

# ***Dirección Técnica de Acreditación***

## ***Instituto Boliviano de Metrología***



<i>Tipo:</i>	<i>Criterio</i>
<i>Código:</i>	<i>DTA-CRI-017</i>
<i>Versión:</i>	<i>2</i>
<i>Título:</i>	<i>Acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos</i>

*Vigente desde: 18 de diciembre de 2012*

**Control de documentos**

<i>Elaborado por:</i>	<i>Diego Moya Alarcón</i>
<i>En fecha:</i>	<i>2009-02-17</i>
<i>Revisado por:</i>	<i>Elizabeth Choque Mamani</i>
<i>En fecha:</i>	<i>2012-12-18</i>
<i>Aprobado por:</i>	<i>Elizabeth Choque Mamani</i>
<i>En fecha:</i>	<i>2012-12-18</i>

<i>Observaciones:</i>	
<i>Nombre de archivo:</i>	<i>DTA-CRI-017 V2 LABORATORIOS MICROBIOLOGICOS</i>

<i>Agradecimientos:</i>	<p><i>Este documento fue posible gracias a la valiosa colaboración y aporte de las siguientes personas:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Angélica Espada Silva – INLASA</i></li><li>• <i>Vesna Boric Bonifaz – INLASA</i></li><li>• <i>Daisy Montiveros Zapata – INLASA</i></li><li>• <i>Eidy Schmitter – LMA – Carrera de Ingeniería Ambiental U.A.G.R.M.</i></li><li>• <i>Maria Eugenia Vásquez Guzmán – EPSAS S.A.</i></li><li>• <i>Maria Luisa Bustamante Estívariz – IMBA S.A.</i></li><li>• <i>Mercedes Iriarte Puña – CASA</i></li><li>• <i>Magali Peralta Landivar – LABROB</i></li><li>• <i>Manuel Miranda Salinas – SIG</i></li></ul>
-------------------------	---

## Contenido

1.	Objeto .....	4
2.	Alcance .....	4
3.	Responsabilidad .....	4
4.	Referencias documentales.....	4
5.	Definiciones .....	5
6.	Introducción .....	7
7.	Directrices para las Cláusulas de la Norma NB-ISO-IEC 17025:2005.....	7
8.	¿Dónde se puede Obtener Mayor Información?.....	16
	ANEXO A: DIRECTRICES PARA EL MANTENIMIENTO DE LOS EQUIPOS .....	17
	ANEXO B: DIRECTRICES PARA LA CALIBRACIÓN Y LOS CONTROLES DE CALIBRACIÓN .....	18
	ANEXO C: UTILIZACIÓN GENERAL DE CEPAS DE REFERENCIA .....	22

## 1. OBJETO

Este documento otorga directrices respecto a la información que los laboratorios acreditados o en proceso de acreditación deben proporcionar para demostrar el cumplimiento de los requisitos de la Norma NB-ISO-IEC 17025:2005 cuando incluyen ensayos microbiológicos dentro del alcance de acreditación.

## 2. ALCANCE

El presente documento es aplicable en los procesos de acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos en alimentos y agua.

## 3. RESPONSABILIDAD

El Responsable de Laboratorios de la DTA del IBMETRO tiene a su cargo asegurar que el presente documento sea difundido entre evaluadores, expertos y laboratorios acreditados o en proceso de acreditación, para asegurar su aplicación.

## 4. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- 4.1 NB-ISO-IEC 17025:2005. Requisitos Generales para la Competencia Técnica de Laboratorios de Calibración y Ensayo.
- 4.2 DTA-CRI-009: Acreditación de laboratorios de ensayo y calibración de acuerdo a al Norma NB-ISO-IEC 17025:2005
- 4.3 DTA-CRI-011: Estimación de la incertidumbre de las mediciones en laboratorios de ensayos
- 4.4 DTA-CRI-015: Política sobre comparaciones interlaboratorios y programas de ensayos de aptitud
- 4.5 DTA-CRI-016: Verificación y validación de métodos
- 4.6 ISO 7218:2007, Microbiología de alimentos y piensos animales – Directrices generales para los ensayos microbiológicos.
- 4.7 ISO 6887-1:1999, Preparación de diluciones.
- 4.8 Guía ISO 30:1992, Términos y definiciones utilizados en relación con los materiales de referencia.
- 4.9 ISO 9000:2005, Sistemas de gestión de la calidad – Fundamentos y vocabulario.
- 4.10 VIM:2008, Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales y términos asociados (VIM)
- 4.11 EA-4/02:1999 Expression of the Uncertainty of Measurement in Calibration
- 4.12 ISO 16140:2003, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Protocol for the validation of alternative methods
- 4.13 ISO/TS 11133-1:2009, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Guidelines on preparation and production of culture media -- Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory
- 4.14 ISO/TS 11133-2:2003, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Guidelines on preparation and production of culture media -- Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media
- 4.15 EN 12741:1999, Biotecnología - Laboratorios de investigación, desarrollo y ensayo – Directrices para las actividades de los laboratorios de biotecnología.
- 4.16 ISO 5725:1994. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y los resultados.  
Parte 1: Principios generales y definiciones  
Parte 2: 1994 (E): Método básico para la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad de un método de medición.  
Parte 4: 1994 (E): Método básico para la determinación de la exactitud de una norma método de medición

- 4.17 AFNOR: 1992, Protocolo de evaluación de métodos alternativos de ensayo cuantitativos por comparación con métodos de referencia.
- 4.18 ISO 11843:1997: Capacidad de detección  
Parte 1: Términos y definiciones,  
Parte 2: Metodología de calibración lineal.
- 4.19 ISO 3534-1:2006: Estadísticas - Vocabulario y símbolos  
Parte 1: Probabilidad y términos estadísticos generales
- 4.20 ISO/TR 13843:2000: Calidad del agua - Directrices para la validación de métodos de microbiología
- 4.21 G-ENAC-04:2002 Guía para la Acreditación de Laboratorios que Realizan Ensayo Microbiológicos
- 4.22 EA-04/10-EA/EURACHEM:2002 Acreditación for Microbiological Laboratories European cooperación for accreditation

## 5. DEFINICIONES

- 5.1 **CALIBRACIÓN:** Operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas y, en una segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permite obtener un resultado de medida a partir de una indicación.

### NOTAS

1 Una calibración puede expresarse mediante una declaración, una función de calibración, un diagrama de calibración, una curva de calibración o una tabla de calibración. En algunos casos, puede consistir en una corrección aditiva o multiplicativa de la indicación con su incertidumbre correspondiente..

2 Conviene no confundir la calibración con el ajuste de un sistema de medida, a menudo llamado incorrectamente "autocalibración", ni con una verificación de la calibración.

