



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
POSTGRADO DE QUÍMICA DE MEDICAMENTOS



**IMPLEMENTACIÓN DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS DE
BIOSEGURIDAD Y BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN EL
LABORATORIO DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN DE
MICROBIOLOGÍA APLICADA, BASADO EN LA NORMATIVA VIGENTE**

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de
Magister Scientiae en Química de Medicamentos

Autora: Farm. Clody Rojas Gelves.

C.I.13.804.448

Tutor: Dr. Félix Andueza.

Mérida, Venezuela

Octubre - 2015

**IMPLEMENTACIÓN DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS DE
BIOSEGURIDAD Y BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO EN EL
LABORATORIO DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN DE
MICROBIOLOGÍA APLICADA, BASADO EN LA NORMATIVA VIGENTE**

Autora: Farm. Clody Yudith Rojas Gelves.

C.I.13.804.448

**Trabajo presentado como requisito para optar al grado de
Magister Scientae en Química de Medicamentos**

www.bdigital.ula.ve

Tutor: Dr. Félix Andueza.

Mérida, Venezuela

Octubre – 2015

INDICE GENERAL

	Pág
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Resumen	v
Lista de tablas	vii
Lista de figuras	ix
Lista de gráficos	x
Lista de anexos	xi
Índice de abreviaturas	xii
Índice de términos	xiii
Introducción	1
CAPITULO I NATURALEZA Y DIMENSIÓN DEL TEMA DE TESIS	
1.1 Justificación de la investigación	5
1.2 Objetivos	
1.2.1 Objetivo general	6
1.2.2 Objetivos específicos	6
CAPÍTULO II ANTECEDENTES GENERALES	
2.1 Normatividad asociada a los laboratorios.	7
2.1.1 Información de normalización	8
Organización Internacional de Normalización	8
Fondo para la Normalización y Certificación de la Calidad	12
Comisión Venezolana de Normas Industriales	14
Servicio Autónomo Nacional de Normalización	15
2.1.2 Normativa de Reglamentación	16
Organización Mundial de la Salud	16
Organización Panamericana de la Salud	17
Ministerio del Poder Popular para la Salud	18
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”	20
LOPCYMAT	23

INPSASEL	24
2.2 Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio	26
2.2.1 Bioseguridad	26
Medidas	27
Clasificación de los laboratorios	27
Elementos de la bioseguridad	28
Contención y sus niveles	29
Documentación	31
Señales	36
2.2.2 Buenas Prácticas de Laboratorio	41
2.3 Laboratorio de microbiología y los sistemas de calidad	54
CAPITULO III METODOLOGÍA	
3.1 Bioseguridad	
Elementos relacionados con la bioseguridad.	56
Organización de un laboratorio básico- nivel de bioseguridad 1 y 2	57
Establecer un sistema de señalización	58
Elaboración de planes para el control de emergencias	59
Hojas de datos de seguridad de cepas microbiológicas	61
3.2 Buenas Prácticas de Laboratorio	
Personal y medio ambiente	62
Equipamiento	63
Reactivos y medios de cultivo	65
Materiales de referencia y cultivos de referencia	65
Muestreo, manejo e identificación de muestras	66
Eliminación de residuos contaminados	66
Procedimientos de ensayo	67
Informes de ensayo	67
Validación	68
CAPITULO IV RESULTADOS	
4.1 Bioseguridad	

Elementos de la bioseguridad	85
Organización del laboratorio	85
Sistema de señalización según norma COVENIN	85
PNT de planes para el control de emergencias	88
Hoja de datos de seguridad de cepas microbiológicas	89
4.1 Buenas Prácticas de Laboratorio	
Personal y medio ambiente	90
Equipamiento	91
Reactivos y medios de cultivo	91
Materiales de referencia y cultivos de referencia	91
Muestreo y manejo e identificación de muestras	92
Eliminación de desechos contaminados	92
Procedimientos de ensayo	92
Informes de ensayo	92
Validación	93
CAPITULO V DISCUSIÓN	112
CAPITULO VI CONCLUSIONES	124
CAPITULO VII RECOMENDACIONES	126
BIBLIOGRAFIA	129
ANEXOS	139

DEDICATORIA

*Al Nazareno y a la Virgen por darme la fortaleza de seguir adelante
para lograr esta meta.*

*A mis padres Papi mi ángel de la guarda se que desde el cielo me cuidas,
y me ayudas en cada paso que doy.
Mami eres la mejor, ejemplo de superación y constancia, gracias por
estar siempre a mi lado apoyándome para superar cada obstáculo.*

*A mi Esposo gracias por la paciencia y el apoyo incondicional para
alcanzar este sueño que hoy se hace realidad. Te amo.*

*A mis hijas, princesas son el mejor regalo que Dios me pudo dar, las amo
profundamente soy muy feliz de estar cada día con ustedes. Dios me las
guíe y bendiga por siempre.*

*A mis hermanas Caro y Nena por su cariño, comprensión y ayuda en
todo momento.*

*A Paula Andrea ser tía ha sido una gran bendición. Dios te acompañe
bebé hermosa.*

AGRADECIMIENTO

Al Prof. Félix Andúeza, tutor de este trabajo, gracias por su tiempo y colaboración para el desarrollo y culminación de esta investigación.

A la Prof. Laura Calderón, infinitas gracias por su paciencia, guía y ayudarme a la finalización de una meta más. Su dedicación y mística de trabajo me han servido de ejemplo para seguir logrando éxitos profesionales.

Al Prof. Lucas Del Castillo, muchas gracias por aceptar ser parte de este proyecto y permitir afianzar las relaciones entre nuestras universidades.

A la Prof. Eva Castellano, por el ánimo y apoyo brindado siempre, para culminar cada uno de los propósitos fijados.

A todos los profesores de la Cátedra de Microbiología Aplicada, por su interés, por confiar en mí y permitirme realizar con éxito este proyecto.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo la implementación de normas y procedimientos de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) en el Laboratorio de Docencia e Investigación en Microbiología Aplicada (LDIMA) basados en la normativa vigente, lo cual es primordial para incorporar sistemas de calidad y lograr el desarrollo de competencias, conocimientos y habilidades en los estudiantes, y así proporcionar confiabilidad en las actividades realizadas en el laboratorio.

Cuando se menciona bioseguridad y BPL los dos conceptos se relacionan en cuanto a la documentación, para cumplir con las prácticas seguras de trabajo y las actividades realizadas deben estar documentadas en los Procedimientos Normalizados de Trabajo.

La metodología utilizada se basó en las normativas de información y reglamentación, se realizó una evaluación del LDIMA para lograr incorporar en él todos los elementos relacionados a la bioseguridad como son: diseño y construcción (barreras secundarias), equipos de protección (barreras primarias) y manuales de seguridad (prácticas seguras de trabajo). Para establecer la organización de un laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2, basándose en el manual de bioseguridad de la OMS, se tomó en cuenta el microorganismo a utilizar, las instalaciones y los equipos, prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con seguridad en el laboratorio.

Se realizó la señalización del Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada siguiendo las pautas establecidas principalmente en la NORMA COVENIN, que establece los colores, símbolos, dimensiones y materiales de las señales de seguridad, con el objeto de complementar la acción preventiva a los accidentes, riesgos a la salud.

En cuanto a la bioseguridad se estableció físicamente la señalización cumpliendo con la norma COVENIN y adaptada a las necesidades de las

operaciones realizadas en el laboratorio, así como también se crearon los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT), de acuerdo al formato aprobado por la cátedra de Microbiología Aplicada, en relación al plan para el control de emergencias proporcionando de forma clara y precisa explicaciones en cuanto a la medidas que deben tomarse en cada tipo de emergencia según los riesgos a los que está expuesto dentro del laboratorio. Además se diseñaron las hojas de seguridad de las cepas bacterianas utilizadas en los análisis microbiológicos realizados en el laboratorio, para lograr disminuir riesgos y manejo seguro.

Para cumplir con los requisitos establecidos en la guía de BPL de microbiología farmacéutica de la Organización Panamericana de la Salud, se desarrollaron actividades en cada uno de los ítems presentados por la guía como son: personal y medio ambiente, equipamiento, reactivos y medios de cultivo, materiales de referencia y cultivos de referencia, muestreo, eliminación de residuos contaminados, procedimientos de ensayo informes de ensayo y validación.

Se elaboraron PNT relacionados con normas generales de conducta y hábitos de trabajo, manejo uso y limpieza de los equipos, control de calidad de los medios de cultivo, manejo y repiques de cepas, caracterización de cepa *Escherichia coli*, manejo de muestras y rotulación de material, eliminación de material contaminado, control microbiológico de agua potable, así como formatos de perfil de cargo, programa de entrenamiento del personal, identificación de equipos, registro y uso de equipos, certificados analíticos.

La documentación elaborada permitirá documentar las acciones realizadas en el LDIMA. Además los PNT serán una guía para que todas las actividades que se realicen en el laboratorio sean de forma sistemática, confiable y segura.

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1 Normas COVENIN relacionadas con la bioseguridad de los laboratorios	15
Tabla N° 2 Señales de prohibición	37
Tabla N° 3 Señales de advertencia	37
Tabla N° 4 Señales de obligación	38
Tabla N° 5 Señales de emergencia	38
Tabla N° 6 Señales de protección contra incendios	39
Tabla N° 7 Agentes neutralizantes comunes/métodos para sustancias de interferencia	70
Tabla N° 8 Propiedades indicadoras de promoción del crecimiento e inhibitorias de los medios de cultivo usados	90
Tabla N° 9 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Bacillus subtilis</i> .	94
Tabla N° 10 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Candida albicans</i>	94
Tabla N° 11 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	95
Tabla N° 12 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	95
Tabla N° 13 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Escherichia coli</i>	95
Tabla N° 14 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de <i>Salmonella typhi</i>	96
Tabla N° 15 Prueba de promoción de crecimiento Agar Tripticasa de Soya	96
Tabla N° 16 Prueba de promoción de crecimiento Agar Sabouraud	97

Tabla N° 17 Resultados tres días consecutivos de método en placa Bacterias Aerobias Mesófilas.	98
Tabla N° 18 Resultados tres días consecutivos de método en placa Mohos y levaduras.	99
Tabla N° 19 Recuento bacteriano obtenido con diluyente y producto/neutralizante.	101
Tabla N° 20 Porcentaje de recuperación bacteriano obtenido.	103
Tabla N° 21 Recuento bacteriano obtenido con Agar Tripticasa Soya/ neutralizantes y Agar Lethen.	105
Tabla N° 22 Recuento mínimo obtenido de las cepas de prueba enfrentadas con producto.	105
Tabla N° 23 Recuento mínimo obtenido de las cepas de prueba enfrentadas sin producto.	106
Tabla N° 24 Resultados tres días consecutivos para la determinación de microorganismos objetables.	109

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 1 Pirámide de normalización	7
Figura N° 2 Organigrama del Ministerio del Poder Popular para la Salud	19
Figura N° 3 Organigrama del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”	21
Figura N° 4 Pirámide documental	32
Figura N° 5 Señal de información	36
Figura N° 6 Altura de las señales	58
Figura N° 7 Fotografía de las señales de información en el laboratorio	86
Figura N° 8 Fotografía de las señales de prohibición en el laboratorio	86
Figura N° 9 Fotografía del laboratorio con la señales de advertencia o precaución	87
Figura N° 10 Fotografía de las señales de obligación	87
Figura N° 11 Fotografía de las señales de emergencia.	88
Figura N° 12 Controles negativos de los medios de cultivo utilizados como diluyentes	97
Figura N° 13 Fotografía de la marcha analítica prueba de mohos y levaduras	100
Figura N° 14 Promoción de crecimiento de <i>Escherichia coli</i>	107
Figura N° 15 Promoción de crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	107
Figura N° 16 Promoción de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	107
Figura N° 17 Controles negativos de los medios de cultivo utilizados como diluyente	108
Figura N° 18 Controles negativos de los medios de cultivo utilizados	108

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
GRÁFICO N° 1 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-Señalización	88
GRÁFICO N° 2 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-PNT	89
GRÁFICO N° 3 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-Hojas de seguridad	89
GRÁFICO N° 4 Relación en porcentaje documentación BPL-formatos	93
GRÁFICO N° 5 Relación en porcentaje documentación BPL-PNT	93

www.bdigital.ula.ve

LISTA DE ANEXOS

Anexo N° 1 PNT para la redacción de PNT
Anexo N° 2 PNT planes para el control de emergencias
Anexo N° 3 Hoja de seguridad de cepas microbiológicas
Anexo N° 4 PNT normas generales de conducta y hábitos trabajo en el laboratorio
Anexo N° 5 Formato de perfil de cargo
Anexo N° 6 Formato del programa de entrenamiento
Anexo N° 7 Formato de identificación de equipos
Anexo N° 8 Formato de registro y uso del equipo
Anexo N° 9 PNT Manejo, uso y limpieza del cuenta colonias
Anexo N° 10 PNT Control de calidad de los medios de cultivo
Anexo N° 11 PNT Manejo y repique de cepas
Anexo N° 12 PNT Caracterización de cepas microbiológicas
Anexo N° 13 PNT Manejo de muestras y rotulación del material
Anexo N° 14 PNT Eliminación de material contaminado
Anexo N° 15 PNT Control microbiológico del Agua Potable
Anexo N° 16 PNT Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio
Anexo N° 17 Formato de certificado analítico
Anexo N°18 Protocolo de Validación

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ISO	Organización Internacional de Normalización
SGC	Sistema de Gestión de Calidad
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio
COVENIN	Comisión Venezolana de Normas Industriales
PNT	Procedimientos Normalizados de Trabajo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
MP	Manual de Procedimientos
MPPS	Ministerio del Poder Popular para la Salud
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
BPD	Buenas Prácticas de Distribución
USP	Farmacopea de los Estados Unidos de América
INPSASEL	Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales.
LOPCYMAT	Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo.

ÍNDICE DE TÉRMINOS

Sistemas de Calidad: es el conjunto de elementos organizacionales y técnicos interrelacionados cuyo objetivo es proveer consistentemente productos y servicios que cumplan con las regulaciones vigentes, los requisitos del cliente, y que a su vez satisfagan sus expectativas o necesidades.

Aseguramiento de la Calidad: es el conjunto de actividades planificadas y sistemáticas aplicadas en un Sistema de Calidad para que los requisitos de calidad de un producto o servicio sean satisfechos. Entre estas actividades se encuentran la medición sistemática, la comparación con estándares, el seguimiento de los procesos, todas las actividades asociadas con bucles de realimentación de información. Estas actividades contribuyen a la prevención de errores, lo cual se puede contrastar con el Control de Calidad, que se centra en las salidas del proceso.

Control de Calidad: son todos los mecanismos, herramientas, acciones realizadas para detectar la presencia de errores. La función primordial del control de calidad es ser una organización de servicio, para conocer las especificaciones establecidas por la ingeniería del producto y proporcionar asistencia al departamento de fabricación, para que la producción alcance estas especificaciones.

Laboratorio: es un lugar dotado de los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos, prácticas y trabajos de carácter científico, tecnológico o técnico; está equipado con instrumentos de medida o equipos con que se realizan experimentos, investigaciones o prácticas diversas, según la rama de la ciencia a la que se dedique.

Riesgo: es la vulnerabilidad ante un potencial perjuicio o daño para las unidades, personas, organizaciones o entidades. Cuanto mayor es la vulnerabilidad mayor es el riesgo. El riesgo se refiere sólo a la teórica "posibilidad de daño" bajo determinadas circunstancias.

Riesgo Biológico: Probabilidad de que ocurra un accidente causado por la acción de agentes biológicos produciendo consecuencias adversas a la salud y al medio ambiente. Los agentes de riesgos biológicos no solamente contemplan virus, hongos, parásitos y bacterias, sino también otros agentes como priones, toxinas, organismos inferiores de plantas y animales, animales experimentales propiamente dicho. [Norma COVENIN 2340-2:2002]

www.bdigital.ula.ve

INTRODUCCIÓN

Los retos que presentan las universidades al ejercer las funciones de docencia, investigación y extensión son complejos y profundos. Es cierto que no resulta casual esperar a que se produzcan para abordar el tema de la formación profesional, pero tampoco es realista soslayarlos como si no existieran y reducirlos, como suele ocurrir, a la reformulación del plan de estudios y a los programas de asignaturas, que siempre están expuestas a terminar en una mera cosmética curricular.

Los desafíos de la formación profesional están sujetos a:

- La determinación de competencias,
- Identificación, selección y organización del saber específico estandarizado,
- Inculcación y apropiación de dicho saber,
- Duración de la formación,
- Evaluación y
- Certificación de las instituciones especializadas.

Hoy en día las universidades enfrentan el reto al asumir posiciones competitivas en el ámbito de la investigación. La gestión de investigación y desarrollo ofrece a las universidades oportunidades para mejorar su desempeño, sin embargo, obtener la eficacia y la eficiencia requerida tiene un costo que exige un cambio de pensamiento, un nuevo modelo de gestión y centrar la atención en la integración de las partes del sistema organizacional.

Los laboratorios de docencia y de investigación tienen por objeto ser refuerzo de la formación teórica y del desarrollo de habilidades técnico - prácticas en el estudiante, mediante el apoyo conjunto (docente, investigador y estudiante). La Universidad de Los Andes cuenta con laboratorios bajo esta dualidad, con estructuras y complejidad según las actividades impartidas y la cátedra

deadscripción. Uno de estos laboratorios es el Laboratorio de Docencia e Investigación adscrito a la Cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, en donde se imparten las asignaturas de la carrera de Farmacia, como son: Microbiología General, Tecnología Industrial Farmacéutica, Microbiología Cosmética, Microbiología de los Alimentos y Análisis Microbiológico de Medicamentos siendo esta última asignatura relacionada con el control más estricto y completo en cuanto al control de calidad de los medicamentos, es por ello que se van a seguir las pautas, para los efectos de estudio de este trabajo y se denominará Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada.

Incorporar los sistemas de calidad en los laboratorios de docencia e investigación (en donde hay desarrollo de habilidades, competencias y capacidades para producir conocimiento), se logra internamente mediante el cumplimiento de procedimientos estandarizados que proporcionan mayor confiabilidad en el desempeño de las actividades docentes, científicotecnológicas y aseguran los resultados de las actividades investigativas o servicios. Pero el resultado de utilizar información (normas, estándares internacionales), personal altamente calificado y factores de producción científica, no es suficiente, también es necesario que exista sinergia entre las partes actuantes. Se requiere entonces redes de información y el apoyo de una cultura proclive a la calidad en la investigación científica.

Para optimizar la formación profesional que se imparte diariamente en el Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada, se considera que la mejor opción es la implementación de un sistema de calidad comenzando con la Bioseguridad y las Buenas Prácticas de Laboratorio en Microbiología, basadas en las normativas vigentes tanto internacionales como nacionales, y así desarrollar un servicio que logre la satisfacción plena de las necesidades de los usuarios.

Para este fin se escoge, entre otras, la normativa de la familia ISO 9000, la cual establece los requisitos documentales necesarios para el desarrollo e implementación de un Sistema de Gestión de Calidad, genérica para cualquier empresa, susceptible de certificación y que se adapta a las necesidades del Laboratorio. Cuando se menciona Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio de Microbiología los dos conceptos se relacionan en cuanto a la documentación, cumpliendo con prácticas seguras de trabajo, donde todos los procedimientos realizados dentro del laboratorio de investigación básico estarán escritos en los llamados manuales de procedimientos.

El manual de procedimientos establece y documenta procedimientos de trabajo, acciones preventivas, correctivas y mejora continua, buscando el cumplimiento de los requerimientos normativos ISO. Dicho manual es una herramienta para que el personal que utiliza el laboratorio realice sus actividades con alta calidad y eficiencia, y se constituye en la base para una futura implementación de la norma ISO. [1]

www.bdigital.ula.ve

En tal sentido, esta investigación tiene como principal objetivo implementar, en el Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, las normas y procedimientos de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio de Microbiología, con miras a su inclusión en un Sistema de Calidad.

Para tal efecto, el presente trabajo de investigación se estructura en siete Capítulos: El Capítulo I, está constituido por la justificación de la investigación, adicionalmente se formula el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación.

El Capítulo II, está constituido por los antecedentes generales de la normatividad asociada a los laboratorios de microbiología de la industria farmacéutica y los laboratorios de investigación y desarrollo, enfocándose en la Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio, por su impacto dentro de un sistema de calidad. Estos expresan en términos concretos las bases teóricas que sustentan al planteamiento del problema.

En el Capítulo III se establecen los lineamientos metodológicos con relación al tipo y diseño de investigación, siendo este trabajo una investigación de campo ya que permite el análisis sistemático de problemas en la realidad, con el propósito de describirlos, interpretarlos, entender su naturaleza y factores constituyentes, explicar sus causas y efectos. Los datos de interés son recogidos en forma directa de la realidad, se trata de investigaciones a partir de datos originales o primarios. En este caso la investigación de campo es de carácter exploratorio, descriptivo, interpretativo explicativo y evaluativo. Cumpliendo con la elaboración de una propuesta de un modelo operativo para mejorar problemas o requerimientos existentes.

En el Capítulo IV se presentan los resultados de la investigación basados en los aspectos de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio, incluyendo la documentación necesaria y exigida que respalda todas las actividades y pruebas realizadas para ser implementadas en el Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada. En el Capítulo V se despliega una discusión amplia y completa que conlleva al Capítulo VI referido a las conclusiones en donde se evidencia todos los beneficios obtenidos durante la realización de este trabajo permitiendo alcanzar y desarrollar el Capítulo VII sobre las recomendaciones en donde se describen las actividades a mejorar o que se deben continuar realizando, en pro de los resultados de esta investigación.

CAPÍTULO I

NATURALEZA Y DIMENSIÓN DEL TEMA DE TRABAJO DE GRADO

1.1 Justificación de la investigación

La presente investigación pretende desde el punto de vista teórico ampliar la perspectiva de análisis, incorporando normas y procedimientos de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio en Microbiología, en laboratorios universitarios de docencia e investigación, así como también aportar para la discusión de prácticas organizacionales y técnicas relacionadas con los sistemas de calidad.

En un laboratorio de docencia e investigación, al implementar las normas de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio, se ofrece al estudiante una guía que contribuye a lograr un ambiente de trabajo adecuado y seguro durante la ejecución de las actividades teórico prácticas. La factibilidad en cuanto a la aplicación de dichas normas favorece una investigación que está enmarcada dentro de la línea de investigación tecnológica de innovación y competitividad de los laboratorios de docencia, relacionándolos con la industria mediante la aplicación de medidas prioritarias destinadas a lograr actividades de calidad. Es importante resaltar que el incumplimiento de normas contempladas por el Ministerio del Poder Popular para el Proceso Social del Trabajo y otros ministerios relacionados con el área de estudio, acarrea responsabilidades civiles y penales, contempladas en la norma venezolana vigente.

Muchos laboratorios universitarios de investigación desconocen la existencia de las normas de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio, lo cual podría ser causa de algunos factores tales como: pocos referentes, empíricos y teóricos; poca relación de dichos laboratorios con la industria; poco interés por parte del personal, desconocimiento de las normas de calidad, poca disponibilidad de recursos; ausencia de procedimientos que permitan un control de la investigación, entre otros.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Implementar las normas y procedimientos de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio en el Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada, basado en la normativa venezolana vigente.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Analizar los elementos relacionados con la bioseguridad.
- Establecer la organización de un laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2.
- Establecer el sistema de señalización dentro del Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada.
- Elaborar un programa de control de emergencias basado en la normativa.
- Diseñar las hojas de seguridad de las cepas bacterianas usadas en el laboratorio.
- Aplicar las Buenas Prácticas de Laboratorio en Microbiología, en el Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada.
- Caracterizar bajo procedimiento, las cepas bacterianas de referencia utilizadas para los ensayos.
- Diseñar el protocolo de validación para un método cuali-cuantitativo microbiológico oficial farmacopeico.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Normatividad asociada a los laboratorios

Los laboratorios de acuerdo a su naturaleza tienen unas normativas o en su defecto tienen alguna sección dentro de las normativas que rige el tipo de actividad a realizar.

La información normativa deriva de entes internacionales y nacionales, como la Organización Internacional de Normalización (ISO) y el Fondo para la Normalización y Certificación de la Calidad (FONDONORMA-COVENIN), quienes están ubicados dentro de la Pirámide de Normalización (ver figura 1). Ella explica que el intercambio en el flujo de información normativa es bidireccional desde el vértice hasta su base o viceversa, en donde como norma internacional en el vértice de la pirámide se presenta la ISO y en la base como norma de asociación nacional tenemos (FONDONORMA-COVENIN). [2]



Figura 1. Ejemplo de una Pirámide de Normalización. [2]

Las normativas de reglamentación relacionadas con el medicamento establecidas en Venezuela a través de la Ley del medicamento provienen de entes como la Organización Mundial de la Salud (OMS); Organización Panamericana de la Salud (OPS); Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), y adscritos a este ministerio el Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria (SACS) y, el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INH“RR”). [3].

Las normativas de reglamentación venezolanas para la seguridad laboral provienen del Ministerio del Poder Popular para el Proceso Social del Trabajo a través de la Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT) y para su cumplimiento el Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales (INPSASEL).[4]

2.1.1 Información de normalización

A continuación se presentan las actividades que desempeñan los entes antes mencionados y que regulan las competencias contenidas en el programa de asignatura Análisis Microbiológico de Medicamentos y que se desarrollan en el Laboratorio de Docencia e Investigación de la Cátedra de Microbiología Aplicada, para su posterior cumplimiento en la Industria Farmacéutica Venezolana, ajustándose a las necesidades del campo laboral e inculcando en el estudiante habilidades teórico – prácticos en el área requerida.

Organización Internacional de Normalización (ISO)

ISO se deriva del griego isos, que significa igual. Independientemente del país o idioma, su correcta abreviatura siempre es ISO. [5]. ISO tiene su oficina central en Ginebra, Suiza, y está formada por una red de institutos de estandarización nacionales de 156 países, con un miembro en cada país. El objetivo de la ISO es llegar a un consenso con respecto a las soluciones que cumplan con las

exigencias comerciales y sociales (tanto para los clientes como para los usuarios). ISO publica diferentes tipos de normas para ayudar a garantizar la homogeneidad alrededor del mundo. Estas normas se cumplen de forma voluntaria ya que la ISO, siendo una entidad no gubernamental, no cuenta con la autoridad para exigir su cumplimiento

La función principal de la ISO es la de contribuir al fomento y desarrollo internacional de la normalización, para facilitar el intercambio mundial de productos, bienes y servicios, mediante la colaboración científica, tecnológica y técnica en el campo administrativo, industrial y económico, manteniendo la ISO contactos con las universidades, centros científicos y tecnológicos. [5]

ISO desarrolla normas internacionales que facilitan el comercio, la difusión del conocimiento, diseminan los avances innovadores en tecnología, y comparten buenas prácticas de gestión y evaluación de la conformidad. Las normas internacionales ISO tienen como beneficios asegurar que los productos y servicios son seguros, fiables y de buena calidad. Para las empresas son herramientas estratégicas que reducen los costos al minimizar los desperdicios y errores, y aumentan la productividad. [5]

Las series de normas ISO relacionadas con la calidad, constituyen lo que se denomina Familia de Normas ISO 9000, que abarcan distintos aspectos relacionados con los Sistemas de Gestión de la Calidad (SGC): fundamentos, vocabulario, requisitos, elementos del sistema de calidad, calidad en diseño, fabricación, inspección, instalación, venta, servicio post venta, directrices para la mejora del desempeño, guías y reportes técnicos. [6]

Estas normas requieren de sistemas documentados, que permitan controlar los procesos que se utilizan para desarrollar y fabricar los productos. Estos tipos de sistemas se fundamentan en la idea de que hay ciertos elementos que todo sistema de calidad debe tener bajo control, con el fin de garantizar que los productos y/o servicios se fabriquen en forma consistente y a tiempo.

Las ISO 9000 no definen cómo debe ser un SGC de una organización, sino que ofrecen especificaciones de cómo crearlo e implementarlo; éste será diferente en función de las características particulares de la organización y sus procesos.[6]

Las normas se revisan cada 5 años para garantizar la adecuación a las tendencias y dinámica del contexto mundial. La primera versión de las normas ISO 9000 fue del año 1987 con las siguientes normas: (ISO 9001:87 - ISO 9002:87 - ISO 9003:87). Luego se realizó una ligera modificación de la misma en el año 1991, con una versión mejorada en el año 1994 con las siguientes normas: (ISO 9001:94 - ISO 9002:94 - ISO 9003:94). En el año 2000, se realizó una revisión profunda de la norma, adaptándola a las necesidades y realidades de las empresas del siglo XXI. Quedó conformada la serie de estándares ISO 9000:2000 por tres grandes apartados:

- ISO 9000:2000, Sistemas de Gestión de Calidad: Principios y vocabulario.
- ISO 9001:2000, que trata sobre los requisitos de los SGC. La norma ISO 9001 está reservada para aquellas empresas que tengan diseño o desarrollo de servicios. Es una norma creada para certificar los SGC, está basada en requisitos y puede ser certificable por organismos independientes.
- ISO 9004:2000, que se refieren a recomendaciones para llevar a cabo las mejoras de calidad. La norma ISO 9004 es una guía a seguir por las organizaciones que deseen ir más allá de lo marcado en la norma ISO

9001. Pero a pesar de tener una estructura muy similar a la de norma ISO 9001, no se puede utilizar para certificar una organización.[6]

La Cuarta versión: la actual ISO 9001:2008 es la que se encuentra vigente hasta la fecha. En el año 2015 se realizará una revisión profunda.[6]

La norma ISO 9001:2008 sobre Sistema de Gestión de Calidad define calidad como el conjunto de características de un producto o servicio, que tienen que ver con la capacidad para satisfacer unas necesidades específicas e implícitas que vienen definida por una norma. Para un laboratorio, la calidad supone conseguir resultados confiables, documentando procedimientos, conforme a lo establecido por diferentes modelos de calidad y normativas. El SGC en una organización tiene como punto de apoyo el manual de calidad, y se completa con una serie de documentos adicionales como manuales, procedimientos documentados, instrucciones técnicas, registros y sistemas de información.

De igual manera, es necesario mencionar la importancia de la norma ISO-IEC 17025:2005 que sirve como una guía genérica de referencia para aquellos laboratorios que realizan actividades de ensayo o calibración y que pretenden demostrar que operan con un SGC eficaz y en mejora continua. El laboratorio debe implementar un SCG que le permita administrar y utilizar la documentación en el laboratorio y es necesario demostrar que son capaces de producir resultados de ensayo o calibración confiables, implementando programas de aseguramiento con resultados técnicamente válidos. La norma es técnicamente competente en cuanto a formación del personal, instalaciones y condiciones ambientales adecuadas, métodos validados, equipo y patrones confiables con trazabilidad a las unidades internacionales. La norma ISO/IEC 17025 aplica a cualquier tipo de laboratorio de calibración o ensayos (pruebas), independiente de su tamaño o actividad.

Fondo para la Normalización y Certificación de la Calidad FONDONORMA.

El organismo nacional de normalización en Venezuela es FONDONORMA, creada en 1973, adscrito al Ministerio del Poder Popular de Industrias Ligeras y Comercio, con el fin de desarrollar las actividades de normalización y certificación en todos los sectores industriales y de servicios. Tiene además a su cargo la formación de recursos humanos en dichas especialidades, y coordinar la elaboración de las normas industriales venezolanas, con el respaldo de los sectores público y privado. [7]

FONDONORMA ofrece una gama de opciones en materia de certificación de sistemas de gestión, calidad de productos y servicios, con instrumentos de valor internacional como los certificados:

- ISO 9001 (Sistema de Gestión de Calidad)
- ISO 14001 (Sistema de Gestión Ambiental)
- ISO 22000 (Gestión de la inocuidad de los alimentos)
- ISO 27001 (Sistema de Gestión de la Seguridad de la Información)
- OHSAS 18001 (Sistema de Gestión en Seguridad y Salud Ocupacional)
- Marca de Conformidad FONDONORMA: certificación de la calidad que permite a una empresa fabricante demostrar que sus productos son conformes de manera continua, con una norma técnica específica, pudiendo ser ésta, regional o internacional, lo cual genera en los clientes confianza sobre la calidad de los productos que está comprando. [8]
- Certificado de Conformidad FONDONORMA: mediante el cual se hace constar que un lote o partida de productos, producto tipo, prototipo, materiales, partes y/o componentes, destinados al consumo interno, la importación o exportación, cumplen con una Norma o especificación(es) técnica(s). Este se emite con un alcance específico que responderá a las

necesidades del solicitante, para la emisión del mismo se podrán utilizar como documento de referencia normas internacionales, normas regionales, normas nacionales de otros países, normas de asociaciones, y cualquier otra especificación técnica que se haya convenido entre el comprador y vendedor.[8]

- Sello FONDONORMA de Servicios. Con la distinción Platinum 9000 reconoce a las organizaciones con productos o servicios certificados y poseedoras, al mismo tiempo, de una certificación de SGC.[7]

Como organismo de certificación, FONDONORMA cuenta con las acreditaciones internacionales de INMETRO de Brasil (ISO 9001) y de COFRAC de Francia (ISO 9001 e ISO 14001), y es miembro de IQNet, red mundial de organismos de certificación, la cual confiere reconocimiento internacional a los certificados ISO 9001 e ISO 14001 que emite FONDONORMA, y la posibilidad de validarlos en cualquiera de los países miembros de la red. Es miembro adherente de la Comisión Panamericana de Normas Técnicas y mantiene intercambio permanente con organismos homólogos de la región y de otros continentes.[7]. Por otra parte, ofrece información de las actividades de Normalización y Certificación de la Calidad a nivel nacional e internacional, listados de referencias bibliográficas de las normas internacionales y nacionales.

FONDONORMA establece el número, el título, además de un resumen de las normas venezolanas industriales, elaboradas por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) como ente regulador.

Comisión Venezolana de Normas Industriales. (COVENIN)

Desde 1958 es el encargado de velar por la estandarización y normalización, bajo lineamientos de calidad en Venezuela, estableciendo los requisitos mínimos para la elaboración de procedimientos, materiales, productos, actividades y demás aspectos que estas normas rigen. En esta comisión participan entes gubernamentales y no gubernamentales especialistas en un área. [9]

Las normas venezolanas emitidas por COVENIN son el resultado de un laborioso proceso que incluye la consulta y estudio de las normas internacionales, nacionales, de asociaciones o empresas relacionadas con la materia, así como investigación a nivel de plantas y/o laboratorios según el caso.[9]

A lo largo de su estudio, la norma pasa por diversas etapas de desarrollo: la primera de ellas consiste en la elaboración de un esquema (esquema, primer papel de trabajo), el cual luego de ser aprobado pasa a un periodo de consulta pública (discusión pública) alcanzando luego una etapa final en la cual como proyecto es sometido a la consideración de la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN), para su aprobación como Norma Venezolana COVENIN.

Es importante destacar que algunas de las Normas COVENIN (ver Tabla 1), relacionadas con la bioseguridad en los laboratorios de microbiología, establecen recomendaciones, procedimientos generales y precauciones, personal, instalaciones, medidas de seguridad e higiene ocupacional y las prácticas seguras de trabajo, en el funcionamiento, concepción general y equipamiento de laboratorios básicos, de contención, frente a riesgos por agentes biológicos.

Tabla No 1. Normas COVENIN relacionadas con la bioseguridad en los laboratorios de microbiología.

Norma COVENIN	Título
2340-2:2002	Medidas de seguridad e higiene ocupacional en los laboratorios
2171:1991	Manual para evaluaciones de Laboratorios
2266-88	Guía de los aspectos generales a ser considerados en la inspección de las condiciones de Higiene y Seguridad en el trabajo
801-76	Normas de Seguridad para equipos industriales de control
2226-90	Guía para la elaboración de planes para el control de emergencias.
2605-89	Uso de extintores
1700-83	Buenas Prácticas de Fabricación
1056II/-91	Equipos de protección respiratoria
187-92	Colores, símbolos y dimensiones para señales de seguridad

Servicio Autónomo Nacional de Normalización SENCAMER

En diciembre de 1998, se da origen a la creación del Servicio Autónomo Nacional de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos (SENCAMER), servicio adscrito al Ministerio del Poder Popular de Industrias Ligeras y Comercio, resultante de la fusión de SENORCA y SANAMET (Servicio Autónomo Nacional de Metrología). [9]

En octubre de 2002, es promulgada la Ley del Sistema Venezolano para la Calidad, según Gaceta Oficial No. 37555 del 23-10-2002, con el fin de desarrollar los principios orientadores, que en materia de calidad, consagra la Constitución. Esta Ley establece los mecanismos necesarios para garantizar los derechos de las personas a disponer de bienes y servicios de calidad en el país, a través de los subsistemas de: Normalización, Metrología, Acreditación, Certificación, Ensayos y Reglamentaciones Técnicas; siendo SENCAMER el ente encargado de velar por el cumplimiento de esta Ley. [9]

En esta ley en su capítulo III artículos N° 14 y N°15 se refiere a la educación y formación de recursos humanos, y se solicita la participación de los organismos públicos y privados adscritos al Ministerio del Poder Popular de la Educación Universitaria más recientemente nombrado Ministerio del Poder Popular de la Educación Universitaria Ciencia y Tecnología. [9]

www.bdigital.ula.ve

2.1.2 Normativas de reglamentación

La Organización Mundial de la Salud (OMS)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) se concibe cuando uno de los asuntos, que abordaron los diplomáticos que se reunieron para crear las Naciones Unidas en 1945, fue la posibilidad de establecer una organización mundial dedicada a la salud. La constitución de la OMS entró en vigor el 7 de abril de 1948, fecha en que se conmemora cada año el Día Mundial de la Salud. [10]

La OMS es la autoridad directiva y coordinadora de la acción sanitaria en el sistema de las Naciones Unidas. Es la responsable de desempeñar una función de liderazgo en los asuntos sanitarios mundiales, de configurar la agenda de las investigaciones en salud, establecer normas, articular opciones de política

basadas en la evidencia, prestar apoyo técnico a los países y vigilar las tendencias sanitarias mundiales. [10]

Para cumplir con esta responsabilidad la OMS brinda la *Serie de Informes Técnicos de la OMS*, que contiene las observaciones de diversos grupos internacionales de expertos que asesoran a la OMS, proporcionándole la información técnica y científica más reciente sobre una amplia gama de problemas médicos y de salud pública. [10]

Así mismo, la OMS presenta manuales de interés para el laboratorio de microbiología, siendo el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio del año 2005, de utilidad como referencia y orientación para los países que acepten el reto de elaborar y establecer códigos nacionales de prácticas, con miras a proteger esos bienes microbiológicos y al mismo tiempo garantizar su disponibilidad para fines clínicos, de investigación y epidemiológicos, reconociendo de esta manera la importancia de la seguridad biológica.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS)

Fundada en 1902, es la agencia de salud pública internacional más antigua del mundo. Brinda cooperación técnica y moviliza asociaciones para mejorar la salud y la calidad de vida en los países de las Américas. La OPS es el organismo especializado en salud del Sistema Interamericano y actúa como Oficina Regional para las Américas de la OMS. Junto con la OMS, la OPS es miembro del Sistema de las Naciones Unidas. [11]

La visión de la OPS es ser el mayor catalizador para asegurar que toda la población de las Américas goce de una óptima salud y contribuir al bienestar de sus familias y sus comunidades. Su misión consiste en liderar esfuerzos

colaborativos estratégicos entre los estados miembros y otros aliados, para promover la equidad en salud, combatir la enfermedad, y mejorar la calidad y prolongar la duración de la vida de los pueblos de las Américas. [12]

La OPS y OMS periódicamente hacen la formulación y revisión de las Estrategias de Cooperación con los Países (CCS, por sus siglas en inglés), ocasión que es útil para redefinir su actuación conforme a las prioridades nacionales.

