

**INFORME DE PASANTÍA**

**Implementación de la Normativa Internacional UNE-EN ISO 11133 de  
2014/A1:2018 para el Aseguramiento en la Calidad durante la Preparación  
de los Medios de Cultivos en Bialab SAS.**

**ANA YULITZA HERRERA QUINTERO**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito parcial para optar al título de**

**MICROBIOLOGA**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**PAMPLONA – COLOMBIA**

**2020**

**INFORME DE PASANTÍA:**

**Implementación de la Normativa Internacional UNE-EN ISO 11133 de  
2014/A1:2018 para el Aseguramiento en la Calidad durante la Preparación  
de los Medios de Cultivos en Bialab SAS.**

**ANA YULITZA HERRERA QUINTERO**

**TRABAJO DE GRADO**  
**Presentado como requisito parcial para optar al título de**  
**MICROBIOLOGA**

**Tutor Empresarial**

**Comité técnico de microbiología Bialab SAS**

**Tutor Académico.**

**PhD. CLAUDIA CLAVIJO OLMOS**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**  
**PAMPLONA – COLOMBIA**

**2020**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

APROBADO POR:

Dr. Deyanira Méndez.  
Directora Área Técnica de Microbiología.

---

**Firma Director Empresarial.**

APROBADO POR:

Dr. Claudia Clavijo.  
Docente - Investigador Tiempo Completo.  
Universidad de Pamplona.

---

**Firma Director Académico.**

APROBADO POR:

William Hernando Suárez Quintana  
Docente Catedrático Programa De Microbiología

---

**Firma Jurado 1.**

APROBADO POR:

YANETH RAMÓN GAUTA  
Docente Catedrático Programa De Microbiología

---

**Firma Jurado 2.**

## DEDICATORIA

***Al todopoderoso mi Dios, guía y salvador.***

*A mi padre, **Luis Herrera**; mi madre, **Ana Quintero**, que en paz descansen; Por su amor y apoyo infinito e incondicional, que no conoce de barreras terrenales o espirituales; ya que a pesar del tiempo siguen presentes en mi mente y corazón.*

*Mis hermanos, Tania Herrera y Yeferson Herrera. Por su apoyo, amor y confianza, son el pilar de mi vida y mi motivo para continuar.*

*A todos mis familiares y amigos.*

*A mis docentes del programa de Microbiología - Universidad de Pamplona, por ser implantadores de conocimiento, en especial a mí tutora académica Claudia Clavijo por su apoyo, paciencia y calidez.*

*A todo el equipo de trabajo de Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios S.A.S por abrir sus puertas y recibirme como una integrante más de su maravillosa familia ya que como pasante, logre fortalecer mis conocimientos para el crecimiento profesional, gracias por su ejemplo de trabajo en equipo.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INFORME DE PASANTÍA.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>DESARROLLO DE LA PASANTIA.....</b>	<b>13</b>
1. Identificación de la empresa.....	13
1.2 Contexto de la organización.....	13
1.3 Servicios que ofrece BIALAB S.A.S.....	14
1.4 Estructura organizacional.....	15
1.5 Misión.....	16
1.6 Visión.....	16
1.7 Política De Calidad.....	16
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
Objetivo General.....	18
Objetivos Específicos.....	18
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>MARCO REFERENCIAL.....</b>	<b>21</b>
1. Marco Legal.....	21
2. Antecedentes.....	24
2.1 INTERNACIONAL.....	24
2.2 NACIONAL.....	25
3. Marco Conceptual.....	26

3.1 Gestión de la Calidad. ....	26
3.1.1 Organización Internacional de Normalización.....	26
3.1.2 Términos y definiciones. ....	26
3.2 Calidad de los Medios de Cultivo.....	27
3.3 Medios de Cultivo .....	28
3.3.1 Composición.....	28
3.3.2 Consistencia Física.....	29
3.3.3 Por su uso.....	29
3.4 Ensayo de rendimiento microbiológico.....	30
3.4.1 <i>Definiciones de microorganismos para el ensayo.</i> .....	31
3.4.2 <i>Microorganismos para el ensayo de rendimiento.</i> .....	31
3.4.3 Método de ensayo cuantitativo:.....	32
3.4.4 Método de ensayo para medios de cultivo utilizados en filtración por membrana.....	33
3.4.5 Método de ensayo cualitativo. ....	34
<b>MARCO METODOLÓGICO. ....</b>	<b>35</b>
METODOLOGÍA.....	35
Enfoque metodológico.....	35
Área analizada. ....	35
Estrategia de análisis.....	35
Cronograma de actividades. ....	35
<b>MARCO ANALITICO. ....</b>	<b>37</b>

Resultados y Análisis de Resultados .....	37
Desarrollo de las actividades planteadas en la pasantía. ....	37
Inspección de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.....	39
Capítulo 4. Gestión de la Calidad.....	40
Capítulo 5. Organismos de prueba para pruebas de rendimiento.....	42
Capítulo 6. Control de calidad y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo. .....	43
Capítulo 7. Métodos de ensayo del rendimiento de los medios de cultivo sólidos.	44
Capítulo 8. Métodos para el ensayo del rendimiento de medios de cultivo líquidos. .....	45
Capítulo 9. Métodos para el ensayo del rendimiento de diluyentes y medios de transporte.....	46
Capítulo 10. Documentación de los resultados de las pruebas.....	47
Implementación de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.....	49
Actualización del POES de preparación de medios.....	56
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS. ....</b>	<b>61</b>

## LISTA DE IMÁGENES.

Imagen 1. Forma de transporte y almacenamiento del agua tipo II.....	49
Imagen 2. Montaje de análisis microbiológico de agua desionizada tipo II.....	49
Imagen 3. Conteo microbiológico de UFC/mL de agua desionizada tipo II. ....	49
Imagen 4. Establecimiento de cultivos de reserva (frascos shott) y cultivos de trabajo (caja de Petri).....	51
Imagen 5. Diluciones de microorganismos "cepa de referencia" para pruebas de promoción y crecimiento. ....	52
Imagen 6. Agar MYP; 1. Bacillus cereus, 2. Bacillus subtilis y 3. Escherichia coli. ....	53
Imagen 7. Agar cromocult; 1. Escherichia coli, 2. Pseudomonas aeruginosa y 3. Staphylococcus aureus.....	53
Imagen 8. Agar SPS (Sulfito Polimixina Sulfadiazina). 1. Clostridium sporogenes; 2. Staphylococcus aureus y 3. Escherichia coli. ....	53
Imagen 9. Agar Baird parker. 1. Sthapylococcus aureus, 2. Bacillus cereus y 3. Escherichia coli. ....	53
Imagen 10. Control de calidad a filtros de nitrocelulosa por metodo de filtracion por membrana. ....	54
Imagen 11. Metodo cualitativo para medio solido; 1. Agar rambach: A. S. tiphymurium, B. E. coli y C. S. aureus; 2. Agar XLD, A. S. tiphymurium, B. E. coli y C. S. aureus; 3. Agar cetricimide; A. E. coli, B. P. aeruginosa y C. S. aureus. ....	54
Imagen 12. Crecimiento de Salmonella tiphymurium; 1. Rappaport y 2. Tetrionato; A. Rambach y B. XLD.....	55

### LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Actividades realizadas durante la práctica de pasantía en el laboratorio Bialab S.A.S.....	36
Tabla 2. Clasificación de los medios de cultivo de acuerdo a su uso. ....	37
Tabla 3. Porcentaje de los requerimientos evaluados en cada capítulo de la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 .....	48
Tabla 4. Porcentaje de incumplimiento de la normativa UNE EN ISO 11133 de 2014/A1:2018. ....	55

### LISTA DE ILUSTRACIONES.

<b>Ilustración 1</b> Estructura organizacional de BIALAB S.A.S Tomado de Bialab SAS .....	15
Ilustración 2. Agrupación grafica de medios de cultivo utilizados por Bialab S.A.S en el periodo Julio-Agosto.....	38

### LISTA DE GRAFICAS.

Grafico 1. Valoración del cumplimiento del capítulo 4; gestión de calidad.....	40
Grafico 2. Valoración del cumplimiento del capítulo 5; organismos de prueba para pruebas de rendimiento.....	42
Grafico 3. Valoración de cumplimiento del capítulo 5, control de calidad y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo.....	43
Grafico 4. Valoración de cumplimiento del capítulo 7, métodos de ensayo del rendimiento de los medios de cultivo sólidos.....	44
Grafico 5. Valoración de cumplimiento del capítulo 8, métodos para el ensayo del rendimiento de medios de cultivo líquidos.....	45

Grafico 6. Valoración de cumplimiento del capítulo 9, métodos para el ensayo del rendimiento de diluyentes y medios de transporte. ....	46
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

#### **LISTA DE ANEXOS.**

Anexo 1. Evidencia fotográfica de las actividades realizadas en Bialab S.A.S .....	61
Anexo 2. Estructuración en la nevera de almacenamiento de medios en Bialab S.A.S....	62
<i>Anexo 3. Formato de seguimiento y trazabilidad al medio de cultivo.....</i>	<i>62</i>
Anexo 4. Evidencia de asistencia. ....	63
<i>Anexo 4 1. Socialización de la normativa internacional ISO 11133 /A1: 2008.....</i>	<i>.....</i>
<i>Anexo 4 2. Capacitación a personal técnico del laboratorio bialab.....</i>	<i>.....</i>
Anexo 5. Formato de inspección de acuerdo a la norma ISO 11133 de 2014.....	65

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de diferentes técnicas o ensayos realizados en un laboratorio de microbiología, dependen en gran medida de los medios de cultivo ya que estos se utilizan en todas las técnicas de cultivo tradicionales y otros alternos para mantener, activar, crecer, detectar una amplia variedad de microorganismos (ISO, 2014); actualmente existen múltiples presentaciones de estos medios de cultivos cumpliendo con las necesidades específicas para el crecimiento.

Durante el análisis microbiológico es importante que se aíslen y enumeren aquellos microorganismo que estén presentes únicamente en la muestra analizada, siendo los medios de cultivo la base para la realización de estos análisis, por ello es importante garantizar la calidad en la preparación, esterilización y almacenamiento de medios de cultivo; para asegurar la calidad es importante tomar acciones planificadas y sistemáticas para proporcionar confianza en los resultados de los ensayos microbiológicos realizados; para ello la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 guía para la preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo donde se establece que los medios de cultivo deben cumplir con 3 criterios: i) La aceptabilidad de cada lote de medio, ii) Medio adecuado para su uso, iii) El medio sea capaz de proporcionar resultados consistentes. Estos criterios pertenecen a procedimientos de control interno de la calidad, junto con una documentación adecuada del procedimiento (ISO, 2018).

Para Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio (BIALAB S.A.S); es importante garantizar datos de precisión y confianza, en los resultados emitidos por el laboratorio hacia sus clientes, por lo tanto en pro de la acreditación del laboratorio ante los institutos correspondientes que aprueben el funcionamiento del laboratorio se hace necesario realizar una implementación para el aseguramiento de la calidad durante la preparación de los medios de cultivo utilizados para los análisis microbiológicos de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua, para dar cumplimiento al requisito al ítem 7.7. *Aseguramiento de la validez de los resultados* en la ISO /IEC 17025:2017; de esta forma la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 siendo la versión actualizada de esta normativa.

## **DESARROLLO DE LA PASANTIA.**

La pasantía se desarrolla en Laboratorios Bolívar Industrial Ambiental (BIALAB S.A.S) ubicada a las afueras del municipio de Piedecuesta, Santander; dentro la unidad interna de preparación de medios de cultivo (*Información detallada a continuación se encuentra en la página web de BIALAB S.A.S*) (Bialab S.A.S).

### **1. Identificación de la empresa.**

NOMBRE: Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio- BIALAB S.A.S

UBICACIÓN: Km 3, Vía Guatiguará, Lote 4, frente a Gaseosas Postobón.

### **1.2 Contexto de la organización.**

Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios BIALAB S.A.S es un laboratorio fundado en el año 2017 en Santander, creado por las necesidades técnicas y analíticas de los empresarios, con el objetivo de generar confiabilidad, trazabilidad y garantía técnica de calidad en los resultados emitidos, por medio de procesos detalladamente diseñados por personal de alta competencia técnica y experiencia en las diferentes áreas de análisis.

Cuenta con:

- Procesos diseñados por personal de alta competencia técnica y experiencia ajustados a la normatividad.
- Equipos de alta tecnología en constante innovación.
- Programas de aseguramiento metrológico.
- Métodos de análisis validados y trazables internacionalmente

Nuestro factor diferenciador: la formación, capacitación y acompañamiento a nuestros clientes en el cumplimiento de sus estándares de calidad.

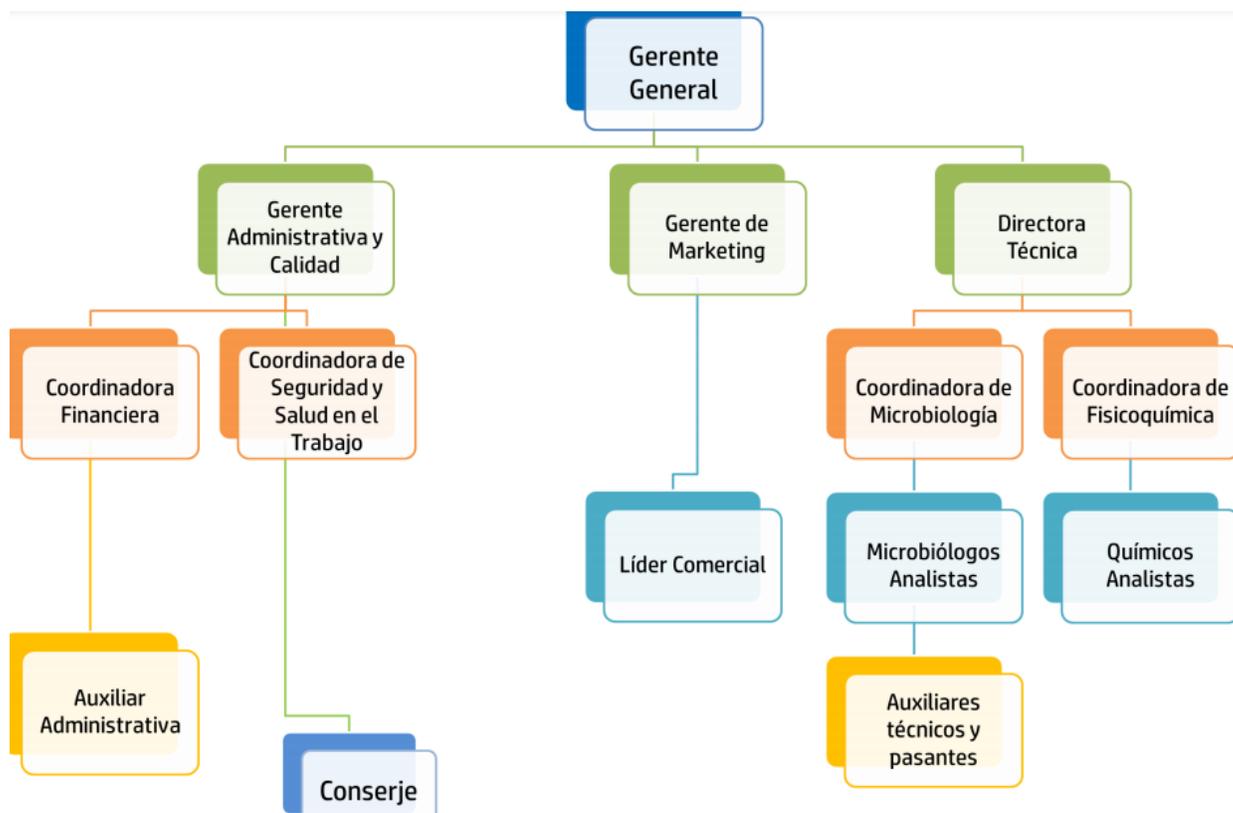
Es un laboratorio que cuenta con certificación en ISO 9001: 2015 Sistemas de gestión de calidad. Así mismo, próximamente certificado en la resolución 3619 del 2013 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIOS. Bialab S.A.S una empresa pionera en Santander creada para cumplir los requerimientos de análisis que garantice resultados altamente confiables (Bialab S.A.S).