3 Frecuentemente se interpreta que únicamente la primera etapa de esta definición corresponde a la calibración.

[VIM: 2008 Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)]

- 5.2 **MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO:** Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades han sido certificados mediante un procedimiento que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresan los valores de dichas propiedades. Cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre y el nivel de confianza correspondiente. [Guía ISO 30:1992].
- 5.3 **LIMITE DE CUANTIFICACIÓN:** Aplicado a ensayos microbiológicos cuantitativos – Número mínimo de microorganismos dentro de una variabilidad definida que puede determinarse en las condiciones experimentales del método evaluado.
- 5.4 **LIMITE DE DETECCIÓN:** Aplicado a ensayos microbiológicos cualitativos – Número mínimo de microorganismos que pueden ser detectados, pero en cantidades que no pueden estimarse con precisión.
- 5.5 **DESVIACIÓN NEGATIVA:** Ocurre cuando el método alternativo da un resultado negativo sin confirmación y el método de referencia da un resultado positivo. Esta desviación se convierte en un resultado negativo falso cuando puede demostrarse que el resultado verdadero es positivo.

- 5.6 DESVIACIÓN POSITIVA:** Ocurre cuando el método alternativo da un resultado positivo sin confirmación y el método de referencia da un resultado negativo. Esta desviación se convierte en un resultado positivo falso cuando puede demostrarse que el resultado verdadero es negativo.
- 5.7 CULTIVOS DE REFERENCIA:** Término colectivo que se refiere a cepas de referencia, cepas de reserva y cultivos de trabajo.
- 5.8 CEPAS DE REFERENCIA:** Microorganismos definidos por lo menos al nivel de género y especie, catalogados y descritos según sus características y preferiblemente de origen conocido. [ISO 11133-1:2000] Normalmente obtenidos de una colección nacional o internacional reconocida.
- 5.9 MATERIAL DE REFERENCIA:** Material o sustancia uno o más de cuyas propiedades tienen valores suficientemente homogéneos y claramente establecidos como para poder ser utilizados en la calibración de un aparato, la evaluación de un método de medida o la asignación de valores a materiales. [Guía ISO 30:1992]
- 5.10 MÉTODO DE REFERENCIA:** Método investigado a fondo, que describe con claridad y exactitud las condiciones y los procedimientos necesarios para medir los valores de una o más propiedades y que ha demostrado tener una exactitud y una precisión apropiadas para el uso que pretende hacerse del mismo, de manera que puede utilizarse para evaluar la exactitud de otros métodos empleados para realizar la misma medición y, en particular, para caracterizar un material de referencia. En general se trata de un método normalizado nacional o internacional.
- 5.11 CEPAS DE RESERVA:** Cepas idénticas obtenidas mediante un único subcultivo de una cepa de referencia. [ISO 11133-1:2000]
- 5.12 EXACTITUD RELATIVA:** Grado de concordancia entre los resultados del método evaluado y los obtenidos utilizando un método de referencia reconocido.
- 5.13 REPETIBILIDAD DE MEDIDA:** Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad. [VIM:2008 Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)]
- 5.14 CONDICION DE REPETIBILIDAD:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo. [VIM:2008 Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)]
- 5.15 REPRODUCIBILIDAD DE MEDIDA:** Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad [VIM:2008 Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)]
- CONDICION DE REPRODUCIBILIDAD:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares. [VIM:2008 Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)]
- 5.16 SENSIBILIDAD:** Fracción del número total de cultivos o colonias positivos que son asignados correctamente con el método utilizado. [ISO 13843:2000]
- 5.17 ESPECIFICIDAD:** Fracción del número total de cultivos o colonias negativos que son asignados correctamente con el método utilizado. [ISO 13843:2000]
- 5.18 CULTIVO DE TRABAJO:** Subcultivo primario obtenido de una cepa de reserva. [ISO

11133-1:2000]

- 5.19 VALIDACIÓN:** Confirmación, mediante la aportación de pruebas objetivas, de que se han cumplidos los requisitos para el uso pretendido o una aplicación específica. [ISO 9000:2000]
- 5.20 VERIFICACIÓN:** Confirmación, mediante la aportación de pruebas objetivas, de que se han cumplido los requisitos establecidos. [ISO 9000:2000]
- 5.21 FALSO POSITIVO (MÉTODO CUALITATIVO):** Resultado positivo cuando el método de referencia da un resultado negativo.
- 5.22 FALSO NEGATIVO (MÉTODO CUALITATIVO):** Resultado negativo cuando el método de referencia da un resultado positivo.
- 5.23 SESGO:** La diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.

**NOTA**

*El sesgo es el error sistemático total en contraste con el error aleatorio. Puede existir uno o más componentes del error sistemático que contribuyen al sesgo. Una mayor diferencia sistemática con respecto al valor de referencia aceptado se refleja por un valor de sesgo mayor (4.9).*

## 6. INTRODUCCIÓN

- 6.1** El presente documento complementa los requisitos establecidos en la norma NB-ISO-IEC 17025:2005 con directrices específicas tanto para los evaluadores como para los laboratorios que realizan ensayos microbiológicos.
- 6.2** Estas directrices son aplicables a todo tipo de mediciones objetivas, ya sean o no rutinarias, o como parte de actividades de investigación y desarrollo. Aunque se han escrito pensando especialmente en ensayos microbiológicos de alimentos y medio ambiente, los principios generales pueden aplicarse también a otras áreas. La norma NB-ISO-IEC 17025:2005 sigue siendo el documento que prevalece y, en caso de conflicto constituirá la base para toma de decisiones por parte de la DTA.
- 6.3** Se considera que los ensayos microbiológicos incluyen pruebas de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (virus, bacterias, hongos y parásitos y sus metabolitos) en diferentes materiales y productos, o cualquier tipo de ensayo en el que se utilicen microorganismos como parte de un sistema de detección, así como la utilización de microorganismos para ensayos ecológicos. De ahí se deduce que algunas de las directrices contenidas en el presente documento, como las referentes a la bioseguridad de los laboratorios, tendrán que ser interpretadas en consecuencia. Este documento puede servir también de orientación para los laboratorios que utilizan técnicas en áreas relacionadas con la microbiología, como bioquímica, biología molecular y cultivos celulares, aunque esos laboratorios pueden tener que cumplir otros requisitos adicionales.
- 6.4** Los requisitos específicos del criterio se encuentran identificados en *itálica* y numerados como en "(G1)".

## 7. DIRECTRICES PARA LAS CLÁUSULAS DE LA NORMA NB-ISO-IEC 17025:2005.

### 4.6 Compras de servicios y de suministros

- G4.6.1a El laboratorio debe asegurar que la calidad de los reactivos y medios de cultivo utilizados sea apropiada para los ensayos realizados. Debe verificar la idoneidad de cada uno de los lotes de reactivos y medios de cultivo*

*críticos para el ensayo, al inicio y durante su período de validez, utilizando microorganismos de control positivo y negativo que sean trazables a colecciones de cultivos nacionales o internacionales.*

*G4.6.2a Siempre que sea necesario, se verificará que los medios de cultivo, diluyentes y otras suspensiones preparadas internamente tengan las características adecuadas con respecto a:*

- a) recuperación o supervivencia de los microorganismos de interés,*
- b) inhibición o supresión de los microorganismos no deseados,*
- c) propiedades bioquímicas (Pruebas diferenciales ),*
- d) propiedades físicas pH, volumen y esterilidad).*

*Para la evaluación de la recuperación o la supervivencia son preferibles los procedimientos cuantitativos.*