Enmarcado dentro de la Serie de Informe Técnicos de la OMS, la OPS desarrolla el Documento Técnico No. 6 a través de la Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) sobre **Autoevaluación de Buenas Prácticas de Laboratorio, 2011**, y el Documento Técnico No.11 sobre **Buenas Prácticas de la OMS para Laboratorios de Microbiología Farmacéutica, 2011**, para lograr el fortalecimiento del desempeño de los laboratorios de control, y asegurar que los medicamentos cumplan con estándares internacionales de calidad, sean seguros y eficaces y tomar en cuenta las recomendaciones de un grupo internacional de expertos convocado por la OMS, para que examine diversos asuntos relativos a la garantía de la calidad de los productos farmacéuticos y otros temas de interés en la industria farmacéutica. [13]
[14]

Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS)

El MPPS en conjunto con las oficinas de la OPS y OMS en Venezuela, organiza y celebran actividades-campañas a nivel nacional. En tal sentido, el MPPS, con el apoyo de la OPS, toma la iniciativa de actualizar los planes nacionales y sub-nacionales de la red de servicios de salud, así como los mecanismos institucionales que le brinden el soporte organizacional y logístico en su implementación.[15]

ORGANIGRAMA FUNCIONAL
(G.O. N° 38.591 del 26/12/06 / G.O. 39.202 del 17/06/09)

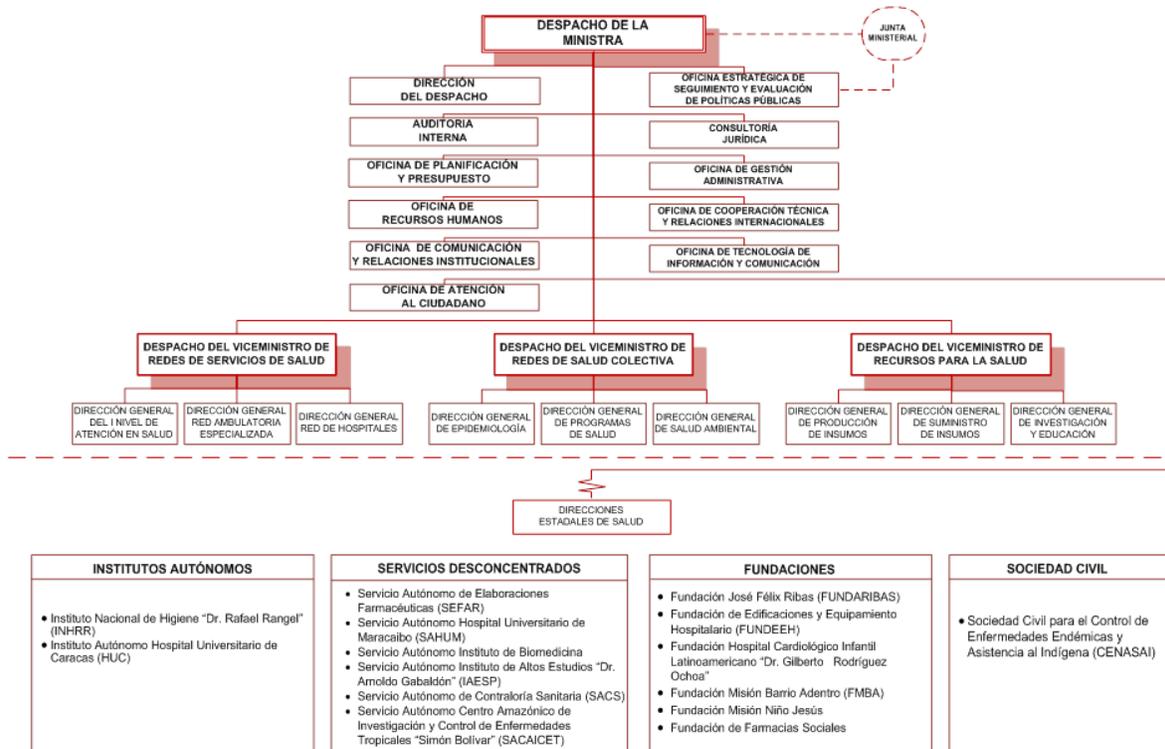


Figura No. 2 Organigrama del Ministerio del Poder Popular para la Salud. [16]

www.bdigital.ula.ve

El cumplimiento de las buenas prácticas de la OMS en los laboratorios farmacéuticos en Venezuela, recae según el **Reglamento Orgánico del Ministerio de Salud (G.O.Nro.38.591 de fecha 26 de diciembre de 2.006)** sobre el Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria (SACS), quien con autonomía de gestión; depende jerárquicamente del MPPS. El objetivo fundamental del (SACS) es ejercer un rol regulatorio sobre los productos y servicios de uso y consumo humano, aminorando los riesgos que sobre la salud produce el uso y consumo de los mismos. Otros objetivos son promover, proteger y garantizar la salud en la República Bolivariana de Venezuela, ejerciendo la rectoría en materia de registro, vigilancia y control sanitario de los productos de uso y consumo humano, así como de los establecimientos y de los profesionales de la salud. [17]

El objetivo de la Contraloría Sanitaria a través de la Dirección de Drogas, Medicamentos y Cosméticos es emitir la autorización y certificación para la fabricación en el país de productos y materias primas para el procesamiento de productos, destinados al uso y consumo humano, tales como: medicamentos, productos y sustancias psicotrópicas, estupefacientes con regímenes especiales, productos naturales y homeopáticos, repelentes de insectos de uso tópico, cosméticos, muestras biológicas y experimentales y productos derivados del tabaco a empresas nacionales e internacionales, además del registro de cosméticos, productos naturales y homeopáticos y establecimientos farmacéuticos y empresas fabricantes, distribuidoras, importadoras y exportadoras de productos derivados del tabaco, de acuerdo a la normativa sanitaria vigente, así como ejercer su vigilancia y control a través de la implementación de programas para vigilancia permanente de los efectos adversos de las drogas, medicamentos y cosméticos. [18]

Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR)

El Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR) y la Dirección de Drogas, Medicamentos y Cosméticos de la Contraloría Sanitaria trabajan de la mano en las auditorias de certificación de los laboratorios farmacéuticos en Venezuela. El Instituto Nacional de Higiene fue creado por Decreto del Ejecutivo Nacional en fecha 17 de octubre de 1938 y publicado en la Gaceta Oficial de los Estados Unidos de Venezuela N° 19.700 de fecha 18 de octubre de 1938, por el Presidente General Eleazar López Contreras, posteriormente por Decreto N° 2104 de fecha 29 de marzo de 1977, se designa con el nombre de “Rafael Rangel”. Desde su creación fue adscrito al Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, actual Ministerio del Poder Popular para la Salud.

En la actualidad el INHRR se ha convertido en un Centro de Referencia Sanitaria para la prevención, vigilancia y control de la salud de los venezolanos, al producir

bienes y dar servicios de calidad para satisfacer las demandas nacionales de agentes inmunizantes y de diagnóstico de enfermedades infecciosas. Su misión es ser referencia Nacional para Prevención y Vigilancia Sanitaria a través de los programas de:[19]

- Control sanitario de productos de uso y consumo humano.
- Docencia, Investigación Aplicada y Extensión.
- Producción de bienes y servicios: Vacunas bacterianas y virales, medios de cultivo, cultivos celulares, reactivos y colorantes, agua calidad inyectable, animales de laboratorio y derivados, procesamiento de materiales y esterilización.
- Recurso humano especializado, con dominio técnico-científico adquirido, transmitido por generaciones con procesos y equipos de avanzada tecnología e infraestructura que cumple con las normativas nacionales e internacionales de gestión de calidad; en cumplimiento con las políticas de salud del estado venezolano.

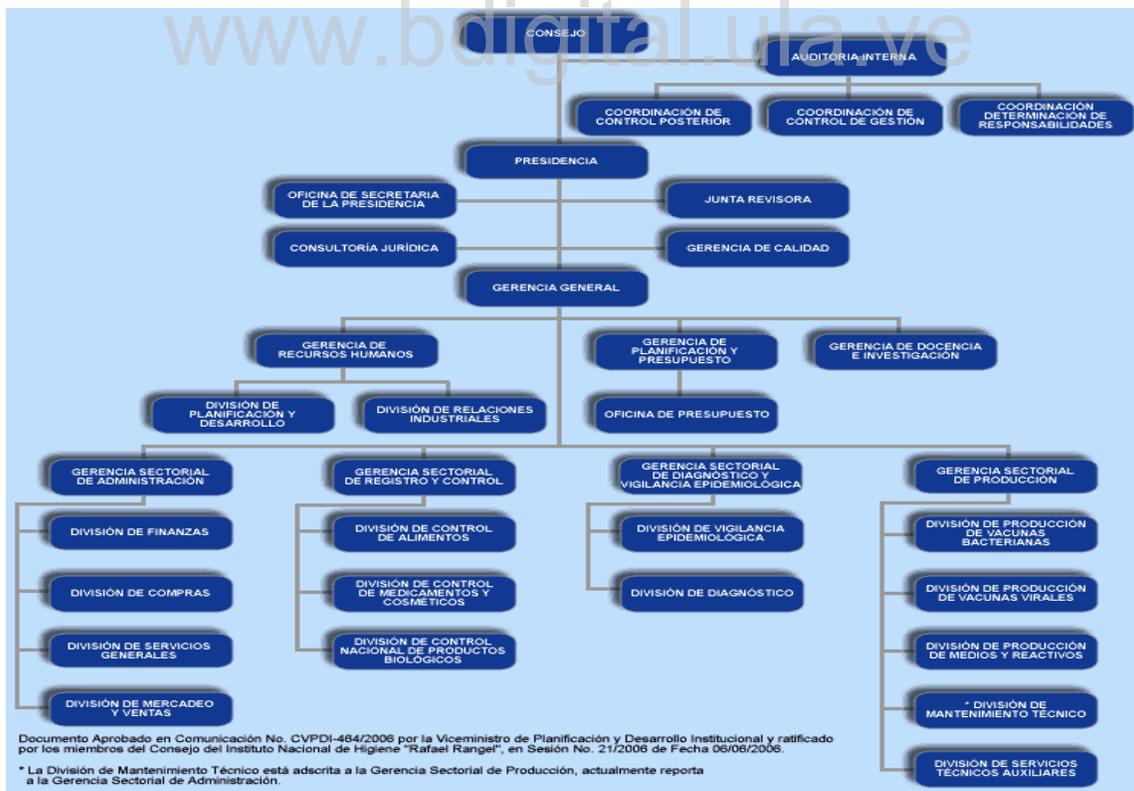


Figura No. 3. Organigrama del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". [19]

Así mismo audita los principios básicos de las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura que deben ser cumplidos por todas las empresas y establecimientos instalados en el país que distribuyan medicamentos al mayor, sean éstos fabricados en Venezuela o importados, con el fin de garantizar el nivel de calidad de los medicamentos (conformidad con sus especificaciones) durante su almacenamiento, transporte y distribución.

Es importante destacar que en Venezuela no se tiene farmacopea desde 1942. La Contraloría Sanitaria en Venezuela para poder complementar las guías de la OMS/OPS, aprueba el uso de la Farmacopea de los Estados Unidos de América Formulario Nacional (USP) en los laboratorios farmacéuticos.[20]

Desde el año 1820 para establecer una farmacopea en los Estados Unidos sus profesionales buscaron crear un compendio de los mejores medicamentos que ya estuviesen completamente establecidos, darles nombres útiles y proporcionar recetas para su preparación. Casi un año después, el 15 de diciembre de 1820, se publicó la primera edición de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP, por sus siglas en inglés). Con el tiempo, la naturaleza de la USP pasó de ser un compendio de recetas a un compendio de normas para identidad y calidad que por lo general implican el uso de materiales de referencia como estándares de comparación en pruebas y valoraciones específicas. [21]

La USP armoniza las monografías de excipientes y los capítulos generales farmacopéicos en el Grupo de Debate Farmacopeico (PDG, por sus siglas en inglés). Este grupo incluye representantes de la Farmacopea Europea, de la Farmacopea Japonesa y de la Farmacopea de los Estados Unidos, así como de la OMS (como observador). De acuerdo con la definición del PDG, "un capítulo general farmacopeico u otro documento farmacopeico está armonizado cuando

una sustancia o un producto farmacéutico, que se analiza según el procedimiento armonizado del documento, arroja los mismos resultados y se lleva a la misma decisión respecto de aceptarlo o rechazarlo. El capítulo de información general <1196>, *Armonización Farmacopeica*, proporciona todas las declaraciones, informes, debates, glosario, entre otros.[21]

En la USP se mencionan capítulos generales útiles por su relación con la bioseguridad en el trabajo, entre ellas tenemos: <1074> Guías para la evaluación de la seguridad biológica de los excipientes y con relación a las BPL en microbiología <1117> Óptimas prácticas de laboratorio microbiológico, contemplando este último capítulo las actividades que dependen de varios principios: técnicas asépticas, control de medios, control de cepas de prueba, operación y control de equipos, registro detallado y evaluación de datos así como capacitación del personal de laboratorio.[21]

Debido al riesgo inherente de variabilidad de los datos microbiológicos, la confiabilidad y la reproducibilidad dependen de la utilización de los métodos aceptados y del cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura, buenas prácticas de documentación, buenas prácticas de laboratorio, buenas prácticas de distribución, entre otras.

Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT)

El Ministerio del Poder Popular para la Protección del Proceso Social de Trabajo con la aprobación de la reforma de la LOPCYMAT, publicada en Gaceta Oficial número 38.236, de fecha 26 de julio de 2005, promueve la implementación del Régimen de Seguridad y Salud en el Trabajo, en el marco del nuevo Sistema Seguridad Social. Ella abarca la promoción de la salud de los trabajadores, la prevención de enfermedades profesionales y accidentes de trabajo, la atención,

rehabilitación y reinserción de los trabajadores así como establece las prestaciones dinerarias que correspondan por los daños que ocasionen enfermedades ocupacionales y accidentes de trabajo. [22]

Cabe destacar que dando cumplimiento al artículo 56 de la LOPCYMAT, en todas las instituciones está en funcionamiento el Comité de Seguridad Industrial, este señala:

“En todo centro de trabajo, establecimiento o unidad de explotación de las diferentes empresas o de instituciones públicas o privadas, debe constituirse un Comité de Seguridad y Salud Laboral, órgano paritario y colegiado de participación destinado a la consulta regular y periódica de las políticas, programas y actuaciones en materia de seguridad y salud en el trabajo. El Comité estará conformado por los delegados o delegadas de prevención, de una parte y por el empleador o empleadora, o sus representantes en número igual al de los delegados o delegadas de prevención, de la otra. El Comité de Seguridad y Salud Laboral debe registrarse y presentar informes periódicos de sus actividades ante el Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales...”. [23]

El Instituto Nacional de Prevención Salud y Seguridad Laborales hace entrega de este ejemplar de la LOPCYMAT, tanto a empleadores como a trabajadores, como parte de la iniciativa de un Plan de incorporación masiva de los actores sociales a la formación y organización para garantizar condiciones dignas y seguras de trabajo.

Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales (INPSASEL).

El Ministerio del Poder Popular para la Protección del Proceso Social de Trabajo y el Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales (INPSASEL), asumen el compromiso de vigilar el cumplimiento de las condiciones de seguridad,

salud y bienestar, para promover un ambiente de trabajo adecuado y propicio para el ejercicio pleno de las facultades físicas y mentales de los trabajadores, mediante la promoción del trabajo seguro y saludable, y la prevención de accidentes de trabajo y enfermedades ocupacionales.

INPSASEL, es un organismo autónomo, creado según lo establecido en el artículo 12 de la LOPCYMAT, según Gaceta Oficial Número 3.850 de fecha 18 de julio de 1986, cuya misión es ser una Institución comprometida con el diseño y la ejecución de la política nacional en materia de promoción, prevención y atención de la salud y la seguridad laboral, garantizando el cumplimiento de la normativa legal en el área, así como, óptimas condiciones de trabajo a todos los trabajadores y trabajadoras, y su visión estará orientada a ser una Institución Científica Técnica del Estado Venezolano, especializada en la prevención de riesgos y el análisis de las condiciones de higiene y seguridad en el trabajo.[24]

Entre las funciones más importantes de INPSASEL se mencionan: vigilar y fiscalizar el cumplimiento de las normas, prestar asistencia técnica a empleadores y trabajadores, substanciar informes técnicos y promocionar la educación e investigación en materia de salud ocupacional.[24]

2.2 Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)

2.2.1 Bioseguridad

Los términos Bioseguridad y BPL están íntimamente relacionados en la organización de cualquier tipo de laboratorio. La Bioseguridad es el conjunto de acciones o medidas de seguridad requeridas para prevenir o minimizar los efectos adversos potenciales, derivados de la investigación sobre microorganismos vivos. [25]

La Bioseguridad de los laboratorios según el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, 2005 [26], se basa fundamentalmente en tres principios:

- Proteger al personal de los laboratorios de las infecciones que pueden producir los agentes con los que están trabajando.
- Prevenir y asegurar la integridad de los estudios experimentales o pruebas que se están realizando.
- Controlar y contener todos los agentes infecciosos, para minimizar la posibilidad de riesgos causados por esos agentes en las comunidades vecinas.

En este sentido, es necesario establecer normas de bioseguridad en los laboratorios de microbiología y así lograr el cumplimiento y desarrollo de las actividades de manera segura, eficaz, eficiente y coherente.

Es recomendable que cada institución, llámese o no laboratorio de microbiología, se ajuste a las normas nacionales e internacionales vigentes y logre concretar la necesidad de trabajar bajo el concepto de Bioseguridad cumpliendo las siguientes medidas:

- Medidas técnicas
 - Programa de prevención de accidentes.

- Programa de garantía de calidad.
 - Control de calidad de los insumos.
- Medidas administrativas
 - Estructura organizativa.
 - Organización y métodos (adecuación de áreas, mejora en los procesos, métodos validados).
 - Sistema de documentación eficiente (elaboración de Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT)).
- Medidas educacionales
 - Entrenamiento individual.
 - Entrenamiento colectivo.
 - Programas de motivación.
- Medidas médicas
 - Exámenes periódicos (agudeza visual, certificado de salud, niveles serológicos).
 - Programas de medicina ocupacional.
- Medidas psicológicas
 - Entrevistas periódicas.
 - Evaluación del desempeño.

Todas estas medidas son destinadas a proteger la salud de los trabajadores, de la comunidad y del ambiente, frente a riesgos por agentes biológicos en los laboratorios. [26] [27]

Basado en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, la clasificación de los laboratorios de microbiología se establece como sigue:

- Laboratorio básico – nivel de bioseguridad 1;
- Laboratorio básico – nivel de bioseguridad 2;
- Laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3, y

- Laboratorio de contención máxima – nivel de bioseguridad 4.

Además, establece la asignación de un agente, como se señala posteriormente en los niveles de contención, a un nivel de bioseguridad para el trabajo de laboratorio, y debe basarse en una evaluación del riesgo. Esa evaluación tendrá en cuenta el grupo de riesgo, además de otros factores, con el fin de determinar el nivel de bioseguridad más apropiado. De este modo, la asignación de un nivel de bioseguridad tiene en consideración el microorganismo utilizado (agente patógeno de los distintos grupos de riesgo), las instalaciones disponibles (características de diseño, construcción, medios de contención) y el equipo, así como las prácticas y los procedimientos de operación, necesarios para trabajar con seguridad en el laboratorio. Dichas características son fundamentales para todo tipo de laboratorio. [26]

La seguridad biológica se fundamenta en tres elementos

- Diseño y construcción de la instalación (barreras secundarias): La magnitud de las barreras secundarias dependerá del tipo de agente infeccioso que se manipule en el laboratorio. Dentro de ellas se incluyen la separación de las zonas donde tiene acceso el público, la disponibilidad de sistemas de descontaminación (autoclaves), el filtrado de aire de salida al exterior, el flujo de aire direccional, etc.
- Equipo de protección (barreras primarias): Se incluyen aparatos que garantizan la seguridad (por ejemplo cabinas de seguridad biológica), así como las prendas de protección personal (guantes, calzados, mascarillas, gorro, batas).
- Manuales de Bioseguridad (prácticas seguras de trabajo): Desarrollo de un manual de operaciones por parte de cada laboratorio, en el que se identifiquen los riesgos a los que pueda estar expuesto el personal y procedimientos que pueden minimizar esos riesgos. [26] [27]

Es importante también definir el término “contención” que se emplea para describir los métodos que hacen seguro el manejo de materiales infecciosos en la bioseguridad del laboratorio. Se suelen describir cuatro niveles de contención de seguridad biológica, que consisten en la combinación de mayor o menor grado, de los tres elementos de seguridad biológica descritos anteriormente estos son:

- Nivel de contención 1: Es el nivel de seguridad requerido para los agentes biológicos del grupo 1, es decir, los que no producen enfermedad en el ser humano y de susceptibilidad conocida y estables a los antimicrobianos. Es el utilizado habitualmente en los laboratorios de prácticas de universidades o centros docentes donde se emplean cepas no patógenas (*E.coli*K12, *Saccharomyces cerevisiae*, etc.), que son ejemplos típicos de microorganismos que se utilizan en la industria alimentaria, para la elaboración de la cerveza, quesos, embutidos, etc.
- Nivel de contención 2: Es el obligado para agentes biológicos del grupo 2 como algunos que, perteneciendo a la propia flora habitual del hombre, son capaces de originar patología infecciosa humana de gravedad moderada o limitada. Deben ser manipulados por personal especializado (técnicos de laboratorio, especialistas en microbiología) y son los que con más frecuencia se estudian en el Laboratorio de Microbiología Aplicada Clínica: (*Staphylococcus*, *Salmonella*, etc.).
- Nivel de contención 3: Debe utilizarse cuando se manipulan agentes biológicos del grupo 3, microorganismos que cursan con patología grave, de difícil y largo tratamiento, que se pueden curar dejando secuelas y ocasionalmente producir la muerte. El mayor y más frecuente peligro que entrañan éstos es la infección adquirida a través de aerosoles y por fluidos biológicos. Por ello, las principales medidas a tomar en este caso son la correcta manipulación y la utilización de cabinas de seguridad. En los laboratorios de microbiología clínica los ejemplos más característicos son *M. tuberculosis*, *Brucella*, *Coxiella burnetii*, etc. Sólo pueden ser procesados por personal cualificado y en una zona con la infraestructura apropiada para

el Nivel de Contención 3, es decir, con aire acondicionado independiente, sin recirculación de aire, con gradiente de presión, cabinas de bioseguridad, etc.

- Nivel de contención 4: Nivel requerido cuando se procesa con certeza o se sospecha de un agente especialmente patógeno e infectocontagioso, exótico o no, que produce alta mortalidad y para el que no existe tratamiento y/o es poco fiable. Normalmente son microorganismos de dosis infectiva baja y alta contagiosidad. Este nivel también puede utilizarse para trabajar con animales de experimentación infectados por microorganismos del grupo 4. (Ejemplos de este nivel son los *arenavirus* como el que produce la fiebre de Lassa y el virus *Machupo*, virus *Ebola*, etc). Además, deben incluirse en este nivel de contención los microorganismos propios del grupo 3 que adquieran propiedades patógenas que los eleven al grupo 4. (Un ejemplo sería *Mycobacterium bovis* multirresistente que puede causar fallecimiento por fracaso terapéutico). [26] [27]

www.bdigital.ula.ve

Cada laboratorio adopta un manual de seguridad o de trabajo en el que se identifiquen los riesgos conocidos y potenciales y se especifiquen las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos. El cumplimiento de las técnicas microbiológicas apropiadas, es fundamental para la seguridad en el laboratorio y no pueden sustituirse por ningún equipo de laboratorio especializado, que no pasa de ser un complemento.

Cabe destacar que el fundamento de la bioseguridad es la evaluación del riesgo. Las evaluaciones de riesgo son estimadas por el personal que mejor conozca las características peculiares de los organismos con los que se va a trabajar, el equipo y los procedimientos que van a emplearse, los modelos animales que pueden utilizarse y el equipo y los medios de contención disponible. [26]

Los documentos normativos que rigen la implantación de los sistemas de calidad no son únicos o son muy variados, esto implica que cada laboratorio puede seleccionar entre diversos documentos que están a la mano y que además, la puesta en marcha de acciones de calidad en los grupos de investigación es en la mayor parte de los casos voluntaria.[14]

La documentación es base fundamental en un sistema de Gestión de Calidad y en los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio; además son evidencia formal que permite establecer pautas y parámetros que pueden ser ratificados.

En un laboratorio existen documentos de fuentes externas y los elaborados internamente. Los documentos pueden ser normas, instrucciones o recomendaciones, gráficos, catálogos, informes, hojas de seguridad. Fundamentales en la documentación de un laboratorio son el manual de calidad y otros documentos operativos, instructivos, especificaciones, formularios, registros, entre otros.[14]

El Sistema de Gestión de la Calidad (SGC), se basa en los procesos definidos y mapeados que intervienen en éste. Los procesos y actividades se reflejan en los documentos que constituyen el Sistema Documental, describiendo en sí los métodos de trabajo de la Organización. [28]

La documentación se integra de forma ordenada y sistémica a fin de garantizar su correcta comprensión. Esto es, el sistema documental se construye sobre una estructura jerárquica de documentos, como se observa en la siguiente figura:

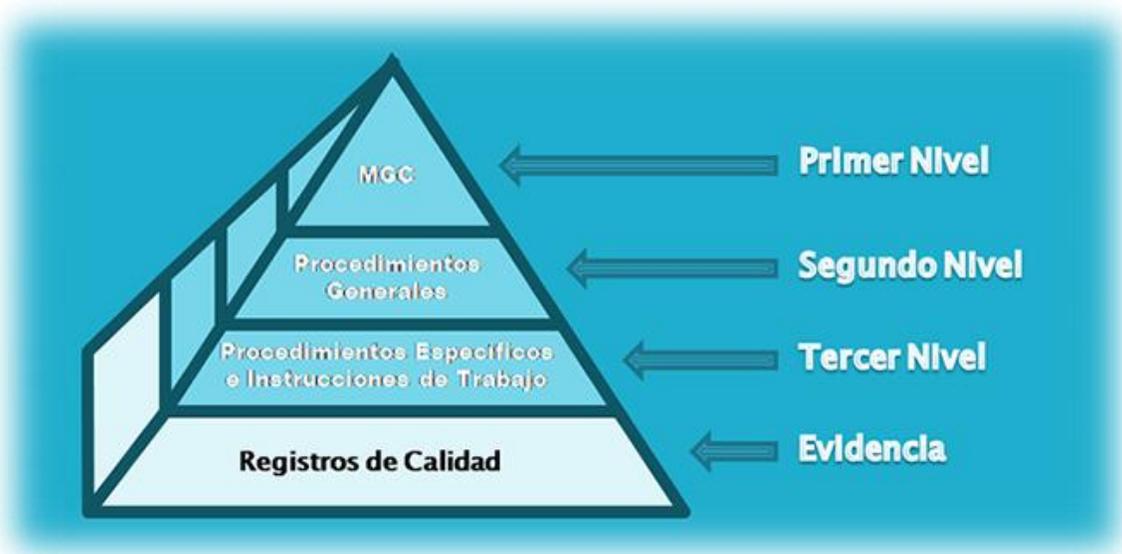


Figura N°4 Pirámide documental [28]

Primer Nivel: Manual de Gestión de la Calidad (MGC)

El primer nivel lo conforman los documentos base donde se indican los principios y la filosofía de la empresa con respecto a la calidad. Este documento se denomina Manual de Gestión de la Calidad y se utiliza como carta de presentación a las partes interesadas (clientes o usuarios, proveedores, personal interno, auditores, etc.). Este documento es de carácter público y está disponible en las áreas de la Organización involucradas en el proceso de calidad en el servicio, para que todo el personal pueda tener acceso a él.

En el Manual de Gestión de la Calidad se incluye:

- El título y la norma en la que se basa el sistema de calidad (en este caso ISO-9001:2008).
- El campo de aplicación del sistema incluyendo y justificando las exclusiones permitidas. Es decir, a qué áreas de servicio de la Organización o departamentos se aplica el sistema de calidad; así también, indica qué requisitos de la norma no son aplicables en el sistema de calidad; estas

exclusiones deben estar justificadas, ya que no se puede excluir un requisito que influya en la calidad del servicio de una manera decisiva.

- Política de calidad: aunque puede ser un documento aparte, ésta se incluye dentro del manual de gestión de la calidad.
- Descripción de la organización, responsabilidades y autoridades. Siempre a nivel básico, que será ampliado posteriormente y en los siguientes niveles de la documentación. Para ser más específicos, se incluye un organigrama que ayuda a comprender la organización de la Empresa.
- Descripción de la secuencia e interacción de los procesos que se incluyen en el sistema de gestión de la calidad. Se indican los procesos que se realizan en la Empresa, las relaciones entre ellos y en qué documentos se describen de una manera más detallada.
- Elementos del sistema de calidad. Se definen los objetivos y las estrategias de una manera genérica
- para cada requisito del sistema de calidad.
- Los procedimientos documentados o referencia a ellos. Por separado, se elaboran los procedimientos documentados que exige la norma así como los aplicables por necesidades de la Organización. Éstos son únicamente referenciados dentro del Manual de Gestión de la Calidad. [28].

Segundo Nivel: Procedimientos Generales

Los documentos del segundo nivel son los Procedimientos Generales (PG). Son los documentos que describen los métodos de trabajo de la Organización, ampliando lo descrito en el Manual de Calidad. Un procedimiento general describe cómo se llevan a cabo las actividades de los procesos. Si dentro de estas actividades se realizan tareas muy concretas y definidas, en el Procedimiento General sólo se indicará la tarea, que se describirá con detalle en el siguiente nivel de documentación.

Los siguientes apartados definen la estructura que se aplica para el desarrollo de los procedimientos de la Organización:

1. Objeto: Descripción de los objetivos que se pretenden lograr. Qué actividades se van a detallar en el procedimiento.
2. Alcance: Define el campo o área de aplicación y en qué medida se aplica el procedimiento. Se mencionará también si procede, sus limitaciones de uso.
3. Responsabilidades: Delimita las responsabilidades para cada actividad descrita en el procedimiento.
4. Definiciones: Aclara conceptos y expresiones que pudieran resultar ambiguos o de posible interpretación subjetiva.
5. Ejecución: Describe por orden cronológico la técnica operativa de las actividades y los procesos necesarios para cumplir con los objetivos del procedimiento. La descripción deberá contestar a: Qué hacer, cómo hacerlo, cuándo hacerlo y quién lo hace.
6. Referencias: Se citan documentos o normas aplicables como otros procedimientos, instrucciones específicas, normas internas, normas externas y documentación que no esté incluida en el apartado <Anexos>.
7. Anexos: Se relacionan y anexas los impresos, documentación, especificaciones, planos parciales o fragmentos de normas, diagramas de flujo, etc., que se utilicen para documentar el procedimiento.
8. Distribución: Se listan las áreas del Organismo a las que se entregará copia controlada del documento.
9. Tabla de Revisiones: Se indica la fecha, número consecutivo de la revisión o emisión y una breve descripción de las modificaciones que se hayan aplicado al documento. [28].

Tercer Nivel: Procedimientos Específicos e Instrucciones de Trabajo

El tercer nivel de documentación lo forman los Procedimientos Específicos (PE) o las Instrucciones de Trabajo. Esta documentación desarrolla en profundidad una actividad que se indica en el Procedimiento General. [28].

Se establecen los procedimientos específicos o instrucciones de trabajo necesarios para que los procesos se realicen de una forma controlada. Una vez desarrollados los documentos, éstos se distribuyen en las áreas correspondientes; así mismo, se proporciona la capacitación y asesoría adecuada al personal de dichas áreas. [28].

Evidencia: Registros de Calidad

Una vez que hemos definido los métodos de trabajo de la Organización (estructurados en los tres niveles de documentación), debemos de trabajar basándonos en estos métodos (ejecución de un método de trabajo). La documentación que se genera son los registros de calidad. Un registro de calidad es una evidencia objetiva de que se están realizando las actividades según están definidas en la documentación del sistema. En otras palabras, son los <<comprobantes>> que certifican que se realiza lo que se dice en el Manual de Calidad y los procedimientos. [28].

Por ejemplo, si definimos en un procedimiento que en el contrato se plasmarán los requisitos del usuario y que se aprobará por el director, el contrato sería el registro de calidad (la evidencia objetiva) de que estamos trabajando según indica el procedimiento. Estos registros de calidad pueden ser utilizados ante terceros (clientes o usuarios, empresas de certificación, etc.) para asegurar que realizamos las actividades tal y como las hemos definido en la documentación del sistema de calidad. [28].

Para realizar la identificación de los posibles riesgos en el laboratorio se utilizan las señales de seguridad establecidas en la NORMA COVENIN [29].que son combinación geométrica, color, un símbolo y/o texto, que proporciona una información determinada relacionada con la seguridad.

Las señales se clasifican en:

- **Señal de información:** es aquella señal que informa sobre cualquier tema que no se refiere a seguridad.El fondo de la señal debe ser blanco y el texto correspondiente en negro (o un color de contraste), son de forma rectangular, con la misma dimensión máxima que la señal que acompaña y colocada bajo de ella, el tamaño del párrafo es proporcional al área utilizada. Tienen forma rectangular o cuadrada, como se señala en la Figura N° 5.



Figura N°5 Señal de Información. [29]

- **Señal de prohibición:** es la señal de seguridad que prohíbe un comportamiento susceptible de provocar un riesgo y su mandato es total. En estas señales el color de seguridad (rojo) ocupa la superficie de un anillo situado en el borde de la señal y una banda oblicua diametral a 135 grados con una anchura similar al borde ocupando la figura al menos el 35% de la superficie de la señal. El color de fondo de la señal debe ser blanco y el

símbolo en color negro, el cual no debe interrumpir la banda oblicua diametral, tienen forma circular, como se indica en la siguiente tabla.

Tabla N° 2. Señales de prohibición. [30]

Significado de la Señal	COLORES			Señal de seguridad
	Del símbolo	De seguridad	De contraste	
Prohibido uso del celular	Negro	Rojo	Blanco	
Prohibido fumar	Negro	Rojo	Blanco	

- **Señal de advertencia o precaución:** Es la señal de seguridad que advierte de un peligro o de un riesgo. El color de fondo es el color de seguridad amarillo, y debe cubrir por lo menos el 50% de la señal. El color de contraste es el negro y un reborde estrecho cuya dimensión debe ser 1/20 del lado mayor. Tiene forma de triángulo equilátero de forma horizontal, como se indica en la Tabla N° 3.

Tabla N° 3. Señales de advertencia o precaución. [30]

Significado de la Señal	COLORES			Señal de seguridad
	Del símbolo	De seguridad	De contraste	
Riesgo eléctrico	Negro	Amarillo	Negro	
Riesgo biológico	Negro	Amarillo	Negro	

- **Señal de obligación:** Es la señal de seguridad que obliga a un comportamiento determinado. El color de fondo es el color de seguridad azul, y debe cubrir por lo menos el 50% de la señal. El color de contraste es blanco y un reborde estrecho cuya dimensión debe ser 1/20 del lado mayor. Tiene forma en rectángulo o cuadrado, como se indica en la Tabla N° 4

Tabla N° 4. Señales de obligación[30]

Significado de la Señal	COLORES			Señal de seguridad
	Del símbolo	De seguridad	De contraste	
Protección de la vista	Blanco	Azul	Blanco	

- **Señal de emergencia:** Es la señal de seguridad que indica la vía segura hacia la salida de emergencia, como también la ubicación de un punto o equipo de emergencia. El color de fondo es el color de seguridad verde, y debe cubrir por lo menos el 50% de la señal. El color de contraste es blanco y un reborde estrecho cuya dimensión debe ser 1/20 del lado mayor. Son de forma rectangular, como se señala en la Tabla N° 5.

Tabla N° 5. Señales de emergencia. [30]

Significado de la Señal	COLORES			Señal de seguridad
	Del símbolo	De seguridad	De contraste	
Primeros auxilios	Blanco	Verde	Blanco	
Punto de reunión	Blanco	Verde	Blanco	

- **Señal de protección contra incendios:** Es la señal de seguridad que sirve para ubicar e identificar equipos, materiales o sustancias de protección contra incendios. El color de seguridad es rojo y el símbolo en su color de contraste blanco. La forma es rectangular o cuadrada, como se indica en la tabla N° 6.

Tabla N° 6. Señal de protección contra incendios.[30]

Significado de la Señal	COLORES			Señal de seguridad
	Del símbolo	De seguridad	De contraste	
Extintor	Rojo	Rojo	Blanco	

De acuerdo a las indicaciones en la norma se va a definir la ubicación conveniente de las señales necesarias de acuerdo a los requerimientos del laboratorio y los siguientes parámetros: [30]

- **Nivel de iluminación:** permanente en la superficie de la señal debe ser como mínimo de 54 lux. Cuando en una instalación no se obtenga este nivel de iluminación se debe emplear señales luminiscentes, se puede invertir el color de la señal con el color del fondo para lograr una mejor visualización de la señal.
- **Dimensiones de las señales:** debe ser tales que el área de la señal de seguridad (A) y la distancia de observación (L) debe satisfacer la relación:

$$A > \frac{L^2}{2000}$$

Estando A y L expresados en metros cuadrados y en metros respectivamente, para una distancia de observación no superior a 50 metros.

- **Materiales de las señales:** en la elaboración de señales de seguridad no debe emplearse materiales radioactivos, vidrio o que produzcan oxidación. En el caso de los materiales cortante estos deben tener los bordes rozos para evitar lesiones.

En la norma COVENIN 2226-90. Guía para la elaboración de planes para el control de emergencias se encuentran las consideraciones establecidas para elaborar un procedimiento encaminado a eliminar o reducir al mínimo los riesgos en el laboratorio. La norma contempla los aspectos generales para el control de cualquier situación de emergencia originada por fallas operacionales, por la naturaleza o por actos de terceros, en cualquier instalación industrial, centro de trabajo, edificación pública o privada. [31]

Se considera falta grave el incumplimiento del artículo N° 53 de la LOPCYMAT el no diseñar o implementar una política de Seguridad y Salud en el Trabajo, de conformidad con esta Ley, su Reglamento o las Normas Técnicas. [23]

Es importante establecer una guía para la elaboración de planes para el control de emergencias, el cual es un procedimiento escrito que permite responder adecuada y oportunamente con criterios de seguridad, eficiencia y rapidez ante los casos de emergencias que se puedan presentar, con una acción colectiva y coordinada de los diferentes entes participantes que permite controlar y minimizar las posibles pérdidas. [31]

Para complementar la guía de planes para el control de emergencia según norma COVENIN 3059:2002 Hojas de datos de seguridad. Esta norma venezolana establece los requisitos mínimos de información que deben contener las hojas de datos de seguridad de los materiales manipulados en el laboratorio. Es un documento que reúne la información básica sobre un material en lo relativo a su

composición, riesgos, manejo seguro y como enfrentar emergencias, compilados así mismo en una carpeta la cual debe estar al alcance de todos. [32]

2.2.2 Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)

Son el conjunto de requisitos científicos, técnicos, y de sentido común para la administración de los laboratorios, tanto en lo referido a los aspectos de dirección como para la ejecución de sus actividades, con vista a garantizar la calidad y confiabilidad de sus resultados. Las BPL recogen los principales aspectos que deben asegurarse en un laboratorio para que los resultados de los ensayos sean adecuados. Siempre se ha insistido que los requisitos deben cumplirse con sentido común, porque no se trata de provocar que la actividades sean más engorrosas y complicadas, sino por el contrario, de lograr el buen desenvolvimiento del trabajo minimizando los esfuerzos.[13]

En el laboratorio se debe elaborar la documentación necesaria para describir la sistemática de los procesos de tipo de organización, de gestión y técnicos. [11]

Tipos de documentos:

- Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT): son documentos que contienen las instrucciones para la correcta realización de un ensayo o procedimiento técnico. Deben ser conocidos y seguidos por el personal encargado de realizar los ensayos.
- Registros: documentos que presentan resultados obtenidos o proporcionan evidencia de actividades desempeñadas. Es variable y depende de cada actividad.
- Formularios: documento en formato papel o electrónico con espacios en blanco para completar, este documento una vez lleno se convierte en un registro de calidad.

- Listados: documentos que ayudan en el control de la documentación en vigor, tanto de PNT, registros y formularios.
- Documentos de consulta: documentos que asesoran en la documentación como: publicaciones en revistas, libros, legislación, manuales de equipo, entre otros. [11]

Según Pómes, 2001, referido por Flores y col 2008. [33], existen distintas formas de implementar sistemas de calidad en los laboratorios de investigación. Estas son:

- Adoptar un estatus determinado basado en normas internacionales. (Ej. EURACHEM).
- Desarrollar guías propias y específicas, factibles de someterse a un proceso de verificación, basadas en experiencias propias y en el aprendizaje organizacional.
- Incluirse formalmente a un sistema de calidad bajo un proceso de acreditación por las normas BPL o las normas ISO. En el caso venezolano las normas COVENIN, según el Ministerio del Poder Popular para el Comercio.

Las normas BPL constituyen, en esencia, una filosofía de trabajo, son un sistema de organización de todo lo que de alguna forma interviene en la realización de un estudio o procedimiento encaminado a la investigación de todo producto químico o biológico que pueda tener impacto sobre la especie humana. Las normas inciden en cómo se debe trabajar a lo largo de todo el estudio, desde su diseño hasta el archivo.[13]

Los principios que abarcan las BPL, basado en las descripciones de Goldman [34], son:

- **Facilidades Adecuadas:** Desde el punto de vista del trabajo, para que éste pueda ser realizado por los trabajadores en forma segura y apropiada. Se debe contar con suficientes salas, para que el personal trabaje sin limitaciones de espacio.
- **Personal Cualificado:** Es importante contar con personal cualificado. Esto es una decisión de manejo basada en trabajo de calidad.
- **Equipamientos Mantenidos y Calibrados:** Emplear equipos mantenidos y calibrados de manera apropiada. Además disponer de los registros de los mantenimientos.
- **Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT):** Son procedimientos operacionales estándares escritos. Cuyo objetivo es asegurar que cada uno obedezca al único procedimiento al mismo tiempo, porque no es lo mismo dar las indicaciones en forma oral, o decir que se sigan las indicaciones que aparecen en alguna literatura, donde muchas veces la traducción no es la más adecuada, que estar establecidas por escrito. Es importante esta práctica, tanto para las operaciones de muestreo como en las del procedimiento analítico, porque es una manera de asegurar que la muestra, está en condiciones para el análisis. Se debe considerar que: sólo lo que está escrito existe.[13]

En la Guía de Buenas Prácticas para Laboratorios de Microbiología Farmacéuticos de la OPS [28], se detallan los requisitos establecidos en relación a las BPL de los laboratorios de microbiología farmacéutica que se involucran con actividades como: ensayos de esterilidad, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) y pruebas de endotoxinas bacterianas en diferentes materiales (ej. materias primas, agua), productos, superficies, vestimentas y el medio ambiente, y valoraciones usando microorganismos como parte del sistema de pruebas. De igual manera entre los puntos a destacar en los laboratorios de microbiología para tomar en consideración tenemos:

- **Personal y Medio ambiente:** Las exigencias de las pruebas microbiológicas requiere que los operarios, supervisores y gerentes tengan la previa y sólida educación en microbiología o en otro campo científico vinculado a la biología. Por lo cual se les debe asignar responsabilidades acordes a su nivel de capacitación y experiencia. El acceso al laboratorio de microbiología solo debe ser permitido al personal autorizado. El personal debe estar informado de los procedimientos adecuados de ingreso y salida, incluyendo procedimientos sobre la vestimenta, las restricciones impuestas al trabajo dentro de tales áreas, las razones por las cuales se imponen tales restricciones y, los niveles apropiados de contención. [13]
- **Equipamiento:** Cada equipo, instrumento u otro dispositivo utilizado para el análisis, verificación y calibración debe identificarse individualmente. Como parte del Sistema de Calidad, el laboratorio debe poseer un programa documentado para la calificación, calibración, verificación del desempeño y mantenimiento de sus equipos y un sistema para el monitoreo del uso de los mismos. [13]
- **Reactivos y medios de cultivo:** Según la USP 35 <1117> Optimas Prácticas de Laboratorio Microbiológico, los medios de cultivo constituyen la base de la mayoría de las pruebas microbiológicas. Por lo tanto, es de suma importancia que se proteja la calidad de estos medios a fin de lograr resultados exitosos en el laboratorio microbiológico.

El control de la calidad en la preparación y evaluación de los medios de cultivo es considerado como una esencial y buena práctica de laboratorio, necesaria para mantener el nivel y la ejecución de cualquier técnica microbiológica. [13].

- **Materiales de referencia y cultivos de referencia:** Los materiales de referencia: se emplean, por ejemplo, para: determinar potencia o contenido, validar métodos, comparar métodos, realizar controles positivos y realizar las pruebas de promoción del crecimiento. *Los cultivos de referencia:* se requieren para establecer el desempeño aceptable de los medios, para validar métodos, verificar la aptitud de los métodos de ensayo y para determinar o evaluar su desempeño. La trazabilidad es necesaria, por ejemplo, cuando se establece el desempeño de los medios para las validaciones de los métodos de ensayo. Para demostrar la trazabilidad, los laboratorios deben utilizar cepas de referencia de microorganismos obtenidas directamente de una colección nacional o internacional reconocida, cuando éstas existan. Alternativamente, se pueden emplear derivados comerciales para los cuales el laboratorio ha demostrado la equivalencia de todas las propiedades relevantes en el punto de uso. [13]

La identificación de un aislamiento bacteriano puede realizarse utilizando diferentes combinaciones de características y diferentes criterios en la evaluación de similitudes. Los ensayos bioquímicos tradicionalmente utilizados, llamadas pruebas bioquímicas convencionales, generalmente determinan la actividad de una vía metabólica (conjunto de reacciones químicas) a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no. [35]

Un esquema de clasificación proporciona una lista de características y un método de comparación para ayudar a la identificación de un organismo. Existen diferentes sistemas de clasificación de bacterias, pero el comúnmente utilizado es el Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. [36]

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc. No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano.