### ***1.3 Servicios que ofrece BIALAB S.A.S.***

- Control microbiológico industria farmacéutica
- Control ambiental en la industria de alimentos
- Análisis microbiológicos de alimentos
- Análisis de aguas
- Programa de formación en BPM.

- Asesoría en programas pre-requisitos y elaboración de análisis de peligros y puntos críticos de control.
- Procedimientos complementarios que garanticen la seguridad alimentaria.
- Asesoría en planes de saneamiento.
- Auditorias en BPM, APPCC y sistemas de seguridad alimentaria.
- Alianzas estratégicas con grupos de investigación que requieran acompañamiento en análisis microbiológico (Bialab S.A.S).

#### 1.4 Estructura organizacional



**Ilustración 1** Estructura organizacional de BIALAB S.A.S Tomado de Bialab SAS

### **1.5 Misión.**

Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios realiza ensayos microbiológicos de áreas, productos terminados, insumos, materia prima, operarios y procesos especializados, para la industria farmacéutica, alimentos, cosmética, agroindustria y similares, por medio de métodos normalizados, infraestructura adecuada, equipos de alta tecnología, recurso humano de alta competencia técnica y humana, aportando a la industria resultados de alta confiabilidad, por medio de acompañamiento personalizado a las necesidades de cada cliente, asegurando el cumplimiento de los requisitos legales pertinentes, para lograr la satisfacción y fidelidad de nuestros clientes

### **1.6 Visión.**

Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios, en el año 2021 será reconocido como el primer laboratorio microbiológico acreditado internacionalmente bajo la Norma ISO 17025:2017 de la región, prestando servicios de alta calidad y confiabilidad, en una infraestructura de novedosa, moderna y de construcción con excelentes estándares. En constante mejora del SGC según la NTC ISO 9001:2015, asegurando el control de riesgos y aprovechamiento de las oportunidades, gracias al personal capacitado y comprometido con la cultura de calidad.

### **1.7 Política De Calidad.**

Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios ofrece servicios de análisis para el control microbiológico de áreas, productos terminados, insumos, materia prima, operarios y procesos especializados, para la industria farmacéutica, alimentos, cosmética, agroindustria y similares. Contamos con métodos normalizados, infraestructura adecuada, equipos de alta tecnología, recurso humano de alta competencia técnica y humana, comprometido con la cultura de la

calidad en la implementación del Sistema de Gestión de Calidad y las buenas prácticas profesionales, permitiéndonos asegurar la confiabilidad y oportunidad de los resultados emitidos.

La Alta dirección está comprometida con el aporte de los recursos requeridos, con el logro de los objetivos estratégicos, la cultura de la identificación de riesgos y oportunidades, la revisión de estrategias comerciales que permitan el crecimiento del Laboratorio, la mejora continua y el cumplimiento de los requisitos normativos de la NTC ISO 9001:2015 y NTC – ISO 17025:2017, los legales, reglamentarios, del cliente y demás partes interesadas pertinentes, que aporten al mejoramiento de la calidad de vida de la comunidad.

La pasantía se realiza con el fin de fortalecer conocimientos teóricos en la formación académica y profesional del área de microbiología, por medio de la adquisición de destrezas y habilidades para el análisis microbiológico ya que este es necesario durante la cadena productiva en el aseguramiento de la calidad e inocuidad de productos alimenticios, garantizar que los ensayos realizados otorguen resultados confiables partiendo desde la utilización de medios de cultivo de calidad.

## **OBJETIVOS.**

### **Objetivo General**

Implementar la Normativa Internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 para el Aseguramiento en la Calidad durante la Preparación de los Medios de Cultivos en Bialab SAS.

### **Objetivos Específicos**

- Inspeccionar el cumplimiento de la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 en Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio S.A.S en el proceso de preparación de medios de cultivos.
- Implementar las acciones correctivas en los puntos de incumplimiento según la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 en Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio S.A.S.
- Actualizar el manual de procedimientos operativos estandarizados en el área de preparación para el aseguramiento de calidad de medios de cultivos en Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio S.A.S.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.**

¿De qué manera BIALAB S.A.S asegura la calidad de los medios de cultivos usados para análisis microbiológicos?

En un ambiente que cada vez está más globalizado y competitivo, un laboratorio de medios de cultivo, tiene la capacidad para competir y ofrecer un servicio de calidad, es decir, posee las condiciones necesarias para obtener un proceso exitoso de acreditación. Actualmente Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios se encuentra en proceso de acreditación en la ISO /IEC 17025:2017; para garantizar la realización de ensayos microbiológicos en el laboratorio por lo tanto esta en desarrollo de realizar validación secundaria de cada una de las técnicas para análisis microbiológico que se realizan, para asegurar que se emiten resultados confiables, seguros y veraces para el cliente; así mismo antes de realizar un análisis microbiológico se debe contar con los implementos necesarios para el montaje entre ellos el más importante y que enmarca la efectividad del ensayo es el medio de cultivo, ya que este brinda un conjunto de componentes, sustancias sintéticas o naturales empleados para permitir la multiplicación, mantenimiento, recuperación, crecimiento, detección, transporte y enumerar diferentes microorganismos como bacterias y hongos. (INS, 2018)

El aseguramiento y control de calidad durante la preparación de los medios de cultivo que se utilizan en Bialab S.A.S para las labores de microbiología, deben ser eje central para establecer la calidad de todos los análisis que se realicen a partir de estos por lo tanto se hace necesario asegurar no sólo la esterilidad de los mismos, sino también un funcionamiento adecuado a su concepción, esto se logra realizando de modo reproducible, trazable y

estandarizado pruebas de promoción y crecimiento, así mismo verificar la selectividad del medio de cultivo. En la actualidad existe la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 guía para la preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo donde se establece los criterios que deben cumplir los medios de cultivo para la realización de ensayos microbiológicos, con el fin de garantizar resultados confiables para el cliente ya que al presentarse error estas consecuencias incrementan los gastos, tanto en términos económicos como en tiempo y esfuerzos del personal por realizar nuevamente las actividades de preparación de medios de cultivo.

## **MARCO REFERENCIAL.**

### **1. Marco Legal**

#### **ISO 9001:2015** *Sistemas de gestión de la calidad – Requisitos.*

Esta Norma Internacional especifica los requisitos para un sistema de gestión de la calidad cuando una organización:

a) necesita demostrar su capacidad para proporcionar regularmente productos y servicios que satisfagan los requisitos del cliente y los legales y reglamentarios aplicables, y

b) aspira a aumentar la satisfacción del cliente a través de la aplicación eficaz del sistema, incluidos los procesos para la mejora del sistema y el aseguramiento de la conformidad con los requisitos del cliente y los legales y reglamentarios aplicables.

Todos los requisitos de esta Norma Internacional son genéricos y se pretende que sean aplicables a todas las organizaciones, sin importar su tipo o tamaño, o los productos y servicios suministrados (ISO, 2015).

#### **ISO/IEC 17025:2017(es)**

*Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.*

Este documento especifica los requisitos generales para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios; es aplicable a todas las organizaciones que desarrollan actividades de laboratorio, independientemente de la cantidad de personal.

Los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias, las organizaciones y los esquemas utilizados en evaluación de pares, los organismos de acreditación y otros utilizan este documento para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios (ISO, 2017).

### **NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 4092 (Primera actualización)**

Esta norma se aplica a microbiología de alimentos, a productos para alimentación animal, al ambiente de la producción de alimentos y al ambiente de producción primaria; la normativa proporciona los requisitos generales y las directrices/opciones destinadas a tres usos principales;

- Implementación de la norma para la detección o enumeración de microorganismos.
- Buenas prácticas de laboratorio para laboratorios microbiológicos de alimentos.
- Esta norma describe los requisitos técnicos de acuerdo con el Anexo B de NTC/ISO 17025:2005 para la acreditación de laboratorios microbiológicos por parte de organizaciones nacionales.

El propósito de esta norma es ayudar a garantizar la confirmación de los análisis microbiológicos para alimentos, ayudar a garantizar que las técnicas generales utilizadas para realizar estos análisis sean las mismas en todos los laboratorios, facilitar el logro de resultados homogéneos en diferentes laboratorios y contribuir a la seguridad del personal del laboratorio al evitar los riesgos de infección.

**ISO UNE-CEN ISO/TS 11133:2014/A1:2018**

*Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Guía para la preparación y producción de medios de cultivo.*

La normativa internacional define una serie de términos relacionados con la garantía de la calidad de los medios de cultivo y especifica los requisitos para la preparación de medios de cultivo destinados al análisis microbiológico de los productos alimentos para consumo humano de muestras procedentes entorno a los productos alimenticios.

Estos requisitos son aplicables a todas las categorías de medios de cultivo preparados para su uso en laboratorios que realizan análisis microbiológicos.

La normativa establece los criterios y describe métodos para ensayar el rendimiento de los medios de cultivo (ISO, 2018).

## 2. Antecedentes

### 2.1 INTERNACIONAL

Revisando antecedentes se encontró que:

- Marisol Achá en su tesis titulada implementación de la NB-ISO/TR 11133-1 en el laboratorio de medios de cultivo del INLASA, donde indica que el objetivo de este trabajo es la implementación de la NB-ISO/TR-11133-1 para el Laboratorio de Medios de Cultivo del INLASA, realizando una investigación de campo para la recolección de la información emitida por el personal que trabaja en el laboratorio, así como un estudio de la situación actual del laboratorio, de la relación existente entre las actividades que desarrollan y la calidad del servicio que prestan, lo que permitió evaluar los requisitos establecidos por la norma NB-ISO/TR-11133-1, adquiriendo una aproximación del cumplimiento de los mismos que determinaron un porcentaje de cumplimiento del 53.3 %. Este trabajo se inicia con la verificación de conformidades y no conformidades de la norma, la revisión de los documentos existentes, seguido por la actualización de los mismos, la creación de procedimientos y eliminación de POES que estaban en desuso, se modifican formatos, y se agregan diferentes procedimientos. (Achá Marisol; 2017)

- Marina. Marroquín realizó en Nestlé la estandarización del flujo en proceso de preparación de medios para análisis microbiológicos en el centro de aseguramiento de la calidad, dentro del área de microbiología del *Centro de Aseguramiento de la Calidad de Nestlé* en la cual se encuentra el área de preparación de medios la cual está destinada exclusivamente para preparar los medios de cultivo, esta área está bajo el cargo directo de un operario quien debe garantizar que los medios elaborados cumplan con las características preestablecidas y

aceptadas. Como resultado obtuvo un incremento en los índices de productividad (P) de un rango de 70 % - 95 % a un rango de 95 % - 100 %, lo cual se ve reflejado en la optimización de los recursos totales de operación y con la estandarización de los procesos se redujo el desperdicio de tiempo en un 15% general para los cuatro procesos (TSC 24,50 %, LST 21,75 %, Agua Peptonada 12,75 % y Tiosulfato 14,75 % Horas/Hombre), incrementando así la productividad, lo cual se ve reflejado en la reducción del presupuesto destinado a la preparación de los principales medios de cultivo. (Marroquin, 2017)

## **2.2 NACIONAL**

El adelanto de estudios en el área de aseguramiento de calidad de medios de cultivos, no está totalmente divulgado en Colombia, ya que la implementación de la normativa está contemplado por los laboratorios al momentos de querer acreditarse por la ISO 17025: 2017; por ello Corredor Caro Lina y Katerine diseñaron un plan de aseguramiento logístico aplicado a la empresa Didacta Internacional S.A.S. para la venta de medios con el fin de garantizar la ejecución adecuada de los procesos y satisfacer las expectativas de los clientes son tema de gran importancia para la organización. Por eso, se ha desarrollado el presente manual de aseguramiento basado en la metodología para la administración de riesgos del Departamento Nacional de Planeación de la República de Colombia, en el cual se hace un reconocimiento de riesgos, se identifica la efectividad de las medidas de control actuales y se propone un plan de acción para administrar los riesgos logísticos derivados del proceso de compraventa de la compañía Didacta Internacional S.A.S; obteniendo en la matriz de identificación de los riesgos a los que está expuesta la empresa fue posible identificar que el 59% de los riesgos tienen una valoración Importante. Al continuar con el análisis de las medidas de mitigación y evaluación de controles, se notó una reducción importante al 41%. Lo que quiere decir que la mayoría de los riesgos asociados al proceso de compraventa de medios de cultivo requieren una pronta atención que permita reducir y evitar la materialización de estos (Corredor, 2017).

### 3. Marco Conceptual

#### **3.1 Gestión de la Calidad.**

##### **3.1.1 Organización Internacional de Normalización.**

La ISO; es una federación mundial de organismo nacionales de normalización; que trabajan en la preparación de normas internacionales a través de comités técnicos, cada organismo miembro se encuentra establecido en un comité técnico, existen también múltiples organizaciones internacionales, publicas y privadas que, en coordinación con la ISO, participan en el trabajo (ISO,2015).

##### **3.1.2 Términos y definiciones.**

Normalizar el aseguramiento de la calidad en un proceso se debe abordar de manera integral, por lo cual tener como base conceptos y requerimientos de la ISO 9000/2015; base del aseguramiento de la calidad:

- **Sistema de gestión de la calidad:** La adopción de un sistema de gestión de la calidad es una decisión estratégica para una organización que le puede ayudar a mejorar su desempeño global y proporcionar una base sólida para las iniciativas de desarrollo sostenible.
- **Principios de la gestión de la calidad:**
  - Enfoque al cliente.
  - Liderazgo.
  - Compromiso de las personas.
  - Enfoque a procesos.
  - Mejora.
  - Toma de decisiones basada en la evidencia.
  - Gestión de las relaciones.

- **Calidad:** Grado en el que un conjunto de características inherentes de un objeto cumple con los requisitos.
- **Aseguramiento de la calidad** Parte de la gestión de la calidad orientada a proporcionar confianza en que se cumplirán los requisitos de la calidad.
- **Control de la calidad.** Parte de la gestión de la calidad orientada al cumplimiento de los requisitos de la calidad.
- **Auditoria.** Proceso sistemático, independiente y documentado para obtener evidencias objetivas y evaluarlas de manera objetiva con el fin de determinar el grado en que se cumplen los criterios de auditoria.
- **No conformidad.** Incumplimiento de un requisito.
- **Defecto.** No conformidad relativa a un uso previsto o especificado.
- **Conformidad.** Cumplimiento de un requisito.

### **3.2 Calidad de los Medios de Cultivo.**

La normativa define una serie de términos relacionados con la garantía de la calidad de los medios de cultivo y especifica los requisitos para la preparación de medios de cultivo destinados al análisis microbiológico de los productos alimenticios para consumo humano y animal de las muestras procedentes del entorno de producción.

La UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 es aplicable a todas las categorías de medios de cultivo preparados para su uso en laboratorios que realizan análisis microbiológicos, estableciendo criterios y describiendo métodos para ensayar el rendimiento de los medios de cultivo (ISO, 2014).