**NOTA**

*Se puede utilizar como referencia ISO 11133-1:2009; ISO 11133-2: 2003.*

*G4.6.2b Los materiales de partida (tanto formulaciones comerciales deshidratadas como los componentes individuales) deben conservarse en condiciones apropiadas; en lugar fresco, seco y oscuro. Todos los recipientes, especialmente los que contengan medios deshidratados, deben estar herméticamente cerrados. No deben utilizarse medios deshidratados que presenten apelmazamiento o un cambio de color. Para la preparación de medios debe utilizarse agua destilada, desionizada o de osmosis inversa, libre de sustancias bactericidas, inhibidoras o interferentes, salvo que el método del ensayo especifique otra cosa.*

*G4.6.2c Debe determinarse y verificarse el período de validez de los medios preparados en las condiciones de conservación especificadas.*

*G4.6.2d Cada lote nuevo de medios, diluyentes y otras suspensiones deben ser evaluadas antes de su uso. La recuperación o supervivencia de los microorganismos de interés y la inhibición o supresión de los microorganismos no deseados deben ser evaluadas mediante pruebas cuantitativas o semicuantitativas según corresponda.*

*G4.6.2e Como parte de la validación, el laboratorio tiene que estar debidamente informado de las especificaciones de calidad del fabricante, que como mínimo incluirán lo siguiente:*

- a) Nombre de los medios y lista de componentes, incluido cualquier suplemento*
- b) Período de validez y criterios de aceptabilidad aplicados*
- c) Condiciones de conservación*
- d) Modo de preparación del medio, reactivo o suplemento*
- e) Código de origen*

*G4.6.2f Los lotes de medios deben estar debidamente identificados. Cada lote recibido debe ir acompañado de evidencias del cumplimiento de las especificaciones de calidad. El laboratorio debe asegurar que el fabricante notifique cualquier cambio en las especificaciones de calidad.*

*G4.6.2g Cuando el fabricante del medio suministrado (en una forma directamente utilizable o parcialmente completa) disponga de un sistema de calidad reconocido (por ejemplo, certificación según ISO 9001), el laboratorio podrá verificar en la evaluación inicial que el material suministrado cumple las especificaciones establecidas, partiendo del supuesto de que dicho material*



es homogéneo. En otras circunstancias, será necesario realizar controles adecuados de cada lote recibido.

G4.6.2h *El laboratorio debe asegurar que todos los reactivos (incluidas las soluciones de reserva), medios, diluyentes y otras suspensiones estén debidamente etiquetados, indicando, según sea apropiado, identidad, concentración, condiciones de conservación, fecha de preparación, fecha de caducidad validada y/o períodos recomendados de almacenamiento. Asimismo, los registros deben permitir la identificación de la persona responsable de la preparación.*

## **5.2 Personal**

G5.2.1a *Los ensayos microbiológicos deben ser supervisados por una persona con educación mínima a nivel de licenciatura en carreras cuya formación de base este relacionada con el área de microbiología. El personal de supervisión podrá también realizar los ensayos microbiológicos rutinarios.*

*El personal debe tener la experiencia profesional práctica específica para que se le permita realizar sin supervisión trabajos cubiertos por el alcance de la acreditación, por lo que es necesario que el laboratorio cuente con personal calificado, para poder realizar las diferentes tareas que demanda su trabajo.*

G5.2.1b *Si el laboratorio incluye opiniones e interpretaciones de los resultados de los ensayos en sus informes, éstas deben ser realizadas por personal autorizado y con conocimientos relacionados con la aplicación específica, incluyendo, por ejemplo, requisitos legislativos y tecnológicos y criterios de aceptabilidad, estar calificado en los aspectos de competencia adicional y cumplir con DTA-CRI-009 G-5.2.1.b para dar criterios de interpretación de los resultados de los ensayos.*

G5.2.2a *La dirección del laboratorio debe asegurar que todo el personal haya recibido formación adecuada para que sean competentes en la realización de los ensayos y en el manejo de los equipos. Dicha formación incluirá entrenamiento en técnicas básicas y de aplicación y la aceptabilidad se determinará aplicando criterios objetivos. El personal sólo podrá realizar ensayos de muestras cuando se haya reconocido su competencia para hacerlo, o cuando lo haga bajo la supervisión adecuada. Se comprobará con criterios objetivos que el personal sigue siendo competente y se proporcionará de nuevo formación siempre que sea necesario. Cuando un método o técnica no se utilice de manera regular, puede que sea necesario verificar la competencia del personal antes de realizar el ensayo. Se establecerá y documentará el intervalo crítico entre la realización de sucesivos ensayos. La interpretación de los resultados de los ensayos para la identificación y verificación de microorganismos depende en gran medida de la experiencia del analista que realiza el ensayo y debe vigilarse periódicamente con cada analista.*

## **5.3 Instalaciones y condiciones ambientales**

G5.3.1 *En lo posible las áreas de trabajo deben contar con un sistema de aire acondicionado, con filtros adecuados para mantener una ventilación adecuada y una temperatura máxima de 25 °C.*

G5.3.2 *El laboratorio debe establecer un procedimiento adecuado de control de condiciones ambientales (ambientes y superficies) con límites aceptables bajo un procedimiento documentado para tomar acciones que corrijan las situaciones en que se sobrepasen dichos límites. El análisis de los datos debe detectar tendencias en los niveles de contaminación microbiológica,*

- además de contar con un procedimiento específico de limpieza, descontaminación y control de plagas (Vease G 5.3.5.d)
- G5.3.4 *El acceso al laboratorio microbiológico debe restringirse a personal autorizado. Cuando exista este tipo de restricciones, el personal debe conocer:*
- las áreas restringidas;;*
  - las restricciones impuestas al trabajo que puede realizarse en dichas áreas;*
  - las razones para imponer esas restricciones;*
  - los niveles de contaminación apropiados.*
- G5.3.3a *El laboratorio debe tomar las medidas necesarias para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada. Este objetivo puede conseguirse, mediante la adopción de las siguientes medidas:*
- Construir el laboratorio conforme a un diseño “Flujo sin retorno”;*
  - Realizar los procedimientos de una manera secuencial utilizando medidas apropiadas para asegurar la integridad de los ensayos y las muestras (por ejemplo, utilizando recipientes herméticos);*
  - separar las actividades en el tiempo o en el espacio.*
- G5.3.3b *En general, es conveniente que existan áreas separadas o claramente designadas para las siguientes actividades:*
- recepción y almacenamiento de muestras;*
  - preparación de muestras tomando en cuenta la naturaleza y grado de contaminación de las mismas;*
  - siembra e incubación;*
  - lectura y confirmación;*
  - preparación y esterilización de medios de cultivo y reactivos;*
  - mantenimiento de microorganismos de referencia;*
  - descontaminación;*
  - lavado.*
- Los equipos del laboratorio no deben moverse habitualmente entre las distintas áreas, para evitar una contaminación cruzada accidental. Para ensayos de biología molecular, debe disponerse de pipetas, puntas, centrifugadoras, tubos, etc. de uso exclusivo para cada área de trabajo (áreas de trabajo con una carga baja-media-alta de ADN).*
- G5.3.5a *Las áreas de trabajo deben ser suficientemente espaciosas como para poder mantenerse limpias y ordenadas. El espacio requerido dependerá del volumen de ensayos realizados y de la organización interna del laboratorio. Dicho espacio tendrá que cumplir los requisitos de la legislación nacional, siempre que ésta exista.*
- G5.3.5b *La contaminación puede reducirse adoptando las siguientes medidas:*
- superficies lisas en paredes, techos, suelos y mesas de trabajo (se considera que una superficie es lisa cuando puede limpiarse fácilmente). No se recomienda el empleo de madera como material de revestimiento;*
  - en lo posible uniones cóncavas entre suelos, paredes y techos;*
  - apertura mínima de ventanas y puertas mientras se realicen los ensayos;*