Para llevarlas a cabo, se pueden utilizar diferentes sistemas de trabajo (medio de cultivo, indicador, revelador, etc.) que pueden ser diferentes aún para el mismo ensayo, si se trata de diferentes microorganismos. Por ejemplo se debe suplir con factores de crecimiento el medio de cultivo para estudiar la fermentación de distintos azúcares cuando se sabe que el microorganismo en estudio es exigente. Por lo que a la determinación de la especie se puede llegar según diversos sistemas. [35]

Existen diferentes sistemas que facilitan la realización de tales ensayos, porque proponen el mejor conjunto de pruebas bioquímicas para la identificación de un grupo bacteriano, porque simplifican la interpretación de un resultado utilizando un valor numérico, porque proveen los reactivos listos para su uso o porque son totalmente automatizables.

Los sistemas miniaturizados API® son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Estos sistemas consisten en un dispositivo de plástico con varios microtubos que contienen diferentes medios de cultivo deshidratados o diferentes sustratos de enzimas, de acuerdo al tipo de prueba que se requiere montar. Entre algunas de las pruebas bioquímicas que pueden realizarse con estos sistemas están las pruebas de

fermentación de carbohidratos, la determinación de la producción de H₂S, la determinación de la hidrólisis de la gelatina, entre otras. [37]

- **Muestreo, manejo e identificación de muestras:** El muestreo lo debe realizar exclusivamente personal capacitado y se lleva a cabo en condiciones asépticas utilizando equipos estériles. Hay que tomar las precauciones adecuadas para asegurar que se mantenga la integridad de la muestra. Puede ser necesario monitorear las condiciones ambientales en el sitio de muestreo, por ejemplo, la contaminación del aire y la temperatura. El tiempo del muestreo se debe registrar, si fuese necesario. [13]
- **Eliminación de residuos contaminados:** Los procedimientos para la eliminación de materiales contaminados están diseñados para minimizar la posibilidad de contaminación del ambiente o materiales de trabajo. Este factor corresponde a las buenas prácticas de gestión del laboratorio y debe ajustarse a las regulaciones ambientales o sanitarias y de seguridad nacional e internacional. [13]

La norma ISO 14001 tiene como objetivo principal apoyar la protección ambiental y la prevención de la contaminación en equilibrio con las necesidades socioeconómicas. La norma además establece los requisitos para un sistema de gestión ambiental destinados a permitir que una institución desarrolle e implemente una política y unos objetivos que tengan en cuenta los requisitos legales interrelacionados con aspectos ambientales.[7]

- **Garantía de calidad de resultados y control de calidad de desempeño:**El laboratorio debe contar con un sistema de garantía de calidad o control de calidad interno (ej. manejo de desvíos, uso de muestras con agregados (spiked), repeticiones de ensayos y participación en

ensayos de competencia o aptitud) para asegurar la consistencia de resultados día a día y su conformidad con los criterios establecidos. [13]

- **Procedimientos de ensayos:** Los ensayos se realizan normalmente de acuerdo a los procedimientos descritos en las farmacopeas nacionales o internacionales. Pueden emplearse procedimientos de ensayos alternativos siempre que estén debidamente validados y su equivalencia con métodos oficiales haya sido demostrada. [13]

Es importante mantener registros de datos para el óptimo funcionamiento del laboratorio microbiológico. De esta manera se cumple con cada una de las descripciones del PNT y se garantiza la fiabilidad de los resultados. [13]

- **Informes de ensayos:** Hoy en día para las Industrias Farmacéuticas que tienen un Sistema de Calidad contar con un Sistema de Documentación eficiente se ha convertido en un aspecto básico y a su vez crítico para llevar a cabo una adecuada gestión y control de dicho sistema. Un lema muy conocido en la industria es “Si no está documentado... es que no se llevó a cabo”. [38]
- **Validación de métodos de ensayo:** Según la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI), la definición analítica de validación es el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y a los atributos de calidad previamente establecidos. [39]

Es importante destacar que existen tres tipos principales de determinaciones propias de las pruebas microbiológicas, entre las que se incluyen pruebas para determinar si los microorganismos están presentes

en una muestra, pruebas para cuantificar el número de microorganismos (o enumerar una subpoblación específica de la muestra) y pruebas destinadas a identificar microorganismos.[21]

La validación de un método microbiológico es el proceso mediante el cual se establece experimentalmente que las características de desempeño del método cumplen con los requisitos para la aplicación prevista en comparación con el método tradicional. Dado que las pruebas cuantitativas, por su naturaleza, producen datos numéricos, permiten el uso de técnicas estadísticas paramétricas. Al contrario de las valoraciones microbiológicas cualitativas en las cuales solo se determina presencia.[21]

La validación de los métodos de control microbiológico persigue los mismos objetivos que la validación química y, en este sentido, existe un paralelismo evidente. Los conceptos de organización y garantía de calidad aplicables a un laboratorio microbiológico no difieren de los aplicables en otros laboratorios. Existen instrumentos y equipos característicos (autoclaves, incubadoras, equipos para identificación de microorganismos, etc.) propios del entorno microbiológico que requieren la aplicación de los principios de las BPL. [39]

Se debe evaluar cuidadosamente los criterios de repetición de un ensayo realizado ya que los análisis microbiológicos necesitan más tiempo que los químicos para tener resultados. En resumen la obtención de resultados seguros y fiables, depende en gran medida de la correcta aplicación de las BPL en el ámbito microbiológico. [39]

La puesta en marcha de un procedimiento de análisis, ya sea químico o microbiológico, consta de tres etapas sucesivas y bien definidas: fase de desarrollo y prevalidación, fase de validación y fase de aplicación de rutina.

La primera fase debe tener en cuenta una serie de consideraciones de tipo metodológico y práctico, como son: instrumentación a utilizar, microorganismos, tiempo, costo, seguridad e implicaciones medioambientales y robustez del método. El conocimiento de este parámetro ayudara a ajustar y mantener bajo control los parámetros de las variables o factores de mayor influencia. Una vez desarrollado el método de análisis debe prepararse el protocolo de validación. No existen demasiadas directrices oficiales que indiquen lo que hay que hacer (que parámetros hay que validar) y cómo debe hacerse. [39]

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP 35 <1225>) [21] indica que cuando se usan métodos de farmacopea no se debe validar la exactitud ni la precisión pero si verificar su idoneidad en las condiciones reales de uso. La validez de un procedimiento analítico puede verificarsólo mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto, la documentación de la conclusión exitosa de dichos estudios constituye un requisito básico para determinar si un procedimiento es adecuado para sus aplicaciones previstas.

El método a ser evaluado es cuantitativo y cualitativo. Una vez realizada la evaluación de los parámetros de calidad del método y del proceso, y por otra, la adecuación de los mismos a unos requerimientos analíticos concretos con relación a la actitud del método farmacopeico se presupone que el método ha sido elaborado mediante la colaboración de una serie de expertos y que han definido su rango de aplicación, equipos empleados, operatoria utilizada, etc. [21]

Por tanto, ya existen valores de parámetros que permiten tomar una decisión sobre la aptitud del método para el uso previsto. El método de validación se basa fundamentalmente en verificar la capacidad para cumplir de forma satisfactoria los requisitos establecidos en dichos métodos, tales

como: exactitud, precisión, robustez, especificidad, tolerancia, y límites de detección y cuantificación. Descritos a continuación: [21]

Exactitud: La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra, o como la diferencia entre la media de la valoración y el valor verdadero aceptado, considerando los intervalos de confianza. Los documentos de ICH recomiendan que se evalúe la exactitud utilizando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración, cubriendo el intervalo especificado (es decir, tres concentraciones y tres determinaciones repetidas de cada concentración). La evaluación de la exactitud puede efectuarse de varias maneras, incluyendo la evaluación de la recuperación del analito (porcentaje de recuperación) en todo el intervalo de la valoración, o evaluando la linealidad de la relación entre las concentraciones estimadas y las reales. [21]

Precisión: La precisión de un procedimiento analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un procedimiento analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del procedimiento analítico en condiciones normales de operación. [21]

Robustez: Parámetro definido como la medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas. Se puede determinar durante la etapa de desarrollo del método, es un componente

necesario de validación ya que permite que se conozca los parámetros operativos del método. [21].

Especificidad: La especificidad de un método microbiológico cualitativo es su capacidad para detectar una gama de microorganismos que pueden estar presentes en el artículo de prueba. Este problema se enfrenta de manera adecuada a través de la promoción de crecimiento en los medios para demostrar la presencia o ausencia de microorganismos. [21]

Tolerancia: Es el parámetro definido como la resistencia intrínseca a influencias ejercidas por variables operativas y ambientales, es el grado de precisión de los resultados de la prueba obtenidos mediante el análisis de las mismas muestras bajo diversas condiciones normales de prueba, tales como el empleo de analistas, instrumentos, lotes de reactivos y laboratorios diferentes. [21].

Hay que tener en cuenta que, se debe realizar el cálculo de la precisión (reproducibilidad) en muestras con diferentes niveles de contaminación. En el caso de muestras con alto nivel de contaminación se deben realizar las correspondientes diluciones decimales para permitir el recuento de las placas, dentro del intervalo que se establece en documentos de referencia (ej. normas ISO 8199 e ISO 7218). [40]

La estimación del límite de detección requiere del empleo de suspensiones de inóculo con niveles de concentración bajos. El propio intervalo de confianza a estos bajos niveles hace que, desde un punto de vista estadístico, no se pueda conocer de forma exacta si un determinado inóculo contiene o no el microorganismo a detectar. Por tanto, es aceptable comprobar el método con bajos niveles de inóculos de microorganismos diana de forma que se evalúen diferencias entre las distintas matrices,

analistas, equipos etc., verificándose la capacidad del laboratorio para obtener resultados reproducibles y eficaces a estos niveles. [40]

En el ámbito de los ensayos microbiológicos, la implantación de actividades de control de calidad adecuadas resulta especialmente importante, dado que no siempre es posible caracterizar de forma completa el funcionamiento de estos procedimientos de ensayo. No obstante, es factible establecer sistemas que permitan garantizar el adecuado control de los procedimientos de ensayo microbiológicos, para que los resultados obtenidos en el conjunto de acciones de evaluación de la calidad (ej. siembra por duplicado de placas, verificación del factor de dilución, interlaboratorios, muestras blancas, control de medios de cultivo, controles ambientales, cualificación del personal etc.), cumpla con los controles internos y externos de las condiciones de trabajo. [40].

Estos puntos serán los tomados en consideración para la realización de este trabajo.

2.2.3.- Laboratorio de microbiología y los sistemas de calidad

Antes de ahondar en el tema de Sistemas de Calidad (SC), es importante hacer en esta parte una aclaratoria fundamental, la distinción entre laboratorios de investigación y centros de investigación y desarrollo. Aunque en teoría estas dos entidades son similares por desempeñar ambas, actividades de investigación y ser protagónicas del proceso de descubrimiento y creación de conocimientos científicos y tecnológicos, el término centro de investigación y desarrollo hace referencia a aquellos entes o dependencia administrativa con infraestructura física suficiente, que en forma permanente organiza, ejecuta y desarrolla actividades de ciencia y tecnología, bajo dirección y responsabilidad propia. Por otro lado, se entiende por laboratorios de investigación aquellas unidades que realizan actividades de investigación y docencia (en el caso de las universidades) y dependen organizacional y administrativamente de otros departamentos o centros [33].

Un laboratorio de microbiología (laboratorio de investigación) es un lugar convenientemente habilitado, donde se imparte formación a los estudiantes que pueden manejar y examinar microorganismos. Este tipo de trabajo debe ser llevado a cabo con una buena técnica aséptica y por tanto se requiere un ambiente limpio y ordenado. [41]

En los laboratorios de investigación, los sistemas de calidad están conformados por los elementos organizacionales y los elementos técnicos (Norma Venezolana COVENIN 2534:2000 - ISO/IEC 17025, 1999). Con base a este marco de referencia, es necesario enfatizar que al mencionar SC, se incluye a la gestión de la calidad.

La industria farmacéutica es, a nivel mundial, una de las industrias que se encuentran en constante desarrollo y que se rige por normas nacionales e

internacionales en actividades de manufactura y de control de procesos. Es por ello que en los países industrializados sólo se podrá inscribir o reinscribir en el registro sanitario de medicamentos las fórmulas farmacéuticas señaladas en determinadas obras, en sus últimas ediciones y suplementos, como es el caso de "United States Pharmacopea" (USP 34). En estas obras adicionalmente también se señala que en las empresas farmacéuticas deben implementar métodos para el control del proceso de análisis y producción, acorde con los requerimientos internacionales actuales, los cuales tienen que pasar por un proceso de validación, definida como la confirmación mediante el suministro de evidencias objetivas, que se han cumplido los requisitos para una aplicación específica prevista (ISO 9000-2000), demostrando la fiabilidad del método, requisito primordial cuando deseamos obtener resultados técnicamente válidos, exactos y confiables.[21]

En la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, el Laboratorio de Docencia e Investigación en Microbiología Aplicada, área de Análisis Microbiológico de Medicamentos, tiene una relación inmediata con la industria farmacéutica nacional e internacional por lo que requiere la enseñanza y cumplimiento de las normas de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio para satisfacer las necesidades actuales y poder competir en el ámbito laboral.

Al realizar la evaluación de riesgos en el laboratorio se identifica la carencia de normas y procedimientos en relación a Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio, lo cual origina inconvenientes y desorganización en el desenvolvimiento de las actividades, así como el riesgo de incidentes o accidentes en el laboratorio por desconocimiento de la ley. Es importante lograr que dichos parámetros sean adaptados en el laboratorio para obtener un avance significativo en todas las actividades realizadas y poco a poco incorporar el laboratorio al Sistema de Gestión de Calidad.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Bioseguridad

Elementos relacionados con la bioseguridad.

Basado en el concepto de bioseguridad como el conjunto de acciones o medidas de seguridad requeridas para prevenir o minimizar los posibles riesgos, así como en sus principios de proteger, prevenir y controlar las actividades realizadas y la necesidad de trabajar cumpliendo las diferentes medidas destinadas a proteger al trabajador, la comunidad y el ambiente.

Se realizó una evaluación del LDIMA para lograr incorporar en él todos los elementos relacionados a la bioseguridad como son: diseño y construcción (barreras secundarias), equipos de protección (barreras primarias) y manuales de seguridad (prácticas seguras de trabajo).

En cuanto al diseño y construcción el laboratorio cuenta con instalaciones de agua, gas, luz, así como áreas separadas de trabajo por mesones de trabajo, una de zona de incubadoras y cuenta colonias en un mesón estable ubicado en la parte posterior del laboratorio. Se estableció el uso de prendas de equipos de protección (bata, guantes, tapaboca, gorro) e implementos de seguridad necesarios dependiendo de la actividad a realiza tales como: guantes de calor y lentes, e.o. En cuanto a los manuales de seguridad para cumplir con las prácticas seguras de trabajo se diseñaron los Procedimientos Normalizados de Trabajo para que se identifiquen los riesgos a los que pueda estar expuesto el personal y procedimientos que pueden minimizar esos riesgos.

Organización de un laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2.

Para establecer la organización de un laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2, basándose en el manual de bioseguridad de la OMS [26], se tomó en cuenta el microorganismo a utilizar, las instalaciones y los equipos, prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con seguridad en el laboratorio.

En el nivel de seguridad requerido para los agentes biológicos del grupo 1 es el utilizado habitualmente en los laboratorios de prácticas de universidades o centros docentes donde se emplean cepas no patógenas, en el nivel de contención 2: Es el obligado para agentes biológicos del grupo 2 como algunos que, perteneciendo a la propia flora habitual del hombre, son capaces de originar patología infecciosa humana de gravedad moderada o limitada. Deben ser manipulados por personal especializado (técnicos de laboratorio, especialistas en microbiología) y son los que con más frecuencia se estudian en el Laboratorio de Microbiología Aplicada Clínica: (*Staphylococcus*, *Salmonella*, etc.).

Siguiendo estas especificaciones en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS y de la USP 35 en su capítulo general <1117>Óptimas Prácticas de Laboratorio Microbiológico, los laboratorios de docencia e investigación se ubican como laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2, por lo tanto deben cumplir los requerimientos de este tipo de organización.

La documentación es la base fundamental en un sistema de Gestión de Calidad y en los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio; además son evidencia formal que permite establecer pautas y parámetros que pueden ser ratificados.

Además se cumple con uno de los elementos de la bioseguridad es por ello que todas las actividades que se realizan en el laboratorio debe estar descritas en los Procedimientos Normalizados de Trabajo.

Sistema de señalización dentro del Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada.

Se realizó la señalización del Laboratorio de Docencia e Investigación de Microbiología Aplicada siguiendo las pautas establecidas en la NORMA COVENIN [30], que establece los colores, símbolos, dimensiones y materiales de las señales de seguridad, con el objeto de complementar la acción preventiva a los accidentes, riesgos a la salud.

Para la ubicación de las señales se tomaron en cuenta varios aspectos entre los cuales tenemos:

- Se establecieron los posibles riesgos de las operaciones que se llevan a cabo en el laboratorio.
- Dependiendo del riesgo se colocó la señal respectiva.
- La altura a las que se ubicaron las señales están entre 1,6 m a 1,8 m medidos desde el suelo, según lo establecido en Imagen Institucional de la Universidad de Los Andes hacia la Señaletica.

Distancia de la señal desde el suelo



Figura N° 6 Altura de las señales. [29]

- El tamaño utilizado fue de 17x14cm para lugares relativamente espaciosos, para lograr satisfacer las necesidades en relación a la distancia de observación. [29]
- Las señales se realizaron en impresión en alta definición, con una cubierta plastificada y adherida a la pared con cinta doble fax marca 3M.
- Se utilizó las señales de información para ofrecer los servicios existentes o palabras claves importantes en el desarrollo de las actividades; señales de prohibición para regular el comportamiento de las personas en el área así como advertir acciones no deseadas que pueden provocar accidentes; señales de advertencia para avisar sobre los peligros a los que se exponen en el área; señales de obligación para imponer las reglas de seguridad industrial del personal que diariamente se encuentra expuesto al manejo de materiales irritantes o contaminantes, además previenen accidentes innecesarios en el área de trabajo; señales de emergencia para guiar en los recorridos de evacuación y controlar el flujo de las personas hacia la salida o algunas señales de este tipo indican la presencia de algunos servicios necesarios en situaciones de emergencia.

Elaboración de un Procedimiento Normalizado de Trabajo (PNT) de Planes para el control de emergencias según la norma COVENIN 2226-90

Dadas las deficiencias en bioseguridad que presenta el LDIMA, para lograr objetivos como: salvaguardar vidas, atender lesionados, garantizar la seguridad del personal involucrado en el control de la emergencia, proteger las instalaciones y bienes materiales y restablecer la normalidad lo más pronto posible, se hace necesario desarrollar Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT).

Para cumplir con la documentación en relación a la bioseguridad se elaboró un modelo de PNT para que en todos los casos en los que se necesite elaborar

PNTs, se siga el modelo establecido según el Anexo N° 1, el cual consiste en un PNT cuyo título es Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo, cuyo objetivo es describir los pasos a seguir para la realización de PNTs en las diferentes actividades que se realizan en el LDIMA.

Este PNT contiene, índice, objetivo, alcance, responsables, frecuencia, condiciones generales, procedimiento, flujograma, glosario, referencias bibliográficas, control de distribución de copias, control de cambios, personal entrenado en este PNTs y anexos; además presenta en el encabezamiento el título del PNTs, código, número de hoja, departamento, cátedra, mención, vigencia del manual (indicando fecha de elaboración y próxima revisión).[28]

En cuanto al Procedimiento Normalizado de Trabajo de planes para el control de emergencias, en el objetivo y condiciones del PNT se estableció los pasos a seguir para responder adecuada y oportunamente con criterios de seguridad, eficiencia y rapidez ante los casos de emergencia que se puedan presentar al realizar las diferentes actividades en el LDIMA. Así como se designó a las personas responsables de poner en práctica las medidas adecuadas, el procedimiento con las medidas que deben tomarse en cada tipo de emergencia, con claras y precisas explicaciones en cuanto a la prioridad de las mismas, disposición de equipos y materiales para el control de las emergencias, así también medios de comunicación que permitan mantener una interrelación continua entre el personal involucrado para coordinar eficazmente las tareas requeridas ante una emergencia y establecer la notificación de riesgos a los que se estará expuesto dentro del laboratorio. Contiene información adicional que ilustra el contenido del plan tales como: teléfonos de emergencia, centros asistenciales, organismos y autoridades competentes, equipo contra incendios.

Hoja de datos de seguridad de las cepas microbiológicas. Según norma COVENIN 3059:2002

En el LDIMA no se cuenta con un registro de manejo seguro sobre las cepas manipuladas en el laboratorio por lo que se requiere incluir un formato de hoja de datos de seguridad de las mismas, que contenga todos los criterios necesarios para cumplir con la norma.

Se realizó el diseño de un formato que reúne la información básica sobre la cepa microbiológica *Staphylococcus aureus* indicando lo relativo a sus características, reservorio, hospedadores, dosis infectiva mínima, supervivencia ambiental, vías de entrada, grupo de riesgo, mecanismo de propagación y transmisión, efectos en la salud, actividades laborales con riesgo, prevención y control, inactivación física, medidas preventivas generales, seguridad en el laboratorio.

Se escogió la cepa *Staphylococcus aureus* ya que es uno de los microorganismos objetables en el análisis de medicamentos, específicamente en productos farmacéuticos no estériles, así como también es usada en otros procedimientos farmacopéicos realizados en el LDIMA.

3.2 Buenas Prácticas de Laboratorio

Es importante destacar que en el LDIMA se realizan a diario algunas de las actividades mencionadas en los documentos de laRed PARF de la OMS/OPS [13],por lo cual se efectuó una autoevaluación de las condiciones del laboratorio y a su vez la búsqueda de posibles soluciones para solventar la situación siguiendo los requisitos exigidos en el documentoRed PARF de la OMS/OPS [14].

Para cumplir cada uno de los requisitos autoevaluados se elaboraron PNTs aplicados al área en estudio siguiendo el modelo delAnexo N° 1: PNT para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo. Así mismo se diseñaron documentos(formatos, registros, certificados), cumpliendo con los objetivos establecidos de las BPL en cada uno de los puntos de referencia tomados en cuenta y señalados a continuación:

- **Personal y medio ambiente:** En el LDIMA no existen normas ni procedimientos que permitan informar las actividades que se realizan en el laboratorio, y dar cumplimiento a los documentos de la OMS/OPS.

Para facilitar el entendimiento de cada uno de los procesos, las condiciones apropiadas de trabajo y procedimientos que conlleven a la organización y ejecución de las acciones, se elaboró un PNTs de normas de comportamiento y hábitos de trabajo en el laboratorio, que facilite el desenvolvimiento del personal y lograr con éxito los objetivos planteados. Es importante que al estar aprobados los PNTs estos deben ser discutidos y evaluados de manera tal que todas las personas relacionadas con él, cumplan las actividades sin variaciones que conlleven a errores o posibles riesgos.

Así mismo se creó una descripción del puesto de trabajo, a través de un modelo de formato de perfil de cargo, donde se mencione el propósito del cargo, equipos y procedimientos de trabajo a realizary añadir recomendaciones de higiene y seguridad, con el fin de establecer áreas de competencia y los riesgos inherentes al puesto de trabajo.

Para complementar se diseñó un formato de entrenamiento del personal en donde se va a reportar las evaluaciones de los PNTs que se han utilizado en la formación del personal del laboratorio, este formato describe la fecha en que se realiza, el PNT discutido, número de participantes, el instructor, duración y observaciones durante el entrenamiento, de esta manera se asegura la ejecución competente en las actividades a cumplir. El personal solo puede realizar ensayos si ha demostrado su competencia o los realiza bajo supervisión adecuada. El reentrenamiento puede realizarse cuando sea necesario o cuando se presenten fallas en la monitorización de cualquier ensayo. Este formato y las evaluaciones realizadas son los documentos que evidencian que se tiene conocimiento de las actividades a cumplir.

- **Equipamiento**

Es importante resaltar que en el caso de los equipos que se encuentran en el laboratorio, son equipos considerados heredados, es decirque fueron adquiridos con anterioridad, que no han requerido ser sustituidos, o que están funcionando en las condiciones adecuadas para los fines que se necesitan. Además no poseen la información necesariacomo manuales útiles para una calificación de instalación, operación y ejecución como la que procede con los equipos nuevos.[39].Sin embargo se puede realizar una calificación de ellos considerando las condiciones requeridas para este tipo de equipos, descritas a continuación.

Para la cualificación de los equipos se requiere que estos sean instalados correctamente e inspeccionados, limpiados, conservados, comprobados y calibrados periódicamente según procedimientos escritos. [39].

Se elaboró un modelo de PNT (siguiendo el modelo del anexo N° 1) de manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER), en donde se describe con suficiente detalle las instrucciones de instalación, manejo, limpieza y funcionamiento, los métodos, materiales y programas a realizar en los aparatos e indicar la persona responsable de cada operación, en el apartado de anexos se colocó la fotografía de las partes del equipo, lo que permitió visualizar y entender mejor el procedimiento. Para el conocimiento del equipo y así evitar daños o accidentes por el uso inadecuado del equipo se buscó información de equipos similares lo cual fue imprescindible.

Es importante mantener un registro de las diferentes operaciones que se realicen en el equipo o instrumento, ya sean de funcionamiento, mantenimiento, limpieza, calibración o cualificación. Estos registros es recomendable archivarlos durante un periodo de tiempo prudencial.[39]

Los formatos que se realizaron son de: identificación de equipos permitiendo tener un inventario y registro de todos los equipos que se utilizan en el Laboratorio. El formato diseñado permite recopilar información como: nombre del equipo, marca, modelo, código de bienes ULA y ubicación dentro del laboratorio y accede a su vez tener la información precisa de todos los datos en el momento de realizar cualquier análisis.

También se elaboró el formato de registro y uso de equipos, que establece fecha, nombre del personal que opera el equipo y las condiciones de operación, su diseño fue implementado para llevar un registro de

operatividad del equipo, que es fundamental para su mantenimiento, así como para ejercer responsabilidades en el uso inadecuado de los mismos

- **Reactivos y medios de cultivo**

Se elaboró un PNTs que detalla la preparación e identificación de medios de cultivo utilizados en los ensayos en el laboratorio. Así como un PNTs en donde se establecen las pruebas a realizar en el control de calidad de los medios de cultivo utilizados en el laboratorio. Los medios de cultivo se utilizan en las prácticas de laboratorio y su control de calidad es fundamental para obtener resultados confiables que garanticen los análisis que se realizan. Estos PNT se desarrollaron con el fin de cumplir con las BPL en microbiología y de esta manera lograr la calidad microbiológica.

- **Materiales de referencia y cultivos de referencia**

En cuanto a los cultivos de referencia se realizó un PNT de manejo y repique de cepas bacterianas y un PNT de caracterización de cepas de microorganismo.

El objetivo del procedimiento de manejo y repique de cepas bacterianas es la preservación de las cepas microbiológicas para garantizar la viabilidad de las mismas y minimizar los cambios en las características morfológicas, fisiológicas o genéticas de las cepas utilizadas en el LDIMA. El mantenimiento de las cepas de trabajo garantiza los resultados obtenidos, a través de la utilización de controles positivos para la confirmación de la viabilidad del microorganismo usado.

En cuanto al procedimiento para la caracterización de las cepas microbiológicas el objetivo es lograr la comprobación en su identificación mediante pruebas de pureza y bioquímicas tradicionales y la comparación con el sistema miniaturizado API de todas las cepas bacterianas utilizadas

en el LDIMA de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

- **Muestreo**

El laboratorio no cuenta con procedimientos que indican las condiciones del manejo e identificación de las muestras, por ejemplo: tipo de muestra, cantidades, condiciones de los envases, además del registro de fecha y hora del muestreo. Es conveniente precisar las condiciones de almacenamiento de la muestra en el caso que el ensayo no pueda realizarse de una vez y así disminuir la posibilidad de crecimiento microbiano en la muestra.

El LDIMA no cuenta con los parámetros mínimos establecidos en cuanto a condiciones ambientales de humedad y temperatura en el área de trabajo para realizar el rotulado y muestreo.

Se elaboró un PNT (siguiendo el modelo del anexo N°1) para el manejo adecuado de muestras y rotulación de material de análisis. El objetivo de este procedimiento es establecer el manejo adecuado de muestras que ingresan al laboratorio, así como la rotulación del material de análisis, para así cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio en las diferentes actividades que se realizan en el LDIMA.

- **Eliminación de residuos contaminados**

Es importante resaltar que la eliminación de desechos del LDIMA se realiza en conjunto con el área de preparación de medios de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. No existe escrito el protocolo a realizar para la eliminación de material generado en el laboratorio bien sea contaminado o no.

Se elaboró el PNTs eliminación de material contaminado, describiendo los pasos a seguir para disminuir el riesgo de contaminación durante el descarte del material generado en el laboratorio y establecer el procedimiento a seguir para realizar de manera adecuada la eliminación de desechos del LDIMA.

- **Procedimientos de ensayo**

En el LDIMA los métodos realizados están descritos en el programa de asignatura establecidos en base a la USP, en algunos casos se utilizan métodos alternativos. Cabe destacar que durante la realización de la práctica se realiza una consulta directa con el material de apoyo (USP, métodos, e.o.), no se tiene procedimientos escritos según los requerimientos del laboratorio por lo que es conveniente desarrollar todos los PNT necesarios para describir cada uno de los métodos que se realizan en el laboratorio y que facilitaran la organización, el desarrollo de habilidades y competencias de todo el personal que pertenece al laboratorio.

Se elaboró el procedimiento para realizar de manera adecuada y completa el control microbiológico del agua potable utilizada en el LDIMA, (según el anexo N° 1), sirviendo de modelo, en la elaboración de los demás PNT relacionados a los procedimientos de ensayo realizados en el LDIMA.

- **Informes de ensayos**

El uso del cuaderno durante la realización de las prácticas en el laboratorio es imprescindible para describir la secuencia de las pruebas realizadas y sus respectivos resultados, creando conciencia en el personal de la necesidad de escribir todo lo que se hace, cumpliendo con las Buenas Prácticas de Documentación.[38]

En vista de la importancia de la documentación se elaboro el PNT de registro de resultados de análisis en el cuaderno de laboratorio,este procedimiento establece la necesidad y los pasos a seguir para plasmar de forma clara, completa y a tiempo los resultados obtenidos que van a servir como la data más inmediata del historial de análisis microbiológico de todos los productos analizados.

Los resultados se reportan por duplicado tanto en el cuaderno del analista y al mismo tiempo se utilizan los certificados de análisis que son documentos en donde se evidencia los resultados obtenidos durante el ensayo realizado, que van a formar parte del expediente de cada producto elaborado.

Se realizó el diseño del formato de Certificado del Control Microbiológico de Productos Estériles como modelo para los siguientes certificados que se deben realizar ya que todos los procedimientos escritos de los procedimientos de ensayo deben cumplir con el reporte de los resultados en certificados, con el dictamen aprobado o rechazado de acuerdo a las especificaciones establecidas en la muestra analizada.

- **Validación**

Al no existir pautas oficiales de validación, el trabajo a efectuar depende de la experiencia y estrategia de cada laboratorio. Los protocolos de validación deben permitir rentabilizar los ensayos efectuados y extraer la máxima información e interpretación de los resultados obtenidos. Además es importante destacar el conocimiento de los temas de BPL en microbiología (cepas de microorganismos, medios de cultivo, diluyentes) relacionados con la validación. [39]

Los métodos de análisis microbiológicos contemplados en el programa de la asignatura del LDIMA, en el área de análisis microbiológico de medicamentos en su mayoría son farmacopéicos. El método a ser validado en este trabajo, se encuentra en la Farmacopea de los Estados Unidos Capítulo <61>Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano y <62>Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos. A continuación se describe el método a evaluar para considerar la validación del mismo:

❖ **Validación del método farmacopeico <61>: Examen microbiológico de productos no estériles: prueba de recuento microbiano [21]**

Las pruebas que se describen a continuación permiten el recuento cuantitativo de bacterias mesófilas y hongos que pueden desarrollarse en condiciones aeróbicas. Dichas pruebas han sido diseñadas principalmente para determinar si una muestra cumple con una especificación establecida de calidad microbiológica. [21]

Consideraciones generales

Se realizó la determinación de la prueba de recuento microbiano en condiciones diseñadas para evitar la contaminación microbiana extrínseca del producto a examinar. Las precauciones que se tomaron fueron en relación a la manipulación del producto para evitar la contaminación y no afectara ningún microorganismo que se detecten en la prueba.

La muestra a analizar contiene parabenos, lo cual inhibe el crecimiento, por lo cual se modificó el procedimiento para la prueba de recuento particular con el objeto de garantizar la validez de los resultados. La modificación del procedimiento se realizó con la incorporación de agentes neutralizantes generales o específicos en el diluyente. El agente neutralizante usado para neutralizar la actividad de los agentes antimicrobianos (ver la Tabla N° 8). Estos neutralizadores se añadió al

diluyente seleccionado, para demostrar su eficacia y la ausencia de toxicidad para los microorganismos mediante un blanco con neutralizador y sin el producto.

Tabla N° 7. Métodos para sustancias de interferencia / Agentes neutralizante comunes

Sustancia de Interferencia	Agentes Neutralizantes Potenciales / Método
CAC, yodo, parabenos	Polisorbato

Se estableció la aptitud de la prueba para detectar microorganismos en presencia del producto a examinar. Se confirmó la aptitud ya que se introduce un cambio en la realización de la prueba o en el producto que puede afectar los resultados del análisis.

Método de recuento

La elección del método se basó en factores tales como la naturaleza del producto y el límite de microorganismos requerido. El método seleccionado permitió el análisis de un tamaño de muestra suficiente para juzgar el cumplimiento con la especificación.

Preparación de la muestra, inoculación y dilución - El método para preparar la muestra dependió de las características físicas del producto a examinar. La muestra analizada es un producto soluble en agua Acetaminofen Jarabe 120 mg / 5 mL. La dilución preparada fue una dilución 1 en 10 del producto a examinar en Caldo Digerido de Caseína y Soja + polisorbato. Se prepararon diluciones adicionales, con el mismo diluyente.

Cantidad Usada para la Prueba: 10 mL del producto a examinar, tomados con las precauciones necesarias para evitar la contaminación extrínseca de la muestra.

Método de recuento: Se prepararon dos placas de Petri para cada medio por cada nivel de dilución, se realizaron tres diluciones. De la dilución inicial 10 mL de muestra en 90 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja + polisorbato (10^{-1}), se tomo 1 mL a 9 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja + polisorbato (dilución 10^{-2}) y luego 1 mL a 9 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja + polisorbato (dilución 10^{-3}).

De cada uno de los tubos de cada dilución se tomó 1 mL a dos placas estériles de Petri, se añadió Agar Digerido de Caseína y Soja + polisorbato e incubar a una temperatura entre 30° y 35°C durante un período no mayor de 3 días y luego de cada uno de los tubos de cada dilución se tomo 1 mL a dos placas estériles de Petri se añadió Agar Sabouraud Dextrosa y se incubó a una temperatura entre 20° y 25°C durante un período de 5 a 7 días. Se escogió las placas correspondientes a una dilución determinada y que mostraran el mayor número de colonias, (menor de 250 para el recuento total de microorganismos aerobios (RTMA) y menor de 50 para el recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras (RTCHL)). Y luego se calculo el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por g o por mL del producto. En el caso de no obtener UFC se debe reportar los resultados como $<10\text{ufc/mL}$.

Preparación de cepas de prueba, prueba de promoción del crecimiento de los medios, controles negativos.[21]

Preparación de las cepas

Se realizó el mantenimiento y conservación de las cepas siguiendo el PNT de manejo y repique de cepas.

Se realizó la reactivación de cada uno de los siguientes microorganismos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Salmonella* y

Candida albicans) utilizados en el ensayo, en 10 mL Caldo Tripticasa de Soya (TSB) y se incubaron a 30°C-35°C por 24 horas. Luego se tomó un inóculo de 0.1 mL de cada una de ellas y se sembraron en placas petri conteniendo Agar Tripticasa de Soya (TSA), se incubaron a 30°C-35°C por 24 horas, en el caso de *Candida albicans*, se utilizó Agar Sabouraud por un tiempo de 72 horas. Transcurrido el tiempo se procedió a añadir 10 mL de solución salina a cada una de las placas y con la ayuda del asa de siembra se logró recuperar las cepas, se colectaron estas re suspensiones bacterianas con la ayuda de una pipeta estéril de 5 mL a tubos de vidrio estériles.

Luego se tomó 10 uL de cada una de las resuspensiones bacterianas y se colocaron a tubos conteniendo 10 mL de solución salina, escala Mac Farland N°1. De estas concentraciones, se realizaron diluciones sucesivas utilizando 9 mL de buffer fosfato pH 7.2, se tomó 1 ml de cada dilución y se colocaron a placas Petri realizando esta operación por duplicado determinando así la dilución en la cual se obtiene no más de 100 ufc en placa (dilución de trabajo), según las recomendaciones de la USP 34.

Promoción del crecimiento de los medios

Se realizó con Agar Tripticasa de Soya se inoculó 1 mL de la dilución de trabajo de los microorganismos: *Staphylococcus aureus*(10^{-6}), *Pseudomonasaeruginosa*(10^{-5}) y *Bacillus subtilis* (10^{-5}), en placas Petri por duplicado y se agregó 15 a 20 mL de medio de cultivo Agar Tripticasa de Soya, además se realizó el control negativo del medio de cultivo, agregando 15 a 20 mL en una placa de vidrio estéril. Se incubó a 30 °C - 35°C por no más de 3 días.

En el medio de cultivo Agar Sabouraud se inoculo 1mL de *Candida albicans* (10^{-5}) en placas Petri por duplicado y se agregaron 15 a 20 mL de medio de cultivo Agar

Sabouraud además se realizó el control negativo del medio de cultivo, agregando 15 a 20 mL en una placa de vidrio estéril. Se incubó a 20-25°C por no más de 5 días.

Para medios sólidos, se utilizó un inóculo recién preparado, que produce un crecimiento de microorganismos comparable al obtenido anteriormente con una partida de medio analizada y aprobada previamente. Los medios líquidos son adecuados si se produce un crecimiento claramente visible de microorganismos comparable al obtenido anteriormente con una partida de medio analizada y aprobada previamente.

Controles negativos

Para verificar las condiciones de prueba, se realizó un control negativo usando el diluyente seleccionado (Agar Lethen) en lugar de la preparación de prueba. No se observó crecimiento de microorganismos luego de cumplir con el periodo de incubación de 37°C por no más de 3 días.

Parámetros de validación evaluados durante el método cuantitativo de recuento microbiano. [21][39]

Especificidad - Exactitud

Para la determinación de este parámetro se evaluó el diluyente, el producto y los neutralizantes con un determinado inóculo de un microorganismo de prueba, como se describe a continuación:

Evaluación del diluyente

Para comprobar que los neutralizantes a utilizar no interfieren en el proceso de recuperación, se evaluaron dos diluyentes: el Caldo Lethen y el Caldo Tripticasa

de Soya más neutralizantes (lecitina 0,5% y polisorbato 20 al 4 %), siendo el segundo el medio diluyente usado.

Se prepararon 3 tubos con 9 mL para cada uno de los diluyentes y se inoculó 1 mL de la cepa de prueba (*Staphylococcus aureus*), en su respectiva dilución de trabajo (100 ufc/mL).

Luego se colocó por duplicado 1 mL de cada tubo a placas Petri estériles y se incorporó 15 a 20 mL de TSA previamente fundido y enfriado a 45°C aproximadamente. Se incubaron las placas a 30 - 35 °C por 24 a 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la lectura de las colonias.

Evaluación del producto y neutralizante

Para evitar errores en los resultados es necesario comprobar que los neutralizantes, al interaccionar con el producto, no ejerzan influencia sobre éste en su recuperación microbiana. Para esto se evaluaron 2 diluyentes: Caldo Letheen y Caldo caseína y soja + neutralizantes (lecitina y polisorbato) y producto.

Se prepararon 3 tubos con 9 mL para cada uno de los diluyentes y se inoculó 1 mL de la cepa de prueba (*Staphylococcus aureus*) en su respectiva dilución de trabajo.

Luego se colocó por duplicado 1 mL de cada tubo a placas Petri estériles y se incorporó 15 a 20 mL de Agar Tripticasa Soja previamente fundido y enfriado a 45°C aproximadamente. Se incubaron las placas a 30 - 35 °C por 24 a 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se realiza la lectura de las colonias.

Con los resultados obtenidos se realizó el cálculo del Test de F para comparar las varianzas mediante la siguiente fórmula:[39]

$$F_{experimental} = \frac{variancia}{variancia}$$

El resultado obtenido se compara con el valor de F tablas que en este caso es:
(p=0,05 v₁=5.v₂=.5)= 5,050

Si F_{experimental} es menor que F_{tablas} se acepta la hipótesis de que las varianzas son homogéneas.

Al ser las variancias homogéneas, se realizó el cálculo de la desviación estándar combinada, mediante la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{des.est^2 + des.est^2}{2}}$$

Con los resultados obtenidos aplicamos una t-student con la siguiente fórmula:

$$t_{experimental} = \frac{\bar{x} A - \bar{x} B}{s\sqrt{\frac{1}{nA} + \frac{1}{nB}}}$$

El resultado obtenido se compara con el t de tablas que en este caso es:
(0,05/2.v= 5)=2,571

Si el resultado obtenido de t experimental es menor que t tablas no existe diferencia significativa entre la recuperación con producto y con diluyente.

Cálculos de los porcentajes (%) de recuperación, la exactitud y la precisión.

Con los resultados obtenidos con el procedimiento de exactitud y precisión se realizó el cálculo de porcentaje de recuperación de exactitud y precisión.[39]

Exactitud

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{\text{microorganismos recuperados en presencia del producto}}{\text{microorganismos recuperados en ausencia del producto}} \times 100$$

Precisión: expresa la variabilidad o más-menos del método analítico para determinar el grado de contaminación. Matemáticamente se expresa como coeficiente de variación que lo determinamos con la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

Donde:

\bar{x} : media de los tantos por ciento de recuperación de los microorganismo.

s: desviación estándar

CV: coeficiente de variación

El coeficiente de variación obtenido debe estar entre 15-20%.

Robustez: este parámetro se obtuvo evaluando el producto en tres días consecutivos de trabajo, modificando las variables ambientales del área de trabajo. Demostrando que el método no es afectado en variaciones de tiempo pequeños.

Se realizó cambio de medio de cultivo para la determinación de Bacterias Aerobias Mesófilas se realizó con Agar Lethen y Caldo Tripticasa Soja + neutralizantes.

Tolerancia: Se determinó este parámetro usando el mismo inóculo de cada una de las cepas de prueba sugerido por la USP 34 según el medio del cultivo. Se evaluó el Agar Tripticasa de Soja + neutralizantes y el Agar Lethen obteniendo un recuento similar en los dos medios evaluados no existiendo variación por cambio del medio, obteniendo los siguientes recuentos microbianos:

Límite de Detección y cuantificación:

Para la obtención de este parámetro se determinó la dilución mínima de cada cepa de prueba que nos permita inocular aproximadamente 5 ufc/mL. Se prepararon 3 tubos conteniendo 9 mL de (medio + producto) y 3 tubos conteniendo 9 mL de medio para cada microorganismo de prueba, se inoculó 0,5 mL de una dilución posterior a la dilución de trabajo, luego se colocó 1 mL de cada tubo por duplicado en placas Petri estériles y se añadió 15 mL del medio de cultivo Agar Tripticosa de Soya y se incubó a 30-35 °C por 24 a 48 horas.

