomendación mirar fechas de vencimiento próximas a vencerse.

- Se organizó el área de almacenamiento de muestras cerca al área de recepción, un lugar aislado y cubierto, buena distribución interna e independiente, control y registro de temperatura y humedad relativa. Es importante tener control en el almacenamiento de muestras y contra muestras para evitar contaminaciones posteriores en el laboratorio.

AMBIENTES.

Para tener mayor seguridad de que los resultados de los análisis microbiológicos sean confiables, se requiere realizar control de análisis microbiológicos a equipos cómo: Cabina de bioseguridad, incubadoras, nevera, ambientes y superficies; cada quince días dependiendo del flujo de las muestras a analizar.

BIOSEGURIDAD DE DESECHOS ORGÁNICOS.

Se debe enfatizar en el modo de sacar el material de desecho del laboratorio, se tiene una sola puerta de acceso; los desechos son acumulados en la parte de atrás del laboratorio y al momento de sacar las bolsas cruza todo el laboratorio para evitar la contaminación cruzada se sugiere crear un punto de salida a un costado del laboratorio que comunique la parte de atrás a un pasillo fuera del mismo.

BIOSEGURIDAD CON EL PERSONAL.

Adecuar en el laboratorio una sección de lava ojos para evitar riesgos profesionales en la manipulación de reactivos. Las medidas de higiene, seguridad y bioseguridad en el laboratorio son un conjunto de disposiciones preventivas destinadas a proteger la salud del personal frente a los riesgos propios derivados de la actividad. Evitar accidentes, contaminaciones y enfermedades.

11. CONCLUSIONES

- Se realizó un estudio de Buenas prácticas de laboratorio para asegurar que los ensayos se realicen de manera detallada y ordenada con mayor control, eficiencia, validez y confiabilidad en los resultados de los análisis realizados a productos de diferentes empresas; con esto el laboratorio Bialab se da a conocer asegurando su calidad y buen desempeño.
- Se diseñó el protocolo para mantener y conservar el cepario en el laboratorio, el aislamiento de las cepas de trabajo importante para la realización de las diferentes pruebas realizadas, validación de métodos, garantizando confiabilidad en los resultados emitidos.
- EL diseñar la trazabilidad del cepario se obtiene un control del manejo de las cepas para mayor seguridad en los análisis microbiológicos.
- Tener un diseño de limpieza y desinfección riguroso en áreas, equipos ambientes antes y después de ser utilizados se asegura control de la presencia de microorganismos evitando contaminación cruzadas, garantizando inocuidad en todos los elementos que puedan influir en los resultados.
- Tener un diseño en las actividades planificadas se tiene control, orden, calidad, responsabilidad en cada una de las tareas asignadas, con esto se logra que el estudio realizado de Buenas Prácticas de Laboratorio fue eficaz para la organización, distribución y aseguramiento de calidad en el Laboratorio Bialab.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-Aquihualt, M &Perez. (2004) Manual de Practicas de Practicas de Laboratorio de Microbiología GENERAL. México.

-ATCC, (2017). *Aspergillus brasiliensis*. American Type Culture Collection. Manassas, VA 20108 USA. Disponible en: www.atcc.org (10/12/17).

-Bayona M. Alonso. Conservación y Mantenimiento de cepas Microbianas con fines docentes e investigativos. abj.org.co/mages/revistas/.

-Bush y Schmidt, (2017). *Infecciones por Pseudomonas*. Manual MSD. Version para público general. Disponible en: <http://www.msmanuals.com/es-co/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-pseudomonas> (10/12/17).

-CCM, (2017). *Qué es Candida albicans*. Fichas de Salud CCM.[Publicado Noviembre 2017]. Disponible en: <http://salud.ccm.net/faq/7819-que-es-candida-albicans>. (10/12/17).

-CifurtesLeidy; Quispe, Ingrid,Manual de prácticas de Microbiología del cerapio del laboratorio de la Universidad Pedagógica Nacional.

-Congreso de Colombia (1994). Convenio sobre diversidad biológica (Ley 165). p. 30.

<https://es.slideshare.net/camiloSh/microorganismmaintenance-spanish> (25/10/17).