La norma UNE-EN ISO 11133 de 2014 fue publicada el 15 de mayo de 2014 y se corrigió el 1 de noviembre de 2014, por la cual se da la fusión de las normas ISO/TS 11133-1:2009 y

ISO/TS 11133-2:2003, (Tiselab, 2020) y realiza una incorporación de la normativa ISO 9998:1991 para la evaluación de los medios de cultivo para ensayo de la calidad del agua (método filtración por membrana). En 2018 se realizó una revisión a la normativa, modificando contextualizaciones en la forma del documento en la redacción de ciertos párrafos; agregando nuevos órdenes en las tablas de medios de cultivo, donde se puede abreviar el nombre de los mismos y modificando concentraciones de los inóculos en ensayos de promoción en medios de cultivo (ISO, 2014).

### ***3.3 Medios de Cultivo***

Se toma la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, “un medio de cultivo se define como la formulación de sustancias en forma líquida, semi-sólida o sólida, que contienen constituyentes naturales y/o sintéticos destinados a promover la multiplicación con o sin inhibición de determinados microorganismos, la identificación o la viabilidad de los microorganismos; cada medio de cultivo”.

De acuerdo con la clasificación dada por la ISO 11133:2014, en la cual se establece la clasificación “de acuerdo a su composición, consistencia, para su uso, por su forma de preparación”.

#### **3.3.1 Composición.**

- Química definida: Estructura molecular y grado de pureza conocidos.
- Química no definida o parcialmente definida: Compuesto por componentes naturales, procesados o de cualquier otra manera, cuya composición química no está completamente definida.
- Cromogénico y fluorogénico: Compuestos por componentes cromógenos o fluorogénos.

### 3.3.2 Consistencia Física.

- Líquido: Medio que consiste en una disolución acuosa de uno o más constituyentes.
- Sólido-Semisólido: Medio líquido que contiene sustancias solidificantes por ejemplo agar-sólido.

### 3.3.3 Por su uso.

- Medio de transporte: Conserva y mantiene la viabilidad de los microorganismos minimizando variaciones según su número desde el momento de la recogida de la muestra hasta el procesamiento.
- Medio de conservación: Conserva y mantiene la viabilidad de los microorganismos a lo largo de un periodo de tiempo prolongado.
- Medio de dilución: Diseñado para reducir la concentración de un microorganismo por dilución sin que se produzca inhibición ni multiplicación.
- Medio de revivificación: Permite que los microorganismos sometidos a estrés se recuperen.
- Medio de pre-enriquecimiento: Generalmente líquido que permite la multiplicación de microorganismos.
- Medio de enriquecimiento selectivo: Permite la multiplicación de microorganismos específicos a la vez que inhibe parcial o totalmente otros.
- Medio de enriquecimiento no selectivo: Permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.
- Medio de aislamiento: Medio sólido, semisólidos que permite el crecimiento de microorganismos.
- Medio de aislamiento selectivo: Permite el crecimiento de los microorganismos diana específicos e inhibe de forma parcial o completa.

- Medio de aislamiento no selectivo: No está destinado a la inhibición selectiva de microorganismos.
- Medio de cultivo selectivo cromogénico: Medio Cromogénico que también contiene compuesto selectivo que inhiben de forma parcial o completa la flota acompañante.
- Medio diferencial: Permite estudiar una o más características, fisiológicas/bioquímicas de los microorganismos para su identificación.
- Medio de identificación: Diseñado para producir una reacción de identificación específica que no suele necesitar ningún ensayo de confirmación.
- Medio de recuento: Medio selectivo o no selectivo que permite la cuantificación de microorganismos.
- Medio de confirmación: Contribuye a la identificación o caracterización de un microorganismo.
- Medio con neutralizante: Medio de transporte o de dilución que contiene ingredientes neutralizantes.
- Medio de usos múltiples: Pertenece a varias categorías.
- Medio de referencia: Medio no selectivo utilizado para la evaluación comparativa del rendimiento.

### ***3.4 Ensayo de rendimiento microbiológico.***

La evaluación de un lote de medio de cultivo completo, debe evaluarse adecuadamente el crecimiento por métodos cuantitativos o cualitativos según se describe en la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; “cuando los medios de cultivo están destinados a la realización de recuentos, debe utilizarse métodos de ensayo cuantitativos y cuando se evalúa un medio

destinado a la realización de ensayos ausencia-presencia por medio de la bioquímica del microorganismo, debe utilizarse métodos de ensayo cualitativos”.

#### *3.4.1 Definiciones de microorganismos para el ensayo.*

De acuerdo a la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018:

- *Microorganismo diana:* Microorganismo utilizado de forma general para el ensayo del rendimiento de los medios de cultivo.
- *Cepa de referencia:* Microorganismo obtenido directamente de una colección de cultivo de referencia, por ejemplo, una colección de cultivos miembros de organizaciones establecidas.
- *Lote de reserva de referencia:* Una serie de cultivos individuales idénticos preparados en el laboratorio o por un proveedor mediante un único subcultivo a partir de una cepa de referencia.
- *Cultivo de reserva:* Cultivo primario procedente de un lote de reserva de referencia.
- *Cultivo de trabajo:* Subcultivo procedente de un cultivo de reserva.

#### *3.4.2 Microorganismos para el ensayo de rendimiento.*

Los microorganismos utilizados para los ensayos de rendimiento deben asociarse a su fin de esta forma la utilización de microorganismos pertenecientes a la industria a utilizar el medio de cultivo (ISO, 2014).

#### **Cantidad de los microorganismos ensayados.**

- Un inóculo  $\leq 100$  UFC para pruebas de productividad en cualquier medio de cultivo.
- Un inóculo entre  $10^4$  y  $10^6$  UFC/ mL para ensayos de selectividad e inhibición.

-Un inóculo  $10^3$  y  $10^4$  UFC/mL para ensayos de inhibición en los medios de cultivo.

### **Características de los microorganismos.**

Se deben incluir características representativas de sus especies, y que hayan mostrado resultar fiables en la demostración de un rendimiento óptimo de un determinado medio preparado; la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, establece en los anexos E y F los microorganismos de ensayo que se deben utilizar.

#### 3.4.3 Método de ensayo cuantitativo:

Se realiza una medición de la suspensión bacteriana cuantificada de una concentración apropiada de la cepa diana; la tasa de recuperación del lote nuevo de medio de cultivo, será comparable con la tasa de recuperación de un medio de cultivo no selectivo o medio de referencia (ISO, 2014); en la realización del ensayo se evalúan variables como:

##### **3.4.3.1 Productividad.**

La productividad debe alcanzar un límite mínimo definido, esta relación se calcula con la siguiente ecuación:

$$P_R = \frac{N_S}{N_O}$$

*Ecuación 1.*

Donde:

$N_S$ = Número total de colonias obtenidas en la superficie del medio ensayado.

$N_O$ = Número total de colonias obtenidas en la superficie del medio de referencia.

Una relación matemática aceptada por Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios; consiste en la relación logarítmica en base 10 del recuento total de colonias obtenidas:

$$P_R = \text{Log} (N_0) - \text{Log}(N_S)$$

*Ecuación 2.*

INTERPRETACION DE RESULTADOS.

Ecuación 1.

≥0,50 En un medio selectivo y ≥0,70 en un medio no selectivo.

Ecuación 2.

≥ 0.15 En los medios de cultivo evaluados.

*3.4.3.2 Selectividad.*

Se inóculan los medios de cultivos selectivos y se calcula el factor de selectividad, con la siguiente formula, todos los datos se expresan en logaritmo a base 10:

$$S_F = \text{Log} (D_0) - \text{Log} (D_S)$$

Ecuación 3.

Donde:

D<sub>0</sub>= Dilución que muestra crecimiento en el medio de referencia no selectivo.

D<sub>S</sub>= Dilución que muestra crecimiento comparable en el medio de ensayo selectivo.

3.4.4 Método de ensayo para medios de cultivo utilizados en filtración por membrana.

Debe evaluarse la calidad de los filtros de membrana, para el análisis del nuevo lote de medio de cultivo; inicialmente se inócula en el medio de suspensión la cantidad del inóculo

establecido por la UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, se filtra y se sitúa la membrana sobre la superficie del agar sometido a ensayo y sobre el medio de referencia, evaluando productividad y selectividad si es necesario.

#### 3.4.5 Método de ensayo cualitativo.

De acuerdo al tipo de medio de cultivo se realiza la evaluación cualitativa.

-Medios sólidos: se inócula por siembra de agotamiento para evaluar productividad y especificidad, use una placa de medio de prueba y trace cada microorganismo de prueba de manera que se obtengan colonias discretas.

#### INTEPRETACION.

La cantidad de crecimiento en las placas después de la incubación se evalúa como sigue:

**0** no corresponde a crecimiento.

**1** corresponde a un crecimiento débil (ya sea reducción de la cantidad de crecimiento o tamaño de la colonia)

**2** corresponde a un buen crecimiento.

-Medios líquidos: Para los ensayos de rendimiento de medios de cultivo líquidos no selectivos y medios selectivos usados para pruebas de confirmación.

Para medios transparentes, se utiliza la siguiente notación:

- 0 no tiene turbidez.
- 1 es igual a turbidez leve.
- 2 equivale a una buena turbidez.

## **MARCO METODOLÓGICO.**

### **METODOLOGÍA**

#### ***Enfoque metodológico***

El presente informe tiene un enfoque cualitativo ya que se pretende describir las actividades realizadas durante el desarrollo de la pasantía en BIALAB S.A.S y también enfatizar en la implementación de la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 para aseguramiento en la calidad de los medios de cultivos.

#### ***Área analizada.***

Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio- BIALAB S.A.S; complejo técnico para la realización de ensayos; área: centro de preparación de medios de cultivo.

#### ***Estrategia de análisis***

Realizar una inspección catalogada como auditoría interna para revisión de la UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; determinando los ítems de cumplimiento y mejora para el aseguramiento en la calidad de los medios de cultivos preparados en BIALAB S.A.S.

#### ***Cronograma de actividades.***

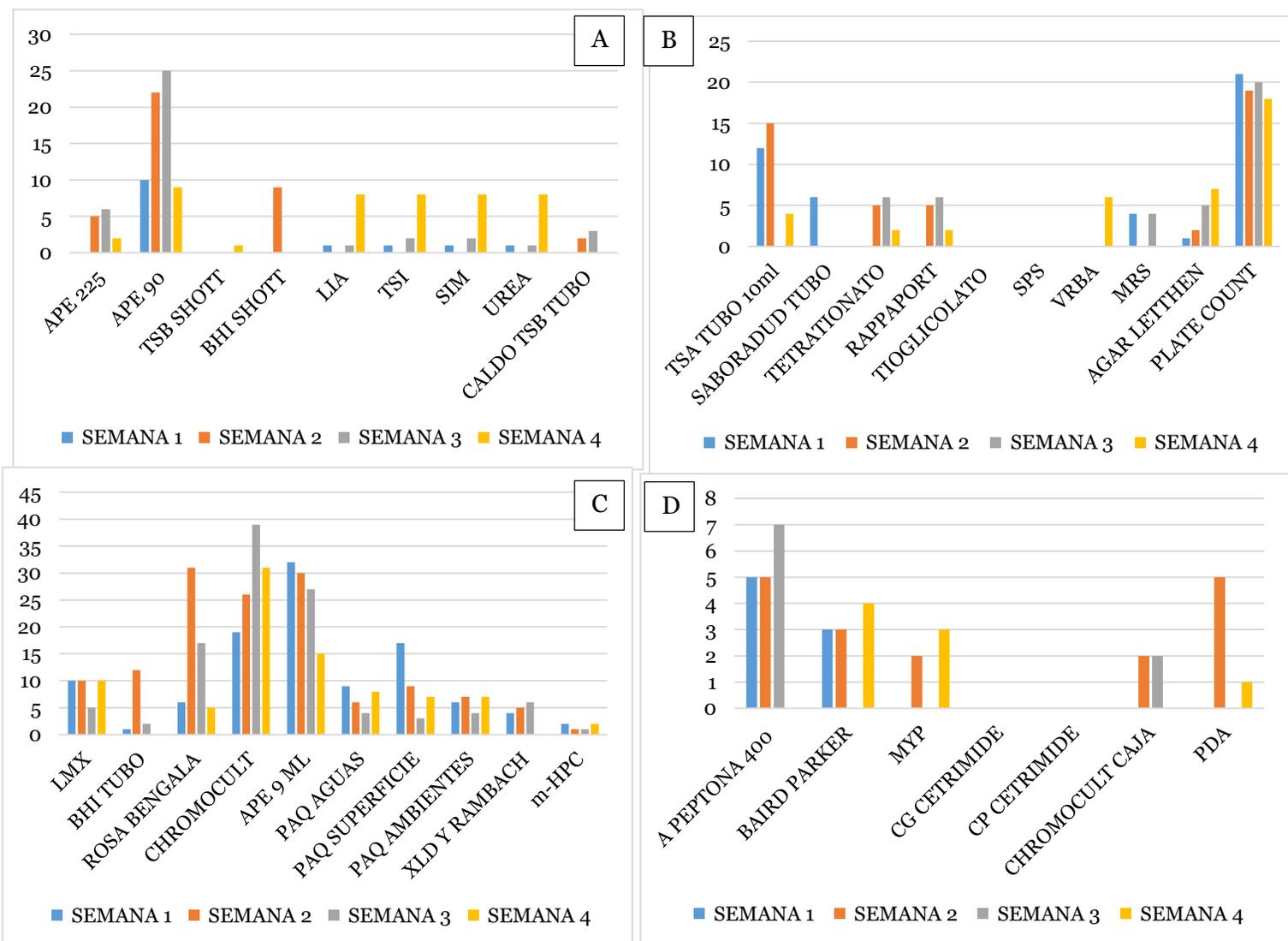
Desarrollar las actividades asignadas por la dirección técnica y el comité de microbiología para el desarrollo de la pasantía, como se describe en la *tabla 2*.

FUNCIONES	MESES	JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE			
	ACTIVIDADES	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Alistar material para toma de muestras.</b>	Nevera portátil con hielos												
	Medios para enjuagues, superficie, ambientes y manipuladores.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>Recibir muestras.</b>	Identificación de la muestra												
	Diligenciamiento a registros.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>Preparar medios de cultivo.</b>	Preparación de medios de cultivo.												
	Promoción y crecimiento de medios de cultivo.	X		X		X		X		X		X	
<b>Lavar de material.</b>	Inactivación y descarte de muestras												
	Lavado y envoltura de material												
	Esterilización y verificación de esterilidad	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<b>Limpiar y desinfectar el laboratorio.</b>	Cabinas												
	Mesones												
	Incubadoras		X		X		X		X		X		X
	Controles ambientales del laboratorio												
<b>Implementar normativa.</b>	Auditoria interna		X	X									
	Coordinación del área preparación de medios.			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Estructuración de capacidad de medios a preparar.	X	X	X	X								
	Implementación de la normativa.							X	X	X	X	X	

Tabla 1. Actividades realizadas durante la práctica de pasantía en el laboratorio Bialab S.A.S.



Así mismo se cuantifico la intensidad de producción de los medios de cultivo de acuerdo a la utilización de los mismos en el periodo Julio-Agosto como se muestra en las siguientes graficas; esto se realiza ya que el laboratorio no tiene un flujo establecido de producción de medios de cultivo, porque el ingreso de muestras a procesar es variable al número de clientes y productos que ingresen, sin embargo el mínimo establecido de producción de medios de cultivo lo otorga la nevera de almacenamiento (ver anexo 2) donde se almacena la producción de medios de cultivos.