- d) *evitar que las tuberías que transportan líquidos pasen por encima de las superficies de trabajo, salvo que estén provistas de un revestimiento herméticamente sellado;*
- e) *filtros para el polvo en las entradas de aire del sistema de aire acondicionado;*
- f) *en lo posible contar con instalación de lavamanos de accionamiento no manual;*
- g) *armarios hasta el techo;*
- h) *evitar las maderas rugosas y sin revestir;*
- i) *superficies de madera, de instalaciones y accesorios, debidamente selladas y revestidas con pintura lavable;*
- j) *materiales y equipos colocados de forma que se facilite su limpieza;*
- k) *ausencia de mobiliario, documentos u objetos que no sean los estrictamente necesarios para la realización de los ensayos.*

*Esta lista no es exhaustiva y no todos los ejemplos podrán aplicarse en todas las situaciones.*

*Lo ideal es que los techos sean lisos y con iluminación empotrada. Cuando esto no sea posible (como ocurre con techos suspendidos e iluminación colgante), el laboratorio debe disponer de evidencias documentadas demostrando que controla cualquier riesgo para la higiene y que dispone de medios eficaces para superar esos riesgos.*

- G5.3.5c *Cuando los laboratorios estén situados dentro de fábricas, el personal debe ser consciente del peligro de contaminación de las áreas de producción y demostrar que se han adoptado las medidas apropiadas para evitar que eso ocurra.*
- G5.3.5d *El laboratorio debe establecer un procedimiento de limpieza para las instalaciones, los equipos y las superficies, teniendo en cuenta los resultados del control de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada. Asimismo, debe disponer de un procedimiento para el tratamiento de vertidos accidentales.*
- G5.3.5e *El laboratorio debe adoptar medidas para evitar la acumulación de polvo, disponiendo de espacio suficiente para fines de almacenamiento, reduciendo al mínimo el trabajo con papeles en el laboratorio y no permitiendo la presencia de plantas y objetos personales innecesarios en el área de trabajo del laboratorio.*
- G5.3.5f *En el laboratorio microbiológico se utilizará una indumentaria apropiada para el tipo de ensayos que se realicen (en caso necesario, con protectores para el cabello, boca, manos, pies, etc.). El personal se despojará de dicha indumentaria antes de abandonar el área. Esto es especialmente importante en el laboratorio de biología molecular, donde, por ejemplo, el paso de un área con una elevada carga de ADN a otra con una baja carga de ADN puede producir contaminación cruzada involuntaria.*

#### **5.4 Métodos de ensayo y de calibración y validación de los métodos**

- G5.4.5.2a *La validación de los métodos de ensayo debe reflejar las condiciones reales de ensayo. Esto puede conseguirse utilizando productos contaminados naturalmente o productos inoculados con una población conocida de microorganismos contaminantes. El analista debe ser consciente que la inoculación de una matriz con microorganismos contaminantes imita tan sólo de una manera superficial la presencia de contaminantes naturales. No*

*obstante, a menudo es la mejor y la única solución disponible. La extensión de la validación necesaria dependerá del método y su aplicación. El laboratorio debe validar los métodos normalizados aplicados a matrices que no se especifiquen en el procedimiento normalizado.*

- G5.4.5.2b Los laboratorios deben mantener los datos sobre validación de los sistemas de ensayo comerciales (kits) que utilicen. Estos datos pueden obtenerse de ejercicios de intercomparación o de datos sobre validación remitidos por los fabricantes y sujetos a la evaluación de una tercera parte (p. ej., AOAC). Si no se dispone de datos sobre validación o si éstos no son plenamente aplicables, el laboratorio será responsable de completar la validación del método.*
- G5.4.5.2d Para demostrar que la versión modificada de un método de ensayo cumple las mismas especificaciones que el método original, deben realizarse comparaciones realizando replicas de los ensayos. El diseño experimental y el ensayo de los resultados deben ser estadísticamente válidos.*
- G5.4.5.2e Incluso cuando se haya realizado la validación, el laboratorio tendrá que verificar periódicamente que se cumplen los parámetros documentados, utilizando, por ejemplo, muestras inoculadas o materiales de referencia incorporados a las matrices más representativas.*
- G5.4.6.2a Los ensayos microbiológicos no permiten realizar un cálculo riguroso, metrológica y estadísticamente válido, de la incertidumbre de medida. En general, puede ser apropiado basar la estimación de la incertidumbre en datos sobre la repetibilidad y la reproducibilidad exclusivamente, aunque lo ideal es incluir los sesgos (p. ej., los sesgos detectados como resultado de la participación en ensayos de aptitud). El laboratorio debe identificar los distintos componentes individuales de la incertidumbre y demostrar que están bajo control y evaluar su contribución a la variabilidad de los resultados. Algunos componentes (como los efectos del pipeteado, el pesado y las diluciones) pueden medirse directamente y evaluarse fácilmente para demostrar que realizan una contribución insignificante a la incertidumbre global. Otros componentes (como la estabilidad y preparación de las muestras) no pueden medirse directamente y su contribución tampoco puede evaluarse por métodos estadísticos, pero su importancia en la variabilidad de los resultados debe ser también considerada.*
- G5.4.6.2b El concepto de incertidumbre no puede aplicarse directamente a los resultados de los ensayos cualitativos como los obtenidos en los ensayo de detección o en los de determinación de atributos para fines de identificación. (Véase DTA-CRI-011 G2) No obstante, deben identificarse las distintas fuentes de variabilidad, como la homogeneidad de los reactivos y la interpretación de los analistas, y demostrar que se controlan dichas fuentes.*
- G5.4.6.3a Se espera que los laboratorios acreditados que realizan ensayos microbiológicos conozcan la probable distribución de microorganismos según las matrices a ensayar y tener eso en cuenta a la hora de obtener submuestras. Ahora bien, no se recomienda que este componente de la incertidumbre se incluya en las estimaciones salvo que las necesidades del cliente dicten lo contrario. El principal motivo de esto, es que la incertidumbre asociada a la distribución de microorganismos en la matriz del producto no depende de la actuación del laboratorio, pudiendo depender exclusivamente de las propias muestras analizadas. Además, los métodos de ensayo deben especificar el tamaño de la muestra que debe utilizarse teniendo en cuenta la escasa homogeneidad de la misma.*

## 5.5 Equipos

G5.5.1 *El laboratorio debe adoptar medidas para evitar la contaminación cruzada causada por los equipos, como las siguientes:*