❖ Validación del método farmacopeico <62>: Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos.[21]

Las pruebas que se describen a continuación permitirán determinar la ausencia, o presencia limitada, de microorganismos específicos que puedan ser detectados en las condiciones descritas. Las pruebas han sido diseñadas principalmente para determinar si una sustancia o preparación cumple con alguna especificación establecida de calidad microbiológica.

Procedimientos generales: se debe preparar la muestra al igual que para el examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano.

Consideraciones generales

Se realizó la aptitud de la prueba para detectar microorganismos en presencia del producto a examinar. Se confirmó la aptitud al introducir un cambio en la realización de la prueba o en el producto que pudiera afectar los resultados del análisis.

Preparación de Cepas de Prueba, Propiedades de promoción del crecimiento e inhibitorias de los medios, aptitud de la prueba y controles negativos.[21]

Preparación de Cepas de Prueba

Microorganismos aerobios: se cultivó por separado cada cepa bacteriana de prueba en recipientes que contengan Caldo Digerido de Caseína y Soja o Agar Digerido de Caseína y Soja a una temperatura de 30° a 35°C, durante un período de 18 a 24 horas.

Cultivar por separado la cepa de prueba de *Candida albicans* en Agar Sabouraud Dextrosa o Caldo Sabouraud Dextrosa a una temperatura de 20° a 25°C durante un período de 2 a 3 días.

www.bdigital.ula.ve

Propiedades de promoción del crecimiento e inhibitorias de los Medios

Se analizó cada partida de medio preparado a partir de medio deshidratado para verificar las propiedades adecuadas de los medios pertinentes según se indica en la Tabla N° 9.

Se realizaron las siguientes pruebas con respecto a los medios de cultivo a utilizar:

- Prueba de las propiedades de promoción del crecimiento, medios sólidos. usando el método de extensión en superficie: se inoculó cada una de las placas con un número pequeño (no más de 100 ufc) del microorganismo adecuado por ejemplo: (Agar MacConkey - *Escherichia coli*), (Agar Cetrimida - *Pseudomonas aeruginosa*), (Agar Manitol Salado – *Staphylococcus aureus*) incubando a la temperatura de 37°C por no más de 48 horas, al finalizar el tiempo de incubación se

observó un crecimiento de microorganismos comparable al obtenido anteriormente con una partida de medio analizada y aprobada previamente.

- Prueba de las propiedades inhibitorias, medios sólidos: Se inoculo el medio apropiado con al menos 100 ufc del microorganismo adecuado, (Agar Cetrimida – Escherichiacoli), (Agar MacConkev *Staphylococcus aureus*), se incubo a la temperatura especificada de 37°C durante un tiempo no menor de 48 horas tiempo indicado en la prueba. No se observo crecimiento del microorganismo de prueba, al finalizar la incubación.
- Prueba de las propiedades indicadoras: usando el Método de Extensión en Superficie: inoculando cada una de las placas con un número pequeño (no más de 100 ufc) del microorganismo adecuado: (Agar MacConkev- *Escherichiacoli*), (Agar Cetrimida - *Pseudomonasaeruginosa*), (Agar Manitol Salado – *Staphylococcus aureus*), se incubo a la temperatura especificada de 37°C durante un período de 48 horas. Las colonias fueron comparables, en apariencia y reacciones indicadoras, a aquellas anteriormente obtenidas con una partida de medio analizada y aprobada previamente.

Controles negativos

Para verificar las condiciones de prueba, se realizo un control negativo usando el diluyente seleccionado en lugar de la preparación de prueba. No se observó crecimiento de microorganismos.

Tabla N° 8. Propiedades indicadoras de promoción del crecimiento e inhibitorias de los medios de cultivo usados. [21]

Prueba/Medio	Propiedad	Cepas de Prueba
Prueba de <i>Escherichia coli</i>		
Agar MacConkev	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>E. coli</i>
	Inhibitoria	<i>S. aureus</i>
Prueba de <i>Salmonella</i>		
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>Salmonella entericasubesp. entericaserovar Typhimurium</i>
	Inhibitoria	<i>S. aureus</i>
Prueba de <i>Pseudomona aeruginosa</i>		
Agar Cetrimida	Promoción del crecimiento	<i>P. aeruginosa</i>
	Inhibitoria	<i>E. coli</i>
Prueba de <i>Staphylococcus aureus</i>		
Agar Manitol Salado	Promoción del crecimiento + Indicadora	<i>S. aureus</i>
	Inhibitoria	<i>E. coli</i>

Pruebas del producto:

Preparación de la muestra, inoculación y dilución: se preparó dos muestras en el primer caso usando una dilución 10 mL de muestra en 90 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja + polisorbato.

Determinación de *E.coli*: se agitó e incubó la muestra tratada a una temperatura de 30° a 35°C, durante un período de 18 a 24 horas.

Selección y subcultivo: se agitó el recipiente, se transfirió 1 mL del Caldo Digerido de Caseína y Soja a 100 mL de Caldo MacConkey y se incubó a una

temperatura de 42° a 44° durante un período de 24 a 48 horas. Se subcultivo en una placa de Agar MacConkey a una temperatura de 30° a 35°C durante un período de 18 a 72 horas.

Interpretación y resultados: El producto cumple con la prueba ya que no se desarrollaron colonias características en el medio de cultivo empleado.

Determinación de *Salmonella*

La preparación de la muestra, inoculación y dilución se realizó al igual que con la determinación de *E.coli*, anteriormente descrita.

Selección y subcultivo: se transfirió 0,1 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja a 10 mL de Caldo selenito para enriquecimiento de *Salmonellae* incubó a una temperatura de 30° a 35°C durante un período de 18 a 24 horas. Se subcultivó en placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato y se incubó a una temperatura de 30° a 35°C, durante un período de 18 a 48 horas.

Interpretación: El producto cumple con la prueba ya que no se desarrollaron colonias de los tipos descritos.

Determinación de *Pseudomona aeruginosa*

La preparación de la muestra se realizó al igual que con la determinaciones anteriores con medio de cultivo y previa inoculación e incubación.

Selección y subcultivo: se subcultivó en una placa de Agar Cetrimida y se incubó a una temperatura de 30° a 35°C, durante un período de 18 a 72 horas.

Interpretación: El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos.

Determinación de *Staphylococcus aureus*

Selección y Subcultivo: se subcultivó en una placa de Agar Manitol Salado y se incubó a una temperatura de 30° a 35°C, durante un período de 18 a 72 horas.

Interpretación: El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias de los tipos descritos o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos.

Se realizó control ambiental como un parámetro de punto crítico de control para la ejecución de los ensayos de validación. Los puntos evaluados en el control ambiental fueron: hisopado de pared, mesones, incubadoras y cuenta colonias; exposición de placas en mesones y toque de dedos. Resultando conformes dentro de los parámetros establecidos.

Parámetros de validación evaluados durante el método cuantitativo de recuento microbiano. [21][39]

Robustez: este parámetro se obtuvo evaluando el producto en tres días consecutivos de trabajo, modificando las variables ambientales del área de trabajo. Demostrando que el método no es afectado en variaciones de tiempo pequeños.

Se realizó cambio de medio de cultivo de para la determinación de *S.typhi*/*E.coli*, con Caldo Lethen y Caldo Trypticasa Soja + neutralizantes.

Especificidad: Se obtuvo resultados conformes en la evaluación de especificidad del método dando crecimiento positivo sólo en el Agar MacConkey cuando se inocula la cepa de *Escherichia coli* y negativo cuando se inocula en Agar Manitol Salado, el mismo presenta crecimiento si se inocula la cepa de *Staphylococcus*

aureus también resultaron conformes las demás pruebas de crecimiento de los microorganismos objetables requeridos.

Así como los controles positivos utilizados durante el desarrollo de la prueba, demostrando el aislamiento mediante el crecimiento de cada uno de los microorganismos objetables en sus medios de cultivo correspondiente.

Tolerancia: Se determinó este parámetro utilizando 2 lotes distintos de Agar Mac Conkey para la detección de *Escherichia coli*. Se obtuvieron resultados conformes demostrando que el método resiste cambios tales como la diferencia de lotes de un medio.

Límite de Detección:

Se obtuvo resultados conformes para este parámetro, apreciando crecimiento característico de *Escherichia coli* en el Caldo Tripticasa de Soya, y Agar Mac Conkey y crecimiento característico de *Salmonella enterica* en el Caldo Tripticasa de Soya y Agar Xilosa Lisina Dexosicolato para las tres réplicas realizadas para cada lote del producto trabajado, asimismo se realizaron los controles positivos y negativos obteniendo resultados esperados

El ensayo se considera válido y por tanto validado el método de detección de patógenos, si se aíslan en todos los casos los microorganismos ensayados.

Se realizó el modelo del protocolo de validación a seguir para métodos analíticos farmacopéicos realizados en el laboratorio, mediante la verificación de los parámetros ya mencionados. Así como también se anexó en dicho protocolo todos los datos necesarios para verificar la documentación y lograr establecer la

validación del método cuantitativo recuperación en la determinación de recuento bacteriano y cualitativo presencia/ausencia en las pruebas de microorganismos objetables).

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO IV

RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados de la investigación basados en los aspectos de Bioseguridad, para implementar normas y procedimientos en el LDIMA.

4.1 Bioseguridad

- **Elementos de la bioseguridad:** El resultado obtenido en el laboratorio, en cuanto a los elementos de diseño y construcción (barreras secundarias), equipos de protección (barreras primarias) y manuales de seguridad (prácticas seguras de trabajo), fue adaptar de cada uno de ellos logrando el funcionamiento adecuado del laboratorio para cumplir con el objetivo de la bioseguridad al reducir el riesgo de posibles accidentes.
- **Organización de un laboratorio:** Cumpliendo con la normativa y la metodología planteada en relación al microorganismo utilizado, los equipos, y las instalaciones se estableció que los laboratorios de docencia e investigación se ubican como laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2, por lo tanto deben cumplir los requerimientos de este tipo de organización.
- **Sistema de señalización:** Se realizó una señalización básica del laboratorio, permitiendo la identificación con los tipos de señales de acuerdo a las áreas, con el fin de informar, obligar, y disminuir los posibles riesgos dentro del laboratorio y así dar cumplimiento a la norma. A continuación se presentan las señales utilizadas y su ubicación en el laboratorio:

Señales de información: En el LDIMA son utilizadas para identificar el nombre de los equipos, frases claves usadas en el laboratorio, éstas se colocaron en el sitio

más próximo donde se realiza la operación. Algunas de las señales utilizadas son por ejemplo: lavarse las manos, mantener área limpia como se observa a continuación en la Figura N°7



Figura N° 7. Fotografía de las señales de información en el laboratorio

Señales de prohibición: Estas señales se ubicaron en la pared izquierda de acceso al laboratorio, al lado de los mesones de trabajo donde se realizan las actividades de rutina, las señales utilizados son: prohibido comer y beber, prohibido fumar, y prohibido usar celular, así como también se encuentra la lista de las normas generales de laboratorio, como se observa en la Figura N°8



Figura N° 8 Fotografía de señales de prohibición en el laboratorio

Señales de advertencia o precaución: la señalización se ubicó en el área del laboratorio, para advertir sobre riesgo o peligro como por ejemplo riesgo eléctrico, riesgo biológico, altas temperaturas, como se observa en la Figura N° 9. Estas

señales se ubicaron al lado de las incubadoras y cerca del equipo de Baño de María a 45°C.



Figura N° 9 Fotografía del laboratorio con la señales de advertencia o precaución.

Señales de obligación: Como se observa en la Figura N° 10, se colocaron las señales para acceder al laboratorio indicando la obligación de la siguiente indumentaria: uso de la bata de laboratorio, uso de gorro, protección de las vías respiratorias, protección de la vista, protección de las manos y protección de los pies.



Figura N° 10 Señales de obligación en el laboratorio.

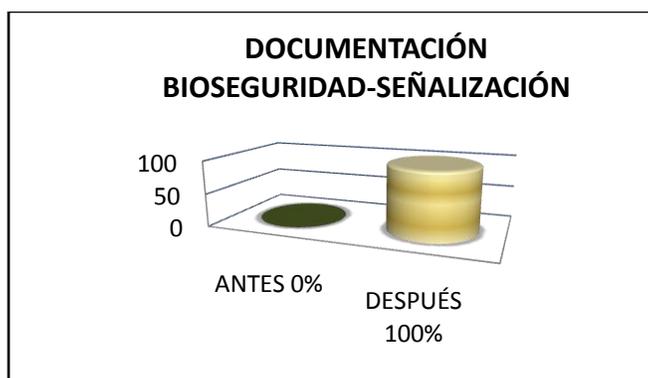
Señales de emergencia: en el LDIMA, la señal de salida de emergencia se utilizó para indicar la vía segura en dirección a la puerta de salida del laboratorio, mientras que la señal del botiquín de primeros auxilios se colocó en la parte frontal del mismo ubicando el botiquín en frente de los mesones de trabajo, como se observa en la Figura N° 11.



Figura N° 11. Señales de emergencia.

El laboratorio no contaba con ninguna señalización, ahora de acuerdo a la normativa se cumple con el 100 % de la señalización.

Gráfico N° 1 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-Señalización

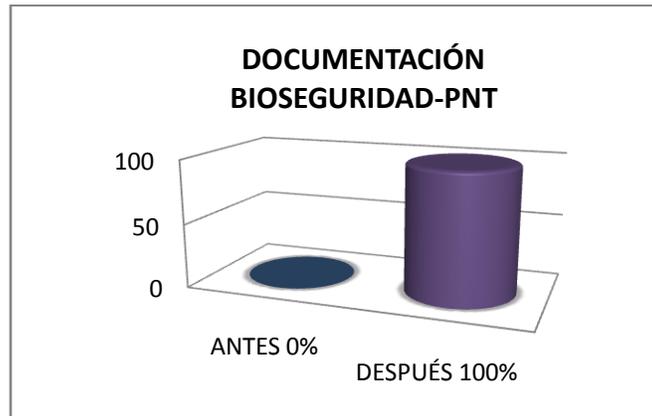


- **Procedimiento Normalizado de Trabajo Planes para el control de emergencias**

Cumpliendo con la norma COVENIN 2226-90 [31], se elaboró el PNT. cuyo objetivo principal es salvaguardar vidas, atender lesionados, garantizar la seguridad del personal involucrado en el control de la emergencia, proteger

las instalaciones y bienes materiales, todos estos puntos necesarios en el LDIMA para que el desarrollo de las actividades realizadas estén enfocadas con el cumplimiento de la bioseguridad. (Ver Anexo N° 2)

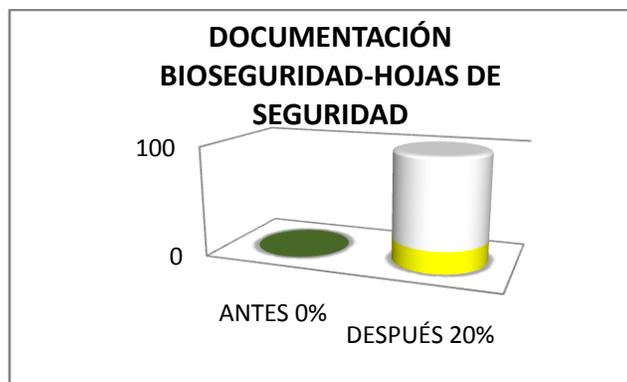
Gráfico N° 2 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-PNT



- **Hoja de datos de seguridad de las cepas microbiológicas**

Según norma COVENIN 3059:2002 [32] se diseñó la Hoja de datos de seguridad de las cepas microbiológicas con el fin de tener un registro de manejo seguro sobre las cepas manipuladas, conteniendo todos los criterios necesarios para cumplir con la norma. La Hoja de datos de seguridad de las cepas microbiológicas realizada reúne la información básica de *Staphylococcus aureus* [42][43][44], ya que es uno de los microorganismos objetables en el análisis de medicamentos. (Ver anexo N° 3).

Gráfico N° 3 Relación en porcentaje documentación Bioseguridad-Hojas de seguridad



Diseño e instalación del laboratorio, cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio en microbiología.

A continuación se presentan los resultados obtenidos en cada uno de los puntos tomados en cuenta para el cumplimiento de las BPL en el laboratorio de microbiología.

Se elaboró PNT siguiendo las pautas establecidas en la metodología según la norma que lo ameritara de esta manera lograr los objetivos planteados. A su vez se diseñaron formatos con la información requerida y necesaria según las necesidades del laboratorio.

Es importante resaltar que cada uno de los documentos elaborados servirán de soporte y evidencia documental de las actividades que se realizan en el laboratorio, cumpliendo con las instrucciones especificadas en el PNT, registro de información en formatos de registro o en certificados, y el acceso a información detallada en algunos de los casos. [45]

- **Personal y Medio Ambiente:**

- ❖ Elaboración del PNT de normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio, según la Norma COVENIN 2340-2:2002 [27]. (Ver Anexo N° 4).

- ❖ Diseño del Formato de perfil del cargo: Se diseñó este formato estableciendo el propósito del cargo, equipos, herramientas y utensilios de trabajo, procedimiento de trabajo seguro y recomendaciones generales de higiene y seguridad industrial. [22] [23] [24][27].(Ver Anexo N° 5)
- ❖ Diseño del Formato de Programa de entrenamiento del personal, mediante evaluaciones de PNT. [28]. (Ver Anexo N° 6)

- **Equipamiento**
 - ❖ Diseño del Formato de Identificación de Equipo. [39].(Ver Anexo N° 7)
 - ❖ Diseño del Formato de registro y uso de equipos. [13] [39].(Ver Anexo N° 8)
 - ❖ Elaboración del PNT manejo, uso, limpieza, y calificación del cuenta colonias, según la revisión bibliografía [46] [47] [48], ya que el laboratorio no cuenta con los manuales originales del equipo.(Ver Anexo N° 9)

- **Reactivos y medios de cultivo**
 - ❖ Elaboración del PNT Control de calidad de los medios de cultivo.[21] (Ver Anexo N° 10).

- **Materiales de referencia y cultivos de referencia.**
 - ❖ Elaboración del PNT de manejo y repique de cepas,según la siguiente revisión bibliográfica [21][49][50] [51][52].(Ver Anexo N° 11)
 - ❖ Elaboración del PNT de caracterización de cepas de microorganismo. [43] [44] [53].(Ver Anexo N° 12)

- **Muestreo, manejo e identificación de muestras**
 - ❖ Elaboración del PNT de manejo de muestras y rotulación del material de análisis.[54].(Ver Anexo N° 13)

- **Eliminación de desechos contaminados**
 - ❖ Elaboración del PNTde eliminación de material contaminado [21].(Ver Anexo N° 14)

- **Procedimientos de ensayo**
 - ❖ Elaboración del PNT de Control microbiológico de Agua Potable [21][55].(Ver Anexo N° 15)

- **Informes de ensayo**
 - ❖ Elaboración del PNT de registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.[56][57].(Ver Anexo N° 16)

 - ❖ Formato de certificado de reporte de resultados. [28][38](Ver anexo N°17)

En relación a los puntos tomados en cuenta con respecto a las Buenas Prácticas de Laboratorio elaborados en el LDIMA, se obtuvieron los siguientes resultados:

Gráfico N° 4 Relación en porcentaje documentación BPL-Formatos

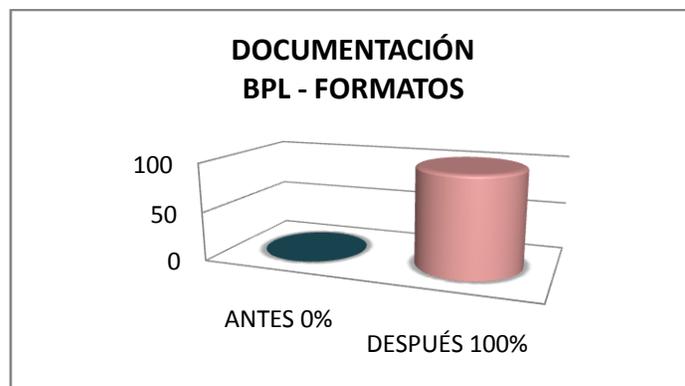


Gráfico N° 5 Relación en porcentaje documentación BPL-PNT



- **Validación**

- ❖ Protocolo de validación: Mediante la implementación de dicho protocolo se cumple con los estudios en el laboratorio para verificar que las características de desempeño del procedimiento, establecelos requisitos para las aplicaciones farmacopeicas analíticas previstas y así cumplir con cada uno de los establecidos para la validación. (Ver anexo N° 18)

Resultados de las consideraciones generales del método<61>Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano.

[21]

Preparación de las cepas:

A continuación se presentan los resultados de la evaluación de las 06 cepas de trabajo hallando su respectiva dilución de trabajo según el recuento observado el cual debe estar dentro del rango 20 a 200 Unidades Formadoras de Colonia (UFC)/placa.[21]

Tabla N° 9 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Bacillus subtilis*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1UFC	Repique 2UFC	Repique 3UFC	Promedio UFC
<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁻⁵	73	68	82	74
	10 ⁻⁴	674	723	792	730

Tabla N° 10 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Candida albicans*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1UFC	Repique 2 UFC	Repique 3UFC	PromedioUFC
<i>Candida albicans</i>	10 ⁻⁵	66	81	61	69
	10 ⁻⁴	730	790	680	733

Tabla N° 11 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Staphylococcus aureus*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1 UFC	Repique 2UFC	Repique 3UFC	PromedioUFC
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁻⁶	105	110	108	108
	10 ⁻⁵	1030	1180	1123	1111

Tabla N° 12 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Pseudomona aeruginosa*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1 UFC	Repique 2UFC	Repique 3UFC	PromedioUFC
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	10 ⁻⁵	90	96	110	99
	10 ⁻⁴	1132	1227	1114	1158

Tabla N° 13 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Escherichia coli*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1UFC	Repique 2 UFC	Repique 3 UFC	Promedio UFC
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁻⁶	98	105	86	96
	10 ⁻⁵	1072	1110	989	1057

Tabla N° 14 Determinación de la dilución de trabajo de la cepa de *Salmonella typhi*

Cepa de trabajo	Dilución	Repique 1 UFC	Repique 2 UFC	Repique 3 UFC	Promedio UFC
<i>Salmonella typhi</i>	10 ⁻⁶	120	146	93	120
	10 ⁻⁵	1234	1543	1077	1284

La dilución de trabajo obtenida de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* es 10⁻⁶. La dilución de trabajo de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Candida albicans* resulto ser 10⁻⁵.

Prueba de promoción de crecimiento

Tabla N° 15 Prueba de promoción de crecimiento Agar Tripticasa de Soya

Agar Tripticasa de Soya				
	<i>S.aureus</i> UFC	<i>P.aeruginosa</i> UFC	<i>C. albicans</i> UFC	<i>B.subtilis</i> UFC
Recuento obtenido en el medio control	98	96	69	81
Recuento obtenido durante el ensayo	87	90	59	77
% de recuperación	88.78%	93.75%	85.51%	95.06%

Agar Sabouraud
<i>C. albicans</i>

Tabla N° 16 Prueba de crecimiento Agar

UFC	
Recuento obtenido en el medio control UFC	71
Recuento obtenido durante el ensayo UFC	65
% de recuperación	91.55%

promoción de Sabouraud

www.bdigital.ula.ve

Controles negativos

En la siguiente fotografía se observa los resultados del control negativo realizado al Agar Lethen, dando resultados conformes al no haber crecimiento microbiológico durante el tiempo de incubación correspondiente.



Figura N°12 Controles negativos de los medios de cultivos utilizados como diluyentes.

Según el Organismo Argentino de Acreditación [40], existen las definiciones de tasa de falsos positivos y tasa de falsos negativos, siendo la primera la probabilidad o frecuencia con que la muestra sea asignada como positiva cuando en realidad es negativa. Falsos Positivos son aquellos que han sido asignados como tales conociendo que en realidad son negativos. En el segundo caso es la probabilidad o frecuencia con que una muestra conocida como positiva, sea asignada como negativa por el método. Durante las pruebas de promoción de crecimiento y controles negativos del ensayo no se determinó este tipo de probabilidades ya que los resultados fueron conformes de acuerdo al procedimiento realizado.

Método de Recuento en placa: Se realizó el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas de acuerdo al procedimiento indicado, tomando tres muestras del mismo producto a analizar, durante tres días consecutivos, realizando tres diluciones desde la dilución inicial, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla N° 17 Resultados tres días consecutivos de método en placa Bacterias Aerobias Mesófilas

Bacterias Aerobias Mesófilas (Día 1)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

Bacterias Aerobias Mesófilas (Día 2)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

Bacterias Aerobias Mesófilas (Día 3)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

Se realizó el recuento de Mohos y Levaduras de acuerdo al procedimiento indicado, tomando tres muestras del mismo producto a analizar, durante tres días consecutivos, realizando tres diluciones desde la dilución inicial, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla N° 18 Resultados tres días consecutivos de método en placa Mohos y levaduras

Hongos y Levaduras (Día 1)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

Hongos y Levaduras (Día 2)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

Hongos y Levaduras (Día 3)			
Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
10^{-1}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-2}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL
10^{-3}	<10ufc/mL	<10ufc/mL	<10ufc/mL

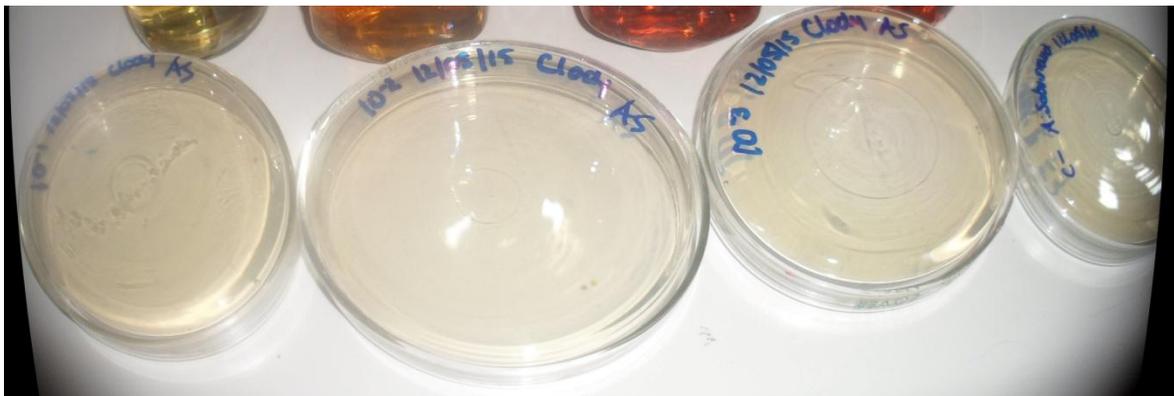


Figura N°13 fotografía de los resultados marcha analítica prueba de mohos y levaduras.

**Parámetros evaluados durante el método cuantitativo de recuento
microbiano son:**

Especificidad - Exactitud

Para la determinación de este parámetro se evaluó el diluyente, el producto y los neutralizantes con un determinado inóculo de un microorganismo de prueba. Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la lectura de las Unidades Formadoras de Colonias, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla N° 19 Recuento bacteriano obtenido con diluyente y producto/neutralizante

Muestra	Recuento Bacteriano Diluyente UFC	Recuento Bacteriano Producto + neutralizante UFC
1	98	97
2	97	92
3	100	99
4	103	98
5	102	98
6	99	90
Media (\bar{x})	99,83	95,66
Desv. standard	2,3166	3,72
Variancia	5,3666	13,8666

En base a estos resultados de realizo el cálculo del test de F para comparar las varianzas siguiendo los parámetros de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. [39]

Los resultados obtenidos son los siguientes aplicando las fórmulas respectivas:

F Experimental	F de tablas
2,5838	5,050

El resultado obtenido es que las varianzas son homogéneas ya que F experimental es menor que el F de tablas.

Luego al obtener varianzas homogéneas se calculó la desviación estándar combinada obteniendo como resultado:

Desviación estándar combinada	3,1010
-------------------------------	--------

Con el resultado obtenido se aplico la t de student experimental comparando el resultado obtenido con la t de student de las tablas:

t de student Experimental	t de student de tablas
2,3296	2,571

El resultado obtenido de t experimental es menor que t tablas entonces no existe diferencia significativa entre la recuperación con producto y con diluyente.

Se comprobó que el método tiene la capacidad de detectar los microorganismos de prueba en presencia del diluyente, de neutralizantes y del producto. Además se demostró que los medios de cultivo específicos a usar promueven el crecimiento

de los microorganismos y que los neutralizantes y el producto (jarabe) no interfieren en la recuperación de los mismos.

Además se validó la eficacia de los medios de cultivo en presencia y ausencia del producto a examinar, siguiendo el mismo procedimiento anteriormente descrito obteniendo los siguientes resultados:

	Recuento obtenido en presencia del producto					
Microorganismo	Repique 1 UFC	Repique2 UFC	Repique 3 UFC	Repique 4 UFC	Repique 5 UFC	Repique 6 UFC
<i>S.aureus</i>	97	92	99	98	98	90

	Recuento obtenido en ausencia del producto					
Microorganismo	Repique 1 UFC	Repique2 UFC	Repique 3 UFC	Repique 4 UFC	Repique 5 UFC	Repique 6 UFC
<i>S.aureus</i>	98	97	100	103	102	99

Cálculos de los % de recuperación, la exactitud y la precisión.

Exactitud

Tabla N° 20 Porcentaje de recuperación bacteriano obtenido

	% de Recuperación obtenido					
Microorganismo	Repique 1 Placa 1	Repique1 Placa 2	Repique 2 Placa 1	Repique 2 Placa 2	Repique3 Placa 1	Repique 3 Placa 2
<i>S.aureus</i>	98,97%	94,84%	99,5%	95,14%	96,08%	90,90%

La exactitud es el porcentaje de recuperación frente al valor del inóculo. La recuperación obtenida se encuentra de los límites establecidos (mayor 50%), nuestro método es correcto.

Precisión: expresa la variabilidad o más-menos del método analítico para determinar el grado de contaminación.

	\bar{x} % de recuperación	Desviación estándar	% CV
<i>Coefficiente de Variación</i>	95,905	3,1343	3,26

Un coeficiente de variación superior al 15-20% cuestiona el sistema de trabajo, ya que se deben revisar todos los elementos que intervienen en el método de control como instrumental, personal, e.o.; a fin de detectar el origen de las desviaciones.

www.bdigital.ula.ve

En el caso que evaluamos el Coeficiente de Variación es inferior al 20% lo que indica que es conforme de acuerdo a los límites establecidos.

Robustez: en los resultados obtenidos Ver tabla N° 17 y 18, durante el método de recuento en placa para bacterias aerobias mesófilas y hongos y levaduras no se observan variaciones ambientales significativas, durante los tres días consecutivos de trabajo.

Tolerancia: Se evaluó el Agar Trypticase de Soya + neutralizantes y el Agar Lethen obteniendo un recuento similar en los dos medios evaluados no existiendo variación por cambio del medio, obteniendo los siguientes recuentos microbianos.

Tabla N° 21 Recuento bacteriano obtenido con Agar Trypticasa Soya /neutralizantes y Agar Lethen

Medios de cultivo	<i>B.subtilis</i> UF C	<i>C.albicans</i> U FC	<i>S.aureus</i> UF C	<i>P.aeruginosa</i> U FC	<i>E.coli</i> UF C	<i>S.typhi</i> UF C
Agar Trypticasa Soya + neutralizantes	98	99	96	95	98	96
Agar Lethen	97	98	97	98	96	97

Límite de Detección y cuantificación:

Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la lectura de las colonias.

Tabla N° 22 Recuento mínimo obtenido de las cepas de prueba enfrentadas con producto

<i>Microorganismo</i>	Placa 1 UFC	Placa 2 UFC	Placa 3 UFC	Placa 4 UFC	Placa 5 UFC	Placa 6 UFC
<i>Bacillus subtilis</i>	5	4	4	5	5	3
<i>Candida albicans</i>	6	5	3	4	5	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	3	4	5	4
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	4	5	4	5	5	3

<i>Escherichia coli</i>	3	5	4	5	4	2
<i>Salmonella typhi</i>	5	3	4	5	3	4

Tabla N° 23 Recuento mínimo obtenido de las cepas de prueba enfrentadas sin producto

<i>Microorganismo</i>	Placa 1 UFC	Placa 2 UFC	Placa 3 UFC	Placa 4 UFC	Placa 5 UFC	Placa 6 UFC
<i>Bacillus subtilis</i>	4	3	4	5	3	3
<i>Candida albicans</i>	3	6	5	4		4
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4	4	6	5	4
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	4	5	5	6	4	5
<i>Escherichia coli</i>	5	6			5	3
<i>Salmonella typhi</i>	3	5	3	4	3	5

Se comprobó que el método propuesto logra detectar y cuantificar una cantidad mínima de microorganismos. Con las cepas de prueba se realizaron 6 repeticiones y se obtuvieron resultados igual o menor a 5 ufc/placa tanto las enfrentadas con producto o sin producto, comparando con el número de microorganismos recuperados de sus respectivos controles durante la preparación de la cepa.

<62>Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos objetables

Resultados de las consideraciones generales del método.

Preparación de las cepas y Prueba de promoción de crecimiento

Se verificó las propiedades de promoción del crecimiento de los medios de cultivo usados, como se aprecian en las siguientes figuras, observando colonias características en apariencia y reacciones indicadores comparables a aquellas anteriormente obtenidas con una partida de medio analizado y aprobado previamente.

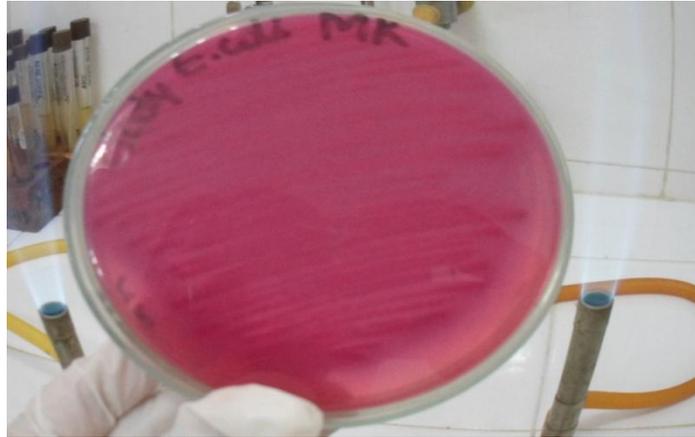


Figura N°14 Promoción de crecimiento de *Escherichia coli* en Agar MacConkey

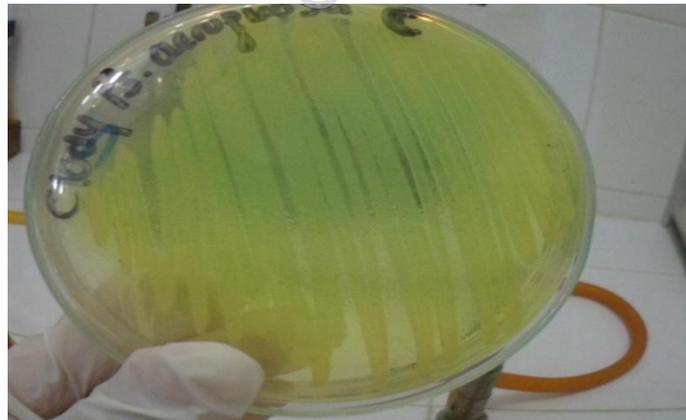


Figura N°15 Promoción de crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* en Agar Cetrimida



Figura N°16 Promoción de crecimiento de *Staphylococcus aureus* en Agar Manitol Salado

Controles negativos: No se observó crecimiento de microorganismos. Como se observa en la siguiente figura.



Figura N°17 Controles negativos de los medios de cultivos utilizados como diluyentes

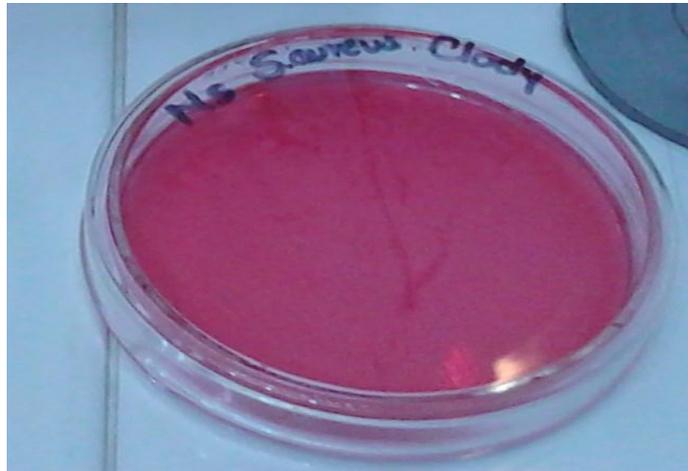


Figura N°18 Controles negativos de los medios de cultivos utilizados.

Aptitud del método de recuento en presencia del producto

Los resultados obtenidos de las pruebas realizadas para microorganismos objetables se pueden observar en las siguientes tablas a continuación:

Tabla N° 24 Resultados tres días consecutivos para la determinación de microorganismos objetables

Microorganismos Objetables (Día 1)				
Muestra	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.typhi</i>
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Microorganismos Objetables (Día 2)				
Muestra	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.typhi</i>
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Microorganismos Objetables (Día 3)				
Muestra	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.typhi</i>
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

www.bdigital.ula.ve

Los resultados fueron conformes para los diferentes parámetros:

Robustez: el resultado para evaluar es que el método no es afectado en variaciones de tiempo pequeños, ya que se realizó en tres días diferentes consecutivos. Como se observa en la tabla N° 24.

Especificidad: Se determinó resultados conformes en la evaluación de especificidad del método dando crecimiento positivo sólo en el Agar MacConkey cuando se inocula la cepa de *Escherichia coli* (ver figura N° 14) y negativo cuando se inocula en Agar Manitol Salado, el mismo presenta crecimiento si se inocula la cepa de *Staphylococcus aureus* en Agar manitol salado (ver figura N° 16) también resultaron conformes las demás pruebas de crecimiento de los microorganismos objetables requeridos.

Así como los controles positivos utilizados durante el desarrollo de la prueba, demostrando el aislamiento mediante el crecimiento de cada uno de los microorganismos objetables en sus medios de cultivo correspondiente.

Tolerancia: Se obtuvieron resultados conformes demostrando que el método resiste cambios tales como la diferencia de lotes de un medio.

Límite de Detección:

Se obtuvieron resultados conformes para este parámetro, apreciando crecimiento característico de *Escherichia coli* en el Caldo Tripticasa de Soya, y Agar MacConkey y crecimiento característico de *Salmonella enterica* en el Caldo Tripticasa de Soya y Agar Xilosa Lisina Dexosicolato para las tres réplicas realizadas para cada lote del producto trabajado, asimismo se realizaron los controles positivos y negativos obteniendo resultados esperados.

El ensayo se considera válido y por tanto validado en el método de detección de patógenos, si se aíslan en todos los casos los microorganismos ensayados.

Protocolo de validación: en este documento se plasmó toda la información requerida para la validación de un método analítico farmacopéico realizado en el laboratorio, mediante la verificación de los parámetros ya mencionados. Así como también se anexó en dicho protocolo todos los datos necesarios para verificar la documentación de la validación del método cuantitativo en la determinación de recuento bacteriano y cualitativo presencia/ausencia en las pruebas de microorganismos objetables). (Ver Anexo N° 18.)

CAPITULO V

DISCUSIÓN

Para analizar los elementos relacionados con la bioseguridad, es importante resaltar la importancia del conocimiento de la norma para el cumplimiento de cada uno como primer elemento tenemos el diseño y construcción de las áreas de trabajo, cabe destacar que el LDIMA cuenta con instalaciones para un laboratorio de docencia universitaria básico; pero en el que se cumplen actividades de manejo de microorganismos que deben ser controlados en aspectos imprescindibles para evitar posibles riesgos. El segundo elemento el uso de barreras primarias (protección personal), los estudiantes deben conocer la importancia del uso adecuado de cada una de las prendas de protección así como la necesidad de protección para evitar el riesgo de contaminación en la manipulación de los microorganismos utilizados. Los manuales de procedimientos son el tercer elemento relacionado con la bioseguridad. En el LDIMA no existían los manuales

de procedimientos, su elaboración facilita el cumplimiento de cada una de las funciones del laboratorio, y permite tener evidencia documental de las actividades que se realizan.

En el programa de la asignatura Análisis Microbiológico de Medicamentos vigente no está incorporado ningún tema relacionado con bioseguridad. Algunos estudios como el siguiente “Evaluación de la importancia de la práctica de bioseguridad en programas de pregrado y posgrado en la universidad federal de rio de janeiro y otras universidades brasileñas”. El objetivo del presente estudio es investigar los aspectos relacionados con bioseguridad a nivel académico en las universidades brasileras. La bioseguridad está directamente relacionada con el control y minimización de riesgos, los cuales deben ser considerados por los estudiantes en las prácticas de laboratorio. En la metodología aplicada se realizó la búsqueda de cursos relacionados con bioseguridad en los sitios Web de las universidades, con el fin de tener una visión general de los aspectos de Bioseguridad incluidos en los programas de pregrado y posgrado. Como conclusión se observó la ausencia de temas de Bioseguridad en los currículos de los programas de pregrado y también se evidenció que en la mayoría de tesis de grado el aspecto de Bioseguridad solo es tomado desde el marco legal en los temas de estudio poco explorados. [58]

Es por ello que la utilidad de la bioseguridad en los laboratorios de docencia permite minimizar riesgos en los estudiantes. Así mismo, es importante tener conocimiento del área a explorar y desarrollar en el trabajo intitulado “Conocimiento en riesgo biológico y prácticas de bioseguridad en el personal docente”, 2013. En el presente estudio se evaluó el conocimiento en Riesgo Biológico y las prácticas de Bioseguridad en el personal docente de la facultad de salud de una institución de educación superior en la ciudad de Cali. Con la información recopilada se concluyó que los docentes que laboran en la Facultad de Salud de esta institución no cuentan con la calidad apropiada de conocimientos sobre el Factor de Riesgo Biológico y las prácticas de Bioseguridad no son

aplicadas en su totalidad, también se pudo establecer la necesidad de las capacitaciones sobre el tema por parte de la institución recomendando establecer acciones educativas y de orden administrativo con el fin que la población estudiada cumpla con rigurosidad las medidas de Bioseguridad además de sensibilizarlos sobre el cuidado de su propia salud y la calidad en la formación de los futuros profesionales de la salud. [59]

Al analizar y relacionar los elementos de bioseguridad con el LDIMA, se permitió establecer una organización de un laboratorio básico nivel de bioseguridad 1 y nivel de bioseguridad 2, según el manual de bioseguridad de la Organización Mundial de la Salud.