*Ilustración 2. Agrupación grafica de medios de cultivo utilizados por Bialab S.A.S en el periodo Julio-Agosto*

Para establecer el grado de producción de los diferentes medios de cultivo se utilizaran los datos brindados por los gráficos de la *ilustración 2*, allí se evidencia que los medios de cultivos más utilizados y por lo tanto a preparar con mayor regularidad son, de acuerdo al gráfico A; es *agua peptona de 90 mL y 225 mL*, en el gráfico B, existe un aumento en el medio *TSA y plate count*, de acuerdo al gráfico C, existe un mayor uso mensual de los medios *LMX, rosa bengala, chromocult, agua peptona 9 mL, paquetes de superficies y ambientes* compuestas por 2 medios de cultivos *TSA y Saboraud*; El uso de *agua peptona de 400 mL* para un cliente establecido por la empresa se agrega como medio para preparar con mayor regularidad, porque es un medio para transporte y de recolección directa de muestra, por lo tanto se establece la preparación de los medios de cultivos mencionados cada 15 días, ya que por limitantes de almacenamiento como lo es la nevera de medios, la cantidad a producir mensualmente de estos no ocupa en el equipo.

### ***Inspección de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.***

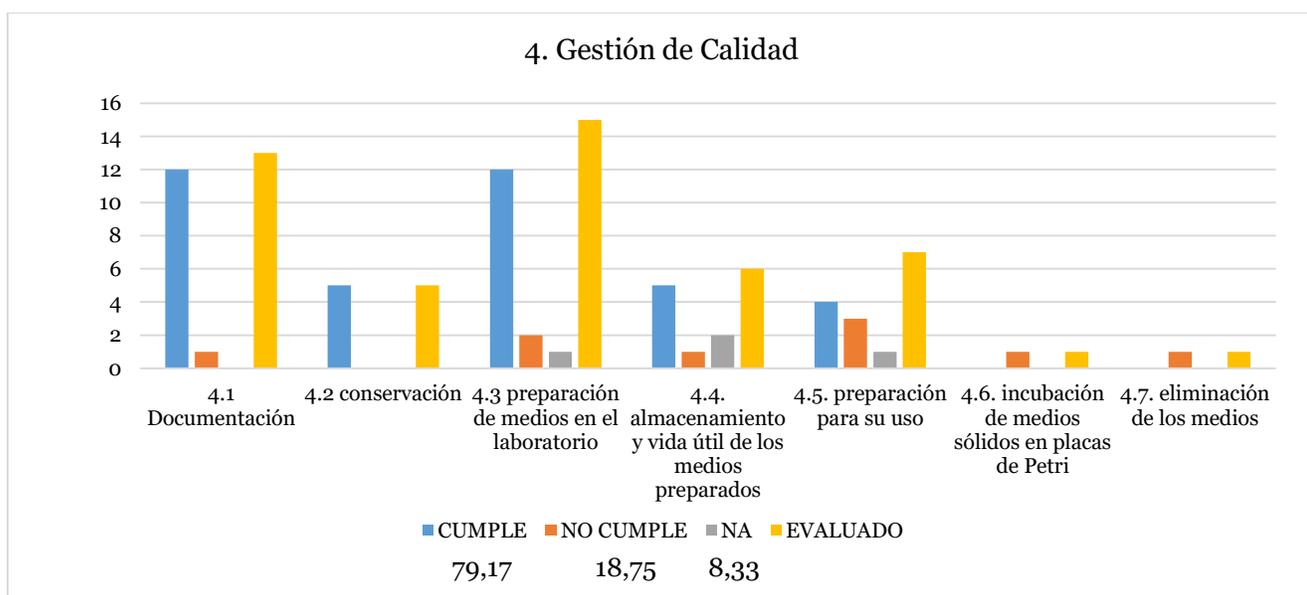
Bialab S.A.S genera oportunidades de aprendizaje continuo y desarrollo del pensamiento crítico, actualmente se encuentra en proceso de acreditación ante organismos como ICONTEC y la ONAC; partiendo desde el aseguramiento de la calidad de la organización, este proyecto se enfatiza en el aseguramiento de la calidad en la preparación de los medios de cultivos utilizados para la realización de ensayos y prestación de servicios misionales de Bialab S.A.S

Contando con la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, compuesta por 10 capítulos los cuales se derivan en ítems. Los tres primeros capítulos definen el objeto y campo de aplicación, normas de interés, términos y definiciones respectivamente. A partir del cuarto capítulo se comienzan a dar las directrices y recomendaciones para preparar, ensayar y

almacenar los medios de cultivo empleados para análisis microbiológico de alimento humano, animal, como también análisis de agua (ISO, 2014).

A partir de ello se realiza el formato de inspección (ver Anexo 2) para la realización de una auditoría interna utilizada como diagnóstico para identificar las acciones correctivas en los puntos de incumplimiento según la normativa, a continuación se presentan la relación de cumplimiento y no cumplimiento de los ítems evaluados.

#### Capítulo 4. Gestión de la Calidad.



*Grafico 1. Valoración del cumplimiento del capítulo 4; gestión de calidad.*

El cumplimiento en la gestión de calidad para la preparación de medios de cultivos de acuerdo a la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 fue del 79,17% estableciendo que posee una organización determinada para este cumplimiento en la documentación, conservación, durante la preparación de medios de cultivo y su vida útil, su uso y la incubación de estos; sin embargo, existe un incumplimiento del 18,75% de la normativa especialmente en puntos como:

-La documentación; ya que no se cuenta con etiquetas en los medios de cultivos que indiquen el grado de seguridad o peligrosidad del medio de cultivo a utilizar; se recomienda utilizar el formato (ver anexo 3), para uso en cada frasco de medio de cultivo.

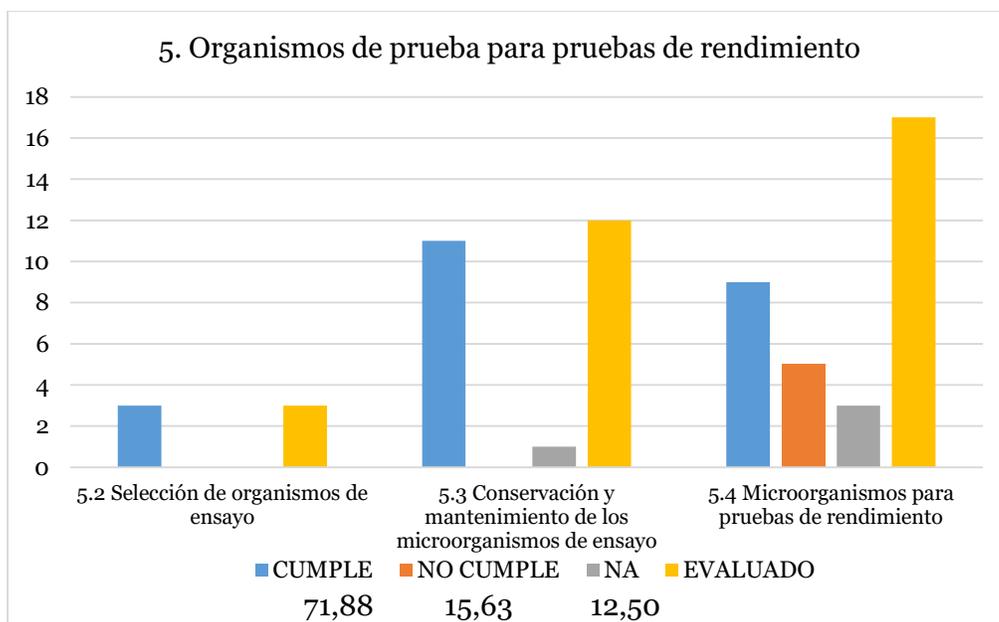
- La preparación de medios de cultivos en el laboratorio; porque no se verifica que la contaminación microbiana no sea mayor de  $10^3$  ufc/mL; se realiza el cumplimiento de evaluación de pH y conductividad ya que el agua utilizada es tipo 2; esta es suministrada por el laboratorio clínico bolívar, se hace necesario realizar un análisis microbiológico de contaminación microbiana, como recomendación en medio Plate Count, siembra por profundidad para garantizar mayor homogenización y recuperación de la muestra.

- El ciclo de esterilización debe ajustarse al volumen de medio de cultivo a preparar por lo tanto el análisis realizado anteriormente de conocer el flujo de uso en los medios de cultivo sirve para determinar que no se produce mayor de 1000 mL en un solo lote de un medio de cultivo, ya que los medios de cultivo de mayor uso y por lo tanto a preparar de mayor volumen, se prepararan cada 15 días, en volúmenes no superior de 850 mL.

De manera general durante el almacenamiento y utilización de los medios de cultivos, para su calentamiento los tubos deben estar a medio abrir, así mismo los tubos fundidos no pueden ingresar nuevamente a nevera, por lo tanto aún no se cuenta con una normativa que determine como realizar el adecuado descarte del medios sin utilizar y los utilizados en los ensayos correspondientes, además cuando estos medios se sacan de nevera deben dejarse atemperar antes de llevarse a altas temperaturas; el laboratorio no controla la perdida de agua ni asegura el grosor de 3 mm de agar servido en cajas ya que con 15 mL o 17 mL según el medio de cultivo este no alcanza el límite de llenado, sin embargo no es un punto crítico ya que la

incubación de estos medios por análisis microbiológico no supera los 6 días de incubación, como acción correctiva se tiene una incubación previa de 72 horas del lote de medio de cultivo para asegurar la correcta desecación del vapor de agua almacenado al momento de servirse.

#### Capítulo 5. Organismos de prueba para pruebas de rendimiento.

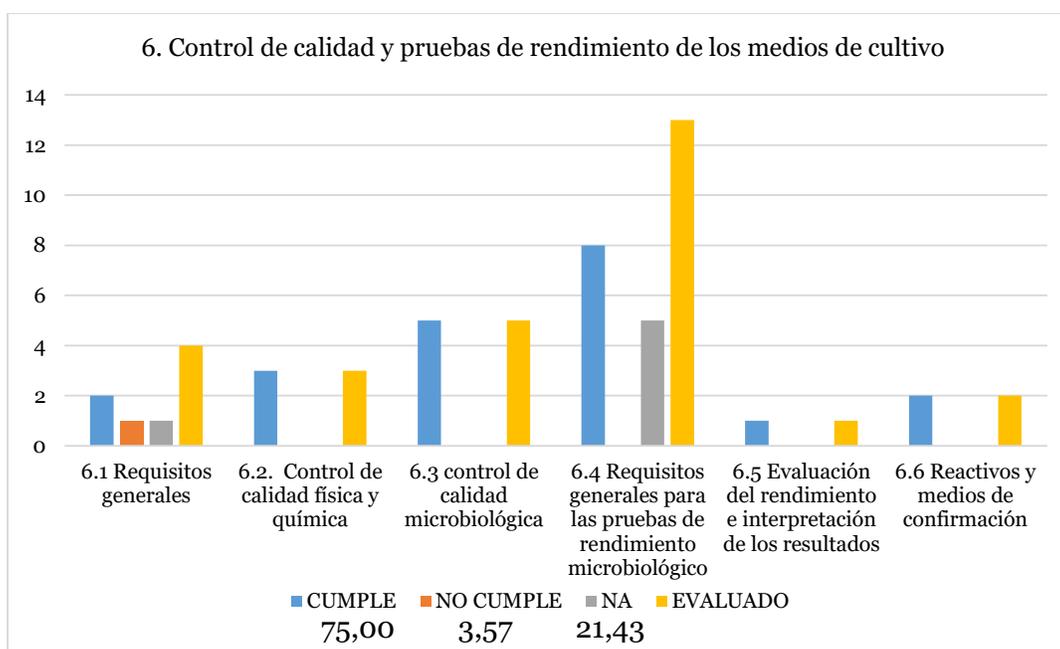


*Grafico 2. Valoración del cumplimiento del capítulo 5; organismos de prueba para pruebas de rendimiento.*

De acuerdo a los resultados expresados en el *grafico 2*, existe un cumplimiento del 71,88% de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 en la preparación de medios de cultivos, durante el desarrollo de pruebas de rendimiento, también llamada internamente prueba de promoción y crecimiento por Bialab S.A.S, pero el incumplimiento del 15.63% consiste en la selección del microorganismo para la prueba de promoción y crecimiento; ya que los cultivos de trabajo no se prepara a partir del stock de referencia como cultivo en fase estacionaria pura en un caldo no selectivo; así mismo las cantidades de inóculos a analizar según el método no son las utilizadas por Bialab S.A.S para el ensayo de promoción y crecimiento:

En diluyentes y medios líquidos de transporte son  $10^3$  a  $10^4$  UFC, para alcanzar un inóculo aprox. 100 UFC en volumen extendido en placa; para medios que se extienden en placa  $10^3$  a  $10^4$  UFC y para medir la productividad en medios de enriquecimiento se inoculará  $\leq 100$  UFC; cuando se realiza ensayos de selectividad se debe inocular sobre la placa o en el interior de tubo del medio una concentración de suspensión del microorganismo no diana que contenga entre  $10^4$  a  $10^6$  UFC.

### Capítulo 6. Control de calidad y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo.

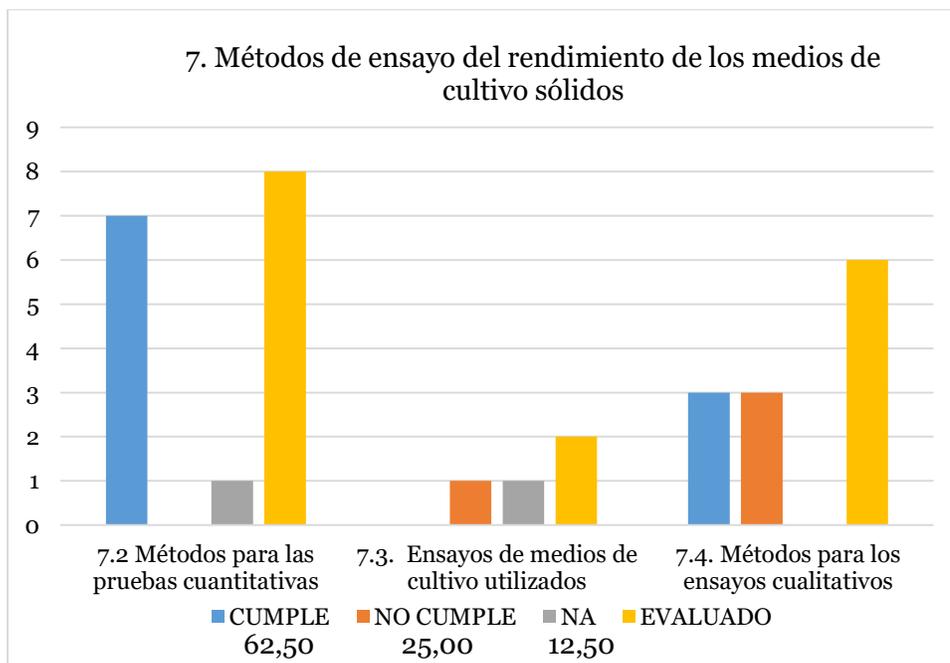


*Grafico 3. Valoración de cumplimiento del capítulo 5, control de calidad y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo.*

Se presenta incumplimiento para el control de calidad y pruebas de rendimiento de las pruebas de los medios de cultivos ya sea por el método cualitativo o cuantitativo, este debe adaptarse según al uso que se darán a los medios de cultivo analizados; por lo que; el medio de cultivo *Baird Parker*; según el Icontec NTC 4779:2007; microbiología de alimentos y alimentos para animales; método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus* y otras especies); el ensayo de promoción y crecimiento debe realizarse por método cuantitativo realizando ensayos de productividad, selectividad e inhibición; sin

embargo se realizaba de manera cualitativa, como este se conocen otros medios que la prueba de promoción consistía en método cualitativos, se recomienda adaptar la metodología necesaria según el uso del medio de cultivo.