- a) *el material desechable debe estar limpio y estéril, en función de su uso;*
- b) *el material de vidrio reutilizable debe estar debidamente limpio y estéril, en función de su uso;*
- c) *los laboratorios deberán disponer de dos autoclaves: una específica para descontaminación y otra para esterilización. Ambos deberán contar con procedimientos para controlar las condiciones ambientales tanto externas (Véase G 5.3.2) como internas de la autoclave.*

G5.5.6a *El mantenimiento de los equipos esenciales debe realizarse a intervalos especificados dependiendo de factores tales como la frecuencia de uso. Se mantendrá un registro detallado de todas las operaciones realizadas. En el Anexo A pueden encontrarse ejemplos del mantenimiento de los equipos y de la frecuencia del mismo.*

G5.5.6b *El mantenimiento, en general, de los siguientes equipos consistirá en limpieza y revisión, inspección de daños, verificación general y, si procede, esterilización:*

- a) *material de uso general – recipientes de vidrio o plástico (matraces, tubos de ensayo), placas petri de cristal o plástico, instrumentos de muestreo, asas de siembra de platino, níquel/cromo o material de plástico desechable;*
- b) *aparatos de filtración baños termostáticos, estufas, cabinas de seguridad microbiológica, autoclaves, homogeneizadores, refrigeradores, congeladores;*
- c) *material volumétrico, como pipetas, dispensadores automáticos, sembradores en espiral;*
- d) *instrumentos de medida, como termómetros, cronómetros, balanzas, pHmetros, contadores de colonias.*

## 5.6 Trazabilidad de las mediciones

G5.6.3.1 *El laboratorio debe establecer un programa de calibración y verificación de los equipos que puedan influir directamente en los resultados de los ensayos. La frecuencia de esas calibraciones y verificaciones se establecerá en función de la experiencia documentada y dependerá del uso, el tipo y el funcionamiento previo de los equipos. Los intervalos entre sucesivas calibraciones y verificaciones serán más cortos que el período de tiempo durante el cual se han observado desviaciones de los equipos fuera de los límites aceptables. En el Anexo B pueden encontrarse ejemplos de los intervalos de calibración y las verificaciones típicas de las características técnicas para diferentes equipos e instrumentos de laboratorio.*

G5.6.3.2a *Las cepas de referencia son necesarias para demostrar que los medios (incluidos los kits de ensayo) poseen características aceptables, para validar métodos y para controlar que se mantienen sus características. La trazabilidad es necesaria, por ejemplo, al establecer las características de los medios utilizados en kits de ensayo y validaciones de métodos. Para demostrar la trazabilidad, el laboratorio debe utilizar cepas de referencia de microorganismos obtenidos directamente de una colección nacional o internacional reconocida, cuando exista alguna. Alternativamente también podrían utilizarse cepas comerciales siempre que el laboratorio pueda*

*demostrar en el momento de su uso que todas las propiedades relevantes son equivalentes.*

*G5.6.3.2b Las cepas de referencia podrán ser subcultivadas una vez para obtener cepas de reserva, realizando en paralelo los controles de pureza y ensayos bioquímicos que sean necesarios. Se recomienda conservar las cepas de reserva en alícuotas ultra congeladas o liofilizadas (véase en el Anexo C la preparación de cepas de trabajo). Si las cepas de reserva se han descongelado, no deben volver a congelarse y reutilizarse.*

**NOTA**

*Para más referencias, utilizar las directrices contenidas en la norma ISO 11133-1:2009,*

*G5.6.3.2c Las cepas de trabajo no deben ser subcultivadas, salvo que así se requiera y se defina en un método normalizado o que el laboratorio pueda aportar evidencias documentadas de que no se ha producido ningún cambio en ninguna propiedad importante. Las cepas de trabajo no deben ser subcultivadas para sustituir cepas de reserva. Los derivados comerciales de cepas de referencia pueden utilizarse sólo como cepas de trabajo.*

**5.7 Muestreo**

*G5.7.1a En muchos casos, los laboratorios de ensayo no son responsables del muestreo inicial para obtener los especímenes del ensayo. En caso que lo sean, es muy recomendable que el muestreo esté cubierto por un sistema de aseguramiento de la calidad, e idealmente, por una acreditación.*

*G5.7.1b El submuestreo realizado por el laboratorio inmediatamente antes del ensayo se considera parte del método de ensayo y debe efectuarse conforme a normas nacionales o internacionales, si es que existen, o a métodos internos validados. Los procedimientos de submuestreo deben diseñarse teniendo en cuenta la distribución heterogénea de los microorganismos.*

**NOTA**

*Pueden encontrarse directrices generales en ISO 6887-1:1999 e ISO 7218:2007*

*G5.7.3a El transporte y conservación de las muestras debe hacerse en condiciones apropiadas para mantener su integridad (por ejemplo, refrigeradas o congeladas, según sea necesario). Dichas condiciones deben ser controladas, manteniendo un registro de las mismas. Se documentará claramente el nombre de la persona responsable por el transporte, la conservación de las muestras entre el muestreo y su entrega al laboratorio de ensayo. Una vez obtenidas las muestras, se analizarán a la brevedad posible.*

*G5.7.3b El muestreo debe ser realizado únicamente por personal debidamente calificado. El muestreo se efectuará en condiciones asépticas utilizando material estéril. Cuando sea aplicable, las condiciones ambientales, como la contaminación atmosférica y la temperatura, se vigilarán y registrarán en el lugar del muestreo. Asimismo, se registrará la hora en que se realiza el muestreo.*

**5.8 Manipulación de los ítems de ensayo o de calibración**

*G5.8.1a Debe existir un procedimiento documentado para la conservación y eliminación de muestras. Las muestras deben conservarse hasta que se haya obtenido los resultados del ensayo. Todas las porciones de muestras de ensayo del laboratorio son consideradas altamente contaminadas, por lo*

que deben ser sometidas a un tratamiento de descontaminación antes de su eliminación.

- G5.8.1b *Es importante una correcta eliminación de materiales contaminados utilizados para la realización del ensayo, aunque no afecte directamente a la calidad de los ensayos de las muestra, para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación del lugar donde se realiza el ensayo o los materiales utilizados en el mismo. No obstante, es un aspecto de la correcta gestión de un laboratorio y debe respetarse la legislación nacional e internacional sobre medio ambiente, salud y seguridad.*

**NOTA**

*Pueden encontrarse directrices generales en ISO 7218:2007*

- G5.8.2 *El laboratorio debe disponer de procedimientos para la recepción e identificación de muestras. Si la muestra es insuficiente o se encuentra en mal estado por deterioro físico, temperatura inapropiada, envase roto o etiquetado defectuoso, el laboratorio debe hacer conocer al cliente estos aspectos y su influencia en los resultados antes de decidir si se ensaya o rechaza la muestra. En cualquier caso, se debe indicar su estado en el informe del ensayo.*
- G5.8.3a *La flora microbiana puede ser sensible a factores tales como temperatura o tiempo de almacenamiento y transporte, por lo que es importante verificar, registrar el estado y condiciones de la muestra al momento de la recepción en el laboratorio.*
- G5.8.3b *El laboratorio debe registrar toda la información relevante y, en particular, lo siguiente:*
- a) *fecha y hora de recepción de la muestra;*
  - b) *estado de la muestra en el momento de su entrega al laboratorio y, cuando sea necesario, temperatura;*
  - c) *características de la operación de muestreo (fecha de muestreo, condiciones de muestreo, etc.).*
- G5.8.4 *Las muestras que se encuentren a la espera de ser analizadas deben almacenarse de acuerdo a su naturaleza en condiciones adecuadas para reducir al mínimo cualquier modificación en la población microbiana presente. El laboratorio debe definir y registrar dichas condiciones de conservación.*