La señalización se logró establecer en función de varios aspectos como son el área, las personas, los equipos y la seguridad dentro del LDIMA. Para lograr que las señales proporcionaran la información de acuerdo a su clasificación, quedaran claras y de fácil visualización para todo el personal que labora en el laboratorio, fue necesario tomar en cuenta el pequeño espacio físico del laboratorio. Estas se dispusieron demarcando áreas de trabajo en función de las actividades que se desarrollan, como por ejemplo: en el área de incubación se utilizaron las señales de advertencia, en el área de acceso al laboratorio se colocaron las señales de obligación y así sucesivamente con cada uno de los tipos de señales utilizadas

Con la realización del PNT planes para el control de emergencia se cumple con la norma COVENIN [31], que establece un documento escrito estrictamente detallado con el fin de cubrir todos los aspectos que puedan estar involucrados en una emergencia. Es importante destacar que ya está diseñado el Plan de Emergencias pero es necesario apoyar la efectividad, permanencia y éxito del plan ya que de no ser así, éste será limitado.

Con la realización de la señalización y el procedimientos de planes para el control de emergencia realizada en el LDIMA, se puede elaborar una guía como la existente en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Castilla-La Mancha, guía de seguridad en laboratorios, dicha guía forma parte de las Normas de Seguridad de la Universidad y del Plan de autoprotección de la Facultad de Ciencias Químicas y con ella se pretende mostrarlos equipos de protección y las normas de trabajo en un laboratorio con el objetivo de evitar accidentes o minimizar los daños en caso de producirse.[60]

Al mismo tiempo los resultados obtenidos los podemos comparar con los siguientes trabajos “Elaboración del manual de bioseguridad y documentación de los procedimientos operativos estándar y instructivos del laboratorio de bacteriología especializada de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana”, el propósito de esta investigación es describir la metodología a seguir en un programa de Bioseguridad en microbiología, de tal forma que sirva como guía para el trabajo seguro en el laboratorio con microorganismos potencialmente peligrosos, documentando todos los procedimientos que se realizan en el laboratorio pretendiendo garantizar la repetibilidad de las pruebas y confiabilidad de los resultados.[61]

Universidad de León “Manual de seguridad y Buenas Prácticas en el Laboratorio”. Esta Guía recoge las indicaciones necesarias para llevar a cabo un trabajo seguro y eficiente en los laboratorios de la Universidad, atendiendo a las indicaciones de la Ley, sus destinatarios son los docentes e investigadores (PDI), incluidos también los becarios de investigación y alumnos de tercer ciclo, que inician sus primeras experiencias en laboratorio. También debe ser conocida por todo el personal técnico (PAS) relacionado con el trabajo en laboratorio. En particular, esta Guía debe ser leída y conocida por los investigadores responsables de

proyectos y todos los becarios de investigación científica y técnica que inician su trabajo en la Universidad. [62]

Las hojas de seguridad de las cepas microbiológicas resumen de manera efectiva la información más importante que es necesario tener a la mano y mantenerla actualizada, para evitar futuros incidentes o accidentes por desconocimiento o incumplimiento de las medidas preventivas de su manipulación.

Estas cepas microbiológicas se utilizan en las actividades de rutina en el laboratorio y es necesario recabar toda la información en esas hojas de seguridad, para cumplir completamente con cada uno de los requisitos de los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio.

La importancia de la Bioseguridad y su relación con las Buenas Prácticas de Laboratorio que permite la inclusión en un Sistema de Gestión de Calidad, se puede evidenciar en el trabajo “Aplicación de la bioseguridad en un proceso de integración de sistemas de gestión” cuyo objetivo es evaluar la gestión de seguridad integral y proponer un instrumento para evaluar el riesgo biológico en el marco del sistema integrado de gestión (SIG); es decir no sólo se tomara en cuenta las BPL sino también el riesgo biológico a través de la bioseguridad.[63]

En cuanto a las Buenas Prácticas de Laboratorio, el personal está informado y entrenado sobre las responsabilidades que tiene en el medio ambiente de trabajo para favorecer su desenvolvimiento, y el registro de datos de estos procesos permite lograr la calificación de dicho personal. Así como la autoevaluación para determinar la evaluación de los parámetros encontrados, mejoras y soluciones posibles. En el Catalogo nacional de cualificaciones profesionales “Organización y

control de la fabricación de productos farmacéuticos y afines”, se determina la importancia de cada uno de los puntos a ser aplicados de las BPL.[64]

En este punto es importante destacar el trabajo “Evaluación de las instalaciones y condiciones ambientales actuales del laboratorio central del servicio de Bioanálisis “Rafael Rangel”, según el requisito 5.2 instalaciones y condiciones ambientales de la norma COVENIN ISO 15189:2004. Esta investigación fue de tipo evaluativa realizando una comparación de las condiciones del laboratorio con una lista cotejo elaborado en base a la norma y consideraron que se encontraba conforme, no conforme y no aplica.[65]

Es importante destacar la norma COVENIN 2266-88 que es una guía de los aspectos generales a ser considerados durante una inspección de las condiciones de higiene y seguridad en el trabajo, esta norma aplica a cualquier actividad económica. Dichos aspectos están relacionados con la bioseguridad y las BPL en el laboratorio.[66]

En cada uno de los manuales citados a continuación se establecen las pautas para el cumplimiento de la bioseguridad y BPL en los laboratorios de docencia de las siguientes Universidades: Universidad de Cundinamarca “manual de bioseguridad en el laboratorio. Protocolo básico”, 2008. Define las normas que se deben adoptar dentro de la Universidad para prevenir accidentes, así como determinar la conducta a seguir frente a un accidente por exposición a algún elemento dentro de los laboratorios.[67]

“Manual de seguridad y bioseguridad para los laboratorios del Instituto Tecnológico Metropolitano-Medellín” cuyo objetivo es orientar a los usuarios en la importancia de un buen manejo de la Seguridad y la Bioseguridad Química en los

Laboratorios del Instituto Tecnológico Metropolitano-Medellín y no solo en la técnica y el uso de los equipos y herramientas, lo que puede conducir a un cambio en las conductas que disminuyan el riesgo tanto al personal de esta área como a los usuarios, logrando que se apliquen las medidas de Bioseguridad adecuadamente.[68]

Universidad de Pamplona. “manual de bioseguridad. Laboratorios Universidad de Pamplona” su objetivo es dar a conocer la reglamentación para el funcionamiento óptimo de los recursos que oferta y disponen los laboratorios de la Universidad, cabe destacar que el formato de presentación del manual es un PNT.[69]

Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. “Manual de bioseguridad”, 2010 El presente Manual es aplicable a todos aquellos sitios de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, donde se realice trabajo experimental, sea de docencia o de investigación. Estos sitios serán denominados laboratorios. Los lugares en que se manipulen y/o almacenen productos químicos y biológicos, equipos, y todos aquellos materiales necesarios para el trabajo experimental, estarán sujetos a este Manual.[70]

Universidad Nacional Autónoma de México. “Manual de Procedimientos de Bioseguridad”, es un documento que establece reglas y estándares de bioseguridad que permiten el manejo adecuado y la reducción del riesgo biológico por exposición no intencional con material infeccioso, a niveles aceptables.[71]

El PNT de normas y hábitos de comportamiento en el Laboratorio, desarrolla en el estudiante un sentido de pertenencia, compromiso y responsabilidad con las actividades a realizar en el Laboratorio, todo esto para fomentar una actitud profesional necesaria para alcanzar el éxito laboral.

Según Montero, 1993 “Reducción de los accidentes de trabajo mediante el cambio de conducta hacia la seguridad”, Con el objetivo de reducir la accidentalidad laboral se lleva a cabo un experimento en una sección de un taller de fabricación de calzado; el mismo consiste en estimular la seguridad laboral del colectivo de trabajadores, evaluada en la ejecución de los métodos de trabajo de una forma más o menos segura. Se obtienen resultados satisfactorios desde el punto de vista del comportamiento colectivo, reduciéndose significativamente los accidentes laborales.[72]

La realización de la descripción del cargo dando cumplimiento a los artículos 53, 56 y 58 de la LOPCYMAT y el artículo 237 de la LOT, permite conocer a los estudiantes los posibles riesgos a los que están expuestos durante la realización de las prácticas de rutina en el laboratorio.

www.bdigital.ula.ve

El formato de entrenamiento mensual del personal sirve de soporte de las evaluaciones realizadas a cualquiera de los PNT en vigor, así como los reentrenamientos cada vez que se considere necesario reforzar el conocimiento de las actividades realizadas en el laboratorio y que además son de estricto cumplimiento.

El registro de la información sobre los equipos del laboratorio, nos suministra valiosa información en la interpretación de los resultados microbiológicos, es por ello que se debe mantener toda la documentación actualizada para cuando se realicen verificaciones o inspecciones.

Los reactivos y medios de cultivo cumplen con todas las especificaciones requeridas para los análisis que se realizan en el laboratorio ya que han sido

utilizados para verificar aptitud del método, mediante los controles positivos y negativos. El control de calidad de los medios se realiza según el PNT establecido para tal fin, a fin de evitar falsos positivos o falsos negativos.

Los materiales de referencia y cultivos de referencia son utilizados para validar métodos, comparar métodos, de allí su importancia de verificar cada una de las propiedades cuando son utilizados. Cuando se trata de cultivos de referencia se comprobaron las propiedades bioquímicas para garantizar la efectividad del análisis y por ende que los resultados sean confiables.

Las condiciones del laboratorio en cuanto a temperatura y humedad no favorece el muestreo, solo se recomienda el manejo e identificación de muestras de análisis así como la rotulación del material, para así evitar confusiones al momento del análisis y la interpretación de los resultados

www.bdigital.ula.ve

La eliminación de residuos contaminados debe realizarse en otros recipientes diferentes a las cajas de madera que actualmente se tienen en el Laboratorio, por ejemplo cajas plásticas donde se cumpla la limpieza de manera adecuada y evite la contaminación del material de trabajo del laboratorio. Así como cumplir por parte de las autoridades de la Facultad con la dotación del equipo de protección para el personal que realiza la manipulación y clasificación de los residuos contaminados.

Todos los procedimientos de ensayo están redactados en los PNT de acuerdo a los procedimientos especificados en las competencias del proyecto de asignatura Análisis Microbiológico de Medicamentos, para describir en forma clara y precisa las actividades realizadas, disminuyendo errores y aumentando la eficiencia en los resultados.

Registrar los datos realizados y obtenidos en cada uno de los procedimientos de ensayo para garantizar el óptimo funcionamiento del Laboratorio, de esta manera se logra evidencia documentada que puede ser validada e inspeccionada.

En cuanto a la validación tomando en cuenta cada una de las consideraciones generales de las pruebas realizadas tanto de recuento microbiano como de microorganismos objetables los resultados obtenidos en cuanto a las cepas de prueba en la dilución seleccionada tienen un recuento en promedio dentro del rango de 20 a 200 ufc/placa el mismo exigido por la USP 34.

Las pruebas realizadas a los medios de cultivo utilizados para los ensayos resultaron conformes tanto en la prueba de control negativo/positivo como en la promoción de crecimiento, demostrando que los medios involucrados en la prueba se encontraron en óptimas condiciones.

www.bdigital.ula.ve

La dilución realizada al producto Acetaminofen 120mg/5 mL jarabe (1/10) permitió la adecuada recuperación microbiana en las diferentes pruebas de ensayo comprobando que este producto requiere la mínima dilución para la detección de los posibles microorganismos presentes.

En los ensayos de los parámetros cuantitativos se obtuvieron resultados esperados para los diferentes ensayos realizados especificados a continuación:

Para el estudio del parámetro de especificidad se evaluó el diluyente así como el producto a usar en el estudio. Se comprobó que los neutralizantes (lecitina y polisorbato 20) no interfieren en la recuperación del microorganismo.

En el caso del parámetro de límite de detección y cuantificación se comprobó que el método logró hallar en promedio la mínima cantidad cuantificable y detectable de 5 ufc/placa para el caso de los microorganismos de prueba estudiados.

El método evaluado resiste cambios de lotes de medios de cultivo no observándose cambios significativos en la recuperación microbiana evaluándose así la tolerancia del método. Este parámetro se deberá seguir evaluándose a través del tiempo.

En cuanto a la robustez este parámetro se obtuvo evaluando diferentes días consecutivos de trabajo, variables ambientales del área de trabajo, así como cambio de medio de cultivo de para la determinación de *Bacterias Aerobias Mesófilas* y *Mohos y Levaduras*.

En los ensayos cualitativos se obtuvieron resultados conformes en la evaluación de especificidad del método dando crecimiento positivo sólo en el Agar MacConkey cuando se inocula la cepa de *Escherichia coli* y negativo cuando se inocula en Agar Manitol Salado.

En la guía de Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos, se complementan las pruebas y requerimientos de validación microbiológico dependiendo del método cuali-cuantitativo [73]

Además el método puede sufrir modificaciones en tiempos pequeños, lotes de los medios de cultivo específicos para la detección de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Salmonella entérica* ATCC 14028 como se aprecia en el estudio de robustez y tolerancia.

Por último se obtuvieron resultados conformes para el límite de detección apreciando crecimiento característico de *Escherichia coli* en el Caldo Trypticase de

Soya, Caldo Mac Conkey y Agar Mac Conkey y crecimiento característico de *Salmonella enterica* en el Caldo Tripticasa de Soya y Agar Xilosa Lisina Dexosicolato para las tres réplicas realizadas para cada lote del producto trabajado, asimismo se realizaron los controles positivos y negativos obteniendo resultados esperados

En el trabajo intitulado “Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios”, se muestra una serie de pasos a seguir durante la validación dependiendo del método a validar en el laboratorio, donde se presentan los problemas más frecuentes así como las necesidades futuras, detallando en cada caso el tipo de muestra, los parámetros a evaluar, y los cálculos y resultados a expresar. [74]

Para llevar a cabo una transferencia de procedimientos analíticos exitosa, los elementos recomendados son: protocolo pre-aprobado, procedimiento analítico, informe de transferencia, muchos de los cuales pueden estar interrelacionados o no. Cuando resulte apropiado, y como parte de las actividades previas a la transferencia, la unidad que transfiere debe proporcionar capacitación a la unidad receptora; otra opción es que la unidad receptora lleve a cabo los procedimientos e identifique cualquier circunstancia que necesite ser resuelta antes de firmar el protocolo de transferencia. La capacitación debe ser documentada; la unidad que transfiere, que se trata por lo general de la unidad de desarrollo, es responsable de proveer a la unidad receptora el procedimiento analítico, los estándares de referencia, informe de validación, así como cualquier documentación necesarias durante la transferencia.

Asociación Española de Abastecimiento de Agua y Saneamiento. Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas. Parte II criterios para la validación de los métodos de ensayos físico-químicos y microbiológicos. El objeto del presente documento es proponer una sistemática que permita llevar a cabo las

actuaciones necesarias para la adecuada selección de métodos de ensayo, la validación de los mismos, la estimación de incertidumbre de medición, así como establecer pautas para la expresión de resultados de forma que se pueda garantizar el mantenimiento de la competencia técnica de los laboratorios. [75]

En esta guía se proponen diversas pautas para la validación de los métodos de ensayo en determinaciones físicas, químicas y microbiológicas que permiten asegurar la idoneidad de los mismos, debiendo evaluarse parámetros como veracidad, precisión e incertidumbre de medida. En cualquier caso debe asumirse que la validación es siempre una ponderación entre costes, tiempos de ejecución, riesgos aceptables y capacidades técnicas disponibles.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

www.bdigital.ula.ve

La enseñanza de estos temas basados en competencias expande el desempeño de actividades y el campo de aplicación propias de la industria farmacéutica y afines.

El análisis de los elementos de la Bioseguridad permite la organización de un laboratorio de docencia universitario básico.

La señalización en el laboratorio permite el conocimiento de las áreas de riesgo y mejora las condiciones de trabajo del personal involucrado en las actividades realizadas.

Con la implementación de normas y procedimientos en materia de Bioseguridad se logrará reducir los incidentes y accidentes

Disposición a los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes, de la documentación necesaria para ser adaptada a las áreas de acuerdo a sus necesidades en particular, como guía en la implementación de normas y procedimientos en materia de Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio.

Con la implementación de las Buenas Prácticas de Laboratorio y en particular la documentación, se obtiene una mejora sustancial en el logro de resultados reproducibles, seguros, eficaces y confiables.

El proceso de validación sustentado por la documentación, permitió demostrar la confiabilidad del método aplicado, el trabajo realizado y los resultados obtenidos para métodos farmacopéicos.

Obtener parámetros como exactitud y precisión matemáticamente permite corroborar cada una de las consideraciones generales para desarrollar eficazmente el método.

CAPITULO VII

RECOMENDACIONES

Se requiere que exista continuidad en la ejecución y actualización de la documentación, para fomentar que la posición de la Universidad sea de vanguardia en esta materia.

Los Procedimientos Normalizados de Trabajo realizados en esta investigación, se recomienda sean evaluados por la Cátedra de Microbiología Aplicada para cumplir con los siguientes pasos: primer papel de trabajo, luego discusión y por último la aprobación para que entren en vigor y sean de obligatorio cumplimiento.

Es recomendable poner en práctica con los Bomberos Universitarios, la revisión de cada uno de los puntos señalados en el procedimiento para el control de emergencias, para verificar la documentación y garantizar la efectividad del

mismo. Al mismo tiempo este debe ser practicado periodicamente (simulacro), actualizado y mejorado durante el tiempo que no sea utilizado, basándose en nuevos métodos, técnicas, equipos y experiencias de emergencia similares.

Las actividades y responsabilidades establecidas en el laboratorio son de obligatorio cumplimiento por lo que se le hace un llamado a las autoridades de la Facultad, para concientizar al personal sobre la necesidad de su cumplimiento.

Esta nueva línea de investigación, dentro del campo de la Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio en Microbiología, del Postgrado de Química de Medicamentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, permite dar a conocer los objetivos y resultados de la bioseguridad por lo que sea recomienda sea difundida bajo la figura del comité de higiene y seguridad de la Facultad.

www.bdigital.ula.ve

Promover la realización de charlas dirigidas a los departamentos y cátedras de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, para reforzar y actualizar la importancia sobre las medidas de bioseguridad y BPL.

Solicitar a las autoridades de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, que provean de todo el material de protección, así como todas las herramientas necesarias para la creación de normas a través de PNT y formatos, como una inversión que disminuye los riesgos.

Implementar normas y procedimientos en los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, favoreciendo a los estudiantes en su formación profesional para que sus conocimientos y habilidades sean transferidos a la industria farmacéutica nacional.

Cabe resaltar que producto del trabajo de grado se tiene el siguiente listado de procedimientos ya elaborados, en proceso de revisión y aprobación definitiva para su aplicación.

Hojas de seguridad
Hoja de seguridad de cepa de <i>Escherichia coli</i> .
Hoja de seguridad de cepa de <i>Salmonella typhi</i> .
Hoja de seguridad de cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .
Equipos
Manejo, uso y limpieza del baño de vapor j-kottermann-kg.
Manejo, uso y limpieza del microscopio leica.
Manejo, uso y limpieza del microscopio nikon.
Materiales de referencia y cultivos de referencia
Caracterización de cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> .
Caracterización de cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .
Caracterización de cepa de <i>Salmonella typhi</i> .
Procedimientos de ensayo
Valoración de germicidas por coeficiente fenólico.
Valoración de desinfectantes por el semimicro-método de klarmann-wright.
Valoración de desinfectantes por el método de kolmer.
Valoración de desinfectantes por el método de rapidez de muerte.
Valoración de antisépticos por el método de difusión en agar.

Bioseguridad en el laboratorio de docencia.
Normas generales de seguridad en el laboratorio.
Procedimiento adecuado en el lavado de manos.
Procedimiento a seguir en la colocación y retiro de guantes.
Desinfección y limpieza luego del derrame de un microorganismo.
Control microbiológico de aire y superficies de áreas no estériles.
Limpieza y desinfección de superficies y equipos.
Limpieza y desinfección de un área estéril.
Informes de ensayo
Certificados analíticos de resultados de los procedimientos de ensayo realizados en el laboratorio de docencia e investigación de microbiología.

Referencias bibliográficas

1. Universidad Central del Ecuador. En línea [fecha de acceso: 28 de Enero de 2015]; Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/972>.
2. Fondonorma. En línea. [fecha de acceso: 23 de Noviembre de 2014]; Disponible en: <http://www.fondonorma.org.ve/linknormalizacion.php>
3. Ley del Medicamento. En línea. [fecha de acceso: 26 de Enero de 2015]; Disponible en: http://www.derechos.org.ve/pw/wp-content/uploads/ley_medicamentos.pdf.
4. Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales. En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.inpsasel.gob.ve/moo_medios/sec_inpsasel.html

5. Organización Internacional de Normalización (ISO). En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en:<http://www.iso.org/iso/home/standards.htm>
6. Organización Internacional de Normalización (ISO). En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en:http://www.iso.org/iso/home/about/about_governance.htm
7. Fondonorma. En línea. [fecha de acceso: 10 de Noviembre de 2014]; Disponible en:www.fondonorma.org.ve
8. Fondonorma. En línea. [fecha de acceso: 10 de Noviembre de 2014]; Disponible en:http://www.fondonorma.org.ve/enlaces_y_menus/certificacion/productos/marcasfn.php
9. Sencamer. Ministerio del Poder Popular para las Industrias ligeras y Comercio. En línea. [fecha de acceso: 13 de Noviembre de 2014]; Disponible en: www.sencamer.gob.ve
10. Organización Mundial de la Salud (OMS). En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: <http://www.who.int/about/es/>
11. Organización Panamericana de la Salud (OPS). En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: <http://www.paho.org>
12. Organización Panamericana de la Salud (OPS). En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.paho.org/mex/index.php?option=com_content&view=article&id=205%3Amision-vision-valores&Itemid=318.

13. Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) Buenas Prácticas de la OMS para Laboratorios de microbiología farmacéutica. En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=19765&Itemid=
14. Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=18847&Itemid=
15. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud en Venezuela. En línea. [fecha de acceso: 15 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.paho.org/ven/index.php?option=com_content&view=article&id=24&Itemid=122&limitstart=1
16. Ministerio del Poder Popular para la Salud-Organigrama. En línea. [fecha de acceso: 13 de Noviembre de 2014]; Disponible en: <http://www.mpps.gob.ve/images/stories/organigrama.png>
17. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria. En línea. [fecha de acceso: 13 de Noviembre de 2014]; Disponible en: <http://sacs.mpps.gob.ve/site/index.php/sacs/historia>
18. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria. En línea. [fecha de acceso: 13 de Noviembre de 2014]; Disponible en: <http://sacs.mpps.gob.ve/site/index.php/sacs/ambito-competencias>

19. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". En línea. [fecha de acceso: 13 de Noviembre de 2014]; Disponible en: http://www.inhrr.gob.ve/nuestro_instituto.php
20. Farmacopea Venezolana. En línea. [fecha de acceso: 18 de Noviembre de 2014]; Disponible en: <https://archive.org/details/farmacopeavenezo00rsqu>
21. The United States Pharmacopeia USP XXXV. Printed by National Publishing, Philadelphia, P.A. (USP)
22. Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT). En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.inpsasel.gob.ve/moo_news/lopcymat.html
23. Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT). En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en: http://www.inpsasel.gob.ve/moo_doc/regl_par_lopcymat.pdf
24. Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales. En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en: www.inpsasel.gob.ve
25. Cantanhede N. Normas de higiene industrial, teoría y práctica. Caracas-Venezuela. Ediciones Norma. 2001. Páginas:
26. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. Tercera edición Ginebra, Suiza. 2005
27. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 2340-2:2002 Medidas de seguridad e higiene ocupacional en laboratorios. Parte 2: Bioseguridad. Aprobada por FONDONORMA en la reunión del Consejo Superior N° 2002-09 de fecha 09/10/2002.

28. Documentación en un Sistema de Gestión de Calidad-Pirámide documental. En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en:<http://www.jfsistemas.com.mx/SGC/Piramide%20Documental.html>
29. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 187-92, 187:2003 Colores, símbolos y dimensiones para señales de seguridad. Aprobada por FONDONORMA en la reunión del Consejo Superior N° 2003-10 de fecha 08/04/92 y 29/10/2003
30. Universidad de Los Andes. Imagen Institucional y Diseño. En línea. [fecha de acceso: 10 de Diciembre de 2014]; Disponible en:http://www2.ula.ve/imagen/index.php?option=com_content&task=blogsection&id=35&Itemid=174
31. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma. Norma 2226-90 Guía para la elaboración de planes para el control de emergencias Aprobada por FONDONORMA en la reunión del Consejo Superior de fecha 06/06/1990
32. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 3059:2002 Hoja de datos de seguridad de los materiales Aprobada por FONDONORMA en la reunión del Consejo Superior N° 2002-05 de fecha 29/05/2002
33. Flores Urbáez, Matilde. Romero Quintero Mónica. Ojeda de López Juana. Sistemas de calidad en laboratorios universitarios de investigación. Revista espacios. Volumen 29 (1). 2008. pág. 31
34. Goldman D.S., Good Laboratory Practices: An Agrochemical Perspective, Garner, W. Y. (Ed) at the 194th Meeting of the American Chemical Society, New Orleans, Louisiana, Chemical Aspects of Compliance with Good

Laboratory Practices, EPA Perspective on Generic Good Laboratory Practice, pág. 13~23.

35. Identificación de una cepa bacteriana. En línea. [fecha de acceso: 19 de Octubre de 2014]; Disponible en:<http://bilbo.edu.uy/~microbio/identific02.html>.
36. Tortora Gerard J, ,Berdell R, Funke, Christine L, Case. Introducción a la Microbiología. 9a ed. Editorial médica panamericana. Buenos Aires, 2007. pág.292.
37. Identificación de una cepa bacteriana API. En línea. [fecha de acceso: 25 de Octubre de 2014]; Disponible: www.BioMerieux, 2010
38. GRUPO TERRAFARMA. En línea. [fecha de acceso: 13 de Enero de 2014]; Disponible:www.grupoterrafarma.com/articulos/80/buenas-practicas-de-documentacion-y-su-importancia
39. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). Validación de Métodos Analíticos. España 2001. Páginas: 23-36.
40. Entidad Nacional de Acreditación. Análisis microbiológico : Documento aclaratorio. NT-32. Rev. 3 Diciembre 2014. En línea [fecha de acceso 10 de diciembre de 2014. Disponible en www.enac.es
41. Gamazo Carlos, López – Goñi Ignacio, Díaz Ramón Manual de Microbiología 39 edición. Barcelona España. Masson S.A. 2005.
42. Weng Z. Conservación de microorganismos: importancia y retos. VII Taller sobre colecciones de cultivos microbianos. 2010; Ciudad de La Habana: Ediciones Finlay.

43. Koneman y col. Diagnóstico Microbiológico. Editorial médica panamericana. Buenos Aires, 2003. Pág.171, 529
44. Macfaddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial médica panamericana. Buenos Aires, 2003. Pág. 511, 580
45. Villoch Cambas, Alejandra María. Acercamiento a la acreditación y a las Buenas Prácticas de Laboratorio. (BPL), dirigidas a laboratorios de ensayos de microbiología y biotecnología. La Habana, Cuba. 2002
46. Cuenta colonias. En línea [fecha de acceso 13 de noviembre de 2014]; Disponible en: <http://www.solostocks.com.co/venta-productos/instrumentos-medicion-analisis/instrumentos-medicion/cuenta-colonias-342643>
47. Cuenta colonias. En línea [fecha de acceso 13 de noviembre de 2014]; Disponible en: <http://blog.acequilabs.com/cuenta-colonias-para-microbiologia>
48. Cuenta colonias. En línea [fecha de acceso 13 de noviembre de 2014]; Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf>
49. Instrucciones de seguridad para el manejo de microorganismos. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.uv.es/cect2/59_Instrucciones_seguridad
50. Organización y manejo de la colección de cepas de referencia del Instituto Finlay. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <https://www.google.co.ve/search?q=manejo+de+cepas+en+el+laboratorio&>
51. Manual de normas de Bioseguridad. En línea [26 de enero de 2015]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1025-028X2009000100004&script=sci_arttext

52. Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf
53. Manual práctico de bacteriología clínica. Publicaciones ULA. 2006.
54. Manejo de muestras. En línea [fecha de acceso 5 de enero de 2015]. Disponible en: <http://proyectoquimicacolguanenta.blogspot.com/>
55. Métodos internos de análisis del laboratorio de Análisis Microbiológico de Medicamentos.
56. Cuaderno del laboratorio. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://eprints.ucm.es/8078/1/EL_CUADERNO_DE_LABORATORIO_MANUAL.pdf.
57. Bitácora. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.iec.ula.mx/acad/jmorfin/Sistemas_Digitales_files/bitacora.pdf.
58. "Evaluación de la importancia de la práctica de bioseguridad en programas de pregrado y posgrado en la universidad federal de rio de janeiro y otras universidades brasileñas". En línea [fecha de acceso 5 de enero de 2015]. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4393449>
59. Conocimiento en riesgo biológico y prácticas de bioseguridad en el personal docente. 2013. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/8406/1/CB-0494546.pdf>

60. Universidad Castilla- La Mancha. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: https://www.uclm.es/cr/quimicas/menu_principal/07-planes_autoproteccion/documentacion/guia_seguridad_laboratorio.pdf
61. "Elaboración del manual de bioseguridad y documentación de los procedimientos operativos estándar y instructivos del laboratorio de bacteriología especializada de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana". En línea. [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis113.pdf>
62. Universidad de León. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <http://servicios.unileon.es/gestion-de-residuos/wp-content/blogs.dir/34/files/2014/03/guia-de-seguridad-y-buenas-practicas-en-el-laboratorio.pdf>
63. Aplicación de la bioseguridad en un proceso de integración de sistemas de gestión. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: www.bvv.sld.cu/download.php?url=libros/129979605616.pdf
64. Catálogo nacional de cualificaciones profesionales. Organización y control de la fabricación de productos farmacéuticos y afines. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.mecd.gob.es/educa/incual/pdf/Publicacion/QUI116_3OK.pdf
65. "Evaluación de las instalaciones y condiciones ambientales actuales del laboratorio central del servicio de Bioanálisis "Rafael Rangel", según el requisito 5.2 instalaciones y condiciones ambientales de la norma COVENIN ISO 15189:2004. En línea. [fecha de acceso 5 de enero de 2015]. Disponible en: <http://biblioteca2.ucab.edu.ve/anexos/biblioteca/marc/texto/AAQ5943.pdf>
66. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma 2266-88 Guía de los aspectos generales a ser considerados en la inspección de las

condiciones de higiene y seguridad en el trabajo. Aprobada por FONDONORMA en la reunión del Consejo Superior de fecha 05/02/88 y 01/06/88

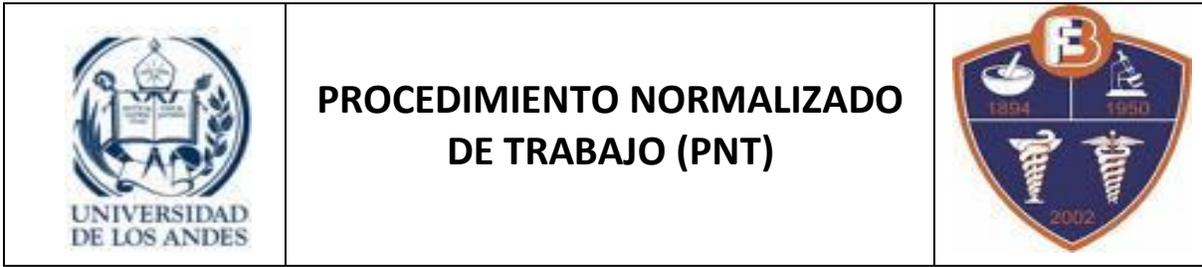
67. Universidad de Cundinamarca En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <http://www.unicundi.edu.co/documents/academia/manual-bioseguridad.pdf>
68. Instituto Tecnológico Metropolitano Medellín. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://centrolabs.itm.edu.co/Documentos/Manuales/3_Manual%20de%20Seguridad%20y%20Bioseguridad%20para%20los%20Laboratorios%20de%20Qu%C3%ADmica%20del%20ITM.pdf
69. Universidad de Pamplona. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_13/recursos/gestio_n_laboratorios/manuales/26092011/mla_01_manual_bioseguridad.pdf
70. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Manual de bioseguridad 2010. En línea. Disponible en: <http://www.fbqf.unt.edu.ar/acreditacion/farmacia/Compromiso%20III/Anexo%20CIII/18.pdf>
71. Universidad Nacional Autónoma de México. manual de procedimientos de bioseguridad. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: https://www.biomedicas.unam.mx/_administracion/_unidades_apoyo_inst/manual_bioseguridad.pdf
72. Reducción de los accidentes de trabajo mediante el cambio de conducta hacia la seguridad. En línea [fecha de acceso 5 de enero de 2015]. Disponible en:

http://www.mapfre.es/documentacion/publico/i18n/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1014376

73. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia48.pdf>

74. Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios. En línea [fecha de acceso 26 de enero de 2015]. Disponible en: www.gscsal.com/.../articulos-publicados.html

75. Asociación Española de Abastecimiento de Agua y Saneamiento. Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas. Parte II criterios para la validación de los métodos de ensayos físico-químicos y microbiológicos. En línea [fecha de acceso 5 de enero de 2015]. Disponible en: www.aeas.es



ANEXO Nº 1

www.bdigital.ula.ve

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO Pág. 1 de 10 DE TRABAJO (PNT)		
	Núm Dep	robología Cátedra: Microbiología Aplicada	
Fecha de emisión: 05/01/15		Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO PARA LA REDACCIÓN DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	Procedimiento para la redacción de Procedimiento Normalizado		
	Núm Dep Fecha de emisión:	IM 0001 robología 05/01/15	
		Men M Vigencia: 3 Años	

1. OBJETIVO

Este procedimiento especifica los pasos a seguir para realizar la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo de las diferentes actividades realizadas en el laboratorio A2 de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, con el fin de unificar las actividades realizadas.

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la cátedra Microbiología General y de las Menciones Tecnología Industrial Farmacéutica, Análisis de Medicamentos Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la universidad de los andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se redacte, describa, transcriba o publique un procedimiento, una norma o técnica.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	Procedimiento Normalizado PROCEDIMIENTO NORMALIZADO Pág. 3 de 10 DE TRABAJO (PNT)		
	Núm	IM 0001	
Dep	Biología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Men
Fecha de emisión: 05/01/15		Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 La vestimenta será acorde con el Área de Trabajo, deben vestir adecuadamente que consta de Bata Blanca, gorro desechable

5.2 EQUIPO

- 5.2.1 Computadora.
- 5.2.2 Impresora.
- 5.2.3 Pendrive.
- 5.2.4 Papel Bond blanco tipo carta, grapadora y otros artículos de oficina
- 5.2.5 Manuscrito del PNT a transcribir

5.3 PRECAUCIONES

- 5.3.1 Verificar que el equipo funcione correctamente.
- 5.3.2 Prever el Stock de cartucho de tinta.
- 5.3.3 Durante la transcripción de datos se recomienda grabar o guardar la información periódicamente
- 5.3.4 Tener respaldo de todos los procedimientos a fin de evitar su pérdida en caso de falla del sistema
- 5.3.5 No improvisar durante la redacción del desarrollo de la actividad, para evitar desviaciones.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	Procedimiento Normalizado de Trabajo Normalizado		
	Núm: IM 0001	Pág. 4 de 10 PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Dep: Microbiología	Cátedra: Microbiología Aplicada		Men: M
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18		Vigencia: 3 Años

6. PROCEDIMIENTO

6.1 NORMAS GENERALES DE REDACCIÓN

- 6.1.1 La redacción del Procedimiento Normalizado de Trabajo lo debe realizar, siempre que sea posible, la persona o personas que mejor conocen el proceso o actividad.
- 6.1.2 Utilizar un título claro y descriptivo para cada Procedimiento Normalizado de Trabajo.
- 6.1.3 Establecer una hoja de identificación o portada en cada Procedimiento Normalizado de Trabajo, que contenga las siguientes indicaciones: título, número de Procedimiento Normalizado de Trabajo, número de páginas, departamento, cátedra, mención, fecha de emisión, fecha de próxima revisión, vigencia, redactor, verificación y aprobación.
- 6.1.4 Describir las operaciones de manera ordenada, siguiendo la misma secuencia de su aplicación, resaltando los aspectos claves del Procedimiento Normalizado de Trabajo.
- 6.1.5 Emplear párrafos cortos, claros, precisos, evitando abreviaturas.
- 6.1.6 Utilizar el manual de instrucciones de los equipos u otros documentos como complemento, nunca el Procedimiento Normalizado de Trabajo propiamente.
- 6.1.7 Apoyarse en figuras, gráficos, o esquemas siempre que sea necesario para facilitar la comprensión o desarrollo del Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2 ESTRUCTURA DEL PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO

- 6.2.1 **Objetivo:** debe describir claramente el propósito del Procedimiento Normalizado de Trabajo.
- 6.2.2 **Alcance:** indica el resultado de lo que se obtendrá, condiciona el método que seguir para obtener dichos resultados.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

Titulo: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág.5 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.2.3 **Responsabilidad:** debe hacer referencia de los responsables de la implantación, cumplimiento y aprobación del Procedimiento Normalizado de Trabajo, así como, la persona o personas que deben realizar la actividad descrita en el procedimiento.

6.2.4 **Frecuencia:** Explica el tiempo en que se realiza la operación descrita.

6.2.5 **Condiciones generales:**

6.2.5.1 **Personal y vestimenta:** es la descripción de la vestimenta que debe utilizarse durante la realización descrita en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.5.2 **Equipos:** se debe establecer el nombre, serial, ubicación de cada uno de los equipos utilizados.

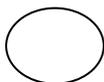
6.2.5.3 **Precauciones:** son todas las condiciones para evitar accidentes o interrupciones durante la realización de la actividad.

6.2.5.4 **Procedimiento:** se debe describir y detallar en secuencia lógica cada una de las actividades a realizar, para conseguir el resultado establecido en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.5.5 **Flujograma de procesos:** resumen del Procedimiento Normalizado de Trabajo, mediante los siguientes símbolos básicos, según la normas ISO-9000 y ANSI para elaborar diagramas de flujo:

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

Símbolo



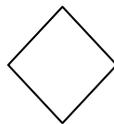
Significado

Inicio/fin del proceso



Operación o actividad que se lleva a cabo

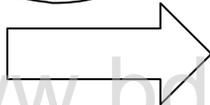
	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág.6 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años



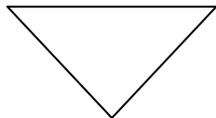
Decisión (Seleccionar entre dos opciones)



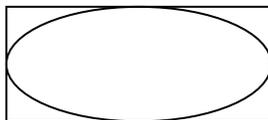
Documento (Ingresa, se procesa o sale)



Transportación (Movimiento de personas
material o equipo)



Entrada de bienes (Productos o material
que ingresan al proceso)



Operación e inspección: (supervisión
durante las fases del proceso)

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

6.2.5.6 Referencias: se debe citar cualquier documento utilizado relacionado o utilizado en la preparación del Procedimiento Normalizado de Trabajo. (normas, manuales, diccionario, otros Procedimiento Normalizado de Trabajo).

6.2.5.7 Definiciones o glosario: se mencionan las definiciones de los términos no comunes que se utilizan en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág.7 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.2.5.8 Control de distribución de copias: establecer un cuadro de información de que personas o departamentos poseen copias de los procedimientos normalizados de trabajo.

6.2.5.9 Control de cambios: Si en el procedimiento se realizan modificaciones se deben especificar el aparte donde se realizó el cambio, escribir lo anterior y sustituirlo con la referencia establecida.

6.2.5.10 Anexos: imágenes, formatos, que puedan facilitar el entendimiento del Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.6 Formato de identificación

6.2.6.1 Portada.

6.2.6.2 Programa informático Word.

6.2.6.3 Letra: Calibri, Tamaño de letra 11.

6.2.6.4 Tipo de papel bond tamaño carta.

6.2.6.5 Márgenes de la página: normal.

6.2.6.6 Numeración de apartados y sub-apartados: numeración consecutiva sin espacios.

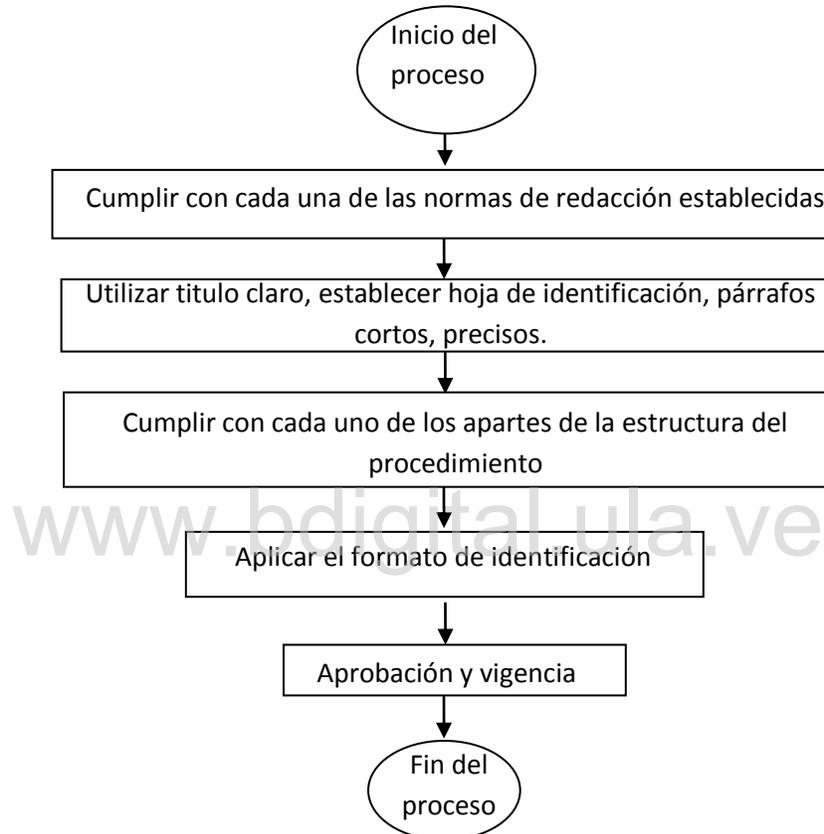
6.3 APROBACIÓN Y VIGENCIA

6.3.1 Una vez que se realice la revisión del procedimiento, su vigencia será de 3 años a menos que exista alguna modificación o cambio, antes de la fecha señalada.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)		
	Núm: IM 0001	Pág. 8 de 10	
Dep: Microbiología	Cátedra: Microbiología Aplicada		Men:
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años	

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO PARA LA REDACCIÓN PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	Procedimiento para la producción de Procedimientos Normalizados PROCEDIMIENTO NORMALIZADO		
	Núm	MM 0001	
Dep	Microbiología	DE TRABAJO (PNT)	Men
	Cátedra: Microbiología Aplicada		M
Fecha de emisión:	05/01/15	Fecha de próxima revisión:	05/01/18
			Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Formato: Estructura que caracteriza la presentación de una información en un computador, en hojas impresas o en cualquier otro medio. Se puede presentar en diversos tamaños o dimensiones, generalmente se personaliza para el fin deseado.