#### Capítulo 7. Métodos de ensayo del rendimiento de los medios de cultivo sólidos.



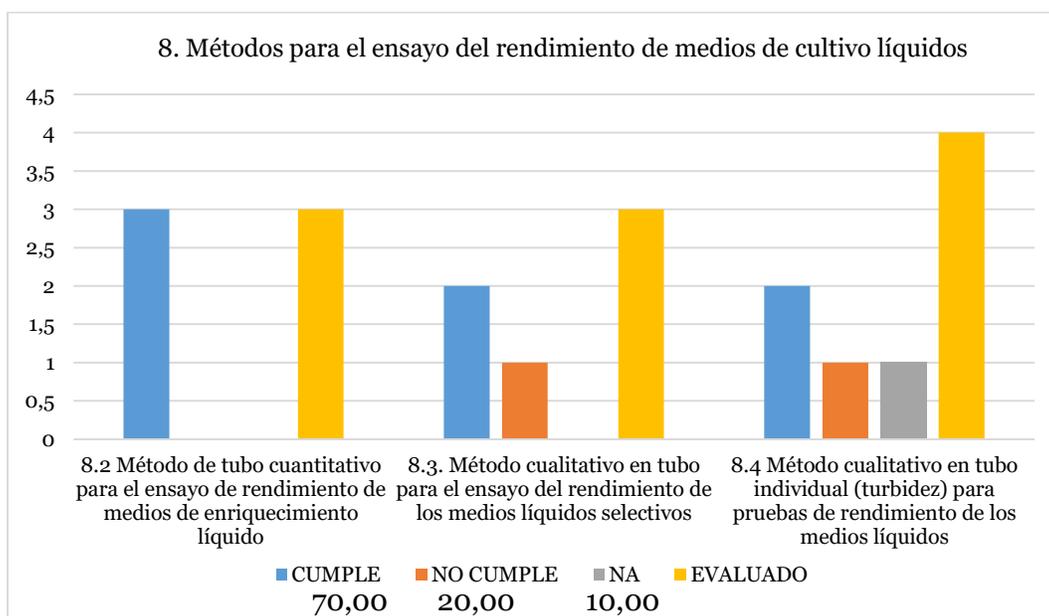
*Grafico 4. Valoración de cumplimiento del capítulo 7, métodos de ensayo del rendimiento de los medios de cultivo sólidos.*

El cumplimiento de los métodos de ensayo del rendimiento de los medios de cultivo sólidos no cumplió con el 25% de los requerimientos establecidos por la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; en la realización de ensayos de medios de cultivos mostrado en el *grafico 4- 7,3*; se realiza el análisis a lo que requieren la utilización de filtros de membrana, especialmente usados en ensayos microbiológicos de aguas beben para evaluar la calidad de los filtros de membrana utilizados deberá evaluarse previamente para demostrar su idoneidad para el uso.

Para evaluar la selectividad como se muestra en el *grafico 4- 7,4*, en medio de cultivo para el método cualitativo debe utilizarse una placa del medio de ensayo y trazar cada microorganismo de ensayo como una sola línea recta en la superficie del medio de ensayo;

varios microorganismos de ensayo pueden ser rayados en la misma placa que las líneas paralelas sin cruzar; las rayas deben ser distinguibles para permitir la observación de la morfología típica y la cantidad de crecimiento en las placas después de la incubación se evalúa como sigue: 0 no corresponde a crecimiento; 1 corresponde a un crecimiento débil (ya sea reducción de la cantidad de crecimiento o tamaño de la colonia); 2 corresponde a un buen crecimiento; actualmente no se realiza de esta forma se recomienda adoptar la interpretación del ensayo para las pruebas de promoción y crecimiento.

### Capítulo 8. Métodos para el ensayo del rendimiento de medios de cultivo líquidos.

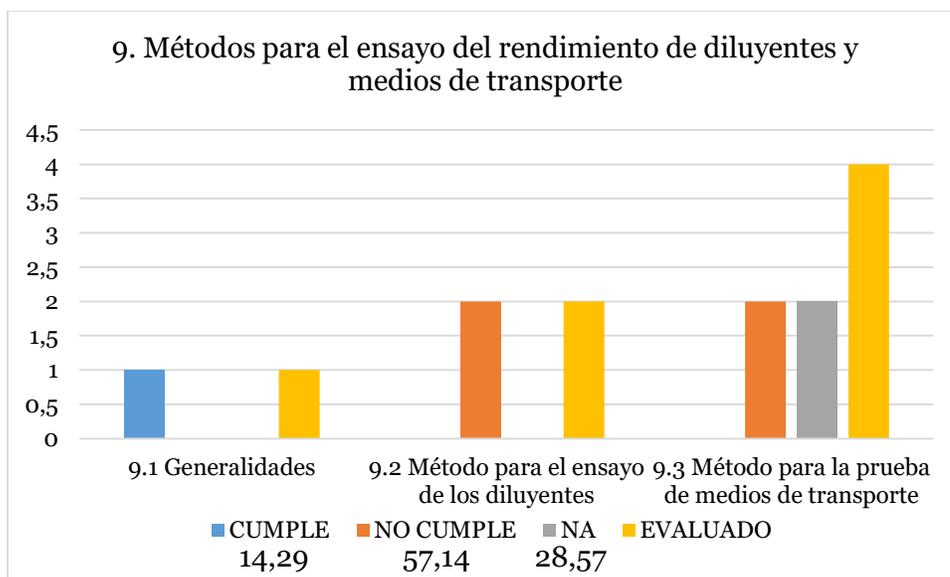


*Grafico 5. Valoración de cumplimiento del capítulo 8, métodos para el ensayo del rendimiento de medios de cultivo líquidos.*

Como se aprecia en el *grafico 5*, se da un incumplimiento del 10% en los ítem 8.3 y 8.4 para medios líquidos selectivos el laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma; el cual consiste en realizar la inoculación de organismo diana (microorganismo de interés, el cual posee las facultades para desarrollarse en el medio de cultivo a analizar) y en otro tubo el no diana; o realizar una inoculación del microorganismo diana y no diana en el mismo tubo con el fin de que luego de la incubación se toma una asada y se siembre por estría en un medio no

selectivo ejemplo TSA, si se realiza la inoculación de ambos microorganismos se debe utilizar un medio específico para la recuperación del microorganismo diana y para la interpretación se debe tener que en una evaluación cualitativa se llevará a cabo visualmente buscando una buena turbidez (es decir, 2), sin embargo la evaluación cualitativa de los medios opacos cuando se produce está indicada por la presencia de crecimiento en el medio sólido específico.

Capítulo 9. Métodos para el ensayo del rendimiento de diluyentes y medios de transporte.

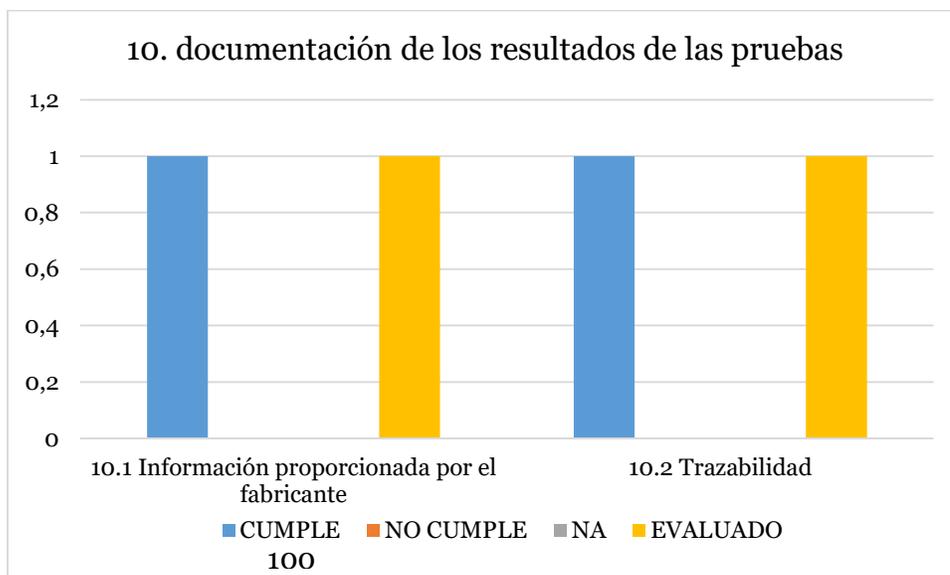


*Grafico 6. Valoración de cumplimiento del capítulo 9, métodos para el ensayo del rendimiento de diluyentes y medios de transporte.*

De acuerdo al *grafico 6*, se aprecia un incumplimiento de 57,14% en los ítems 9.2 y 9.3, donde inicialmente se tiene que el laboratorio no aplica el procedimiento descrito por la norma para el método para el ensayo de los diluyentes y medios utilizados para el transporte, que consiste en; inocular una porción de ensayo con la suspensión aproximadamente  $10^4$  ufc/mL, inmediatamente se retira 0,1 mL para extender en un medio no selectivo de referencia ( $t_0$ ) este

diluyente se mantiene a temperatura ambiente durante un periodo de 45 min normalmente, y se retira 0,1 mL para extender en un medio no selectivo de referencia ( $t_1$ ). Después de la incubación cuente las colonias en las placas  $t_0$  y  $t_1$ , el número de microorganismos,  $t_1$ , después de la incubación del diluyente deberá estar dentro de  $\pm 30\%$  del recuento inicial  $t_0$ .

#### Capítulo 10. Documentación de los resultados de las pruebas.



Se presenta un cumplimiento del 100%, ya que el fabricante o proveedor de los medios de cultivo proporciona, las características específicas de crecimiento microbiológico y la información general relativa al lote específico de medio de cultivo, que son de referencia para identificar y seleccionar los microorganismos de ensayo a analizar sobre el medio de cultivo.

Todos los datos de las pruebas de rendimiento de rutina están documentados de forma adecuada y se mantienen durante un período de tiempo suficiente de acuerdo con el sistema de calidad en uso por Bialab S.A.S.

	EVALUADO	CUMPLE	NO CUMPLE	NA
4. GESTION DE LA CALIDAD	100,00	79,17	18,75	8,33
5. ORGANISMOS DE PRUEBA DE RENDIMIENTO	100,00	71,88	15,63	12,50
6. CONTROL DE CALIDAD Y PRUEBAS DE RENDIMIENTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO	100,00	75,00	3,57	21,43
7. MÉTODOS DE ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO SÓLIDOS	100,00	62,50	25,00	12,50
8. MÉTODOS PARA EL ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS	100,00	70,00	20,00	10,00
9. MÉTODOS PARA EL ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE DILUYENTES Y MEDIOS DE TRANSPORTE	100,00	14,29	57,14	28,57
10 DOCUMENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS	100,00	100,00	0,00	0,00
TOTAL	700,00	472,83	140,09	93,33

De acuerdo a lo anterior, siendo los ítems que cumple y a los cuales no aplica, datos que a su favor tiene Bialab para aumentar el cumplimiento en general de la normativa, como se observa en la tabla 3; por ello si el 100 % de lo evaluado es equivalente a la suma del porcentaje de los ítems evaluados 700, se tiene que:

CUMPLIMIENTO DE LA NORMATIVA POR BIALAB SAS	700,00	566,16	140,09

PORCENTAJE DE CUMPLIMIENTO	100	80	20

*Tabla 3. Porcentaje de los requerimientos evaluados en cada capítulo de la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018*

Expresado en porcentaje de cumplimiento bialab tiene un cumplimiento del 80%, sin embargo con la visión de avance en la oferta diferentes técnicas para análisis microbiológico se hace necesario que el laboratorio realice la implementación de la normativa y que se dé un cumplimiento mayor en referencia a la normativa.

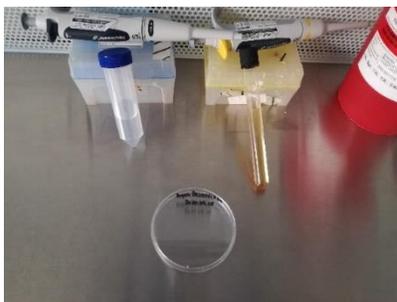
### ***Implementación de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.***

De acuerdo a las recomendaciones realizadas para dar cumplimiento completo al 20% de lo establecido en la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; en el laboratorio Bialab S.A.S; es importante resaltar que las correcciones realizadas fueron propuestas por el grupo técnico de microbiología del laboratorio Bialab y están en actual cumplimiento.

1. (4.1.1) Formato BL-RE-F14 Versión 2 (*ver anexo3*), se encuentra en proceso de aceptación para su posterior implementación.
2. (4.3.3) Verificación de la contaminación microbiana  $<1000$  ufc/mL, se realiza según el procedimiento para recuento en placa profunda de heterótrofos, utilizando agar Plate Count; como se evidencia en la imagen 1, 2 y 3; este procedimiento se realiza a cada lote de agua que ingresa a laboratorios Bialab S.A.S.



*Imagen 1. Forma de transporte y almacenamiento del agua tipo II.*



*Imagen 2. Montaje de análisis microbiológico de agua desionizada tipo II.*



*Imagen 3. Conteo microbiológico de UFC/mL de agua desionizada tipo II.*

3. (4.3.8.2) Los medios de cultivo de mayor uso descritos anteriormente y por lo tanto a preparar de mayor volumen, se preparan cada 15 días, en volúmenes de 900 mL, para obtener un total de 120 tubos de 15 mL por producción; 100 cajas para superficies y ambientes de TSA y saboraud; estableciendo así volúmenes menores de 1000 mL que serán autoclavados adaptando así los volúmenes de producción al ciclo de esterilización del equipo.
4. Se realizó la correspondiente socialización de la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; *ver anexo 4.1* donde se resaltaron las acciones al momento de procesar como:
  - a. (4.4.2.1) Equilibrar los medios de cultivo a temperatura ambiente antes de su uso o antes de calentarse.
  - b. (4.5.1) El medio no utilizado no debe volver a solidificarse para reutilizarse.
  - c. (4.5.2) El medio se calienta 15 min con la tapa sin apretar antes de su uso.
  - d. (4.5.4) Se debe verificar la correcta homogenización del medio de cultivo y la muestra, garantizando la capa de mínimo 3 mm en caja.

Con la aprobación de la actualización del POES para preparación de medios, se dispuso a realizar las capacitaciones al personal técnico del laboratorio bialab en cargo del área de preparación de medios de cultivo, *ver anexo 4.2*.

5. (4.6) Se controla la pérdida de agua en el lote completo incubándose a 35 °C por 48 horas; garantizando la prueba de esterilidad y la deshidratación del medio por agua libre.
6. (4.7) El laboratorio no especifica la normativa para el adecuado descarte de los medios de cultivo utilizados; a continuación, se muestra el proceso de descarte implementado en Bialab S.A.S.
  - a. *Para medios sólidos:*

Aplica para medios de cultivo en cajas de Petri y cajas rodac.

*b. Para medios líquidos:*

Aplica en medios de cultivos líquidos y baterías bioquímicas.

Luego de la recolección de material biológico activo; se almacena en el cuarto de lavado para la esterilización a 121°C por 20 minutos; para su posterior almacenamiento en la canasta de residuos inactivos; que diariamente es recolectada por el personal de apoyo en aseo general y almacenada en el cuarto de recolección temporal de residuos dentro de la empresa, ya que semanalmente se realiza la disposición final de residuos a la empresa EDEPSA ESP S.A.S.