**5.9 Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración**

- G5.9.1a *El laboratorio debe implementar un programa de control de calidad para demostrar que controla la variabilidad (por ejemplo, entre analistas, entre equipos o materiales, etc.).*

*Dicho programa debe abarcar todos los ensayos incluidos en el alcance de acreditación del laboratorio. El programa puede incluir:*

- a) *el uso de muestras inoculadas*
- b) *el uso de materiales de referencia (incluidos los materiales utilizados en ensayos de aptitud)*
- c) *uso de duplicados*
- d) *recuentos cruzados entre analistas*

*El intervalo entre estos controles dependerá del diseño del programa y del número de ensayos realizados. Es recomendable que, en la medida de lo posible, los ensayos incluyan controles para evaluar sus resultados.*

G 5.9.1b *En circunstancias especiales, un laboratorio puede estar acreditado para realizar un ensayo que rara vez se demanda. Se reconoce que, en tales casos, un programa continuo de control interno de la calidad no siempre será apropiado, siendo preferible un sistema que se realice en paralelo al ensayo y que demuestre que los resultados son satisfactorios.*

#### **5.10 Informe de los resultados**

G5.10.1 *Si no existe desarrollo de colonias en la mínima dilución empleada expresar como “menor a 1,0 por la mínima dilución empleada” Ej:  $<1,0 \times 10^1$ . El resultado no debe expresarse como “cero para una unidad definida” salvo que sea un requisito reglamentario. Los resultados de los ensayos cualitativos deben expresarse como “detectado/no detectado en una cantidad o volumen definidos”. También pueden expresarse como “presencia/ausencia en una cantidad o volumen definidos” g o ml **Ej: Ausencia de Salmonella en 25 g***

G5.10.3 *Cuando en el informe de un ensayo se exprese una estimación de la incertidumbre, tendrá que indicarse claramente al cliente cualquier limitación existente (especialmente si la estimación no incluye la contribución de la distribución de microorganismos dentro de la muestra).*

### **8. ¿DÓNDE SE PUEDE OBTENER MAYOR INFORMACIÓN?**

Si requiere mayor información sobre los temas expuestos en este documento, dirigir sus solicitudes a:

**Dirección Técnica de Acreditación – DTA**  
**Instituto Boliviano de Metrología - IBMETRO**  
Avenida Camacho 1488 – Edificio Anexo  
Teléfono/Fax +591 2 237-2046  
La Paz – BOLIVIA  
Email: [acreditacion@ibmetro.gob.bo](mailto:acreditacion@ibmetro.gob.bo)  
URL: [www.ibmetro.gob.bo/acreditacion](http://www.ibmetro.gob.bo/acreditacion)



## ANEXO A: DIRECTRICES PARA EL MANTENIMIENTO DE LOS EQUIPOS

La información que se facilita es meramente orientativa. La frecuencia dependerá de la necesidad, el tipo y las características previas de cada equipo.

TIPO DE APARATO	REQUISITO	FRECUENCIA SUGERIDA
a) Incubadores b) Refrigeradores c) Congeladores, estufas	Limpiar y desinfectar las superficies internas	a) Mensualmente b) Según sea necesario (p. ej., cada 3 meses) c) Según sea necesario (p. ej., anualmente)
Baños maría	Vaciar, limpiar, desinfectar y rellenar	Según la frecuencia de uso (p.ej. semanalmente, mensualmente, o periodos mayores si se utiliza un biocida)
Centrifugas	a) Revisar b) Limpiar y desinfectar	a) Anualmente b) Con cada uso
Autoclaves	a) Verificar visualmente la junta, limpiar y drenar la cámara b) Revisión completa c) Control de seguridad del vaso de presión	a) Periódicamente, según las recomendaciones del fabricante b) Anualmente o según las recomendaciones del fabricante c) Anualmente
Cabinas de seguridad Cabinas de flujo laminar	Revisión completa y comprobación mecánica	Anualmente o según las recomendaciones del fabricante
Microscopios	Revisión completa de mantenimiento	Anualmente
pH – metros	Limpiar electrodos	Con cada uso
Balanzas, diluidores gravimétricos	a) Limpiar b) Revisar	a) Con cada uso b) Anualmente
Destiladores	Limpiar y desincrustar	Según sea necesario (p. ej., cada 3 meses)
Desionizadores, unidades de ósmosis inversa	Sustituir cartucho y membrana	Según las recomendaciones del fabricante
Jarras de anaerobiosis	Limpiar y desinfectar	Después de cada uso
Distribuidores de medios, material volumétrico, pipetas, material de uso general	Descontaminar, limpiar y esterilizar cuando sea apropiado	Con cada uso
Sembradores en espiral	a) Revisar b) Descontaminar, limpiar y esterilizar	a) Anualmente b) Con cada uso
Laboratorio	a) Limpiar y desinfectar las superficies de trabajo b) Limpiar suelos, desinfectar desagües y pilas c) Limpiar y desinfectar otras superficies	a) Diariamente, y durante el uso b) Semanalmente c) Cada 3 meses

## ANEXO B: DIRECTRICES PARA LA CALIBRACIÓN Y LOS CONTROLES DE CALIBRACIÓN

### Equipos para medir la temperatura

Cuando la temperatura tenga un efecto directo en el resultado de un ensayo o sea crítica para el correcto funcionamiento de un equipo, los equipos utilizados para medir la temperatura, como termómetros de columna líquida, termopares y termómetros de resistencia de platino (TRP) utilizados en estufas y autoclaves, tendrán que ser de una calidad apropiada para conseguir la precisión requerida.

La calibración de estos equipos debe ser trazable a patrones nacionales o internacionales de temperatura. Cuando la precisión lo permita, podrán utilizarse instrumentos que puedan demostrar el cumplimiento de especificaciones de fabricación apropiadas y aceptadas en el ámbito nacional o internacional (por ejemplo la Norma ISO 1770 para los termómetros de columna líquida). Estos instrumentos pueden utilizarse, por ejemplo, para controlar la temperatura de frigoríficos y congeladores, y también de estufas y baños termostáticos cuando lo permita la tolerancia admitida en torno a la temperatura definida. El laboratorio debe verificar el correcto funcionamiento de estos instrumentos.

### Incubadores, baños termostáticos, estufas

El laboratorio debe establecer inicialmente y documentar la estabilidad de la temperatura, la uniformidad de su distribución y el tiempo necesario para conseguir las condiciones de equilibrio en incubadores, baños termostáticos, estufas y salas con temperatura controlada, en particular con respecto a los usos típicos (por ejemplo, posición, espacio entre y altura de las pilas de placas Petri). La constancia de las características registradas en la validación inicial de los equipos debe verificarse y registrarse después de cualquier reparación o modificación importante. Los laboratorios deben controlar la temperatura de funcionamiento de este tipo de equipos y conservar registros.