8.2 Método: Conjunto de operaciones ordenadas con que se pretende obtener un resultado.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 Suarez, A. (2012). Procedimientos para hacer procedimientos. [documento en línea]. Disponible:

http://www.seconora.gob.mx/dges/uploads/procerges/iso/procedimientospara_procedimientos.pdf [consulta 2014, septiembre 26]

9.2 Normas ISO-9000 y ANSI para elaborar diagramas de flujo:

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

11.- CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura, por ser edición N°1.

Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 10 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

www.bdigital.ula.ve

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 1 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO PARA LA REDACCIÓN DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

1. OBJETIVO

Este procedimiento especifica los pasos a seguir para realizar la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo de las diferentes actividades realizadas en el laboratorio A2 de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, con el fin de unificar

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 3 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 5.2.2 Impresora.
- 5.2.3 Pendrive.
- 5.2.4 Papel Bond blanco tipo carta, grapadora y otros artículos de oficina
- 5.2.5 Manuscrito del PNT a transcribir

5.3 PRECAUCIONES

- 5.3.1 Verificar que el equipo funcione correctamente.
- 5.3.2 Prever el Stock de cartucho de tinta.
- 5.3.3 Durante la transcripción de datos se recomienda grabar o guardar la información periódicamente
- 5.3.4 Tener respaldo de todos los procedimientos a fin de evitar su pérdida en caso de falla del sistema
- 5.3.5 No improvisar durante la redacción del desarrollo de la actividad, para evitar desviaciones.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 NORMAS GENERALES DE REDACCIÓN

- 6.1.1 La redacción del Procedimiento Normalizado de Trabajo lo debe realizar, siempre que sea posible, la persona o personas que mejor conocen el proceso o actividad.
- 6.1.2 Utilizar un título claro y descriptivo para cada Procedimiento Normalizado de Trabajo.
- 6.1.3 Establecer una hoja de identificación o portada en cada Procedimiento Normalizado de Trabajo, que contenga las siguientes indicaciones: título, número de Procedimiento Normalizado de Trabajo, número de páginas, departamento, cátedra, mención, fecha de emisión, fecha de próxima revisión, vigencia, redactor, verificación y aprobación.
- 6.1.4 Describir las operaciones de manera ordenada, siguiendo la misma secuencia de su aplicación, resaltando los aspectos claves del Procedimiento Normalizado de Trabajo.
- 6.1.5 Emplear párrafos cortos, claros, precisos, evitando abreviaturas.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 4 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.1.6 Utilizar el manual de instrucciones de los equipos u otros documentos como complemento, nunca el Procedimiento Normalizado de Trabajo propiamente.

6.1.7 Apoyarse en figuras, gráficos, o esquemas siempre que sea necesario para facilitar la comprensión o desarrollo del Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2 ESTRUCTURA DEL PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO

6.2.1 **Objetivo:** debe describir claramente el propósito del Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.2 **Alcance:** indica el resultado de lo que se obtendrá, condiciona el método que seguir para obtener dichos resultados.

6.2.3 **Responsabilidad:** debe hacer referencia de los responsables de la implantación, cumplimiento y aprobación del Procedimiento Normalizado de Trabajo, así como, la persona o personas que deben realizar la actividad descrita en el procedimiento.

6.2.4 **Frecuencia:** Explica el tiempo en que se realiza la operación descrita.

6.2.5 **Condiciones generales:**

6.2.5.1 Personal y vestimenta: es la descripción de la vestimenta que debe utilizarse durante la realización descrita en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.5.2 Equipos: se debe establecer el nombre, serial, ubicación de cada uno de los equipos utilizados.

6.2.5.3 Precauciones: son todas las condiciones para evitar accidentes o interrupciones durante la realización de la actividad.

6.2.5.4 Procedimiento: se debe describir y detallar en secuencia lógica cada una de las actividades a realizar, para conseguir el resultado establecido en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

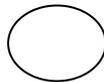
6.2.5.5 Flujograma de procesos: resumen del Procedimiento Normalizado de Trabajo, mediante los siguientes símbolos básicos, según la normas ISO-9000 y ANSI para elaborar diagramas de flujo:

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

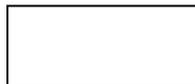
 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 5 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

Símbolo

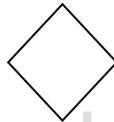
Significado



Inicio/fin del proceso



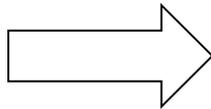
Operación o actividad que se lleva a cabo



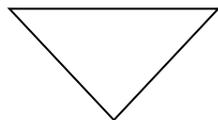
Decisión (Seleccionar entre dos opciones)



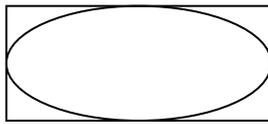
Documento (Ingresa, se procesa o sale)



Transportación (Movimiento de personas material o equipo)



Entrada de bienes (Productos o material que ingresan al proceso)



Operación e inspección: (supervisión durante las fases del proceso)

6.2.5.6 Referencias: se debe citar cualquier documento utilizado relacionado o utilizado en la preparación del Procedimiento Normalizado de

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 6 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

Trabajo.(normas, manuales, diccionario, otros Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.5.7 Definiciones o glosario: se mencionan las definiciones de los términos no comunes que se utilizan en el Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.5.8 Control de distribución de copias: establecer un cuadro de información de que personas o departamentos poseen copias de los procedimientos normalizados de trabajo.

6.2.5.9 Control de cambios: Si en el procedimiento se realizan modificaciones se deben especificar el aparte donde se realizo el cambio, escribir lo anterior y sustituirlo con la referencia establecida.

6.2.5.10 Anexos: imágenes, formatos, que puedan facilitar el entendimiento del Procedimiento Normalizado de Trabajo.

6.2.6 Formato de identificación

6.2.6.1 Portada.

6.2.6.2 Programa informático Word.

6.2.6.3 Letra: Calibri, Tamaño de letra 11.

6.2.6.4 Tipo de papel bond tamaño carta.

6.2.6.5 Márgenes de la página: normal.

6.2.6.6 Numeración de apartados y sub-apartados: numeración consecutiva sin espacios.

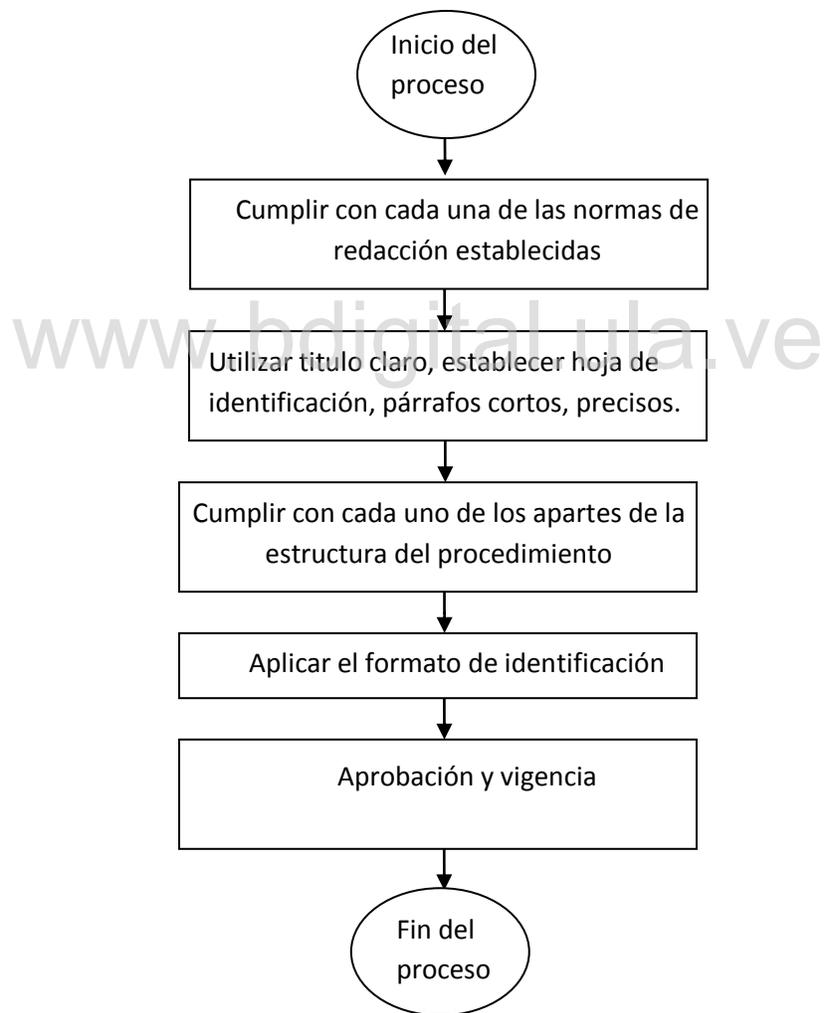
6.3 APROBACIÓN Y VIGENCIA

6.3.1 Una vez que se realice la revisión del procedimiento, su vigencia será de 3años a menos que exista alguna modificación o cambio, antes de la fecha señalada.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<h2>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</h2>	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 7 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO PARA LA REDACCIÓN PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO.



Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo

Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 8 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Formato: Estructura que caracteriza la presentación de una información en un computador, en hojas impresas o en cualquier otro medio. Se puede presentar en diversos tamaños o dimensiones, generalmente se personaliza para el fin deseado.

8.2 Método: Conjunto de operaciones ordenadas con que se pretende obtener un resultado.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 Suarez, A. (2012). Procedimientos para hacer procedimientos. [documento en línea].

Disponible:

[http://www.seconora.gob.mx/dges/uploads/procerges/iso/procedimientospara procedimientos.pdf](http://www.seconora.gob.mx/dges/uploads/procerges/iso/procedimientospara%20procedimientos.pdf) [consulta 2014, septiembre 26]

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura, por ser edición N°1.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo		
Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 9 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Planes para el control de emergencias		
Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 1 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO PLANES PARA EL CONTROL DE EMERGENCIAS
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXO
 - 13.1 FOTOGRAFIA DEL BOTIQUIN DE PRIMEROS AUXILIOS.

1. OBJETIVO

Este procedimiento especifica los pasos a seguir para responder adecuada y oportunamente con criterios de seguridad, eficiencia y rapidez ante los casos de emergencia que se puedan presentar realizando las diferentes actividades en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Planes para el control de emergencias		
Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 2 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todas las actividades realizadas así como hacia los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética, los profesores y el personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Tecnología Industrial Farmacéutica, Análisis de Medicamentos, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se necesite responder ante cualquier emergencia presentada en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 La vestimenta será acorde con las actividades realizadas en el área de trabajo, se debe portar bata de laboratorio, guantes, tapaboca, gorro.

5.2 EQUIPO

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Planes para el control de emergencias

Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 3 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 5.2.1 Botiquín de primeros auxilios.
- 5.2.2 Implementos de higiene y seguridad.(Gasa, agua y jabón)
- 5.2.3 Extintor.

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

- 5.3.1 Gasa estéril
- 5.3.2 Agua
- 5.3.3 Jabón

5.4 PRECAUCIONES

- 5.4.1 Cumplir con los procedimientos generales establecidos en el procedimiento.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 PROCEDIMIENTOS GENERALES

6.1.1 Botiquín de primeros auxilios

6.1.1.1 El botiquín de primeros auxilios debe estar presente en cualquier laboratorio. Debe incluir una serie de artículos seleccionados especialmente para efectuar un tratamiento de emergencia en caso de cortes, quemaduras, lesiones en los ojos o enfermedad inmediata. El botiquín de primeros auxilios debe revisarse periódicamente para asegurarse de que se han repuesto los artículos utilizados. Los profesores de laboratorio son los responsables del mantenimiento de su contenido. No debe administrarse ninguna medicación oral del botiquín de primeros auxilios. El Material que debe contener debe ser el necesario para cumplir con los procedimientos generales del plan de emergencias descrito, además el botiquín debe ser movible para ser trasladado hacia el sitio donde se encuentra el afectado.

6.1.2 Mareos o pérdida de conocimiento.

6.1.2.1 Trasladar al accidentado a un lugar seguro y dejarlo recostado sobre el lado izquierdo. Aflojarle la ropa o todo aquello que pueda oprimirlo, verificando si ha perdido el sentido y si respira; tomarle el pulso. No suministrar alimentos, bebidas ni productos para activar la respiración.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Planes para el control de emergencias		
Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 4 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.1.3 Heridas (pequeños cortes, hemorragias y quemaduras)

6.1.3.1 Pequeños cortes y quemaduras. Lavar con agua y jabón. Colocar una gasa limpia en la herida. En hemorragias importantes: Tranquilizar al herido y acostarlo, ello reduce las posibilidades de desvanecimiento. NO ELIMINAR NINGÚN OBJETO INCRUSTADO. Ejercer presión directamente en la herida con un vendaje estéril o gasa limpia, Si esto no controla la hemorragia, elevar la herida, si es posible, sobre el nivel del corazón. Si la hemorragia es importante, elevar las piernas del herido y cubrirle con una manta. NO APLICAR NUNCA UN TORNQUETE.

6.1.4 Quemaduras térmicas

6.1.4.1 Las quemaduras de primer grado por vapor se caracterizan por presentar dolor, enrojecimiento e hinchazón. El procedimiento a seguir ante este tipo de quemaduras es: Aplicar corriente de agua fría sobre el área de la quemadura o sumergirla en agua fría durante, al menos, 5 minutos. Cubrir la quemadura con una venda estéril o gasa limpia. NO APLICAR NINGÚN UNGÜENTO, SPRAY O CREMA.

6.1.5 Incendio

- 6.1.5.1 Realizar la evacuación del laboratorio.
- 6.1.5.2 El laboratorio debe estar dotado de extintores portátiles (agua pulverizada, CO₂, polvo) adecuados a los tipos de fuegos posibles, debiendo el personal del laboratorio conocer su funcionamiento en base a un entrenamiento.
- 6.1.5.3 Los extintores deben estar colocados a una distancia de los puestos de trabajo que los hagan rápidamente accesibles, no debiéndose colocar objetos que puedan obstruir dicho acceso.
- 6.1.5.4 Si el fuego enciende la ropa, utilizar una manta, procurando que el desplazamiento sea mínimo.

6.1.6 Fuga de gases

6.1.6.1 La revisión periódica de las conexiones de las botellas y de la instalación de gases en su caso, es la medida preventiva más eficaz para la prevención de fugas que puedan ser causa de una situación de

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Planes para el control de emergencias		
Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 5 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

emergencia. Esta revisión debe realizarse con agua jabonosa, o productos detectores específicos para el gas.

6.1.7 Simulacro

6.1.7.1 El procedimiento de simulacro debe realizarse una vez por semestre, para evaluar las zonas de riesgo y cumplir con el recorrido más adecuado para la evacuación.

6.1.7.2 Debe estar la señal de salida de emergencia.

6.2 TELEFONOS DE EMERGENCIA

6.2.1 **Bomberos+ policía+ servicio de ambulancia: 171**

6.2.2 **Guardia Nacional: 168**

6.2.3 **CICPC:0274-2621952**

6.2.4 **IMPRADEM: 0274-2666922**

6.2.5 **Bomberos ULA: 2522627/2402995**

6.3 CENTROS ASISTENCIALES CERCANOS

6.3.1 Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA).

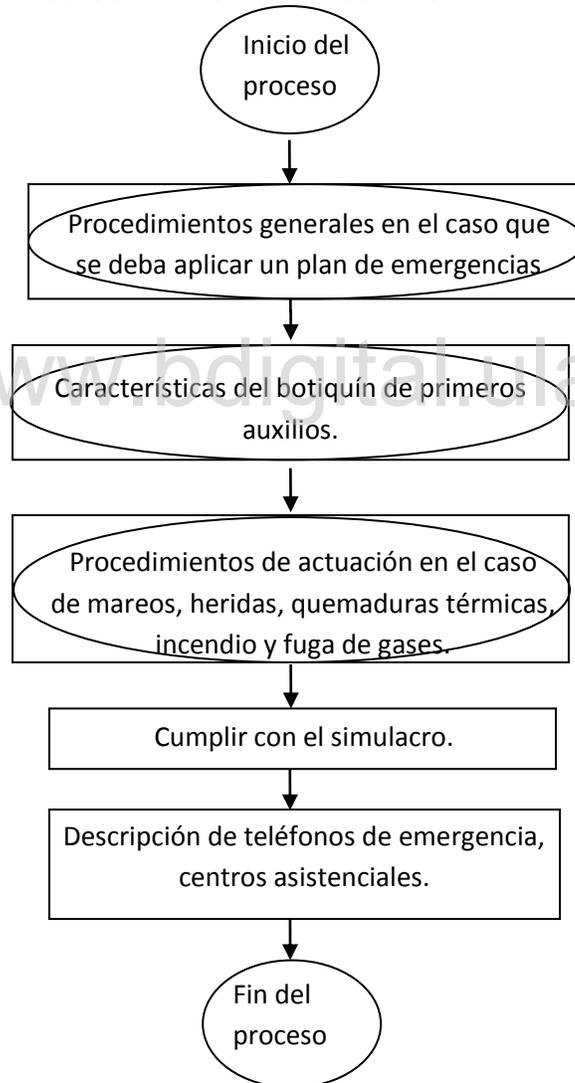
6.3.2 CAMIULA.

6.3.3 Cruz Roja Venezolana.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Planes para el control de emergencias</p>		
<p>Número DM-MA-AMM 0002</p>	<p>Pág. 6 de 8</p>	<p>Copia N° 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

7. FLUJOGRAMA DE PROCESO PLANES PARA EL CONTROL DE EMERGENCIAS



<p>Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
--	---	--



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Planes para el control de emergencias

Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 7 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Emergencia: Es una serie de circunstancias irregulares que se producen súbita e imprevistamente, que podrían originar daños a las personas, propiedad y/o al ambiente y que demandan acción inmediata.

8.2 Fin de la emergencia: Es cuando la condición irregular es controlada y la situación regresa a la normalidad.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 Norma COVENIN 2226-90

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Planes para el control de emergencias		
Número DM-MA-AMM 0002	Pág. 8 de 8	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS.

13.1 FOTOGRAFIA DEL BOTIQUIN DE PRIMEROS AUXILIOS.



Realizado por Nombre: Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

HOJA DE SEGURIDAD



Staphylococcus aureus

Estafilococo dorado



Características: pertenece a la familia *Staphylococcaceae*. Es Gram positivo. Tiene forma de coco y puede aparecer en parejas, en cadenas o en racimos, es inmóvil y algunas cepas producen una cápsula externa mucoide que aumenta su capacidad para producir infección. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positivo, catalasa positivo y oxidasa negativo.

Reservorio: Humano, mamíferos, aves (bacteria saprofita de la piel y las mucosas del hombre y de los animales), alimentos y agua.

Hospedadores: Humanos y animales de sangre caliente.

Dosis infectiva mínima (DIM)
Como mínimo 100.0000 unidades.

Supervivencia ambiental: Sobrevive durante semanas en los cadáveres, en los tejidos y órganos de los animales (carne) y, durante días, en la piel, en el suelo y en la superficie de los objetos metálicos y de vidrio. También puede crecer en soluciones salinas con una proporción de hasta un 15% de cloruro sódico.

Vías de entrada
Dérmica. Mucosas. Parenteral. Digestiva.

Grupo de Riesgo:
2

Mecanismo de propagación y transmisión
La transmisión se produce principalmente por ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o sus toxinas.

En el ámbito laboral, la transmisión se produce por contacto con personas, animales (zoonosis) o elementos contaminados, ocurriendo principalmente por la contaminación de heridas y mucosas, por la inoculación accidental a través de pinchazos o cortes con objetos contaminados y por mordeduras de animales.

Es responsable de muchos casos de enfermedad nosocomial.

Efectos en la salud: Infecciones locales de la piel y las mucosas (impétigo, foliculitis, forunculosis, conjuntivitis, etc.), e infecciones internas que se complican en individuos inmunodeprimidos, pudiendo producir endocarditis, meningitis, artritis séptica, neumonía y osteomielitis, que pueden llegar a ser mortales

Actividades laborales con riesgo:
Actividades en contacto con animales o con sus productos. Industrias de la alimentación. Actividades sanitarias y laboratorios.

Prevención y control. Inactivación física
Inactivación por calor seco de 160°C-170°C durante al menos una hora. Las enterotoxinas son resistentes al calor y estables a la temperatura de ebullición.

Medidas preventivas generales
Protección de manos.
Protección ocular.

Seguridad en el laboratorio:
Buenas prácticas de higiene: aseo personal, lavado de manos, evitar tocarse la cara o las mucosas con las manos o el guante sucio, tratamiento y aislamiento (cubrir con apósitos) de heridas o lesiones en la piel, utilizar ropa de trabajo y equipos de protección individual.



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0003	Pág. 1 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE GENERALES DE CONDUCTA Y HÁBITOS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1 NORMAS GENERALES DE LABORATORIO

1. OBJETIVO

Este procedimiento especifica las normas de comportamiento y hábitos de trabajo, para así cumplir con las diferentes actividades que se realizan en el Laboratorio de Docencia e Investigación de la Cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.		
Número DM-MA-AMM 0003	Pág. 2 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética así como para los profesores y el personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Tecnología Industrial, Farmacéutica, Análisis de Medicamentos, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se realicen actividades en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 La vestimenta será acorde con las actividades realizadas en el área de trabajo, vestir adecuadamente con bata de laboratorio, guantes, gorro, tapabocas.

5.2 PRECAUCIONES

5.2.1 Cumplir con las normas establecidas en el procedimiento.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.</p>		
<p>Número DM-MA-AMM 0003</p>	<p>Pág. 3 de 7</p>	<p>Copia N° 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Normas generales de conducta

- 6.1.1 Como norma higiénica básica, el personal debe lavarse las manos al entrar y salir del laboratorio y siempre que haya habido contacto con algún producto biológico o químico.
- 6.1.2 Debe llevar en todo momento la bata y ropa de trabajo abrochada y el cabello recogido, evitando colgantes o mangas anchas que pudieran engancharse en los montajes y material del laboratorio. No se debe trabajar separado de la mesa, en la que nunca han de depositarse objetos personales.
- 6.1.3 Debe ser informado sobre las normas de trabajo, plan de seguridad y emergencia del laboratorio, y características específicas de peligrosidad de los productos, instalaciones y operaciones de uso habitual en el laboratorio.
- 6.1.4 No debe estar autorizado el trabajo en solitario en el laboratorio, a menos que las actividades sean debidamente supervisadas.
- 6.1.5 Está prohibido fumar, beber e ingerir alimentos en el laboratorio. Para beber es preferible la utilización de fuentes de agua a emplear vasos y botellas. Caso de que aquellas no estén disponibles, nunca se emplearán recipientes de laboratorio para contener bebidas o alimentos ni se colocarán productos químicos en recipientes de productos alimenticios.

6.2 Hábitos de trabajo en los laboratorios

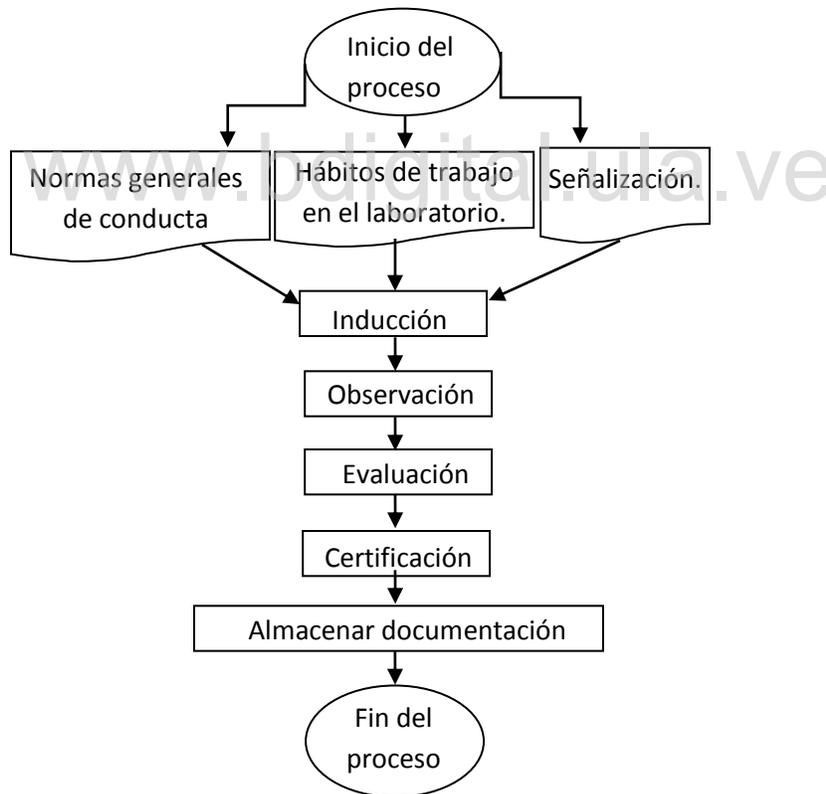
- 6.2.1 Trabajar con orden, limpieza y sin prisa.
- 6.2.2 Mantener las mesas de trabajo limpias y sin productos, libros, cajas o accesorios innecesarios para el trabajo que se está realizando.
- 6.2.3 No utilizar nunca un equipo de trabajo sin conocer su funcionamiento. Antes de iniciar un experimento asegúrese de que el montaje está en perfectas condiciones. Si el experimento lo requiere, use los equipos de protección individual determinados (guantes, lentes).
- 6.2.4 Utilizar siempre gradillas y soportes.
- 6.2.5 No trabajar separado de las mesas.
- 6.2.6 Trabaje cerca del mechero.

<p>Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
--	---	--

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.		
Número DM-MA-AMM 0003	Pág. 4 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.2.7 Al circular por el laboratorio debes ir con precaución, sin interrumpir a los que están trabajando.

7. FLUJOGRAMA DE PROCESO DE NORMAS GENERALES DE CONDUCTA Y HÁBITOS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0003	Pág. 5 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Conducta: Manera de actuar y comportarse. Conjunto de reacciones humanas o animales por impulso propio y ante estímulos del medio ambiente.

8.2 Hábito: Costumbre o manera de actuar adquirida, que consiste en repetir con frecuencia una misma acción o el uso reiterado y regular de una cosa.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 Norma COVENIN 2304-2:2002

9.2 Diccionario Larousse básico. Ediciones Larousse.2013. México.

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.</p>		
<p>Número DM-MA-AMM 0003</p>	<p>Pág. 6 de 7</p>	<p>Copia N° 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

<p>TEMA: _____</p>
<p>Instructor: _____</p>
<p>Material Didáctico Utilizado: _____</p>

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

<p>Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
--	---	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Normas generales de conducta y hábitos de trabajo en el laboratorio.		
Número DM-MA-AMM 0003	Pág. 7 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13. ANEXOS

13.1 NORMAS GENERALES DE LABORATORIO

Universidad de Los Andes
 Facultad de Farmacia y Bioanálisis
 Cátedra de Microbiología Aplicada

NORMAS GENERALES DE LABORATORIO

1. Es de rigor el uso de la bata de laboratorio.
2. El uso del celular es restringido.
3. Es obligatorio lavarse muy bien las manos con jabón, antes y después de cada sesión de laboratorio.
4. Es de uso obligatorio guantes y tapaboca en el momento de realizarse la práctica.
5. El uso del cabello largo suelto es especialmente peligroso cuando se trabaja cerca de un mechero de gas. Deben tomarse precauciones en tal sentido.
6. Colocar el material que no sea para la práctica (libros, cuadernos, carteras, etc.) en el sitio dispuesto para tal finalidad.
7. No se deben ingerir alimentos, ni fumar, dentro del laboratorio.
8. Evitar llevarse a la boca los dedos, papeles, lápices, etiquetas, y otros objetos.
9. En el caso de que algún cultivo viable sea derramado notifique inmediatamente al profesor. Debe ser cubierto con un desinfectante, preferiblemente, con solución de fenol al 5%, y lavarse las manos con agua y jabón.
10. El asa o alambre de platino debe ser esterilizado en llama antes y después de usarlo y no debe ser colocado encima del mesón sin haber sido esterilizado previamente.
11. Utilice las papeleras para depositar los desperdicios de algodones, fósforos, pabito, papeles o cualquier otro material sólido, no infectado. Mantenga limpio su sitio de trabajo, durante y al final de la jornada.
12. Descartar el material contaminado en el sitio destinado para tal fin.
13. Las pipetas, después de ser usadas con algún material infeccioso, no deben ser colocadas en el mesón.
14. Utilice un cuaderno para las anotaciones de resultados, observaciones, cálculos, ejemplos, etc.
15. Controlar las temperaturas de las incubadoras.
16. No se retire de la práctica sin notificarlo a alguno de los instructores.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Procedimiento para la redacción de Procedimientos Normalizados de Trabajo

Número DM-MA-AMM 0001	Pág. 2 de 9	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la cátedra Microbiología General y de las Menciones Tecnología Industrial Farmacéutica, Análisis de Medicamentos Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la universidad de los andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se redacte, describa, transcriba o publique un procedimiento, una norma o técnica.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 a vestimenta será acorde con el Área de Trabajo, deben vestir adecuadamente que consta de Bata Blanca, , gorro desechable

5.2 EQUIPO

5.2.1 Computadora.

Realizado por Nombre: Clody Rojas. Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Cargo: Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--

Anexo N° 5

Formato Perfil de cargo

www.bdigital.ula.ve

ANÁLISIS DE PUESTO DE TRABAJO Y NOTIFICACION DE RIESGOS				
FUNDAMENTO LEGAL: ARTICULOS 53,56 Y 58 DE LA LOPCYMAT, ARTICULO 237 DE LA LOT				
PROPOSITO DEL CARGO				
Garantizar la calidad a través de los Análisis que se realizan en el laboratorio, tomando en cuenta la limpieza de los equipos y áreas, para cumplir con las especificaciones de los mismos.				
EQUIPOS, HERRAMIENTAS Y UTENSILIOS DE TRABAJO: Bata de laboratorio, tapabocas, Gorros, Guantes, Zapatos cerrados, Libros, Equipos de Laboratorio, Reactivos, e.o.				
PROCEDIMIENTO DE TRABAJO SEGURO				
Descripción de la operación	Advertencia de riesgo	Tipo de riesgos	Efectos del riesgo	Practica de trabajo seguro
Manipula material de vidrio	Contacto con objetos filosos	Mecánico	Heridas cortantes Infecciones Hemorragia	No use material de vidrio sentido. De cualquier manera, aun usando el material adecuado, siempre que trabaje con material de vidrio, deberán tomarse las precauciones de usar guantes, transportar el material de vidrio con cuidado
Traslado por las áreas de trabajo	Contacto con objetos filosos, caídas de un mismo nivel, arrollamiento	Mecánico	Heridas, fracturas, contusiones	No deje útiles de trabajo dispersos o mal ubicados, disponer de papeleras, recipientes y contenedores para el material sobrante de trabajo, (
RECOMENDACIONES GENERALES DE HIGIENE Y SEGURIDAD INDUSTRIAL Mantener orden y limpieza en las áreas de trabajo Usar equipo de protección personal Prohibido fumar en las instalaciones del laboratorio. Prohibido usar joyas o ropa holgada en la ejecución de las tareas Participar en los adiestramientos para manejar equipos contra incendios Observar y respetar todos los avisos de seguridad industrial presentes en el área de trabajo. Evitar bromas pesadas en el laboratorio No manipular equipos y maquinas sin autorización Consultar siempre al supervisor sobre procedimientos a seguir Evitar distracciones en el trabajo No reparar equipo a menos que sea parte del trabajo asignado Evitar riesgos eléctricos.				



**PROGRAMA DE ENTRENAMIENTO DEL
PERSONAL**



Fecha Realizada	Tema Tratado	Nro. de Asistentes	Instructor	Duración	Observaciones

www.bdigital.ula.ve

Nota: Este programa está sujeto a cambios de acuerdo a las necesidades de entrenamiento que considere el encargado del Área

Fecha: / /



INCUBADORA MEMMERT 30°C



MARCA	
MODELO	
SERIAL	
Nº de serial ULA	
Ubicación	

www.bdigital.ula.ve

ANEXO Nº 8

Formato de registro y uso del equipo

www.bdigital.ula.ve



Registro de Calificación de Limpieza
Cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).



Fecha	Hora	Resultado	Fecha	Hora	Resultado

www.bdigital.ula.ve



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 1 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO, USO, LIMPIEZA Y CALIFICACIÓN DEL CUENTA COLONIAS
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1. FOTOGRAFÍA DEL CUENTA COLONIAS INDICANDO SUS PARTES.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 2 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

Este procedimiento tiene por finalidad describir el adecuado manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER), ubicado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente al cuenta colonias. A los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se realiza cada vez que se requiera revisar los microorganismos presentes en las placas de petri, para su posterior análisis, luego del tiempo recomendado de incubación, o cada vez que se considere útil su uso.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 3 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5.1.1 El personal encargado del manejo, uso, limpieza y calificación del Cuenta Colonias Darkfield Quebec Colony Counter, debe portar: bata blanca de laboratorio, guantes, tapa boca y zapato adecuado.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Cuenta Colonia (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER)

Modelo: 3330

Serial: ULA grupo 2 Descripción 22100 Unidad 04004

Ubicación: Edificio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. En el salón A2, ultimo mesón a mano derecha.

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Placa de Petri.

5.3.2 Mechero.

5.3.3 Solución Hidroalcohólica.

5.3.4 Paño absorbente que no desprenda partículas.

5.3.5 Solución jabonosa.

5.4 PRECAUCIONES

5.4.1 Comprobar que el equipo y los materiales estén en buen estado.

5.4.2 Precisar la vestimenta de protección necesaria para realizar el análisis.

5.4.3 Colocar con mucho cuidado la placa sobre el equipo, para evitar contaminaciones.

5.4.4 Evitar derrames de líquidos sobre el equipo.

5.4.5 Limpiar el equipo.

5.4.6 Lavar y sanitizarse las manos luego de manipular las placas.

5.4.7 Asegurarse de no dejar conectado el equipo, para evitar que se quemé la lámpara.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD
QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 4 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6. PROCEDIMIENTO

6.1 MANEJO Y USO DEL EQUIPO

- 6.1.1 Asegurarse que el cuenta colonias esté conectado a la red eléctrica de 110 voltios.
- 6.1.2 Encender el equipo, pasar el switch de off a on, que se encuentra en el mismo cable de 110 voltios.
- 6.1.3 Esperar que se encienda la lámpara.
- 6.1.4 Mueva la lupa hacia arriba, dando espacio para colocar la placa de petri.
- 6.1.5 Coloque la placa con el material de cultivo que se desee examinar.(zona cuadricular)
- 6.1.6 Baje la lupa hasta obtener el enfoque deseado, es decir, hasta que observe las colonias bacterianas.
- 6.1.7 Proceda al conteo con la ayuda de la escala que se observa en la base del equipo (zona cuadrículada), se debe tomar las placas que contengan entre 25 y 250 colonias, calcular el promedio y reportar las Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C.), que están presentes cuando sólo una dilución está en el intervalo apropiado, calcular el promedio por gramo o mililitro de dicha dilución y reportar. Cuando dos diluciones están en el intervalo apropiado, determinar la cuenta promedio dada por cada dilución antes de promediar la cuenta de las dos diluciones para obtener la cuenta en placa por gramo o mililitro.
- 6.1.8 Si las unidades formadoras de colonias (U.F.C.) presentes son menores de 25, se realiza el conteo de toda la placa, para verificar y estudiar cuantas unidades formadoras de colonias existen, multiplicar por el factor de dilución.
- 6.1.9 Si no es posible contar (es decir incontables) en la placa de petri, se toma U.F.C. presentes en un cuadro de la cuadrícula que equivale a 1cm² se realiza una regla de tres, si la cantidad de U.F. están en un 1cm² cuantas colonias hay en 64cm² que equivale el tamaño de placa de petri, y luego multiplicar por el factor de dilución si se ha realizado.
- 6.1.10 Anote los resultados y proceda a realizar los cálculos.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 5 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 6.1.11 Levante la lupa.
- 6.1.12 Retire la placa.
- 6.1.13 Apague el equipo, pasando en switch de on a off.
- 6.1.14 Desenchufe el equipo.

6.2 LIMPIEZA DEL EQUIPO

- 6.2.1 Asegúrese de que el equipo se encuentra desconectado de la toma eléctrica.
- 6.2.2 Limpie la lupa y la escala o zona cuadrículada con la ayuda de un paño seco para retirar el exceso de polvo.
- 6.2.3 Limpie con el paño y la solución jabonosa la parte superior del equipo.
- 6.2.4 Elimine el exceso de jabón con un paño humedecido con agua, hasta que no quede residuos.
- 6.2.5 Limpiar con solución hidroalcohólica con la ayuda de un paño humedecido.
- 6.2.6 Realizar un control microbiológico del equipo mediante la técnica de hisopado frotando la base cuadrículada del equipo con un hisopo estéril luego estriar en agar plate count e incubar a 30°C luego contar las unidades formadoras de colonias y verificar la limpieza del equipo.

6.3 CALIFICACION DEL EQUIPO

6.3.1 INSTALACIÓN.

- 6.3.1.1 Verificar el estado del cable y el encendido de la luz al realizar la conexión del equipo a la red eléctrica de 110 V, según el aparte 6.1 de este procedimiento.

6.3.2 OPERACIÓN.

- 6.3.2.1 Verificar el encendido de la lámpara.
- 6.3.2.2 Comprobar la adecuada iluminación en la zona cuadrículada del equipo.

6.3.3 EJECUCIÓN

- 6.3.3.1 Realizar el contaje o la observación de las colonias de los análisis microbiológicos realizados, con la ayuda de la lupa.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



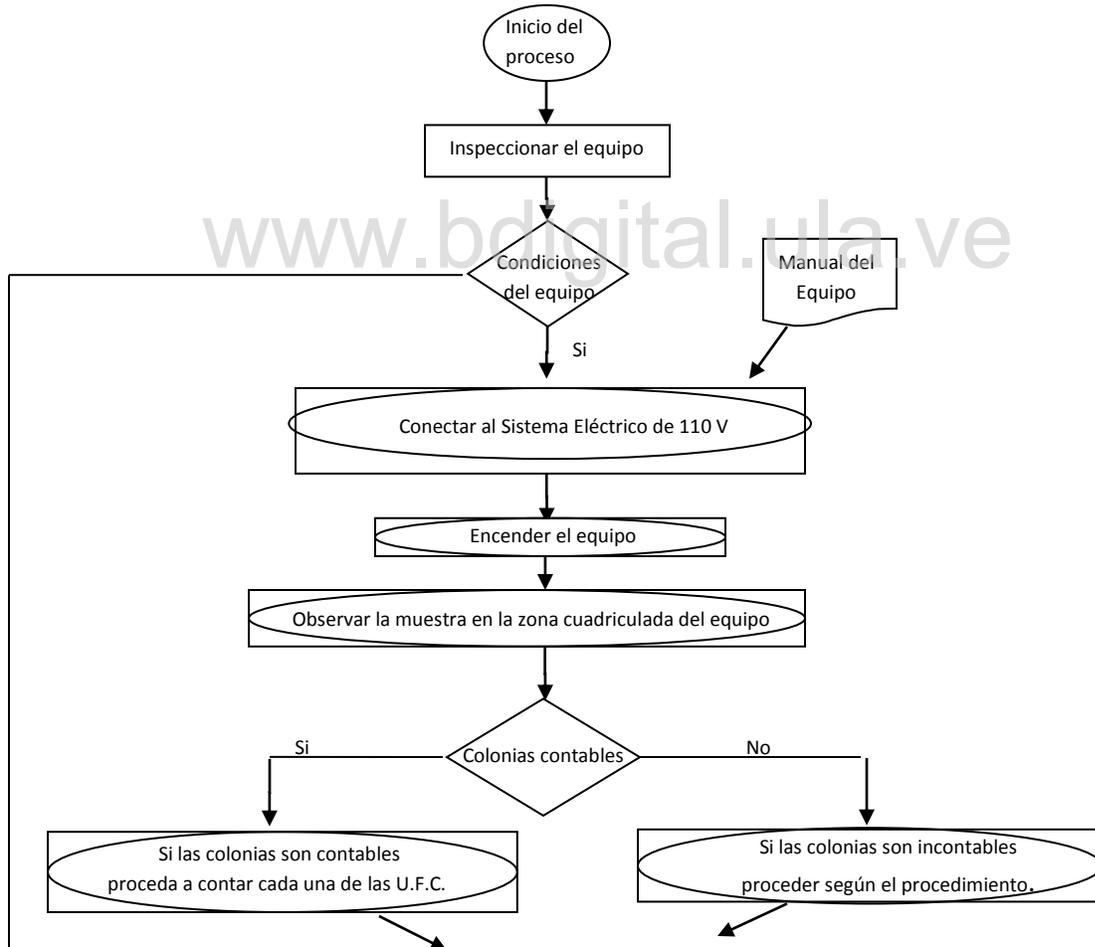
PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 6 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO Y LIMPIEZA DEL CUESTA COLONIAS DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER MODELO 3330.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

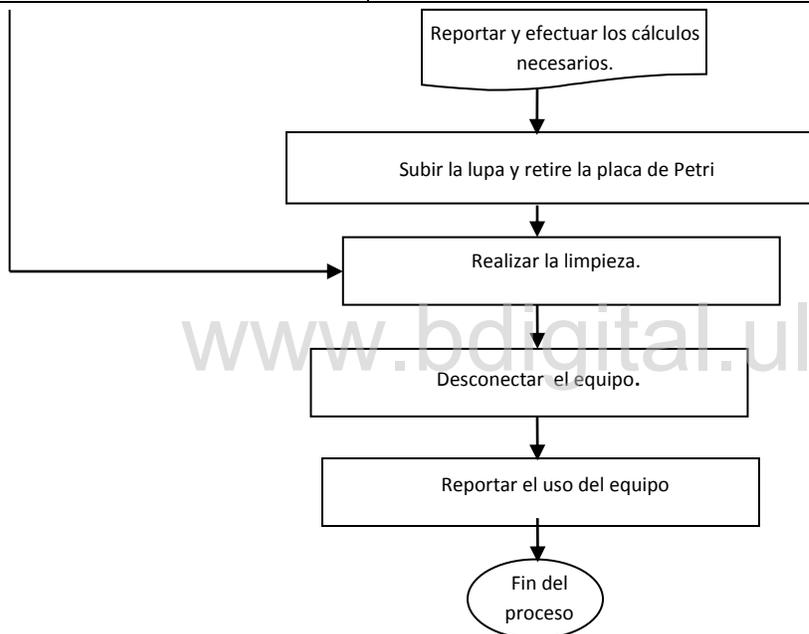


PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).

Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 7 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años



8. GLOSARIO

- 8.1 **Cultivo:** técnica de laboratorio usada para reproducir células o tejidos animales o vegetales mediante un crecimiento en un medio nutriente.
- 8.2 **Colonia:** grupo de bacteria u otro microorganismo desarrollado en un cultivo.
- 8.3 **Bacteria:** organismo unicelular microscópico sin núcleo diferenciado. Se multiplica por división simple o por esporas. A veces están provistos por flagelos o cilios con lo que se mueven en un medio líquido, y son agentes de numerosas enfermedades infecciosas.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).		
Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 8 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8.4 **Hongos:** vegetal carente de clorofila, unicelular o pluricelular. Se reproducen por esporas y pueden tener vida parasitaria.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1 <http://www.solostocks.com.co/venta-productos/instrumentos-medicion-analisis/instrumentos-medicion/cuenta-colonias-342643>.
 9.2 <http://blog.acequilabs.com/cuenta-colonias-para-microbiologia>.
 9.3 <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf>.

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIELD QUEBEC COLONY COUNTER).		
Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 9 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

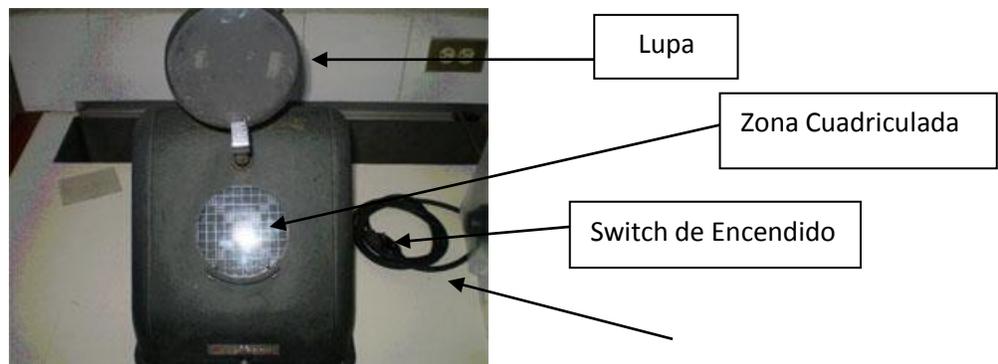
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS

13.1 Fotografía del cuenta colonias.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Manejo, uso, limpieza y calificación del cuenta colonias (DARKFIEID QUEBEC COLONY COUNTER).		
Número DM-MA-AMM 0004	Pág. 10 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13.2 FORMATO DE REGISTRO CALIFICACIÓN DE LIMPIEZA Cuenta colonias (DARKFIEID QUEBEC COLONY COUNTER).

Registro de Calificación de Limpieza					
Cuenta colonias (DARKFIEID QUEBEC COLONY COUNTER).					
Fecha	Hora	Resultado	Fecha	Hora	Resultado

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Control de calidad de los medios de cultivo

Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 1 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXO.
 - 13.1. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE ESCHERICHIA COLI EN AGAR MACCONKEY.

1. OBJETIVO

Este procedimiento permite establecer el control de calidad a los medios de cultivo destinados para los diversos análisis microbiológicos realizados por el laboratorio de microbiología Cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA).

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Control de calidad de los medios de cultivo		
Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 2 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente a los estudiantes y al personal que labora en el laboratorio de microbiología Cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, para garantizar el control de calidad de los medios de cultivos utilizados en los procesos analíticos.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento normalizado de trabajo debe ser aplicado cada vez que se requiera realizar el control de calidad a los medios de cultivo utilizados en los ensayos microbiológicos.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar el control de calidad a los medios de cultivo debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Incubadora Memmert 37°C

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Placa de Petri.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Control de calidad de los medios de cultivo

Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 3 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 5.3.2 Mechero.
- 5.3.3 Propipeta.
- 5.3.4 Asa calibrada.
- 5.3.5 Medios de cultivos enriquecidos.
- 5.3.6 Medios de cultivos selectivos.
- 5.3.7 Medios de cultivos diferenciales.
- 5.3.8 Medios de referencia.
- 5.3.9 Cepas control (se recomienda el uso de cepas ATCC).

5.4 PRECAUCIONES

- 5.4.1 Comprobar que el equipo y los materiales estén en buen estado.
- 5.4.2 Siempre utilizar, para realizar medidas, la propipeta nunca la boca.
- 5.4.3 En caso de derrames limpiar la zona de ser posibles con un desinfectante lo más rápido posible.
- 5.4.4 Rotular el material a utilizar de manera clara antes de comenzar a trabajar.
- 5.4.5 Evitar marcar las placas de petri en las tapas.
- 5.4.6 Las placas se deben incubar en posición invertida, para impedir que la humedad resultante del agua de condensación, pueda originar un crecimiento extendido e impedir de esta forma el desarrollo de colonias aisladas.
- 5.4.7 Al esterilizar el asa dejar enfriar para evitar matar a los microorganismos.
- 5.4.8 Descartar después de su uso los guantes.

6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 Los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de docencia e investigación de la Cátedra de Microbiología Aplicada se preparan en el área de preparación de medios de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
- 6.2 A todos los medios de cultivo preparados se les realizan los controles de calidad, que consisten en diferentes pruebas para verificar su esterilidad y permitir el crecimiento de cultivos viables durante los análisis realizados en el laboratorio.
- 6.3 Durante la preparación se debe considerar los siguientes aspectos:
 - 6.3.1 El almacenamiento de los medios debe realizarse en condiciones adecuadas.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Control de calidad de los medios de cultivo		
Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 4 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 6.3.2 No deben mantenerse abiertos durante mucho tiempo.
- 6.3.3 Evitar el sobrecalentamiento.
- 6.3.4 Las proporciones de agua y medio de cultivo deben estar relaciones de acuerdo a la fórmula de preparación, realizar las reglas de tres correspondientes.
- 6.3.5 Disolver en dos porciones el agua y el medio de cultivo (polvo).
- 6.3.6 Se Medir pH: se realiza con papel pH o pH-metro. Para ello se debe tomar una alícuota, medir el pH y de ser necesario ajustar al pH indicado utilizando HCl 0,1 N o NaOH 0,1 N. Rango aceptable 7,2-7,4.(o dependiendo de lo especificado por el fabricante en el envase).

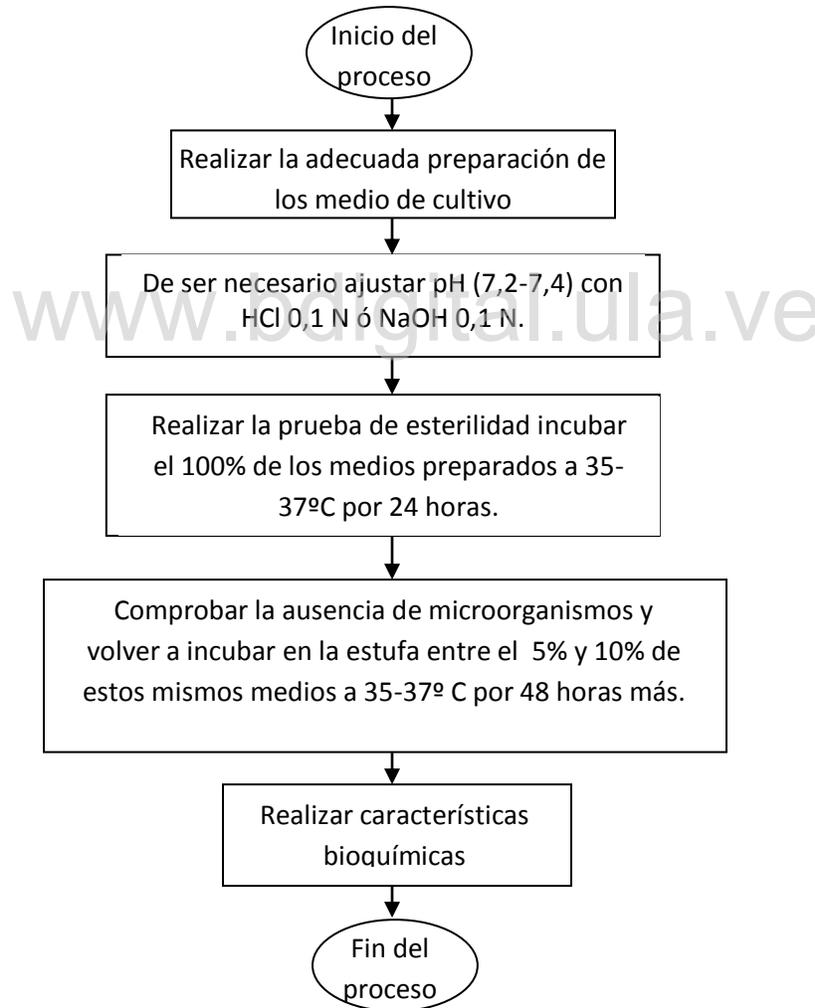
6.4 Luego de preparados los medios de cultivo se realizan los controles de calidad siguientes:

- 6.4.1 Control de esterilidad: cada vez que se prepara el medio de cultivo, incubar el 100% de éstos a 35 °C por 24 horas. Leer y volver a incubar, en estufa entre 5% y un 10% de estos mismos medios a 35°C por otras 24 horas. El resultado a obtener es que no debe haber contaminación en ninguna de las placas recién preparadas. Verificar cambio de color, turbidez del medio, crecimiento. Si aparecen contaminantes debe repetirse el lote y descartar el anterior.
- 6.4.2 Control de características bioquímicas: una vez verificada la esterilidad se inocula el medio de cultivo con la cepa de referencia indicada para verificar su crecimiento.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Control de calidad de los medios de cultivo		
Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 5 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Control de calidad de los medios de cultivo

Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 6 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1 Cultivo:** es un método para la multiplicación de células o microorganismos, o para el crecimiento de tejidos en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado.
- 8.2 Microorganismo:** también llamado microbio u organismo microscópico, es un ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio.
- 8.3 Medio de cultivo:** solución que cuenta con los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos (bajo condiciones favorables de temperatura y pH).
- 8.4 Temperatura:** es la medida de calor o energía térmica de las partículas en una sustancia.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1** USP 35 NF (The Standard of Quality SM) p

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Control de calidad de los medios de cultivo

Número DM-MA-AMM 0007	Pág. 7 de 7	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____

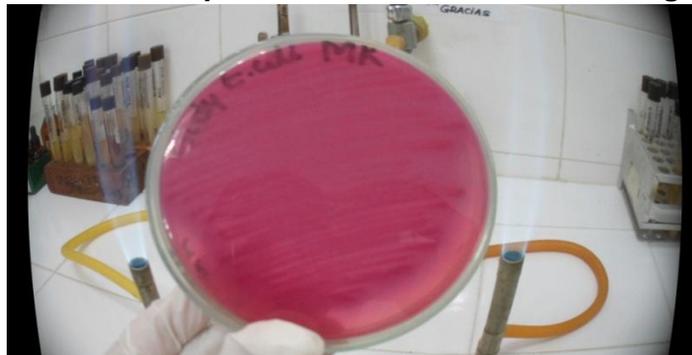
Instructor: _____

Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS

13.1 Características bioquímicas de Escherichia coli en Agar MacConkey.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES DR. PEDRO RINCÓN GUTIÉRREZ TACHIRA, VENEZUELA</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio</p>		
<p>Número: DM-MA-AMM 0008</p>	<p>Pág. 1 de 10</p>	<p>Copia N^o 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO Y REPIQUE DE CEPAS
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO CON ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1 TABLA DE CEPAS MADRES CON SU RESPECTIVO MEDIO DE CULTIVO

1. OBJETIVO

Establecer los lineamientos a seguir para la preservación de Cepas Microbiológicas utilizadas en el área de Microbiología, el cual debe garantizar la viabilidad de las mismas y minimizar los cambios en las características morfológicas, fisiológicas o genéticas de las

<p>Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
---	---	--



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio		
Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 2 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

cepas utilizadas en Laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de microbiología aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado para todas las cepas microbiológicas utilizadas en el laboratorio así como a los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Ciencia de los Alimentos, Dermocosmética, a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de Microbiología salón A2 de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la cátedra Microbiología General y de las Menciones Tecnología Industrial Farmacéutica, Análisis de Medicamentos, Ciencia de los Alimentos y Dermocosmética, profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada año para la cepa madre hasta un máximo de 5 repiques permitidos, y cada dos meses para las cepas repicadas o cuando sea necesario por cambios morfológicos, virulencia, e.o.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar el control de calidad a los medios de cultivo debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 MATERIAL A UTILIZAR

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio		
Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 3 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5.2.1 Manejo y repique de cepas

- 5.2.1.1 Solución hidroalcohólica 70%
- 5.2.1.2 Papel absorbente
- 5.2.1.3 Solución jabonosa
- 5.2.1.4 Recipientes resistentes y limpios (pequeñas cajas forradas, botes de plástico)
- 5.2.1.5 Gradillas
- 5.2.1.6 Mechero
- 5.2.1.7 Fósforos
- 5.2.1.8 Cepas microbiológicas a repicar
- 5.2.1.9 Medios de cultivo específicos dependiendo de la cepa.
- 5.2.1.10 Marcador
- 5.2.1.11 Asa de platino
- 5.2.1.12 Cuaderno de registro
- 5.2.1.13 Lapicero

5.3 PRECAUCIONES

- 5.3.1 Trabajar lo más cerca del mechero
- 5.3.2 Las cepas preservadas deben ser sometidas a controles de pureza y viabilidad cada cierto tiempo para su mantenimiento.
- 5.3.3 Se deben usar tubos de rosca preferiblemente.
- 5.3.4 Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- 5.3.5 Cumplir con las normas establecidas en este procedimiento.
- 5.3.6 Verificar que el área de trabajo se encuentre despejada
- 5.3.7 Vestimenta de protección necesaria para realizar el análisis específicamente durante la manipulación de la muestra.
- 5.3.8 Evitar derrames de líquidos o accidentes en la zona de trabajo.
- 5.3.9 Lavar y sanitizar las manos antes y después del análisis.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Manejo de cepas

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio		
Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 4 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 6.1.1 Sanitizar el área de trabajo.
- 6.1.2 Lavar las manos, colocarse los guantes, y rociar los guantes con solución hidroalcohólica 70%.
- 6.1.3 Las cepas deben estar identificadas y rotular todo el material de trabajo.
- 6.1.4 En el cuaderno se registra toda la información necesaria como: fecha, condiciones de la cepa, características bioquímicas, entre otras.

6.2 Repique de cepas

- 6.2.1 Encender el mechero
- 6.2.2 Disponer del material de trabajo cerca del mechero
- 6.2.3 Repicar la cepa madre por triplicado en el medio de cultivo adecuado (agar inclinado), temperatura y tiempo de incubación específico según anexo Nro.1, verificar con pruebas de control positivo y negativo.
- 6.2.4 Rotular los tubos con medio enriquecido para sembrar las cepas.
- 6.2.5 Esterilizar el asa de platino en el mechero.
- 6.2.6 Agarrar el tubo de cepa a repicar con la mano izquierda, retirar la tapa y mantenerla sujeta con el meñique de la mano derecha.
- 6.2.7 Flamear la boca del tubo de cepa.
- 6.2.8 Con la mano derecha a su vez disponer del asa de platino e introducirla en el tubo de cepa para proceder al arrastre de la misma, asegurándose que el asa ya se encuentre fría con las paredes del tubo.
 - 6.2.8.1 Si la cepa se encuentra en agar en cuña, arrastrar una pequeña porción de cepa con cuidado sin tocar el agar.
 - 6.2.8.2 Si la cepa se encuentra en caldo, sumergir el asa en el mismo, agitarla suavemente, y retirar una asada de caldo (se verifica por la aparición de una película en el aro del asa).
- 6.2.9 Sin soltar el asa y rápidamente, flamear la boca del tubo de la cepa y proceder a taparlo y colocarlo en la gradilla.
- 6.2.10 Agarrar un tubo rotulado de medio enriquecido, retirar la tapa con el meñique, flamear la boca e introducir el asa para realizar la descarga de microorganismo.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES DR. PEDRO RINCÓN GUTIÉRREZ TACHIRA, VENEZUELA</p>	<h2>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</h2>	
Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio		
Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 5 de 10	Copia N^o 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.2.10.1 El medio a utilizar es agar en cuña o inclinado se realiza la técnica de estriado, (se descarga el contenido del asa en forma de estrías a lo largo del tubo.

- 6.2.11 Al retirar el asa, se flamea la boca del tubo inoculado, se tapa, se coloca en la gradilla, para posteriormente esterilizar el asa en el mechero y colocar en la gradilla.
- 6.2.12 Realizar esta operación por triplicado. Para obtener tres cepas de repique de la cepa madre.
- 6.2.13 Agregar el aceite mineral (previamente esterilizado a 160°C por una hora en la estufa) al tubo donde se ha repicado la cepa hasta que cubra o sobrepase 1cm el pico del agar inclinado para su preservación.
- 6.2.14 Llevar las cepas a incubación a temperatura adecuada.
- 6.2.15 Descartar todo el material utilizado en el sitio específico de descarte, para ser esterilizado de ser necesario.
- 6.2.16 Apagar el mechero.
- 6.2.17 Sanitizar el área de trabajo nuevamente.
- 6.2.18 Descartar los guantes, tapaboca y gorro.
- 6.2.19 Lavarse las manos.
- 6.2.20 Las cepas madre solo serán utilizadas anualmente para sustituir o reemplazar las cepas de los repiques hechos a su llegada y/o cuando por necesidad extrema se requiera (muestra de repique) o contaminación de los mismos con un máximo de cinco repiques para cada cepa.
- 6.2.21 Mantener en refrigeración entre 2-8°C las cepas con su respectiva identificación.
- 6.2.22 Se utilizaran solo las cepas obtenidas del repique y su verificación se deben utilizar cada vez que se observan cambios en su morfología, poco o nulo crecimiento, repicar cada dos meses para su mantenimiento.
- 6.2.23 Realizar pruebas bioquímicas para garantizar su viabilidad.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	--



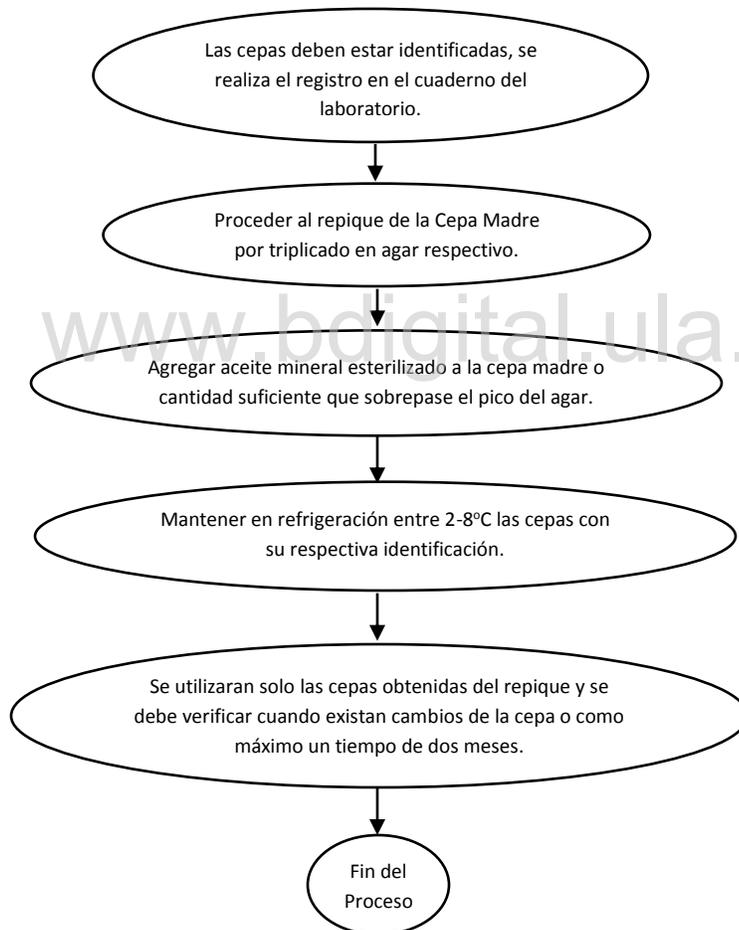
PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio

Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 6 de 10	Copia N ^o 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL MANEJO DE CEPAS EN EL LABORATORIO



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio

Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 7 de 10	Copia N ^o 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1** Cepa: es, en microbiología, una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.
- 8.2** Cultivo: Conjunto de organismos microscópicos desarrollados en un laboratorio en una sustancia preparada para favorecer su aparición.
- 8.3** Gradilla: Una gradilla es una herramienta que forma parte del material de laboratorio (principalmente en laboratorios de biología molecular, genética y química) y es utilizada para sostener y almacenar gran cantidad de tubos de ensayo o tubos eppendorf.
- 8.4** Incubación: iniciarse el desarrollo de una tendencia o movimiento social antes de sus plenas manifestaciones.
- 8.5** Inoculación: transmisión por medio artificiales de una enfermedad contagiosa.
- 8.6** Mechero: es un instrumento utilizado en laboratorios científicos para calentar o esterilizar muestras o reactivos químicos.
- 8.7** Microorganismo: es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio. La ciencia que estudia los microorganismos es la microbiología. Son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenóticos compuestos por células multinucleadas, o incluso multicelulares.
- 8.8** Sanitizar: entendido como el control del desarrollo y reproducción de microorganismos patógenos del medio ambiente, mediante métodos físicos, tales como el calor o las radiaciones y también químicos.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES DR. PEDRO RINCÓN GUTIÉRREZ TACHIRA, VENEZUELA</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio</p>		
<p>Número: DM-MA-AMM 0008</p>	<p>Pág. 8 de 10</p>	<p>Copia N^o 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1 USP 35 NF30
- 9.2 Instrucciones de seguridad para el manejo de microorganismos, http://www.uv.es/cect2/59_Instrucciones_seguridad.
- 9.3 Organización y manejo de la colección de cepas de referencia del Instituto Finlay, <https://www.google.co.ve/search?q=manejo+de+cepas+en+el+laboratorio&>
- 9.4 Manual de normas de Bioseguridad, http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1025-028X2009000100004&script=sci_arttext
- 9.5 Prácticas de Seguridad Estándar en el Laboratorio de Microbiología, http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_RMD_2003.6_apendices_spa.pdf
- 9.6 Diccionario, <http://es.wikipedia.org/wiki/>

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIA

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

- 11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición nro.1

<p>Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
---	---	--



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio

Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 9 de 10	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

Tema: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APPELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo y Repique de Cepas en el Laboratorio

Número: DM-MA-AMM 0008	Pág. 10 de 10	Copia N ^o 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13. ANEXOS

13.1 TABLA DE CEPAS MADRES CON SU RESPECTIVO MEDIO DE CULTIVO

Microorganismos	Medio de Cultivo	Temperatura	Tiempo de Incubación
<i>Bacillus subtilis</i>	Agar Tripticasa Soya	22.5 +- 2.5°C	24-48Horas
<i>Escherichia coli</i>	Agar Tripticasa Soya	32.5 +- 2.5°C	24-48Horas
<i>Aspergillus niger</i>	Agar Sabouraud	22.5 +- 2.5°C	5-7 días
<i>Candida albicans</i>	Agar Sabouraud	22.5 +- 2.5°C	5-7 días
<i>S.epidermidis</i>	Agar Tripticasa Soya	32.5 +- 2.5°C	24-48Horas
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Agar Tripticasa Soya	32.5 +- 2.5°C	24-48Horas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar Tripticasa Soya	32.5 +- 2.5°C	24-48Horas

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 1 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE CARACTERIZACIÓN DE LA CEPA *Escherichia coli*
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
12. ANEXO.
 - 12.1. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE ESCHERICHIA COLI EN AGAR MACCONKEY.

1. OBJETIVO

Este procedimiento establece la caracterización de la cepa microbiológica *Escherichia coli* utilizada en los análisis para cumplir con las diferentes actividades que se realizan en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 2 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente a la cepa microbiológica *Escherichia coli* así como a los estudiantes y al personal que labora en el laboratorio de microbiología Cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los Alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento normalizado de trabajo debe ser aplicado cada vez que se requiera realizar actividades con la cepa *Escherichia coli*, para verificar su viabilidad y características bioquímicas, en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar el control de calidad a los medios de cultivo debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Incubadora Memmert 37°C

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Mechero.

5.3.2 Propipeta.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 3 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 5.3.3 Asa calibrada, en punta y aro
- 5.3.4 Cepas control de *Escherichia coli*
- 5.3.5 Medios de cultivo.
- 5.3.6 Reactivos para las pruebas bioquímicas.
- 5.3.7 Bolsa negra
- 5.3.8 Recipientes irrompibles
- 5.3.9 Solución desinfectante

5.4 PRECAUCIONES

- 5.4.1 Comprobar que el equipo y los materiales estén en buen estado.
- 5.4.2 Trabajar lo más cerca al mechero.
- 5.4.3 Siempre utilizar, para realizar medidas, la propipeta nunca la boca.
- 5.4.4 En caso de derrames limpiar la zona de ser posibles con un desinfectante lo más rápido posible.
- 5.4.5 Rotular el material a utilizar de manera clara antes de comenzar a trabajar.
- 5.4.6 Evitar marcar las placas de Petri en las tapas.
- 5.4.7 Las placas se deben incubar en posición invertida, para impedir que la humedad resultante del agua de condensación, pueda originar un crecimiento extendido e impedir de esta forma el desarrollo de colonias aisladas.
- 5.4.8 Al esterilizar el asa dejar enfriar para evitar matar a los microorganismos.
- 5.4.9 Descartar después de su uso los guantes, tapa boca y gorro.
- 5.4.10 Ubicar el material en el sitio correspondiente para su eliminación.
- 5.4.11 Cumplir con las normas establecidas en el procedimiento..

6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 La cepa microbiológica y los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de docencia e investigación de la Cátedra de Microbiología Aplicada se preparan en el área de preparación de medios de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
- 6.2 En el cuaderno del área de preparación de medios se debe registrar toda la información necesaria como: fecha, condiciones de la cepa, medios de cultivo a utilizar, pruebas bioquímicas a realizar.
- 6.3 Rotular el material de vidrio, con fecha, nombre de la cepa, y medio de cultivo.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 4 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 6.4** La siembra debe realizarse cerca del mechero, cumpliendo con todas las precauciones especificadas en este procedimiento.
- 6.5** Realizar examen microscópico de células vivas y de frotis teñido por coloración de Gram, para determinar morfología y agrupación.
- 6.5.1 El resultado a obtener para *Escherichia coli* son: bacilos y cocobacilos gramnegativos, de lo contrario revisar la cepa.
- 6.6** Realizar siembra de la cepa en Agar Mac ConKey o Eosina Azul de Metileno observando colonias rojas o brillo metálico en el agar lo cual indica que el microorganismo es capaz de formar ácido a partir de la lactosa presente en el medio.
- 6.7** Proceder a realizar la siembra microbiológica en cada una de las pruebas bioquímicas, siguiendo los lineamientos establecidos en la bibliografía sobre identificación de microorganismos por pruebas bioquímicas.
- 6.8** Comenzar por las Pruebas bioquímicas de la Familia *Enterobacteriaceae*, que se describen a continuación para la ubicación de la cepa en la familia correspondiente:

Prueba	Fundamento	Resultado
Glucosa	Determinar la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un carbohidrato específico (glucosa), incorporado a un medio básico, produciendo un gas visible	Prueba positiva: se observan burbujas de gas en el tubo de Durham o el medio se halla completamente desplazado por el gas, dejando una parte vacía en el tubo invertido
Citocromo-Oxidasa	Los citocromos, hemoproteínas que contienen hierro, actúan como el último eslabón en la cadena respiratoria aerobia transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con la formación de agua. El sistema de citocromos se halla en microorganismos aeróbicos,	Prueba negativa: no se produce cambio de color en las colonias, o sólo adquieren un color rosado o azul pálido por el reactivo. Ocasionalmente, puede producirse una coloración negra del medio circundante.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 5 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

	microaerófilicos y anaeróbios facultativos, de modo que la prueba de la oxidasa es importante para identificar microorganismos que carecen de la enzima o son anaeróbios obligados.	
Catalasa	La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. El peróxido de hidrógeno es uno de los productos oxidativos finales en el metabolismo aerobio de los carbohidratos.	Prueba positiva: al añadir al agar nutriente previamente inoculado el reactivo de peróxido de hidrógeno se produce la rápida aparición y sostenida producción de burbujas de gas o efervescencia constituyendo un resultado positivo
Reducción de Nitratos	La capacidad de un microorganismo para reducir nitratos a nitritos es una característica importante que se emplea en la identificación y diferenciación de especies de muchos microorganismos.	Prueba positiva: la aparición de un color rojo en los 30 segundos posteriores al agregado de los reactivos (α -naftil-amina y ácido sulfanílico), indica la presencia de nitritos y representa una reacción positiva

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 6 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.9 Luego realizar las pruebas bioquímicas específicas para Tribu I *Escherichieae*, Género: *Escherichia* Especie: *E.coli*

Prueba	Fundamento
KIA (Agar Hierro de Kligler)	Permite determinar la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico
ROJO DE METILO (RM)	Comprobar la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema. El Rojo de Metilo pH con un espectro entre 6 (amarillo) y 4,4 (rojo). Se utiliza porque es capaz de detectar ácido a un pH más bajo que otros indicadores usados en los medios de cultivo.
VOGES-PROSKAUER (VP)	Determinar la capacidad de algunos microorganismos de elaborar un producto final neutro, el acetyl-methyl-carbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa, el cual es un precursor de la producción del 2,3-butanediol
INDOL	El indol es un benzil pirrol producto de la degradación metabólica del aminoácido Triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa (complejo enzimático) son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con la producción de indol, ácido pirúvico, amoníaco y energía. Así el propósito de la prueba es determinar la producción de indol a partir del triptófano.
CITRATO	El citrato de sodio es una sal del ácido cítrico, un compuesto orgánico encontrado como uno de los metabolitos del Ciclo de Krebs. Algunas bacterias pueden obtener energía de manera diferente a la fermentación de carbohidratos,

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 7 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

	<p>usando el citrato como única fuente de carbono. La determinación de esta característica es importante en la identificación de muchas enterobacterias. Las bacterias que utilizan el citrato como única fuente de carbono, utilizan también las sales de amonio como única fuente de nitrógeno llevando a la consiguiente alcalinidad en el medio por la producción de hidróxido de amonio. El indicador de pH es el azul de bromotimol que es amarillo (no se observa) a pH ≤ 6 y azul a pH >7.6. un medio no inoculado con pH 6.9 se observa verde.</p>
FENILALANINA DESAMINASA	<p>Se utiliza para determinar la capacidad de un organismo de desaminar enzimáticamente la fenilalanina con producción de ácido fenil pirúvico. La desaminación oxidativa de la fenilalanina por una flavoproteína da como resultado la remoción del grupo amino para formar doble enlace α-cetoácido y la liberación de amoníaco.</p>
UREASA	<p>La urea es una diamida del ácido carbónico y como tal es fácilmente hidrolizada con la liberación de O_2. La ureasa es una enzima constitutiva que hidroliza la úrea. El amoniaco reacciona en solución para formar el carbonato de amonio, lo que da como resultado alcalinización y elevación del pH del medio, haciendo virar el indicador (rojo de fenol) a un color rojo-rosado intenso.</p>
MOVILIDAD	<p>Determinar si un organismo es mótil o no. La motilidad bacteriana es otro determinante de importancia para la identificación final de la especie. Las bacterias se mueven por medio de flagelos, cuyo número y disposición varía entre las distintas especies, de tal manera que, los microorganismos no mótils carecen de flagelos.</p>

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 8 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

DESCARBOXILACIÓN DE AMINOÁCIDOS LISINA-ARGININA

Esta prueba mide la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar un aminoácido y formar una amina con la consiguiente alcalinización del medio. La descarboxilación es el proceso por el cual, las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas (específicas para cada sustrato) son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo, dando una amina y CO₂ como producto secundario. La descarboxilación ocurre anaeróticamente, es un proceso irreversible, no oxidativo, que requiere fosfato de piridoxal como coenzima.

6.10 Una vez realizada la identificación de los medios a utilizar, seguir el procedimiento de siembra de la cepa en cada una de las pruebas bioquímicas establecidas según las siguientes condiciones:

Prueba	Procedimiento
KIA (Agar Hierro de Kligler)	A partir de un cultivo puro, inocule el agar con el asa en punta, punzando primero el taco y luego, estriando sobre el bisel o viceversa (la punción debe llegar hasta el fondo). Incube a 35°C por 24-48 horas.
ROJO DE METILO (RM)	Inocule el caldo RM/VP con un inóculo ligero a partir de un cultivo puro. Incubar a 35°C por un tiempo mínimo de 48 horas
VOGES-PROSKAUER (VP)	Inocule el caldo RM/VP con un inóculo ligero a partir de un cultivo puro. Incubar a 35°C por un tiempo mínimo de 48 horas
INDOL	A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de incubación, inocule un caldo triptófano e incúbelo a 35°C por 24-48 horas en aerobiosis. Transcurrido este tiempo, añada 15 gotas del reactivo de Kovacs. Si se utiliza el reactivo de Erlich, este paso debe ser precedido por el agregado de 1mL de xileno.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 9 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CITRATO	Inocule la superficie del bisel del medio de citrato. Incube a 35°C por 24-48 horas. A veces es necesaria una incubación más prolongada (hasta 4 días).
FENILALANINA DESAMINASA	Inocule el bisel del agar fenilalanina. Incube a 35°C por 24-48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, agregar 4 o 5 gotas del reactivo de cloruro ferrico al 10% directamente a la superficie del agar sembrado. Hacer rotar suavemente el tubo para que el reactivo impregne todo el crecimiento bacteriano sobre el bisel. En el término de 1 a 5 minutos se produce la reacción de color verde en el bisel y en el líquido de sinitéresis.
UREASA	Sembrar solo la superficie del bisel con un inóculo denso del microorganismo de <i>Escherichia coli</i> . No debe hacerse punción del taco porque ella sirve de control del color. Incube a 35°C por 24-48 horas.
MOVILIDAD	Inocule el medio por punción vertical del taco con asa en punta, sin llegar al fondo (basta con 2/3 del medio), en el centro del medio, teniendo la precaución de retirar el asa siguiendo la misma trayectoria por donde se introdujo. La temperatura de incubación es fundamental, generalmente, es de 35°C, por un tiempo de 24-48 horas.
DESCARBOXILACIÓN DE AMINOÁCIDOS LISINA- ARGININA	Inocular el caldo aminoácido a partir de un cultivo puro. Cubrir el tubo con 2 o 3 mL de petrolato o vaselina estéril. En estas condiciones, el oxígeno del medio es consumido por el microorganismo y esto controla el pH (la reacción sólo ocurre en medio ácido y en anaerobiosis). Incubar todos los tubos a 35°C por 24-48 horas.

6.11 Proceder a la incubación según los requerimientos del medio de cultivo en cuanto a temperatura y tiempo.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 10 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.12 Al culminar la incubación verificar los cambios de color o las reacciones añadiendo los reactivos correspondientes en la batería de pruebas bioquímicas.

Prueba	Resultados
KIA (Agar Hierro de Kligler)	<p>Alcalino/Ácido: indica fermentación de la glucosa solamente. El bisel es alcalino (color rojo) y el taco es ácido (amarillo). Puede además, tener o no gas y H₂S.</p> <p>Ácido/Ácido: indica fermentación de la glucosa y lactosa o de glucosa y sucrosa. El bisel es ácido (amarillo) al igual que el taco. Puede o no presentar gas y H₂S.</p> <p>La producción de H₂S ocurre sólo en un medio ácido. Un organismo productor de H₂S. puede dar tal cantidad de precipitado negro de sulfato ferroso que oculte completamente la acidez producida en la capa profunda (taco). Sin embargo, si se forma H₂S, es que existe en la capa profunda una condición ácida, aún cuando no se observe y debe ser reconocida como tal.</p> <p>Resultado: (Escherichia coli Ácido+/Ácido+, H₂S (-), gas(+))</p> <p>Alcalino/Alcalino ó Alcalino/Neutro: indica no fermentación de la glucosa ni de lactosa o sucrosa, por lo tanto, no puede haber producción de gas ni de H₂S. tanto el bisel como el taco se observan de color rojo-naranja (el color del medio sin inocular)</p>
ROJO DE METILO (RM)	<p>Al concluir la incubación, añadir aproximadamente 5 gotas del indicador rojo de metilo directamente al caldo.</p> <p>Prueba positiva: color rojo estable, indica suficiente producción de ácido para reducir el pH a 4,4 .</p> <p>Resultado: Escherichia coli RM (+)</p> <p>Prueba negativa: color amarillo indica que la acidez del</p>

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 11 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

	<p>medio no se mantiene, los productos ácidos del metabolismo han sido transformados en otros compuestos.</p>
VOGES-PROSKAUER (VP)	<p>Al concluir la incubación, añadir los reactivos en el siguiente orden: 0,6mL de una solución de α-naftol al 5% y luego 0,2 mL de una solución de KOH al 40%. Agitar el tubo para exponer el medio al oxígeno atmosférico a fin de formar la acetoína y obtener una reacción de color.</p> <p>Prueba positiva: está representada por la aparición de un color rojo 15 minutos o más después de agregar los reactivos, lo que indica la presencia del diacetilo, el producto de oxidación de la acetoína.</p> <p>Prueba negativa: color amarillo en la superficie del medio. (el mismo color del reactivo)</p> <p>Resultado: <i>Escherichia coli</i> (-)</p>
INDOL	<p>Prueba positiva: el desarrollo de un color rojo (anillo rojo) en la interfase del reactivo del reactivo y el caldo o en la capa alcohólica, dentro de segundos posteriores a la adición del reactivo es indicativo de la presencia de indol y la prueba es positiva.</p> <p>Resultado: <i>Escherichia coli</i> (+)</p> <p>Prueba negativa: no se produce color en la capa alcohólica (toma el color de reactivo)</p> <p>Si la prueba es negativa, deberá incubarse 24 horas más y repetirse la prueba.</p>
CITRATO	<p>Prueba positiva: crecimiento con la aparición de un color azul intenso en el bisel. Una prueba también puede ser positiva en ausencia de color azul, si hay crecimiento de colonias visibles a lo largo de la línea de inoculación.</p> <p>Prueba negativa: no se observa crecimiento ni cambio de</p>

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 12 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

	<p>color. (el medio permanece de color verde) Resultado: <i>Escherichia coli</i> (-)</p>
FENILALANINA DESAMINASA	<p>Prueba positiva: color verde en el bisel. Indica la presencia de ácido fenil pirúvico. Prueba negativa: no se produce ningún cambio de color, el medio se mantiene amarillo. Se debe interpretar la reacción inmediatamente, dado que el color producido es inestable y se desvanece rápidamente. Resultado: <i>Escherichia coli</i> (-)</p>
UREASA	<p>Reacción positiva: se observa un color rojo- rosado intenso en todo el medio o sólo en el bisel provocado por la liberación de amoníaco a partir de la úrea. Reacción negativa: no se produce ningún cambio de color. Resultado: <i>Escherichia coli</i> (-)</p>
MOVILIDAD	<p>La prueba de motilidad se interpreta por medio de un examen macroscópico del medio en busca de una zona difusa de crecimiento que se ensancha a partir de la línea de inculación. Prueba positiva: los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbidez. Resultado: <i>Escherichia coli</i> (+)</p> <p>Prueba negativa: sin motilidad. Crecimiento sólo en la línea de inoculación. El medio se mantiene claro. Medio de control (no inoculado): no hay crecimiento, el medio se mantiene incoloro y claro.</p>
DESCARBOXILACIÓN DE AMINOÁCIDOS LISINA- ARGININA	<p>Prueba positiva: la reaparición de un color azul-púrpura en el tubo que contiene el aminoácido indica una prueba positiva debido a la liberación de aminas por la reacción de decarboxilación. Resultado: <i>Escherichia coli</i> (+)</p>

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de *Escherichia coli*

Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 13 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

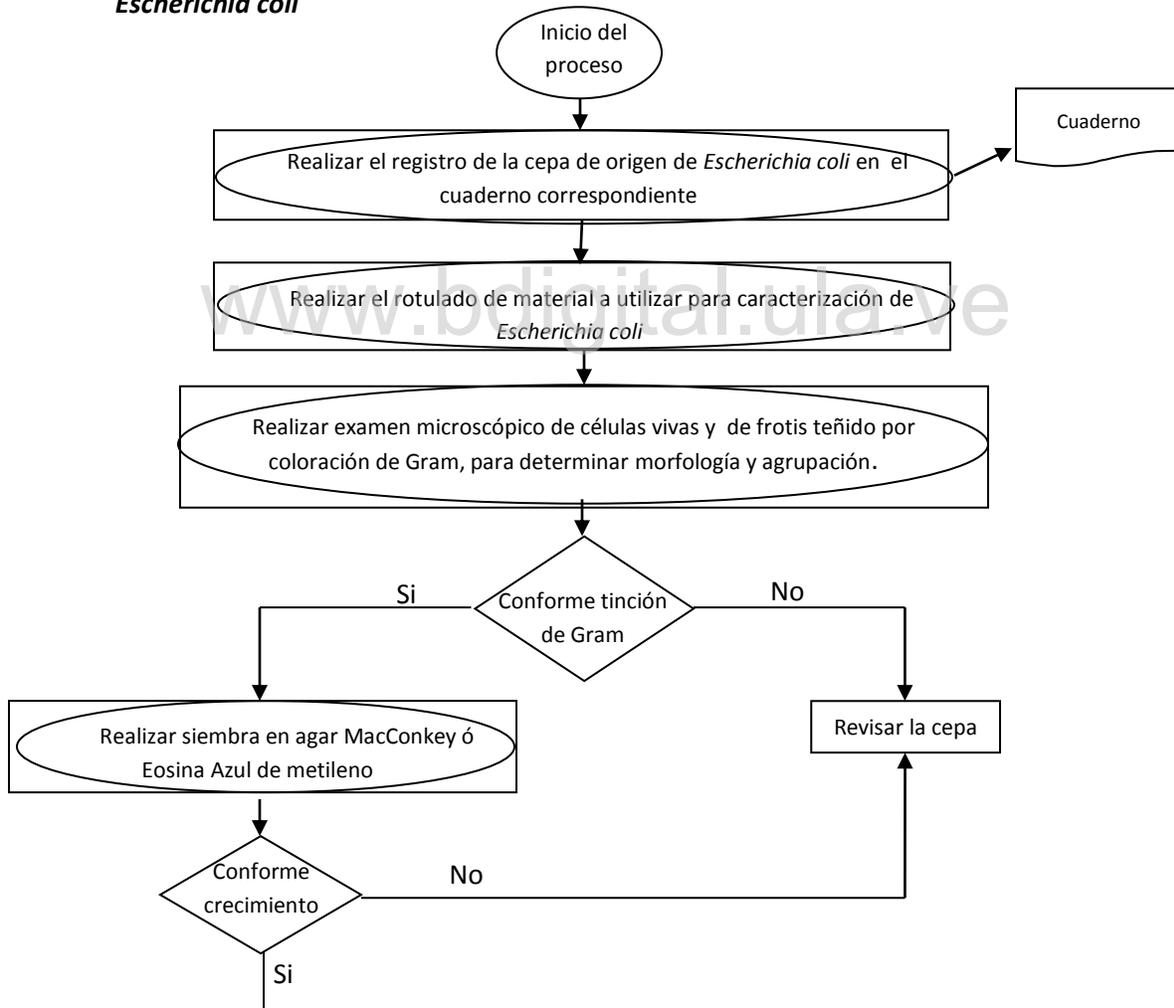
Prueba negativa: color amarillo.