7. (5.4.2.2) Se realiza una adaptación del proceso ya que la normativa permite la utilización de cultivos de reserva como base para realizar los cultivos de trabajo en medio de cultivo líquido no selectivo; pero no viceversa, se establece que los cultivos de trabajo se realizan en cada montaje de ensayo, en la imagen 4 se evidencia que en frascos shott se realiza la recuperación del cultivo de referencia y se mantiene como reserva y cada 15 días se realiza una activación de cepa en medio sólido de enriquecimiento correspondiente a cada microorganismo que se utilizará como cepa de trabajo.



Imagen 4. Establecimiento de cultivos de reserva (frascos shott) y cultivos de trabajo (caja de Petri).

8. (5.4.2.5.1.1 Y 5.4.2.5.1.2) Se establecen las siguientes concentraciones, durante el montaje de pruebas de productividad:



*Imagen 5. Diluciones de microorganismos "cepa de referencia" para pruebas de promoción y crecimiento.*

- a) Ensayo cuantitativo: Medios en Placa:  $10^3$  a  $10^4$  UFC.
- b) Ensayo cuantitativo: Productividad de medios de enriquecimiento:  $\leq 100$  UFC.
- c) (5.4.2.5.2 Y 5.4.2.5.3) Implementado cantidad de inóculo para ensayo de selectividad ( $10^4$  y  $10^6$  UFC) y especificidad ( $10^3$  y  $10^4$  UFC), según el medio de cultivo.

Las imágenes que se muestran a continuación evidencian la realización de pruebas de promoción y crecimiento de acuerdo a los criterios de inoculación mencionados anteriormente.

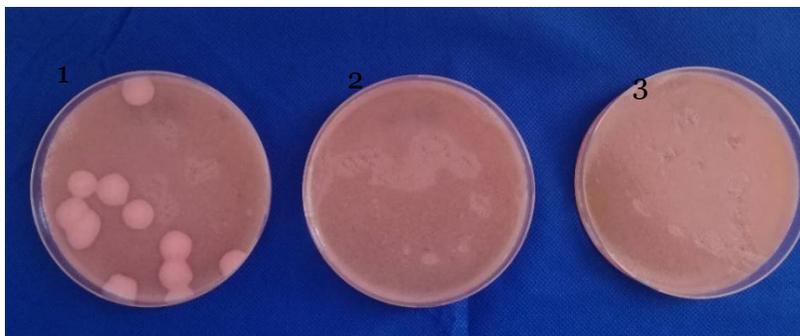


Imagen 6. Agar MYP; 1. *Bacillus cereus*, 2. *Bacillus subtilis* y 3. *Escherichia coli*.

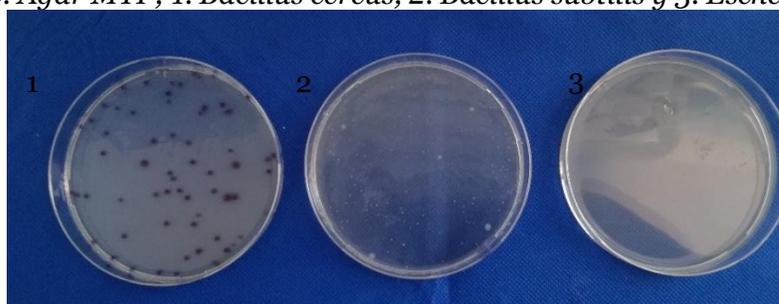


Imagen 7. Agar cromocult; 1. *Escherichia coli*, 2. *Pseudomonas aeruginosa* y 3. *Staphylococcus aureus*.

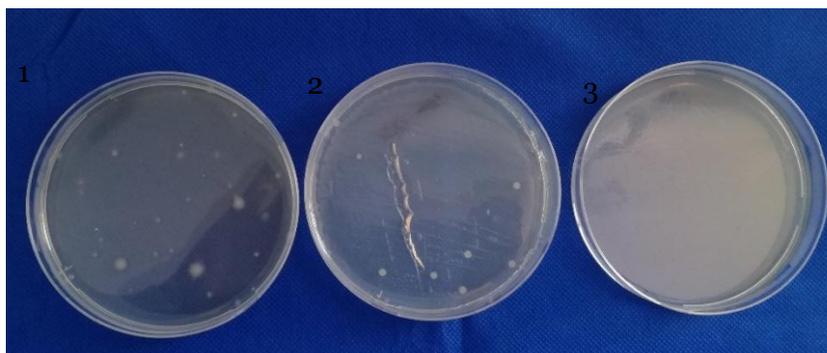


Imagen 8. Agar SPS (Sulfito Polimixina Sulfadiazina). 1. *Clostridium sporogenes*; 2. *Staphylococcus aureus* y 3. *Escherichia coli*.

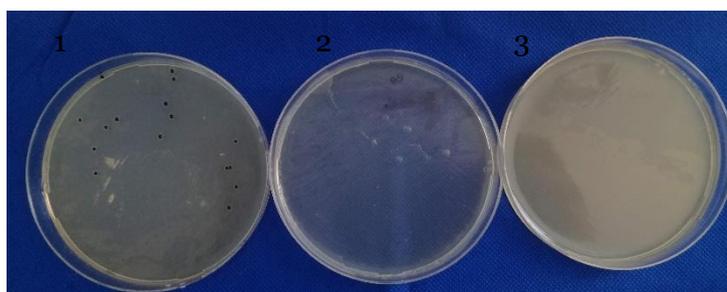


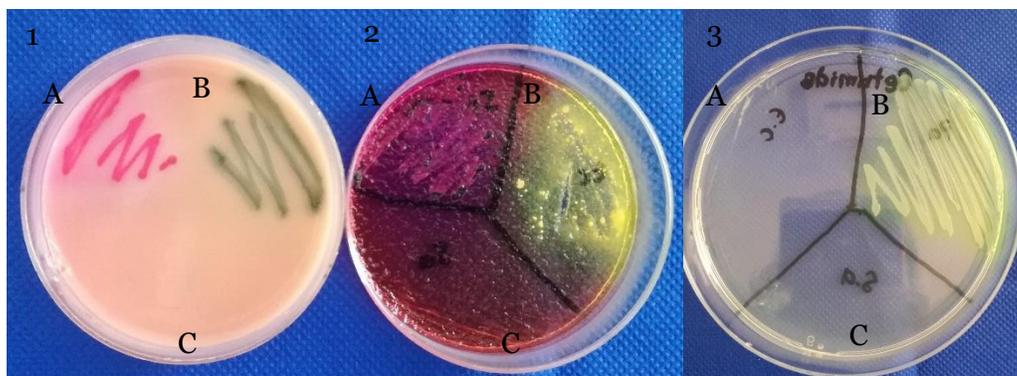
Imagen 9. Agar Baird parker. 1. *Staphylococcus aureus*, 2. *Bacillus cereus* y 3. *Escherichia coli*.

9. (6.1) Se estableció establece la siguiente tabla para determinar el control de calidad, cualitativo o cuantitativo según el uso que se dará a los medios (ver tabla 2).
10. (7.3) Durante el ingreso de un nuevo lote de filtros de membrana en nitrocelulosa, se realiza control de calidad a los filtros de membrana utilizados para la filtración de aguas, como se observa en la siguiente imagen.



*Imagen 10. Control de calidad a filtros de nitrocelulosa por método de filtración por membrana.*

11. (7.4.1.1) Se implementa el procedimiento e interpretación descrito por la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.



*Imagen 11. Metodo cualitativo para medio solido; 1. Agar rambach: A. S. tiphymurium, B. E. coli y C. S. aureus; 2. Agar XLD, A. S. tiphymurium, B. E. coli y C. S. aureus; 3. Agar cetrimide; A. E. coli, B. P. aeruginosa y C. S. aureus.*

12. (8.3.2 y 8.3.2) Se implementa el procedimiento de inoculación de microorganismo diana establecido por la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, para medio de cultivos opacos selectivos, como el tetratonato; se interpreta su resultado en medio sólido como XLD.

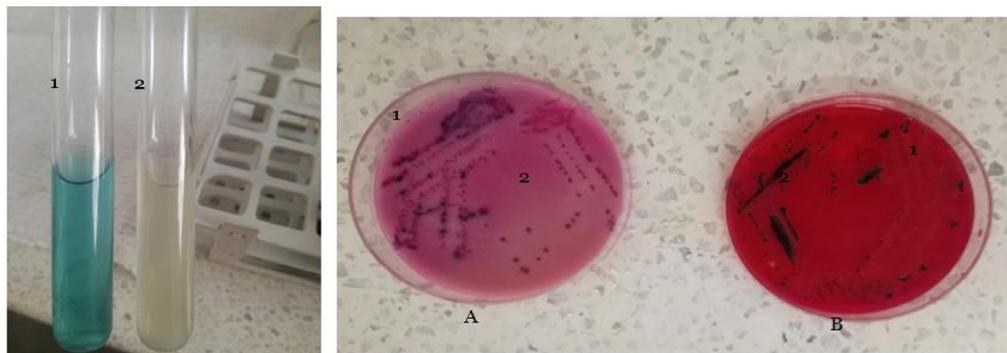


Imagen 12. Crecimiento de *Salmonella typhimurium*; 1. Rappaport y 2. Tetratonato; A. Rambach y B. XLD.

13. (9.2 y 9.3) Se deja como no cumplimiento del procedimiento de análisis cuantitativo de medios para dilución y medios de transporte, ya que se implementa de manera cualitativa la productividad de los medios de cultivos utilizados para realizar diluciones y transporte de muestras.

En lo anterior se realizaron correcciones a los 13 ítems de incumplimiento, siendo el incumplimiento del 20% y con la implementación de las correcciones realizadas durante el desarrollo de mi pasantía en el laboratorio Bialab SAS, se evidencia una reducción del incumplimiento al 6,15 % este proceso se realizó gracias al apoyo y compromiso de la alta gerencia para el desarrollo de las implementaciones que requerían apoyo económico:

	INCUMPLIMIENTO		CUMPLE	CUMPLIMIENTO PARCIAL	NO CUMPLE
PORCENTAJE DE INCUMPLIMIENTO	20	13	9	2	2
			13,85	3,08	3,08

Tabla 4. Porcentaje de incumplimiento de la normativa UNE EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.

### ***Actualización del POES de preparación de medios.***

Durante la actualización del manual de procedimientos operativos estandarizados en el área de preparación para el aseguramiento de calidad de medios de cultivos según la normativa UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; se abarcaron los siguientes puntos:

1. Descripción del procedimiento para la detección de microorganismos heterótrofos en agua tipo II; enviada desde laboratorio Bolívar para la preparación de medios de cultivo.
2. Actualización de la concentración en preparación del inóculo para el desarrollo de los ensayos de promoción y crecimiento.
3. Descripción detallada en la preparación, forma y cantidad de servido de los medios de cultivos utilizados en los ensayos microbiológicos en el laboratorio bialab.
4. Organización de medios de cultivo para promoción y crecimiento de acuerdo a su uso.

*NOTA: Por normativa interna de la empresa la información confidencial se encuentra protegida por la Ley. Si usted no es el receptor, no estará autorizado para cualquier retención, difusión, distribución, copia o cualquier acción, se encuentra estrictamente prohibido.*

## CONCLUSIONES.

- Se implementó en un 93.85% el cumplimiento de la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 para el aseguramiento en la calidad durante la preparación de los medios de cultivos en Bialab SAS.
- En la inspección se encontró que existe un 80% de cumplimiento ante la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018 en Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio S.A.S durante la realización de una auditoria interna propuesta en ítems que cumple y los cuales no aplica; encontrando, un 20% de incumplimiento en el desarrollo de las actividades en el área de preparación de medios.
- Con relación a la implementación de las acciones correctivas sobre el 20% de incumplimiento ante la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018; se disminuyó el porcentaje de incumplimiento a 6.15% dividido en cumplimiento parcial de un 3.08 % y un no cumplimiento del 3.08%, resaltando el trabajo sobre el 13,85% restante para lograr el cumplimiento durante el desarrollo de la pasantía.
- Se actualizo el manual de procedimientos operativos estandarizados en el área de preparación de medios de cultivos en Bolívar Industrial Ambiental Laboratorio S.A.S; con referencia a la normativa internacional UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018, estableciendo actividades necesarias para el aseguramiento de la calidad durante la preparación en los medios de cultivos.

## **RECOMENDACIONES.**

Revisar para futuras actualizaciones el formato BL-RE-F14 versión 2 y BL-AMI-P07 versión 3 ya que se encuentra en proceso de aceptación para su posterior implementación, por Bialab S.A.S para el ingreso de medios de cultivo y preparación de los mismos.

Constituir el cepario de Bialab S.A.S estableciendo las cepas de referencia y cada uno de sus certificados de calidad, para una futura certificación de la UNE-EN ISO 11133 de 2014/A1:2018.

Implementar la realización de test ecometrico para medir la productividad de los medios de cultivo preparados por Bialab S.A.S y la tasa de recuperación de los cultivos de reserva utilizados como control positivo en los análisis microbiológicos de alimentos, aguas y farmacéutica.

Considerar la implementación de un área específica para preparación de los medios en cabina estéril, de uso único en actividades como pesaje, vertido y solidificación de los medios; pruebas de promoción y crecimiento.

Proyectar la posibilidad de compra de nevera para el almacenamiento de medios de cultivos que cumpla con una mayor capacidad de almacenamiento y una autoclave con mayor capacidad; ya que disminuiría la tasa de producción en medios de cultivos.

Establecer una normativa en el laboratorio donde se especifique el adecuado descarte los medios de cultivo utilizados, antes de realizar la debida entrega a la empresa de saneamiento biológico EDEPSA E.S.P S.A.S.

## REFERENCIAS.

Achá Aruquipa Marisol. (2017). *Implementación de la NB-ISO/TR 11133-1 en el laboratorio de medios de cultivo del INLASA*. Facultad de Tecnología. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES. Obtenido de: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/16090>

Bialab S.A.S. (s.f.). Obtenido de Bolívar Industrial Ambiental Laboratorios S.A.S. Obtenido de: <https://www.bialab.co/inicio>

Corredor Caro Lina. (2017). *Plan De Aseguramiento Logístico Aplicado A La Empresa Didacta Internacional S.A.S*. Especialización En Gerencia; Facultad De Administración De Empresas. Obtenido de: [https://bdigital.uexternado.edu.co/bitstream/001/1354/1/AAABA-spa-2017-Plan\\_de\\_aseguramiento\\_logistico\\_aplicado\\_a\\_la\\_empresa\\_Didacta\\_Internacional](https://bdigital.uexternado.edu.co/bitstream/001/1354/1/AAABA-spa-2017-Plan_de_aseguramiento_logistico_aplicado_a_la_empresa_Didacta_Internacional)

Instituto Nacional de Salud (2018) *Producción de Medios de Cultivo* Obtenido de: <https://www.ins.gov.co/Direcciones/Produccion/Paginas/planta-de-sueros-hiperinmunes.aspx>

Marroquín Marina Cristina (2017). *Estandarización del Flujo del Proceso de Preparación de Medios para Análisis Microbiológicos en el Centro de Aseguramiento de la Calidad, Nestlé*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido de: <https://core.ac.uk/download/pdf/80748806.pdf>

NTC 4779 (2007). *Microbiología de alimentos y alimentos para animales; método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (Staphylococcus aureus y otras especies)*. Obtenido de: <https://tienda.icontec.org/gp-microbiologia-de-alimentos-y-alimentos-para-animales-metodo-horizontal-para-el-recuento-de-estafilococos-coagulasa-positiva-staphylococcus-aureus-y-otras-especies-ntc4779-2007.html>

Organización Internacional de Normalización ISO UNE-CEN ISO/TS 11133:2014/A1:2018. (2018). *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Guía para la preparación y producción de medios de cultivo*. Obtenido de: <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0047417>

Organización Internacional de Normalización ISO 11133:2014 (2014). *Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media – Requisitos*. Obtenido de: <https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:11133:ed-1:v2:en>

Organización Internacional de Normalización ISO 9001:2015. (2015). *Quality management systems – Requirements*. Obtenido de: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9001:ed-5:v1:es>

Organización Internacional de Normalización ISO/IEC 17025:2017. (2017). *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. Obtenido de: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-3:v2:es>

Tiselab. (2020). *Visión general de la nueva ISO 11133:2014 desde la perspectiva del control de calidad*. Obtenido de <http://www.tiselab.com/comunicados/ISO-11133-2014-White-Paper.pdf>

**ANEXOS.**

## Anexo 1. Evidencia fotográfica de las actividades realizadas en Bialab S.A.S

<b>LUGAR</b>	<b>EVIDENCIA FOTOGRAFICA</b>
Preparación de medios.	
Lavado de material.	
Inactivación de residuos.	
Montaje de rendimiento en medios de cultivo.	