### Autoclaves, incluidos los preparadores de medios

A continuación se resume el procedimiento más habitual para la calibración, verificación inicial y control del funcionamiento de estos equipos. No obstante, se reconoce que los ensayo cuantitativos de materiales y especímenes procesados en el autoclave capaces de demostrar una variación aceptable dentro de un lote y entre diferentes lotes pueden proporcionar una garantía de calidad equivalente.

- a) Las autoclaves deben cumplir las tolerancias de tiempo y temperatura especificadas. No es aceptable la utilización de autoclaves provistas sólo de un manómetro. Los sensores utilizados para controlar o vigilar los ciclos tienen que ser calibrados, además de verificar el correcto funcionamiento de los cronómetros.
- b) La validación inicial debe incluir estudios de funcionamiento (estudios de la distribución espacial de la temperatura) para los distintos ciclos y las distintas configuraciones de la carga que se utilicen en la práctica. Este proceso tiene que repetirse después de cada reparación o modificación importantes (como sustitución del termostato o programador, disposición de la carga, ciclo de operación) o cuando así lo indiquen los resultados de los controles de calidad realizados a los medios. Debe colocarse controles biológicos y/o controles de temperatura periódicamente que permita demostrar el correcto funcionamiento del equipo en temperaturas y tiempos utilizados para poder demostrar diferencias según la colocación. En el caso de preparadores de medios, cuando no se pueda demostrar un calentamiento uniforme de otra manera, en general es necesario utilizar dos sensores, uno colocado al lado del sensor de temperatura y el otro lejos de él. Tanto en la validación inicial como en las validaciones posteriores debe considerarse la idoneidad de los tiempos de subida y bajada de la temperatura, así como el tiempo que se mantiene la temperatura de esterilización)

- c) El laboratorio debe establecer instrucciones claras de funcionamiento basándose en los perfiles de calentamiento determinados para los usos típicos durante la validación inicial y las posteriores. Debe establecer criterios de aceptación/rechazo y mantener un registro de las operaciones del autoclave, incluida la temperatura y el tiempo, para cada ciclo.
- d) El control puede realizarse mediante una de las siguientes formas:
  - i. utilizando un termopar y un aparato registrador para obtener un gráfico impreso;
  - ii. por observación directa y registro de la temperatura máxima alcanzada y el tiempo que se mantiene esa temperatura.

Además de controlar directamente la temperatura del autoclave, puede comprobarse la eficacia de su funcionamiento durante cada ciclo mediante la utilización de indicadores químicos y biológicos para fines de esterilización y descontaminación. La cinta de autoclave o las tiras indicadoras deben utilizarse sólo para distinguir que una carga ha sido sometida a tratamiento térmico, pero no para demostrar que ha finalizado un ciclo aceptable.

### **Pesas y balanzas**

Las pesas y balanzas deben calibrarse a intervalos regulares, demostrando su trazabilidad (de acuerdo al uso previsto).

### **Material volumétrico**

- a) Los laboratorios de microbiología pueden utilizar material volumétrico como dispensadores automáticos, dispensadores/diluidores, pipetas manuales o automáticas y pipetas desechables. Los laboratorios deben realizar una verificación inicial del material volumétrico y, a partir de ahí, controles periódicos para garantizar que los equipos cumplen en todo momento las especificaciones requeridas. Dicha verificación no será necesaria con el material de vidrio que haya sido certificado para una tolerancia específica. En los equipos se verificará la exactitud del volumen dispensado frente al volumen prefijado (para varios volúmenes cuando se trate de instrumentos de volumen variable) y se determinará la precisión de los volúmenes dispensados repetidas veces.
- b) Es conveniente que el material volumétrico desechable “de un solo uso” sea suministrado por empresas con un sistema de calidad reconocido y relevante. Después de la validación inicial de la idoneidad del material, se recomienda realizar controles aleatorios de su exactitud. Si la empresa proveedora no tiene un sistema de calidad reconocido, el laboratorio debe verificar cada lote de material.

### **Otros equipos**

Los conductivímetros, los medidores de oxígeno, los pH-metros y otros instrumentos similares deben calificarse de acuerdo al DTA-CRI-014 y verificarse periódicamente o antes de cada uso. Los tampones utilizados en estas verificaciones deben conservarse en condiciones apropiadas y marcarse con la fecha de caducidad.

Si la humedad influye en el resultado del ensayo, los higrómetros deberán calibrarse, siendo la calibración trazable a patrones nacionales o internacionales. Los cronómetros, incluido los de las autoclaves, deben verificarse utilizando un cronómetro calibrado o la señal horaria nacional. Cuando se utilizan centrifugadoras en los procedimientos de ensayo, debe evaluarse si la fuerza centrífuga se puede considerar crítica. En el caso de que sea crítica, la centrifugadora tendrá que ser calibrada.

La información que se facilita es meramente orientativa. La frecuencia dependerá del uso, tipo y resultados previos de cada equipo.