- Crioteca, (2010). *Viales para mantenimiento de cepas*. Madrid, España. [Revisado en Julio de 2010]. Disponible en: <http://www.laboratoriosmicrokit.blogspot.com> (18/11/2017).
- Cuervo, R. (2010). Manual de protocolos de Microbiología general. Universidad de Buenaventura. Edt. Bonaventuriana. Cali-Colombia.
- Floccari, M.E. (2005). Federación Latinoamericana de Colecciones de cultivos microbianos. *Agrociencia*, vol. 9, No. 1-2, p. 417-20.
- Garay et al, (2013). *Riesgos Biológicos Salud Seguridad Trabajo*. Disponible en: https://saludseguridadtrabajo.files.wordpress.com/2013/05/riesgos-biologicos_mgc_2013-2.pdf (10/12/17).
- ICONTEC, (2005). *Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración*. NORMA TÉCNICA NTC COLOMBIANA 17025. [Publicado el 2005-10-26]. Apartado 14237 Bogotá, D.C. Disponible en: https://www.invima.gov.co/images/pdf/red-nallaboratorios/resoluciones /NTC-ISO-IEC_17025-2005.pdf (10/20/17).
- ICONTEC, (2008). *Antisépticos y desinfectantes químicos. Conservación de las cepas microbianas utilizadas para la determinación de la actividad bactericida y fungicida*. NORMA TÉCNICA NTC COLOMBIANA 5593 [Publicado el 2008-02-27]. Apartado 14237 Bogotá, D.C.
- Kirsop, D. (1991). Maintenance of microorganism and cultured cells: A manual of laboratory methods. London: Academic Press, p. 308.
- Ledermann, D.W. (2009). El hombre y sus epidemias a través de la historia. En: *Rev. Chilena de Infectología*, No. 20, p. 13-17.

-Madigan, T., Martinko, J Parkr, gJ(2004) Brock Biología de los Microorganismos Diversidad Procariota: bacteriana, Décima edición: España: Pearson.

-Martin, A. (2016). *Biología ciencia: El microbio de la semana: Bacillus subtilis*. [Publicado el 25/01/2016 a las 11:22] El Español. UTC. Disponible en:<http://omicron.elespanol.com/2016/01/el-microbio-de-la-semana-bacillus-subtilis/> (10/12/17).

-Matthew, R. (2012). Implementing best practices and validation of cryopreservation techniques for microorganisms.SciWorld.

-Medina, G. (2011). Pertinencia de elaborar colecciones biológicas: Una estrategia que fortalece una actitud investigativa hacia la conservación biológica. En: Rev. Bio-graf, vol. 4, No. 6, p. 110.

-Microbiologics. Mantenimiento de Cepas y Control de Calidad.

https://www.nodointeractivo.com/index.php?option=com_content&view=article&id=21&Itemid=36 (10/10/17),

-Ministerio de Salud y Protección Social, (2013). Resolución Número 00001229 de 23 de Abril de 2013. Por la cual se establece el modelo de inspección, vigilancia y control sanitario para los productos de uso y consumo humano.

-Ministerio de Salud y Protección Social, (2015). Resolución Número 00001619 de 15 de Mayo de 2015. Por la cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de Vigilancia en Salud Pública y de Gestión de Calidad.

-OMS, (2017). *E. coli*. Colprensa. Organización Mundial de la Salud. [Publicado en: Septiembre de 2017].

- Disponible en:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
OMS, (2017). *Salmonella (no tifoidea)*. Organización Mundial de la Salud.
[Publicado en: septiembre de 2017].
Disponible en:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/> (10/12/17).
- Santambrosio, E. (2009). Trabajo Practico No 3 Siembra y Recuento de Microorganismos. Universidad Tecnológica Argentina.
- SEM, (2006). *Informe técnico sobre cepas de trabajo en el laboratorio de análisis microbiológico*. Sociedad Española de Microbiología. San Pedro. Planta 2 despacho 210. 28015, Madrid.
- Techne, (s.f). *Clostridium sporogenes*. 16S ribosomal RNA gene. 150 tests. Disponible en: http://www.techne.com/docs/c_sporogenes.pdf
Weng, Z. y otros (2003). Colección de cultivos microbianos: Apuntes sobre su desarrollo. En: Rev. Cuba Hig. Epidemiol., vol. 41, No. 1. (10/12/17).