*Anexo 2. Estructuración en la nevera de almacenamiento de medios en Bialab S.A.S.*

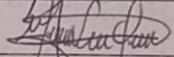
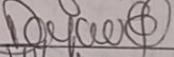
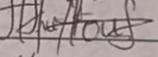
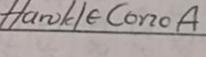
NIVEL 1					
	3 COLUMNAS DE 5 FILAS	1 COLUMNAS DE 7 CAJAS EN 4 FILAS	1 COLUMNAS DE 7 CAJAS EN 5 FILAS		
	15 SHOTTS	35 PAQUETES CAJAS (TSA Y SAB)	35 PAQUETES CAJAS (TSA Y SAB)		
REACTIVOS	ENJUAGUES	AMBIENTES	SUPERFICIES		
NIVEL 2					
2 COLUMNAS DE 5 CAJAS EN 3 FILAS	3 POTES CON 32 TUBOS C/D	3 POTES CON 32 TUBOS C/D	3 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTE CON 20 TUBO C/D	
30 PAQUETES AGUAS (m-HPC Y Chr)	96 TUBOS	96 TUBOS	96 TUBOS	20 TUBOS	
10 CAJAS m-HPC Y 10 CAJAS Chr.					
m-HPC Y CHROMOCULT	APE 9 ml	CHROMOCULT	ROSA BENGALA	BHI	
NIVEL 3					
2 POTES CON 32 TUBOS C/D	2 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 TORRE POR MEDIO DE CULTIVO		
64 TUBOS	64 TUBOS	32 TUBOS	15 CAJAS		
LMX	PLATE COUNT	AGAR LETHEN	30 XLD Y RAMBACH 30 BAIRD PARKER		
			MYP CETRIMIDE GRANDE Y PEQUEÑA PDA		
NIVEL 4					
CADA POTE CON 16 TUBOS C/D	1 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTES CON 32 TUBOS C/D	1 POTE CON 20 TUBOS C/D
SIM , LIA	32 TUBOS	32 TUBOS	32 TUBOS	32 TUBOS	SPS - VRBA- MRS- CALDO TSB
UREA, TSI					
BIOQUIMICAS	SABORAUD	TSA	RAPPAPORT	TETRATIONATO	
NIVEL 5					
7 FILAS POR 2 COLUMNAS	7 FILAS POR 4 COLUMNAS	6 FILAS POR 2 COLUMNAS	7 FILAS POR 2 COLUMNAS		
14 SHOTTS	28 SHOTTS	14 SHOTTS	14 SHOTTS		
AGUAS 225 ml	A. PEPTONA 90 ml	BHI	TSB		

*Anexo 3. Formato de seguimiento y trazabilidad al medio de cultivo.*

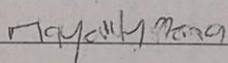
		<b>IDENTIFICACIÓN DE REACTIVO Y MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS</b>		<b>BL-RE-F14</b> Versión: 2 Pagina 1 de 1	
<b>Nombre:</b>				<b>Unidad:</b>	
<b>Ingreso:</b>		<b>Vence:</b>		<b>Trazabilidad:</b>	
<b>Responsable Recepción:</b>			<b>°T almacenamiento:</b>		
<b>Fecha Apertura:</b>			<b>Responsable Apertura:</b>		
<b>Seguridad y/o Peligrosidad:</b>			<b>Fecha Seguimiento.</b>		
<b>Protección Personal:</b>			<b>Color:</b>		
			<b>Textura:</b>		

Anexo 4. Evidencia de asistencia.

Anexo 4 3. Socialización de la normativa internacional ISO 11133 /A1: 2018

		LISTA DE ASISTENCIA		CÓDIGO: BL-TH-F01
				VERSIÓN: 01
				PÁGINA 1 de 1
FECHA	2020.09.11	ORGANIZADA POR:	Ana Yulitza Herrera Quintero.	
TEMA DE LA REUNIÓN		Socialización de la Normativa Internacional ISO 11133/A1 : 2018.		
No.	NOMBRE	CARGO	FIRMA	
1	José Orlando Blanco L.	Microbiólogo Analista		
2	Milena Navarro Quiroga	Coordinadora Microbiología		
3	Deyanira Afender	Directora Técnica		
4	LIBETH FONSECA	MICROBIÓLOGA		
5	Arnold Edilpo Corzo Arerale	Microbiólogo Analista		
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				

## Anexo 4 4. Capacitación a personal técnico del laboratorio bialab.

		LISTA DE ASISTENCIA		CÓDIGO: BL-TH-F01
				VERSIÓN: 01
				PÁGINA 1 de 1
FECHA	2020.09.25	ORGANIZADA POR:	Ana Yulitza Herrera Quintero	
TEMA DE LA REUNIÓN	Socialización del POE en Preparación de Medios Capacitación para: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Preparar medios de cultivo.</li> <li>- llenar registros de preparación.</li> <li>- Manejo de equipos.</li> <li>- Pruebas de Esterilidad de medios de cultivo.</li> <li>- Pruebas de Rendimiento Para medio de cultivo</li> </ul>			
No.	NOMBRE	CARGO	FIRMA	
1	Yulitza Herrera Quintero	Microbiología		
2	Maryely Pérez Jiménez	Aux. laboratorio		
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				

## Anexo 5. Formato de inspección de acuerdo a la norma ISO 11133 de 2014.

Norma ISO 11133 de 2014		REQUISITO	RESULTADO		
<i>Formato de inspección</i>			C	NC	NA
<b>4. GESTIÓN DE LA GARANTÍA DE LA CALIDAD</b>					
4.1 Documentación	4.1.1 Documentación suministrada por el fabricante o productor	Nombre del medio, de sus componentes individuales y de todos los suplementos y los códigos de los productos.	X		
		Ficha de datos técnicos, como la formulación, el uso al que está destinado.	X		
		Datos de seguridad y/o peligrosidad.		X	
		Número de lote.	X		
		El pH final del medio completo.	X		
		Información sobre condiciones de almacenamiento y fecha de caducidad.	X		
		Certificado de control de calidad que describa los microorganismos de ensayo usados, resultados y rendimiento y criterios de aceptación.	X		
	4.1.2 aceptación de la entrega de productos	Identificación del producto.	X		
		Integridad del envase o embalaje.	X		
		Fecha de caducidad del producto.	X		
		Documentación suministrada.	X		
		Número de unidades recibidas.	X		
	Se registra la fecha de entrada.	X			
4.2 conservación	4.2.1 Generalidades	El laboratorio cumple las recomendaciones dadas por el proveedor para el almacenamiento de los medios de cultivo.	X		
	4.2.2 Control de productos y gestión de la calidad para suplementos	Se comprueba el sellado.	X		
		Se registra la fecha de la apertura inicial.	X		
		Se inspecciona visualmente el contenido de los recipientes abiertos.	X		

		Se señala la fecha máxima de almacenamiento.	X		
4.3 preparación de medios en el laboratorio	4.3.1 generalidades	En el laboratorio se respetan las buenas prácticas de laboratorio.	X		
		El laboratorio aplica las instrucciones del fabricante en relación a la manipulación de los medios deshidratados.	X		
		Se documentan los datos como el código, el número de lote, la masa/volumen, pH, fecha de preparación y condiciones de esterilización.	X		
		4.3.2. Calidad de los componentes básicos de los medios	Se indica en la formulación el peso molecular de las sustancias químicas siempre que estén disponibles.	X	
	4.3.3. Agua	Se utiliza agua destilada, desmineralizada, desionizada para la preparación de los medios de cultivo.	X		
		Se verifica que la contaminación microbiana no sea mayor de $10^3$ ufc/mL.		X	
		Se verifica la conductividad del agua antes de su uso.	X		
	4.3.4 Medida de peso y rehidratación	Los medios se pesan cuidadosamente, verificando la capacidad de discriminación de la balanza y los ingredientes se añaden sobre el volumen del agua en lugar de enrasar después hasta ese volumen.	X		
	4.3.5. Disolución y dispersión	Se realiza una dispersión rápida para la disolución los medios deshidratados seguida de un calentamiento si es necesario. Evitando sobrecalentamiento.	X		
	4.3.6 medida y ajuste de pH	Se mide el pH y se ajusta antes de la esterilización.	X		

	4.3.7. Dispensado	Se dispensa el medio en recipientes adecuados que aseguren que quede un espacio suficiente para evitar que reboce el líquido en ebullición en el proceso de enfriamiento, tras el tratamiento con calor durante el autoclavado.		X		
	4.3.8. Esterilización	4.3.8.1. Generalidades	Los medios de cultivo se esterilizan el mismo día de su preparación.	X		
		4.3.8.2. Esterilización mediante calor húmedo	Para recipientes con volúmenes mayores a <b>1000mL</b> se adapta el ciclo de esterilización de la autoclave para asegurar un tratamiento térmico adecuado.		X	
		4.3.8.3. Esterilización mediante filtración por Membrana	Se utilizan equipamientos estériles y membranas de poro 0,2 µM			X
	4.3.9. Preparación de los suplementos.	Se toman todas las precauciones de seguridad necesarias y se aplican las instrucciones del fabricante mediante la preparación de las disoluciones.		X		
4.4. almacenamiento y vida útil de los medios preparados	4.4.1. Medios comerciales	Se aplican las instrucciones del fabricante en relación a las condiciones de almacenamiento, fecha de caducidad y utilización.		X		
	4.4.2. medios preparados en el laboratorio	4.4.2.1. generalidades	El laboratorio especifica la frecuencia de verificación de vida útil de los medios de cultivo	X		
			Los medios se almacenan en condiciones que eviten cualquier tipo de modificación.	X		
			El laboratorio equilibra los medios de cultivo a temperatura ambiente antes de su uso o antes de volver a calentarlos.		X	

		4.4.2.2. evaluación de la vida útil	Se revisa periódicamente si hay cambios de color signos de evaporación/deshidratación, cambios de pH o unos valores de productividad, selectividad o especificidad inaceptables.	X		
		4.4.2.3. almacenamiento de medios en placas de Petri	Las placas se rotulan en la base con la fecha preparación junto con la identificación, se almacenan en bolsas de plástico selladas. Las placas se enfrían antes de introducirse en las bolsas.	X		
4.5. preparación para su uso	4.5.1. Fusión de los medios de cultivo de agar	Los medios de cultivo se funden en un baño de agua en ebullición.		X		
		Se evita el sobrecalentamiento y para ello se retiran una vez se han fundido.		X		
		El medio no utilizado no debe volver a solidificarse y a reutilizarse.			X	
	4.5.2 Desgasificación de los medios de cultivo	Para conseguir un correcto contenido de aire/oxígeno, el medio se calienta justo antes de su uso durante 15 minutos con la tapa sin apretar, luego del calentamiento se aprieta la tapa y se enfría hasta la temperatura de trabajo.			X	
	4.5.3. Adición de suplementos	Los suplementos se añaden al medio después de que este se allá enfriado a una temperatura inferior a 50 grados centígrados.		X		
4.5.4. preparación de medios sólidos en placas Petri	El laboratorio verifica que el grosor alcanzado sea como mínimo de 3mm, y se tiene en cuenta la temperatura y tiempo de incubación ya que puede necesitarse una cantidad mayor del medio de cultivo.			X		

	4.5.5. preparación de los medios en placa para la inoculación	El laboratorio tiene en cuenta: el grado de humedad, el tipo de bacterias que se van a cultivar, el tiempo y la temperatura de secado y controla la posible contaminación que se pueda presentar.	X		
4.6. incubación de medios sólidos en placas de Petri		El laboratorio controla la pérdida de agua que puede presentar un medio de cultivo durante su incubación.		X	
4.7. Eliminación de los medios		El laboratorio cuenta con la normativa necesaria para el adecuado descarte de los medios de cultivo utilizados y sin utilizar.		X	

5. MICROORGANISMOS DE ENSAYO PARA REALIZAR LAS PRUEBAS DE RENDIMIENTO					
5.1 Generalidades	Las normas nuevas o revisadas deberán especificar las pruebas de rendimiento de los medios de cultivo, incluida la especificación de las cepas de control y los criterios de aceptación.				
5.2 Selección de organismos de ensayo	El laboratorio cuenta con microorganismos con características estables representativas de su especie y que han demostrado ser fiables para la demostración del rendimiento óptimo de un medio preparado en particular.		X		
	Los organismos de ensayo comprenden cepas que están ampliamente disponibles en colecciones de cultivo de referencia, o cepas bien caracterizadas aisladas por el laboratorio.		X		
	El laboratorio examina y registra las características del lote de reserva de referencia.		X		
5.3 Conservación y mantenimiento de los microorganismos de ensayo	5.3.1 Generalidades	El laboratorio documenta el número de transferencias de organismos de ensayo para evitar un sub cultivo excesivo que aumente el riesgo de alteración fenotípica.			X
	5.3.2 Microorganismos de ensayo de origen comercial	El laboratorio obtiene las colecciones de referencia o proveedores comerciales que poseen la certificación ISO 9001 u otra certificación apropiada y se mantienen en sus recipientes originales.		X	
		Verificar si el laboratorio determina si la cepa suministrada es una cepa de referencia o un stock de referencia y cuántos pasajes han tenido lugar antes de la recepción y documentar la información.		X	

		El laboratorio comprueba que las características esperadas de los microorganismos están presentes.	X		
	5-3.3 Lote de reserva de referencia preparados en el laboratorio	Los cultivos de reserva de referencia preparados a partir de cepas de referencia para fines de ensayo de rendimiento se mantienen y manipulan de manera que se minimice la oportunidad de contaminación cruzada, mutación o alteración de características típicas.	X		
		Las existencias de referencia se almacenan en múltiples porciones, congeladas, por debajo de -70 ° C, o liofilizado.	X		
		Las características de crecimiento están completamente documentadas para cada medio sobre el cual se utilizarán como microorganismos de prueba.	X		
		En el laboratorio no se utilizan cultivos de reserva de referencia para preparar cepas de referencia.	X		
	5-3.4 cultivos de reserva	Los cultivos comunes se preparan a partir de reservas de referencia liofilizadas o congeladas.	X		
		Las alícuotas se manipulan de manera que se evite la posible contaminación cruzada del material de referencia y / o su deterioro.	X		
		El laboratorio no utiliza cultivos de reserva para preparar cepas de referencia o reservas de referencia.	X		
	5-3.5 Cultivos de trabajo	El laboratorio no utiliza cultivos de trabajo para preparar cepas de referencia, reservas de referencia o cultivos de existencias, ni para hacer más cultivos de trabajo.	X		
5.4 Microorganismos para pruebas de rendimiento	5-4.1. Generalidades	Se relacionan los microorganismos con los ensayos de rutina.	X		
	5.4.2 Preparación	5.4.2.1 Preparación de los cultivos de reserva. Cuando se necesita se inócula un medio sólido, como TSA con la cepa de referencia de forma que se obtenga colonias individuales.	X		