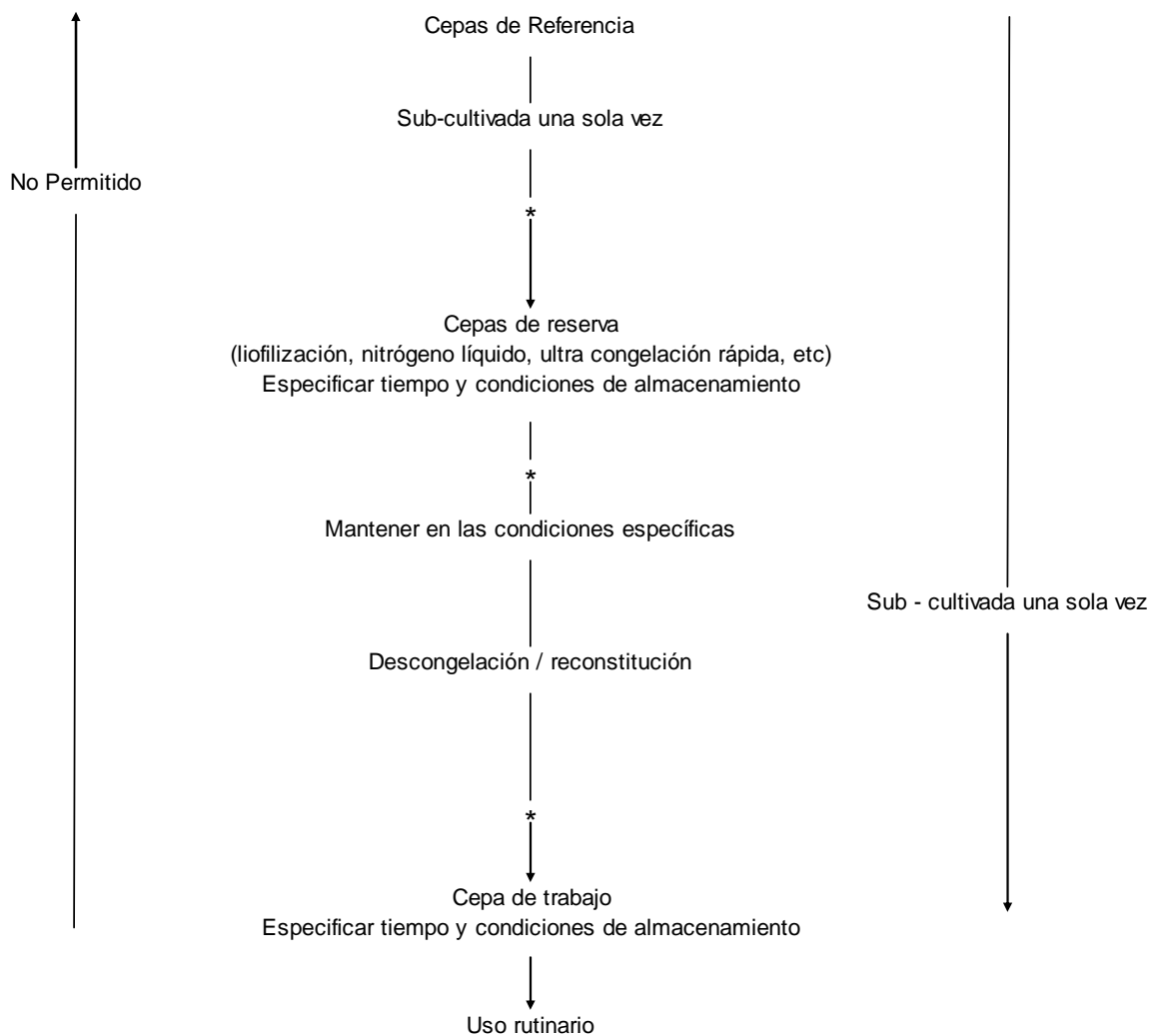
TIPO DE APARATO	REQUISITOS	FRECUENCIA SUGERIDA
Termómetros de referencia (líquido en vidrio)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Recalibrado plenamente trazable</li> <li>▪ Punto único (p. ej. Punto de congelación)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cada 5 años</li> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Termopares de Referencia	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Recalibración plenamente trazable</li> <li>▪ Verificar frente a termómetro de referencia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cada 3 años</li> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Termómetros de trabajo Termopares de trabajo	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Verificar frente a termómetro de referencia en punto de congelación y/o rango de temperaturas de trabajo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Balanzas	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración plenamente trazable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Pesas de calibración	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración plenamente trazable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cada 5 años</li> </ul>
Pesas de Control	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Verificar frente a pesa calibrada o verificar en la balanza inmediatamente después de la calibración trazable.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Material volumétrico de cristal	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración gravimétrica a la tolerancia requerida</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Microscopios	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración trazable del micrómetro del portaobjetos (cuando sea necesario)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Inicialmente</li> </ul>
Higrómetros	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración trazable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>
Centrifugas	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Calibración trazable o verificar frente a tacómetro independiente, según sea apropiado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anualmente</li> </ul>

Para la verificación de equipos se podría considerar las siguientes actividades

TIPO DE APARATO	REQUISITOS	FRECUENCIA SUGERIDA
Aparatos con temperatura controlada (Incubadores, baños, refrigeradores, baños, refrigeradores, congeladores)	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar la estabilidad y uniformidad de la temperatura</li> <li>b) Verificar la temperatura</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación</li> <li>b) Diariamente con cada uso</li> </ol>
Estufas de esterilización	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar la estabilidad/uniformidad de la temperatura</li> <li>b) Verificar la temperatura</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación</li> <li>b) Diariamente con cada uso</li> </ol>
Autoclaves	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar las características para cargas/ciclos</li> <li>b) Verificar la temperatura/tiempo</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Inicialmente, cada 2 años y después de una reparación/modificación</li> <li>b) Diariamente después de cada uso</li> </ol>
Cabinas de seguridad	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar las características técnicas</li> <li>b) Control microbiológico</li> <li>c) Verificar la velocidad del aire</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Inicialmente, todos los años y después de una reparación/modificación</li> <li>b) Semanalmente</li> <li>c) Con cada uso</li> </ol>
Cabinas de Flujo Laminar	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Verificar las características técnicas</li> <li>b) Verificar la esterilidad</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>a) Inicialmente, y después de una reparación/modificación</li> <li>b) Semanalmente</li> <li>c) Con cada uso</li> </ol>

TIPO DE APARATO	REQUISITOS	FRECUENCIA SUGERIDA
Cronómetros	Verificar frente a señal horaria nacional	Anualmente
Microscopios	Verificar Alineación	Diariamente/con cada uso
pH metros	Ajustar utilizando como mínimo dos tampones de la calidad adecuada	Diariamente/con cada uso
Balanzas	Ajusta el cero y verificar con la pesa de control	Diariamente/con cada uso
Desionizadores y Unidades de ósmosis inversa	a) Verificar la conductividad b) Verificar la contaminación microbiana	a) Semanalmente b) Mensualmente
Diluidores gravimétricos	a) Verificar el peso el volumen distribuido b) Verificar el coeficiente de dilución	a) Diariamente b) Diariamente
Distribuidores de medios	Verificar el volumen distribuido	Con cada ajuste o reposición
Pipetas Automáticas	Verificar la exactitud y precisión del volumen distribuido	Periódicamente (dependerá de la frecuencia y naturaleza del uso)
Sembradores en espiral	a) Verificar frente a método convencional b) Verificar el estado del punzón y puntos de inicio y fin c) Verificar el volumen distribuido	a) Inicialmente y anualmente b) Diariamente/con cada uso c) Mensualmente
Contadores automáticos de colonias	Verificar frente al recuento manual	Anualmente
Centrifugas	Verificar velocidad frente a tacómetro calibrado e independiente	Anualmente
Jarras de anaerobiosis/incubadores	Verificar frente a indicador de anaerobiosis	Con cada uso
Condiciones ambientales del laboratorio	Vigilar la contaminación microbiana del aire y las superficies utilizando, p. ej., muestreadores del aire, placas de sedimentación, placas de contacto o frontis	Semanalmente

**Nota:** Cada laboratorio deberá establecer la frecuencia de calibración, caracterización y verificación según el uso de sus equipos y procesos que ejecuta. Se deberá demostrar y justificar la eficacia de los tiempos establecidos en cada laboratorio para fines de calibración y verificación.

**ANEXO C: UTILIZACIÓN GENERAL DE CEPAS DE REFERENCIA**

\* Deben realizarse los controles paralelos de pureza, viabilidad periódico y los ensayos bioquímicos que sean necesarios.

Todas las fases del proceso han de estar perfectamente documentadas y debe mantenerse un registro detallado de todas las operaciones realizadas.

**Apéndice A: Historial de revisiones del documento**

<i>Fecha</i>	<i>Descripción</i>
2009-11-30	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Creación del documento</i></li></ul>
2012-12-18	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Apartado 3 Se elimino “El cumplimiento del presente documento está a cargo del Responsable de Acreditación de Laboratorios de la DTA”.</i></li><li>• <i>G4.6.1ª se adiciono “medios de cultivo”</i></li></ul>