	5-4.2.2 Preparación de los cultivos de trabajo.	Los cultivos se preparan a partir del stock de referencia (o cuando se requiere el cultivo de reserva) como cultivo en fase estacionaria pura en un caldo no selectivo.			X		
		El cultivo de trabajo se prepara a partir de un material de referencia comercial, RM o CRM, o es preparado por el laboratorio.		X			
		5-4.2.3 Preparación de suspensiones para el ensayo	Se preparan diluciones seriadas en un diluyente adecuado como: solución salina de peptona.		X		
			Las suspensiones se utilizan dentro de un tiempo definido (por ejemplo 2 h a temperatura ambiente o antes de 24 h si se conserva a 5°C ±3).		X		
	5-4.2.4 Volúmenes del inóculo	Los volúmenes del inóculo utilizados en los ensayos cuantitativos de rendimiento deben reflejar los utilizados en las condiciones de ensayo de los correspondientes medios.		X			
	5-4.2.5 Cantidades del inóculo	5-4.2.5.1 Cantidades del inóculo para ensayos de productividad.	5-4.2.5.1.1 Ensayo cuantitativo	Por placa	80 - 120 UFC. Como numero Mínimo 50.	X	
				Por Filtros		X	
			En diluyentes y medios líquidos de transporte	10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup> UFC, para alcanzar un inóculo aprox. 100 UFC en volumen extendido en placa.		X	
		5-4.2.5.1.2	Medios en Placa	10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup> UFC		X	

		Productividad de medios de enriquecimiento	≤100 UFC		X	
		Medios de Transporte solido	10 <sup>4</sup> a 10 <sup>6</sup> UFC			X
	5.4.2-5.2 Cantidades del inóculo para los ensayos de selectividad.	Se inocula sobre la placa o en el interior de tubo del medio una concentración de suspensión del microorganismo no diana que contenga entre 10 <sup>4</sup> a 10 <sup>6</sup> UFC.			X	
	5.4.2-5.3. Cantidades del inóculo para los ensayos de especificidad.	Se inocula una cantidad del inóculo entre 10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup> UFC.			X	
5.4.2.6 Incubación	Los medios de cultivo inoculados se incuban conforme a las condiciones descritas en la correspondiente norma internacional.			X		
	Se utiliza un tiempo más corto de incubación según la normativa internacional para el microorganismo diana y un tiempo más largo durante la determinación de selectividad.					X

6. CONTROL DE CALIDAD Y ENSAYO DE RENDIMIENTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO					
6.1 Requisitos generales	Se toma en cuenta la utilidad del medio con respecto a la recuperación de las células estresadas.		X		
	El control de calidad (cualitativo, cuantitativo) se adapta al uso que se darán a los medios.			X	
	Se comprueba el rendimiento microbiológico de cada lote de medio de cultivo.		X		
	En caso de no poder realizarse una prueba de rendimiento se realizan pruebas de rendimiento paralelas a la prueba de las muestras.				X
6.2. Control de calidad física y química	Los medios de cultivo acabados cumplen con las características físico - químicas especificadas en las normas correspondientes.		X		
	Se debe verificar la calidad mediante inspección visual garantiza que cada medio de cultivo se ajuste a las recomendaciones establecidas en parámetros como: volumen de llenado y/ o grosor; apariencia, color y homogeneidad; consistencia del gel, y contenido de humedad), y se determina el valor del pH.		X		
	Los componentes individuales y los complementos nutritivos o selectivos son sometidos a procedimientos adecuados de evaluación de la calidad.		X		
6.3 control de calidad microbiológica	6.3.1 Generalidades	Los ensayos de rendimiento microbiológico se efectuarán sobre una muestra representativa de un lote de producto final.	X		
	6.3.2 Medio de referencia	Los laboratorios deben asegurar que los medios de referencia utilizados son de alta calidad y consistentes.	X		
	6.3.3 Contaminación microbiana	Se comprueba la ausencia de contaminación microbiana (esterilidad) mediante incubación en condiciones apropiadas, según el tamaño del lote de medio de cultivo.	X		

		Verificar que las muestras a ensayar sean al menos una placa o tubo para lotes pequeños (<100 unidades).	X		
		Se establecen y justifican criterios de aceptación para cada medio.	X		
	6.4.1 Generalidades	Se realizan métodos de ensayo cuantitativos, cuando los medios de cultivo se destinan a fines de recuento.	X		
	6.4.2 Medios listos para su uso	Si los fabricantes de medios comerciales listos para usar tienen un programa de calidad en el lugar y pueden emitir un certificado de calidad (ISO 9001) con los medios que suministran, el usuario debe garantizar que las condiciones de almacenamiento se mantienen según las recomendaciones de los fabricantes.			X
		El laboratorio verifica la documentación para asegurar que los criterios de aceptación de los fabricantes para las pruebas de rendimiento satisfacen sus propios requisitos internos.			X
		Se realizan controles periódicos para demostrar que la calidad de los medios se ha mantenido durante el transporte.			X
		Se realizan controles después del almacenamiento y manipulación posterior en el laboratorio del usuario.			X
	6.4.3 Medios preparados a partir de formulaciones deshidratadas comerciales	Para medios de recuento, se realizarán ensayos cuantitativos. Para otros medios, las pruebas cualitativas pueden ser suficientes.	X		
		Para aquellos medios que contienen indicadores o agentes selectivos, se deben utilizar cepas que demuestren la función del indicador (s) y la selectividad.	X		
	6.4.4 Medios preparados a partir de componentes básicos individuales	Se realiza ensayo cuantitativo para detectar la existencia de desviaciones en la calidad por los materiales básicos utilizados.			X
6.5 Evaluación del rendimiento	Los resultados son aceptados si se cumplen los criterios generales y microbiológicos de calidad.		X		

6.6 Reactivos y medios de confirmación	6.6.1 Medios de confirmación	El rendimiento de los medios de cultivo utilizados para las pruebas de confirmación se verificará antes de su uso.	X		
	6.6.2 Reactivos de confirmación	Se verificará el rendimiento de las soluciones de tinción de Gram, reactivos tales como Kovacs, VP, nitrito, oxidasa, catalasa y otros reactivos utilizados para demostrar una característica bioquímica antes de su uso.	X		

7. MÉTODOS DE ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO SÓLIDOS					
7.1 Generalidades	Describe las pruebas de rendimiento cuantitativo y cualitativo para los medios de cultivo sólidos especificados en los estándares de alimentos y agua.				
7.2 Métodos para las pruebas cuantitativas	7.2.1 Métodos para las pruebas cuantitativas Definiciones.	7.2.1.1. Productividad	La productividad deberá alcanzar un límite mínimo definido.	X	
		7.2.1.2. Selectividad	Los medios de cultivo selectivos y un medio de referencia no selectivo se inoculan con diferentes diluciones del (de los) organismo (s) no objetivo (s).	X	
	7.2.2 Método cuantitativo para medios Sólidos.	7.2.2.1 Generalidades	Este protocolo supone el uso de una suspensión bacteriana cuantificada (que puede ser una suspensión de ensayo/material de referencia cuantitativa) de una concentración apropiada de la cepa diana.		

			7.2.2.1.1 Procedimiento	Se utilizan inóculos y cultivos de trabajo de una concentración adecuada conocida de la cepa diana y cuando corresponda de la no diana.	X		
				Se utilizan una o más placas por cada microorganismo dependiendo el lote de producción.	X		
				Se verifica que la superficie de las placas se ha secado bien.	X		
				Se inocula el inóculo extendiéndolo sobre el medio o mediante filtración en membrana.	X		
			7.2.2.1.2 Cálculos e interpretación de los resultados.	Se calcula PR y SF de acuerdo a la norma	X		
		7.2.2.2 Uso de tasas de recuperación de materiales de		Este protocolo utiliza materiales de referencia generados de forma interna por el laboratorio para proporcionar una suspensión bacteriana estable que contenga un número conocido de unidades formadoras de colonias.			X
7.3. Ensayos de medios de cultivo utilizados	La calidad de los filtros de membrana utilizados deberá evaluarse previamente para demostrar su idoneidad para el uso.					X	
	Si es necesario, para evaluar la influencia de la membrana sobre el resultado, también esparcir el inóculo de ensayo sobre el medio de ensayo y el medio de referencia sin las membranas.						X
7.4. Métodos para los ensayos cualitativos	7.4.1 Método de rayado cualitativo	7.4.1.1 Procedimiento		Para productividad y especificidad, use una placa de medio de prueba y trace cada microorganismo de prueba de manera que se obtengan colonias discretas.	X		
				Para la selectividad, utilice una placa del medio de ensayo y trace cada microorganismo de ensayo como una		X	

		sola línea recta en la superficie del medio de ensayo.			
		Varios microorganismos de ensayo pueden ser rayados en la misma placa que las líneas paralelas sin cruzar; Las rayas deben ser distinguibles para permitir la observación de la morfología típica.		X	
		Incubar las placas bajo las condiciones definidas en el estándar internacional específico.	X		
	7.4.1.2. Interpretación de los resultados	La cantidad de crecimiento en las placas después de la incubación se evalúa como sigue: 0 no corresponde a crecimiento; 1 corresponde a un crecimiento débil (ya sea reducción de la cantidad de crecimiento o tamaño de la colonia); 2 corresponde a un buen crecimiento.		X	
	7.4.2 Determinación de la especificidad	La especificidad se determina por las características fisiológicas indicativas esenciales que diferencian organismos relacionados por la presencia, ausencia y/o grado de expresión de pruebas bioquímicas y por la morfología y tamaño de las colonias.	X		

8. MÉTODOS PARA EL ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE MEDIOS DE CULTIVO LÍQUIDOS					
8.1 Generalidades	Describe métodos cuantitativos y cualitativos para la prueba de rendimiento de medios de cultivo líquidos.				
8.2 Método de tubo cuantitativo para el ensayo de rendimiento de medios de enriquecimiento líquido	8.2.1 Generalidades	Este método es un método general que puede usarse para medios líquidos no selectivos o selectivos. También es adecuado para ensayos de rendimiento de medios líquidos usados para la enumeración.			
	8.2.2 Preparación de la serie de dilución	El laboratorio aplica el procedimiento descrito en la norma para la preparación de la serie de dilución.	X		
	8.2.3 Procedimiento para ensayar el medio líquido	El laboratorio aplica el procedimiento descrito en la norma para ensayar el medio líquido.	X		
	8.2.4 Cálculo e interpretación de los resultados	La productividad del medio de enriquecimiento líquido es satisfactoria si se obtiene un buen crecimiento del microorganismo diana a partir de la dilución que produce menos de 100ufc (en 0,1 mL) en la placa.	X		

8.3. Método cualitativo en tubo para el ensayo del rendimiento de los medios líquidos selectivos	8.3.1 Generalidades	Este método utiliza un objetivo, no objetivo o una mezcla de organismos diana y no objetivo en el mismo tubo.		X		
	8.3.2 Procedimiento	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma (Método del tubo cualitativo para pruebas de rendimiento de medios de líquidos selectivos).			X	
	8.3.3 Cálculo e interpretación de los resultados	La productividad del caldo de ensayo líquido es satisfactoria si se obtiene un buen crecimiento del microorganismo diana en el medio específico para ese organismo. La selectividad del caldo de ensayo líquido es satisfactoria si no se produce crecimiento de microorganismos no diana en la placa de agar no selectiva.		X		
8.4 Método cualitativo en tubo individual (turbidez) para pruebas de rendimiento de los medios líquidos	8.4.1 Generalidades	El método es adecuado para ensayos de rendimiento de medios de cultivo líquidos no selectivos y medios selectivos usados para pruebas de confirmación El método es sólo cualitativo y las puntuaciones son sólo indicativas. Los medios inherentemente turbios sólo pueden ensayarse mediante este método si se sub cultivan en un medio sólido para demostrar crecimiento. Para medios transparentes, se utiliza la siguiente notación: • 0 no tiene turbidez; • 1 es igual a turbidez leve; • 2 equivale a una buena turbidez.				
	8.4.2 Procedimiento	8.4.2.1 Medios de pre enriquecimiento	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma.		X	

		8.4.2.2 Medios de confirmación	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma.	X		
	8.4.3 Interpretación de los resultados	La evaluación cualitativa se llevará a cabo visualmente buscando una buena turbidez (es decir, 2) La evaluación cualitativa de los medios opacos cuando se produce está indicada por la presencia de crecimiento en el medio sólido.			X	
8.5 Medios líquidos para usos múltiples	Realiza un ensayo como mínimo un ensayo cualitativo de pre-enriquecimiento utilizando un organismo patógeno adecuado para el conjunto de métodos del ensayo.					X

### 9. MÉTODOS PARA EL ENSAYO DEL RENDIMIENTO DE DILUYENTES Y MEDIOS DE TRANSPORTE

9.1 Generalidades	Los ensayos de comportamiento microbiológico se realizarán sobre una muestra representativa del lote de producto final.	X		
-------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---	--	--

9.2 Método para el ensayo de los diluyentes	9.2.1 Métodos para el ensayo cuantitativo de diluyentes	9.2.1.1 Generalidades	El método determina la capacidad del diluyente para soportar la supervivencia de los microorganismos sin multiplicación o reducción indebida durante el período de contacto antes de depositar sobre agar o inoculación en medios líquidos.			
		9.2.1.2 Procedimiento	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma.			
		9.2.1.3 Lectura e interpretación de los resultados	Después de la incubación cuente las colonias en las placas $t_0$ y $t_1$ . El número de microorganismos, $t_1$ , después de la incubación del diluyente deberá estar dentro de $\pm 30\%$ del recuento inicial $t_0$ .			
9.3 Método para la prueba de medios de transporte	9.3.1 Generalidades	El método determina la capacidad del medio de transporte para sostener la viabilidad del microorganismo inoculado en él durante el período de transporte sin multiplicación o reducción indebida del nivel inoculado.				
	9.3.2 Método para el ensayo cuantitativo de los medios líquidos de transporte	9.3.2.1 Procedimiento	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma.			
		9.3.2.2 Lectura e interpretación de los resultados	Después de la incubación cuente las colonias en las placas $t_0$ y $t_1$ . El número de microorganismos, $t_1$ , después de la incubación del medio de transporte deberá estar dentro de $\pm 30\%$ del recuento inicial ( $t_0$ ).			

	9.3.3 Método para el ensayo cualitativo de medios sólidos de transporte	9-3.3.1 Procedimiento	El laboratorio aplica el procedimiento descrito por la norma.			X
		9-3.3.2 Lectura e interpretación de los resultados	Después de la incubación, examinar la presencia de crecimiento en el agar no selectivo. Habrá un crecimiento visible de los microorganismos después de la incubación.			X
<b>10 DOCUMENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS</b>						
10.1 Información proporcionada por el fabricante	El fabricante o proveedor de los medios de cultivo proporcionará, previa solicitud, las características específicas de crecimiento microbiológico y la información general relativa al lote específico de medio de cultivo.			X		
10.2 Trazabilidad	Todos los datos de las pruebas de rendimiento de rutina deben documentarse de forma adecuada y mantenerse durante un período de tiempo suficiente de acuerdo con el sistema de calidad en uso.			X		

Diseñado por Ana Herrera; información tomada de UNE-EN ISO 11133 de 2014//A1:2018