- 6.13** Realizar todas las anotaciones en el cuaderno, para garantizar la confiabilidad de los resultados.
- 6.14** Comparar los resultados obtenidos con el sistema de identificación específico Sistema API 20E es un sistema de referencia contra el cual se compara la exactitud de otros sistemas. Las 21 características que pueden ser determinadas por el sistema API 20E hacen que sea uno de los más grandes dispositivos de prueba de los equipos comerciales. El sistema identifica un alto porcentaje de bacterias dentro de 24 horas, sin la necesidad de determinar características fisiológicas. El índice perfil del API, el cual puede usarse manualmente o con asistencia de computadora, proporciona la frecuencia de probabilidad de varias cepas que deben considerarse por cada número biotípico. Por lo tanto, la exactitud de identificación de los miembros de Enterobacteriaceae es máxima.
- 6.15** El sistema consiste en tiras plásticas con 20 cúpulas miniaturizadas que contienen los sustratos deshidratados y una cámara plástica de incubación con una cubierta floja.
- 6.16** Cada cúpula tiene un pequeño orificio por encima a través del cual puede inocularse la suspensión bacteriana con una pipeta.
- 6.17** La acción bacteriana sobre los sustratos produce cambios de color que se interpretan visualmente.
- 6.18** En el caso que se considere repetir o descartar la cepa por un resultado fuera de especificaciones, se debe realizar la eliminación del material biológico en condiciones extremas de seguridad.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

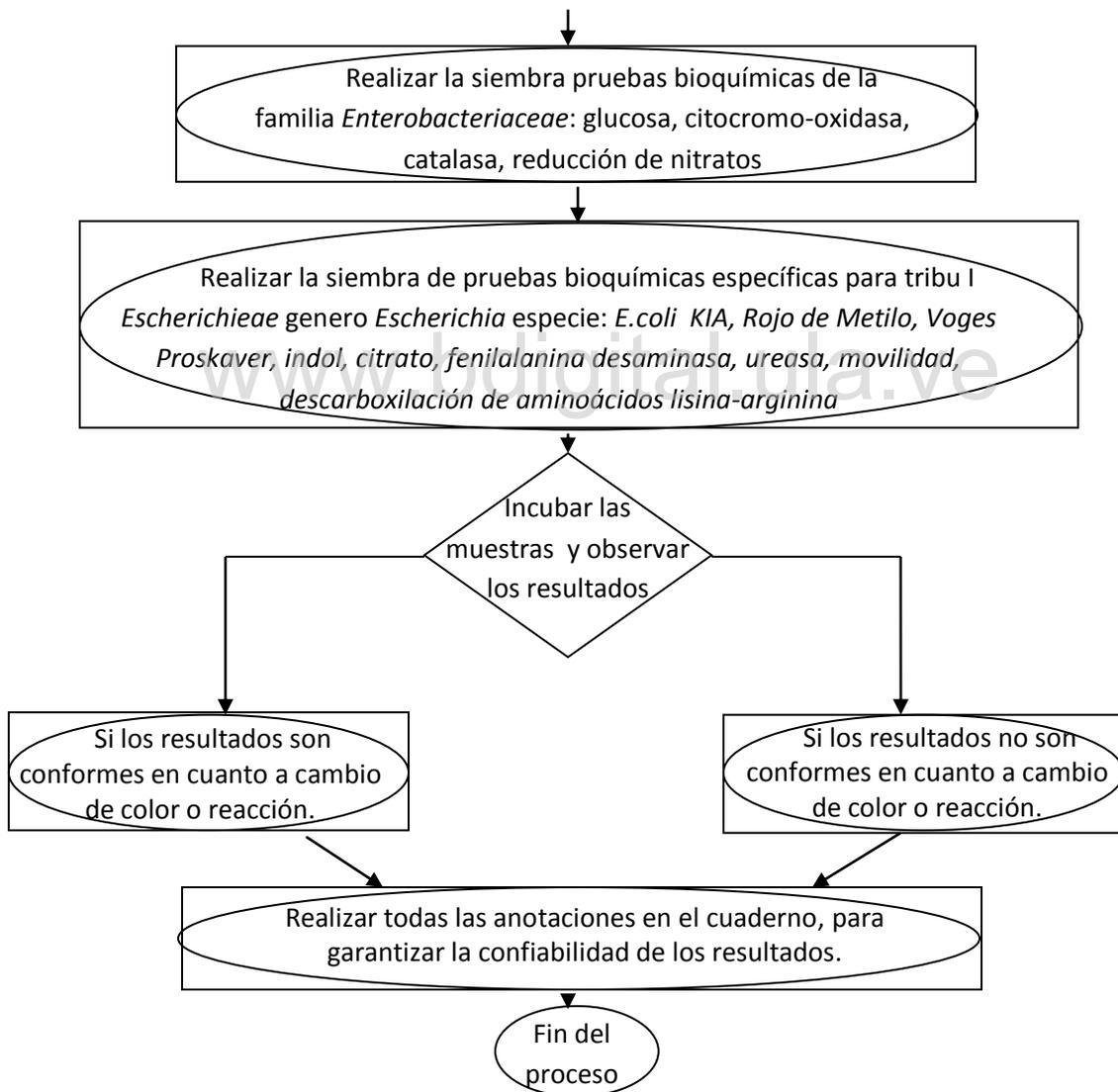
 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 14 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO CARACTERIZACIÓN DE LA CEPAS MICROBIOLÓGICA *Escherichia coli*



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<h2>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</h2>	
Título: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 15 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 16 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1 Cultivo:** es un método para la multiplicación de células o microorganismos, o para el crecimiento de tejidos en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado.
- 8.2 Fisiología:** Ciencia que trata de las funciones orgánicas por medio de las cuales se manifiesta la vida y aseguran el mantenimiento de la vida individual.
- 8.3 Genética:** Ciencia de los fenómenos hereditarios, cuyas primeras leyes fueron establecidas por Mendel en 1865, y que estudia la transmisión de los caracteres anatómicos, citológicos y funcionales. **Microorganismo:** también llamado microbio u organismo microscópico, es un ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio.
- 8.4 Medio de cultivo:** solución que cuenta con los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos (bajo condiciones favorables de temperatura y pH).
- 8.5 Microorganismos:** Organismo microscópico, vegetal o animal.
- 8.6 Morfología:** Estudio de la forma y de la estructura de los seres vivos. Forma estructurada, aspecto exterior.
- 8.7 Temperatura:** es la medida de calor o energía térmica de las partículas en una sustancia.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1** Koneman y col. **Diagnóstico Microbiológico.** Editorial médica panamericana. Buenos Aires, 2003. Pág.171
- 9.2** Macfaddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial médica panamericana. Buenos Aires, 2003. Pág. 580
- 9.3** Manual práctico de bacteriología clínica. Publicaciones ULA. 2006
- 9.4** USP NF 35 <61>Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de recuento microbiano, Pág. 59. <62> Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 17 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

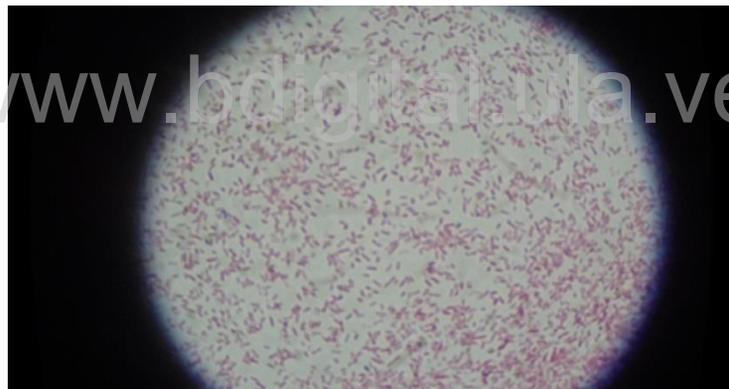
Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 18 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13. ANEXOS

13.1 Examen microscópico de células vivas y de frotis teñido por coloración de Gram, para determinar morfología y agrupación.

El resultado obtenido *Escherichia coli* son:
bacilos y cocobacilos gramnegativos



13.2 Características bioquímicas de *Escherichia coli* en Agar MacConkey.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Caracterización de cepa microbiológica de <i>Escherichia coli</i>		
Número DM-MA-AMM 0009	Pág. 19 de 19	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13.3 Pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.



Kligler	Citrato	LIA	RM	VP	Fenilalanina	Manitol	Indol	Urea
Ácido+/Ácido+, H ₂ S (-),gas(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Carlos Rodríguez Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 1 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO DE MUESTRAS Y ROTULACIÓN DEL MATERIAL DE ANÁLISIS.
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXO.
 - 13.1. FORMATO DEL CUADERNO PARA IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 2 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

Este procedimiento establece el manejo adecuado de muestras que ingresan al laboratorio, así como la rotulación del material de análisis, para así cumplir con las diferentes actividades que se realizan en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se realicen actividades con muestras y material de análisis en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 3 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

- 5.1.1 El personal encargado de realizar el manejo de muestras y rotulación del material de análisis, debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 MATERIAL A UTILIZAR

- 5.2.1 Marcador indeleble.
5.2.2 Cuaderno de registro.
5.2.3 Lapicero negro.

5.3 PRECAUCIONES

- 5.3.1 Comprobar que la muestra y los materiales estén en buen estado.
5.3.2 Marcar el material a utilizar de manera clara antes de comenzar a trabajar.
5.3.3 Evitar marcar las placas de petri en las tapas.
5.3.4 Las placas se deben incubar en posición invertida, para impedir que la humedad resultante del agua de condensación, pueda originar un crecimiento extendido e impedir de esta forma el desarrollo de colonias aisladas.

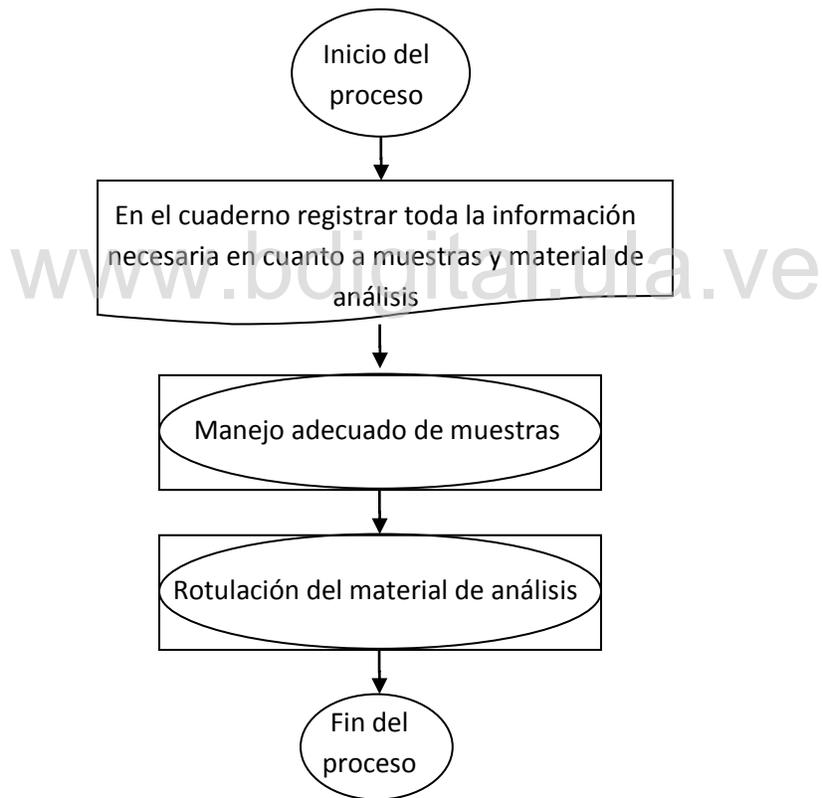
6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 Al momento de recibir las muestras y el material de análisis, éstas deben estar identificadas.
6.2 En el cuaderno se debe registrar toda la información necesaria como: fecha, condiciones de la muestra, lote, y cualquier información que se considere necesaria para el análisis.
6.3 Si la muestra no será analizada de inmediato debe cumplir con las condiciones de almacenamiento para que no se modifiquen sus condiciones originales.
6.4 Para realizar el análisis se debe seguir el procedimiento adecuado.
6.5 Al momento del análisis se debe rotular todo el material de vidrio de forma clara y precisa, para así evitar confusiones.
6.1 Se debe colocar nombre o sus iniciales, fecha y alguna característica de la muestra..

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 4 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO DE MUESTRAS Y ROTULACIÓN DEL MATERIAL DE ANÁLISIS.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 5 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Muestra: Pequeña cantidad de un producto para estudiar.

8.2 Rotular: Inscripción que se pone a una cosa indicando lo que es.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 <http://proyectoquimicacolguanenta.blogspot.com/>

9.2 Diccionario Larousse básico. Ediciones Larousse.2013. México

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Manejo de muestras y rotulación del material de análisis.		
Número DM-MA-AMM 0010	Pág. 6 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____ Instructor: _____ Material Didáctico Utilizado: _____
--

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

1. ANEXOS

13.1 Formato de cuaderno para identificación de la muestra.

NOMBRE DE LA MUESTRA	
FECHA	
LOTE	
CONDICIONES	

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 1 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE ELIMINACIÓN DE MATERIAL CONTAMINADO
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXO.
 - 13.1. Fotografía de identificación de la zona de eliminación de material contaminado.

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento a seguir para realizar de manera adecuada la eliminación de desechos del laboratorio de docencia e investigación en Microbiología de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 2 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos y Dermocosmética así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se requiera eliminar desechos contaminados, producto de la manipulación del material biológico contaminado del laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar la eliminación de material contaminado debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Autoclave

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 3 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5.2.2 Mufla

5.2.3 Estufa

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Bolsa negra

5.3.2 Recipientes irrompibles

5.3.3 Solución desinfectante

5.3.4 Carro transportador de material

5.4 PRECAUCIONES

5.4.1 En caso de derrames limpiar inmediatamente con un desinfectante.

5.4.2 Ubicar el material en el sitio correspondiente para su eliminación.

5.4.3 Descartar después de su uso, guantes gorro y tapaboca.

5.4.4 Cumplir con las normas establecidas en el procedimiento

6. PROCEDIMIENTO

Al concluir con las actividades del procedimiento indicado se debe seguir con las siguientes indicaciones:

6.1 Todo el material contaminado debe disponerse en el área para tal fin.

6.2 Las pipetas deben descartarse en recipientes que contengan una solución desinfectante.

6.3 Las láminas porta objetos y cubre objetos deben descartarse en recipientes que contengan solución desinfectante.

6.4 El material contaminado debe ser trasladado al área de esterilización en el carro transportador.

6.5 Todo material reutilizable contaminado debe ser esterilizado, lavado, secado, preparado, esterilizado y almacenado.

6.6 Se recomienda que el material contaminado antes de ser esterilizado sea puesto en contacto con una solución desinfectante antes de esterilizarlo.

6.7 Los carros transportadores deben limpiarse diariamente.

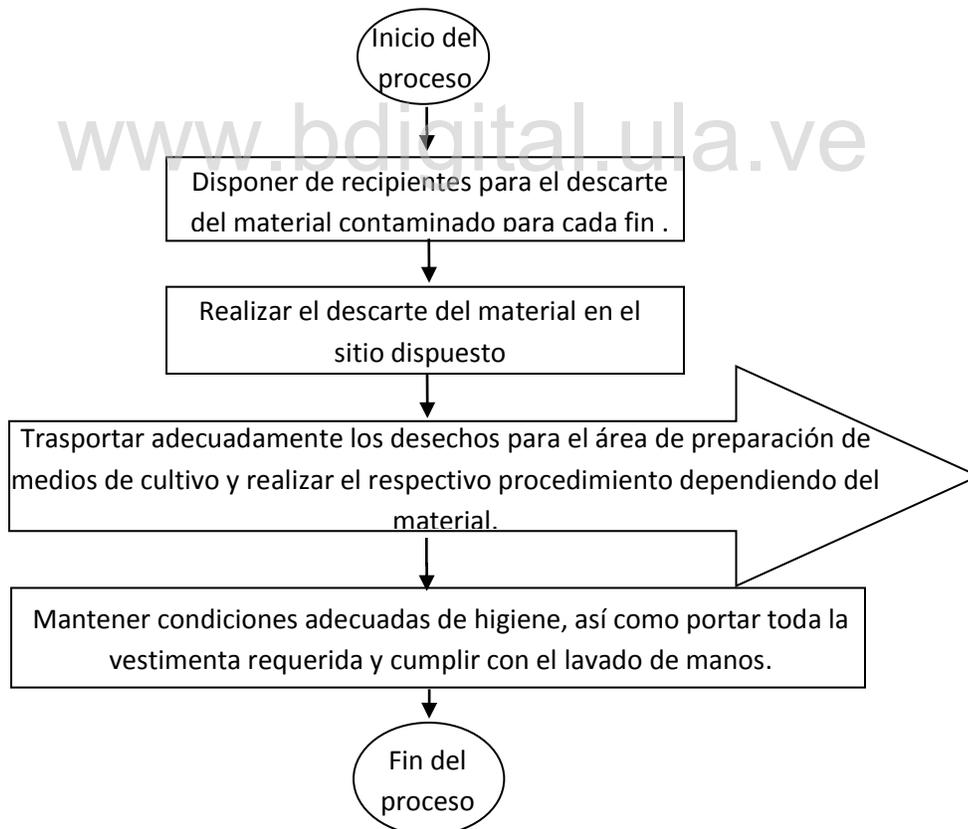
6.8 Para manipular el material contaminado debe utilizar guantes, tapaboca y bata y otros elementos necesarios que se consideren de protección.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 4 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 6.9** Se debe mantener en óptimas condiciones de higiene todos los recipientes donde se coloca el material contaminado.
- 6.10** El uso de los guantes no invalida el lavado de las manos. Siempre es necesario el lavado de manos después de manipular residuos.

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE ELIMINACIÓN DE MATERIAL CONTAMINADO



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 5 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Desechos: .son aquellos materiales, sustancias, cosas que se necesita eliminar porque ya no ostenta utilidad.

8.2 Desinfectante: que evita el crecimiento y la propagación de microorganismos.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9.1 USP 31.NF26.2008. Optimas prácticas de laboratorio. Información general.

9.2 Diccionario Larousse básico. Ediciones Larousse.2013. México

10.CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Eliminación de material contaminado.		
Número DM-MA-AMM 0011	Pág. 6 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____

Instructor: _____

Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS

13.1 Fotografía de identificación de la zona de eliminación de material contaminado.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Control microbiológico del agua potable.		
Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 1 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL AGUA POTABLE.
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento para realizar de manera adecuada y completa el control microbiológico de agua potable utilizada en el laboratorio de docencia e investigación en microbiología, cátedra de Microbiología Aplicada, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Control microbiológico del agua potable.		
Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 2 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento debe ser aplicado cada vez que se requiera realizar el control microbiológico del agua potable.

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar el control microbiológico del agua potable, debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 EQUIPO

- 5.2.1 Cuenta colonias.
- 5.2.2 Incubadora memmert a 30°C

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Control microbiológico del agua potable.		
Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 3 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

- 5.3.1 Pipetas de 1mL.
- 5.3.2 Envases para muestras capacidad de 100 mL
- 5.3.3 Placas estériles
- 5.3.4 Tubos con agar plate count a fundir
- 5.3.5 Tiosulfato de sodio al 10%

5.4 PRECAUCIONES

- 5.4.1 Dejar correr el chorro de agua por los menos 2 minutos, durante la toma de muestra.
- 5.4.2 Desinfectar con alcohol en la salida del agua.
- 5.4.3 Rotular adecuadamente el material de análisis.

6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 Separar el material para la recolección de las muestras: esterilización de medios de cultivo, pipetas, frasco con tapa, placas de petri, tubos, rotulación del material.
- 6.2 Se lava el punto con alcohol isopropílico al 70 %
- 6.3 Se abre la llave y se deja salir el agua por 2 minutos aproximadamente
- 6.4 Se recolectan 100 mL de agua aproximadamente y se tapa el frasco
- 6.5 Análisis de la muestra:
 - 6.5.1 Añadir al frasco donde se realizó la toma de la muestra tiosulfato de sodio al 10% para neutralizar la acción del cloro.
 - 6.5.2 Tomar asépticamente con pipeta estéril 1mL de la muestra del agua a analizar, y colocarlo en la placa estéril luego añadir el agar plate count fundido a una temperatura alrededor de 40°C sobre la muestra del agua y realizar movimientos circulares. Dejar enfriar y solidificar el agar.
 - 6.5.3 Luego incubar a 30°C, por 48 horas. Trascurrido el tiempo de incubación en el cuenta colonias contar el número de bacterias. El límite para el agua potable es <500ufc/mL.
 - 6.5.4 Si el resultado es mayor del límite establecido el agua no cumple con los requisitos de agua potable y debe realizarse de nuevo la toma de muestra.
 - 6.5.5 Si el resultado es menor al límite establecido, el agua cumple con los requisitos establecidos. Especificar los resultados en el certificado analítico.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



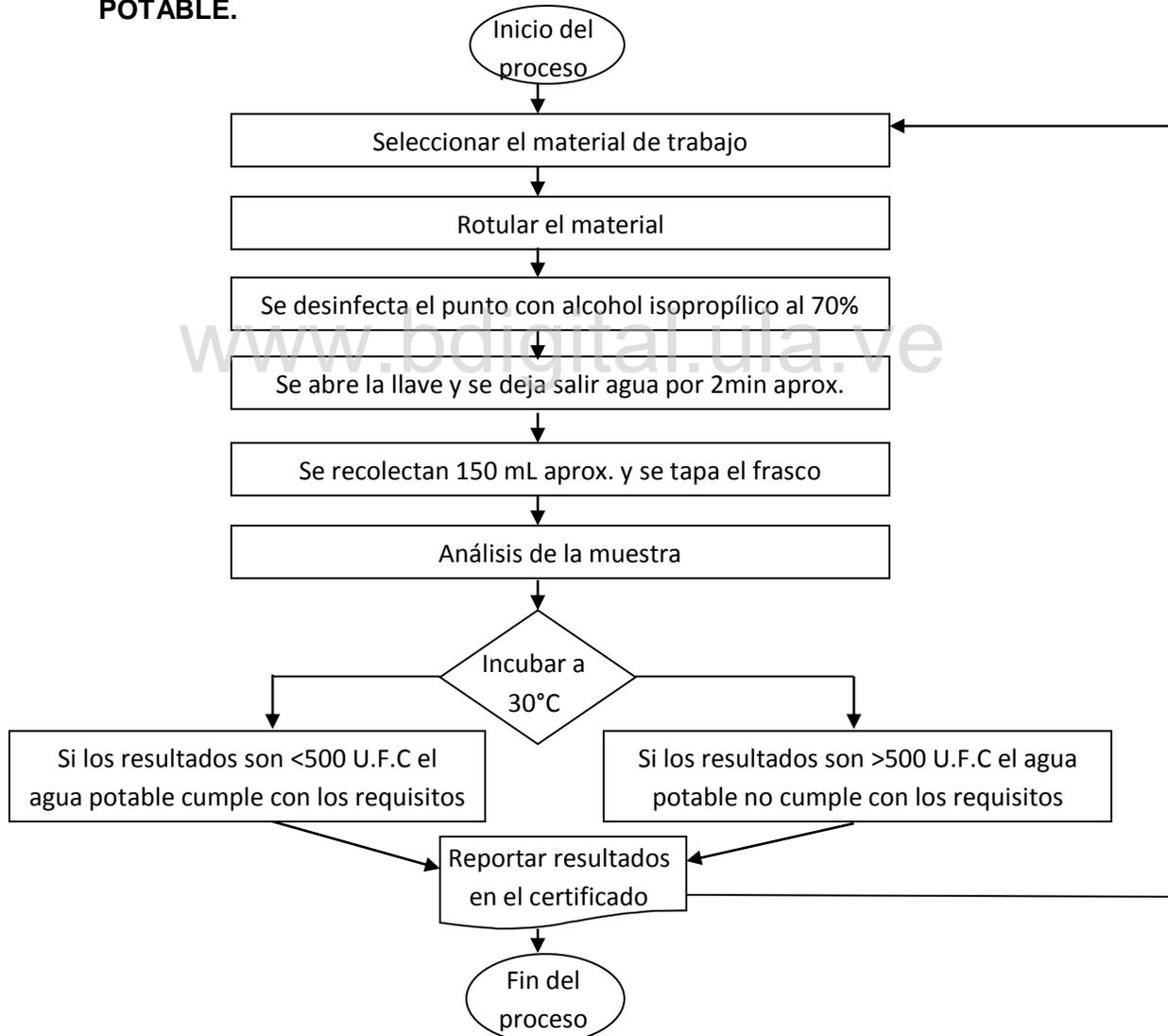
PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Control microbiológico del agua potable.

Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 4 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL AGUA POTABLE.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Control microbiológico del agua potable.		
Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 5 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1 ASEPSIA:** es la condición libre de microorganismos que producen enfermedades o infecciones.
- 8.2 ESTERIL:** se refiere a las condiciones en las cuales no hay crecimiento de microorganismos dañinos.
- 8.3 MEDIO DE CULTIVO:** solución que cuenta con los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos (bajo condiciones favorables de temperatura y pH), así como efectuar pruebas de susceptibilidad.
- 8.4 MICROORGANISMOS:** son seres vivos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares o incluso multicelulares.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1** Diccionario Larousse básico. Ediciones Larousse.2013. México
- 9.2** USP 35 <1231>Agua de uso farmacéutico. Pág 937.

10.CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Control microbiológico del agua potable.		
Número DM-MA-AMM 0012	Pág. 6 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 1 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE REGISTRO DE ANÁLISIS Y RESULTADOS EN EL CUADERNO DE LABORATORIO.
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1 IDENTIFICACIÓN DEL CUADERNO

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 2 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

Este procedimiento establece los pasos a seguir para plasmar de manera adecuada y completa el registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio de las diferentes actividades realizadas en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento está aplicado específicamente para todas las actividades realizadas así como hacia los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial, Ciencia de los alimentos, Dermocosmética, los profesores y el personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se aplica cada vez que se necesite tomar nota y registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio de las actividades realizadas, en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 3 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado de realizar el registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio, debe portar: Bata blanca de laboratorio, guantes, gorro, y tapa boca.

5.2 MATERIAL A UTILIZAR

5.2.1 Cuaderno con tapa dura, cosido y hojas de una línea.
5.2.2 Lapicero negro.

5.3 PRECAUCIONES

5.3.1 Evitar el uso de hojas sueltas, aunque sea para graparlas con posterioridad.
5.3.2 Enumerar las páginas del cuaderno.
5.3.3 Obliterar en casos de error. No usar corrector.
5.3.4 Cerrar páginas de izquierda a derecha evitando dejar espacios en blanco.
5.3.5 Evitar derrames de líquidos en el cuaderno.
5.3.6 Escribir en hojas consecutivos, sin saltos.

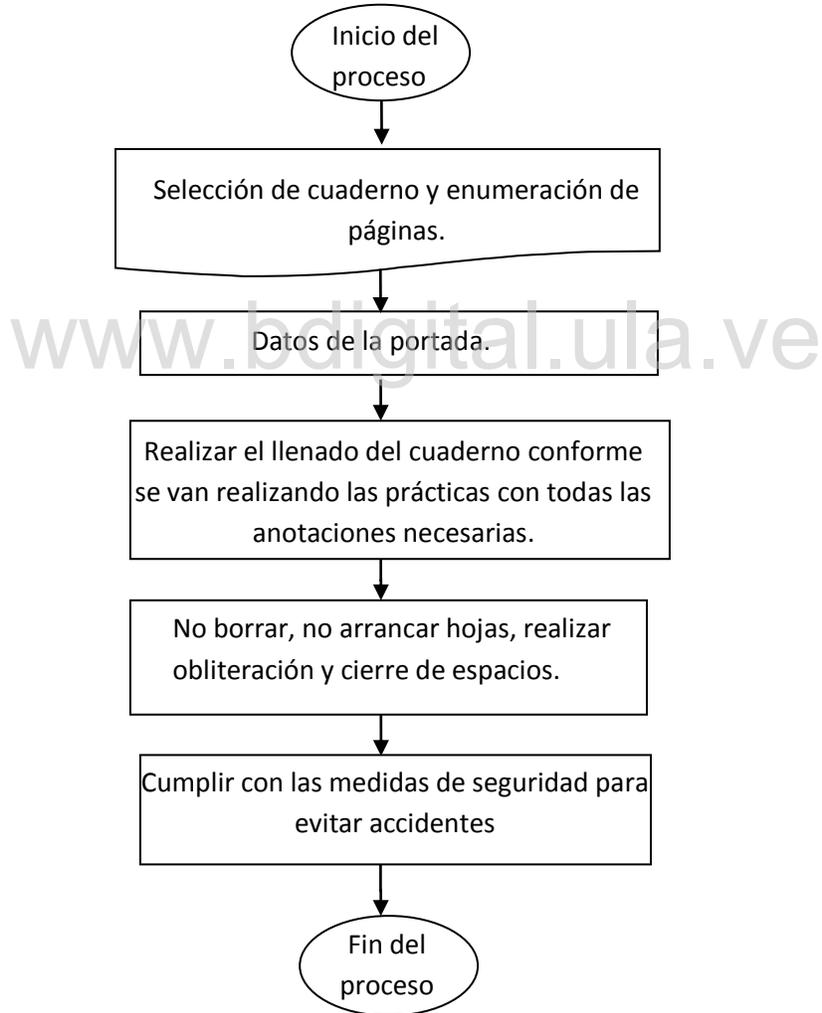
6. PROCEDIMIENTO

- 6.1 Seleccionar el cuaderno, enumerar las páginas, en el borde derecho superior de manera consecutiva.
- 6.2 En la primera hoja presentar los datos de la portada.
- 6.3 Realizar el llenado del cuaderno conforme se van realizando las prácticas, colocando en cada una de ellas la marcha analítica, las observaciones más importantes, y las discusiones realizadas, así como el formato de certificados de resultados.
- 6.4 No borrar, no arrancar páginas.
- 6.5 Si se cometen errores realizar obliteración, que consiste en pasar una línea sobre el error y al lado colocar nombre y fecha.
- 6.6 Realizar cierre de espacios en blancos pasando una línea de izquierda a derecha.
- 6.7 Siempre trabajar con lapicero negro.
- 6.8 No colocar el cuaderno cerca del material de análisis, para así evitar derrames.
- 6.9 Escribir la referencia del procedimiento que se está realizando.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.		
Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 4 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE REGISTRO DE ANÁLISIS Y RESULTADOS EN EL CUADERNO



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.

Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 5 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1 Alteración:** cambio en la esencia o forma de algo.
- 8.2 Imprescindible:** que se considera tan necesario que no se puede prescindir de él.
- 8.3 Minucioso:** detallista, cuidadoso en los menos detalles.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1 Diccionario Larousse básico. Ediciones Larouse.2013. México
- 9.2 http://eprints.ucm.es/8078/1/EL_CUADERNO_DE_LABORATORIO_MANUAL.pdf.
- 9.3 http://www.iec.ula.mx/acad/jmorfin/Sistemas_Digitales_files/bitacora.pdf.

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

- 11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Registro de análisis y resultados en el cuaderno de laboratorio.		
Número DM-MA-AMM 0013	Pág. 6 de 6	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS.

13.1 IDENTIFICACIÓN DEL CUADERNO

NUMERACIÓN 1
CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS NO ESTÉRILES
ANALISTA
FECHA
PRODUCTO
LOET CLODY 26/01/15 OBLITERACIÓN
CIERRE DE ESPACIOS

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	---	---



Universidad de Los Andes.
Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
Cátedra de Microbiología Aplicada
CERTIFICADO ANALITICO DE PRODUCTOS ESTÉRILES



Producto: _____ Fecha: _____

Lote: _____ Código: _____

Características del producto: _____

ANALISIS A REALIZAR

Evaluación visual: _____

Pruebas de esterilidad

Pruebas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Caldo Casoy														
Caldo Tioglicolato														
Control positivo														
Control negativo														

Observaciones: _____

Analista: _____

Fecha: _____

Supervisor: _____

Fecha : _____

APROBADO _____ RECHAZADO _____

	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 1 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVOS	
2. ALCANCE	
3. RESPONSABLES	
4. REFERENCIAS	
5. METODOLOGÍA	
6. PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.1. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.2. VERIFICACIÓN DE LA FINALIZACIÓN DE LA CALIFICACIÓN DEL EQUIPO UTILIZADO EN EL MÉTODO ANALÍTICO	
6.3. VERIFICACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN RELACIONADA CON LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.4. CLASIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.5. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.6. VALIDACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
6.7. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	
7. RESUMEN Y CONCLUSIÓN DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	
8. ANEXOS	
8.1. ANEXO Nro.1Fotocopia del Método Analítico Validado.....	
9. CERTIFICADO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	20

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 2 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

El presente Protocolo tiene por finalidad llevar a cabo las pruebas necesarias para demostrar que el Método de Control Microbiológico de Productos No Estériles es específico y efectivo para la cuantificación de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras y el aislamiento de gérmenes patógenos específicos como: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*.

2. ALCANCE

Esta actividad aplica específicamente para todos los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Ciencia de los alimentos y Dermocosmética, así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de docencia e investigación de la cátedra de Microbiología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 Coordinador de la validación

- 3.1.1 Elaborar y ejecutar el Protocolo y Procedimiento de Validación de Métodos Analíticos.
- 3.1.2 Coordinar la ejecución de la Validación de Métodos Analíticos.
- 3.1.3 Preparar con anticipación el Protocolo de Validación del Método.
- 3.1.4 Velar por el cumplimiento de las actividades establecidas para la validación del método analítico.
- 3.1.5 Recolectar, analizar datos y resultados obtenidos.
- 3.1.6 Llenar el Formato del Protocolo de Validación del Método Analítico.

3.2. Jefe de Cátedra

- 3.2.1. Verificar y aprobar el Protocolo de Validación de Métodos Analíticos
- 3.2.2. Coordinar reuniones de cátedra con el personal involucrado, en caso de encontrar alguna Discrepancia en cualquiera de los aspectos validados.
- 3.2.3. Reportar y Analizar resultados Obtenidos.

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles

Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 3 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

4. REFERENCIAS

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	SI	NO	N/A
Métodos Analíticos de Materias Primas Oficiales USP			
Métodos Analíticos de Productos Terminados Oficiales USP	X		
Otros Guía Práctica de Microbiología. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"			

5. METODOLOGÍA DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

5.1. EJECUCIÓN	
Identificar las personas responsables de realizar la Validación del Método Analítico	
Prof. Clody Rojas	
5.2. REVISIÓN	
Identificar las personas responsables de revisar la Validación del Método Analítico	
Prof. Eva Castellano	
5.3. APROBACIÓN	
Identificar las personas que realizan la verificación y aprobación de la Validación del Método Analítico	
Prof. Yolima Rosales	
5.4. CÓDIGOS Y ABREVIATURAS	
Las siguientes abreviaturas serán utilizadas en el Protocolo de Validación del Método Analítico	
Abreviación	Descripción
N/A	No aplica
N/E	No Especificado
N/D	No Disponible
VMA	Validación de Métodos Analíticos

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 4 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6. PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

6.1. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

6.1.1. NOMBRE DEL MÉTODO ANALÍTICO

USP <61> Examen microbiológico de productos no estériles: prueba de recuento microbiano.
USP <62> Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos

6.1.2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO ANALÍTICO

Cuantificación de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras.
Aislamiento de gérmenes patógenos específicos como: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*.

6.1.3. APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Determinar la calidad microbiológica de productos farmacéuticos no estériles.

6.1.4 REACTIVOS Y SOLUCIONES A UTILIZAR

Medios de Cultivo	Microorganismos
Caldo tripticasa-soya-tween 80 (10%) con 90mL correctamente medidos	<i>Escherichia coli</i> ATCC11105
Caldo lactosado con 90mL correctamente medidos	<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027
Caldo tripticasa-soya (10%);tween-80 en tubos con 10 mL c/u	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12228
Agar plate-count fundido en tubos con 15 ml c/u	<i>Salmonella typhi</i> ATCC
Agar Sabouraud (pH 3,5) fundido, en tubos con 15 ml c/u	
Placas de agar Cetrimida	
Placas de agar vogel – Johnson	
Placas de agar manitol – salado	
Placas de agar Mac Conkey	
Placas de agar Eosina Azul de Metileno.	

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles

Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 5 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

Tubos con 10 ml de Caldo selenito	
Tubos con 10 ml de Caldo tetracionato	
Plasma citratado, en tubos pequeños con 1ml	
Reactivo para la oxidasa (tetrametilparafenilendiamina de preparación reciente)	
Tubos con 5 ml de caldo triptosa-fosfato taponado, pH 7.2	

6.1.6. EQUIPOS, MATERIALES E INSTRUMENTOS A UTILIZAR

Mechero	Pipetas graduadas de 10 mL
Lentes de Seguridad	Pipetas graduadas de 5 mL
Propipeta	Pipetas graduadas de 1 mL
Tapaboca desechable	Asa de platino.
Guantes desechables no estéril	Tiras de papel filtro
Placas de petri estériles	Palillos.
Incubadora Marca: MEMMERT 30°C, Modelo: 845 Schwasach, Serial: 477004, Ubicación: sobre el mesón en la parte posterior derecha con respecto a la puerta del aula del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.	Incubadora Marca: MEMMERT 37,°C, Modelo: 845 Schwasach , Serial: 4770250, Ubicación: sobre el mesón en la parte posterior derecha con respecto a la puerta del aula del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
Cuenta colonias Marca: DARKFIED QUEBEC COLONY COUNTER. Modelo: 3330. Serial: ULA grupo 2 Descripción 22100 Unidad 04004. Ubicación: sobre el mesón en la parte posterior derecha con respecto a la puerta del aula del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.	

6.1.7. DATOS DE LA MUESTRA

6.1.7.1. Datos de la Muestra de Producto No estéril

	Descripción
--	--------------------

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles

Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 6 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

Nombre del Producto	Analper
Nombre del principio activo	Acetaminofen
Lote Nro.	3138871
Concentración	150mg/5mL
Fecha de Elaboración	03/15
Fecha de Vencimiento	03/18
Vigencia	3 años

6.1.8. MÉTODO ANALÍTICO

6.1.8.1 Medir 10mL de la muestra a la que se le realizará el control microbiológico adicionarlos a 90mL de caldo tripticasa-soya-tween 80 (10%)

6.1.8.2 El caldo tripticasa-soya tween 80 (10%) se agita, este va a representar la dilución 10^{-1} , se pipetea de esta dilución 1 mL y se adiciona a 9 mL caldo tripticasa-soya-tween 80 (10%) de , lo que representaría la dilución 10^{-2} , luego de esta dilución se toma nuevamente 1 mL y se adiciona a 9 mL caldo tripticasa-soya-tween 80 (10%) (dilución 10^{-3}).

6.1.8.3 De cada dilución se miden 2 mL colocando 1 mL en una placa de Petri y otro mL en otra, al final se tendrán 6 placas de Petri, dos por cada dilución. Las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} se descartan mientras que las 10^{-1} se incuban a 37 °C por 24 horas.

6.1.8.4 A una placa de Petri de cada dilución se le agrega a temperatura apropiada el medio de agar plate count y en una placa de Petri vacía se añade únicamente este medio (control negativo), el medio plate count se utiliza para determinar Bacterias aeróbicas mesófilas (BAM). Se incuban a 30 °C por 24 a 48 horas.

6.1.8.5 Con las otras placas de petri de cada dilución, se añade el medio de agar sabouraud y se determinan mohos y levaduras. Se incuban a 25 °C por 5 a 7 días. Al culminar el tiempo de Incubación se realiza el conteo de unidades formadoras de colonias en cada dilución.

6.1.8. MÉTODO ANALÍTICO (CONTINUACIÓN)

6.1.8.6 Del caldo tripticasa-soya tween 80 (10%) preincubado a 37 °C por 24 horas se debe una muestra con asa previamente esterilizada y estriar sobre medio cetrimida para determinar *Pseudomona aeruginosa*; y sobre Manitol Salado para *Staphylococcus aureus*. Incubar

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles

Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 7 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

<p>a 37 °C por 24 horas. Efectuar control negativo de cada uno de estos medios.</p>
<p>6.1.8.7 Al culminar el tiempo de incubación para las bacterias patógenas <u><i>Pseudomona aeruginosa</i></u> y <u><i>Staphylococcus aureus</i></u> las colonias características en los medios selectivos son: verdes fluorescentes en medio Cetrimida y colonias amarillas con zonas amarillas en manitol salado.</p>
<p>6.1.8.8 Comprobar la presencia de <u><i>P. aeruginosa</i></u> con la prueba de oxidasa, la cual es positiva cuando se adiciona el reactivo de Kovacs (N,N- dimetil-p-fenildiamina) y las colonias aisladas se tornan en su totalidad moradas. La presencia de <u><i>S. aureus</i></u> se comprueba mediante la prueba de la coagulasa, el cual consiste en agregar 1 mL del caldo tripticasa-soya preincubado a plasma humano incubar a 37 °C por 24 a 48 horas y observar la formación del coagulo.</p>
<p>6.1.8.9 Pesar 10 g de la muestra a la que se le realizará el control microbiológico o 10 mL caldo dependiendo de la forma farmacéutica en la que se encuentra ésta, adicionarlos 90 mL de lactosado.</p>
<p>6.1.8.10 El caldo lactosado se mezcla y se incuba a 37 °C por 24 horas.</p>
<p>6.1.8.11 Luego de transcurrido el tiempo de incubación de caldo lactosado, esterilizar el asa y tomar una muestra y estriar sobre agar MacConkey y agar Eosina Azul de Metileno, incubar a 37 °C por 24 a 48 horas. Para determinar <u><i>Escherichia coli</i></u>. Realizar el control negativo de cada medio.</p>
<p>6.1.8.12 Al culminar el tiempo de incubación de los medios selectivos para <u><i>Escherichia coli</i></u> las colonias características en agar MacConkey son de color rojo ladrillo con precipitado biliar y en agar eosina azul de metileno colonias verdes con brillo metálico.</p>
<p>6.1.8.13 Del caldo lactosado incubado se toma 2 mL para determinar <u><i>Salmonella typhi</i></u>, adicionar 1 mL a 10 mL de caldo selenito y el otro mL a 10 mL de caldo tetratonado para hacer el cambio medio más selectivo se le adiciona una gota de yodo. Incubar a 37 °C por 24 a 48 horas.</p>
<p>6.1.8.14 Transcurrido el tiempo de incubación de los caldos tomar una asada y estriar sobre medio de agar Verde brillante, esterilizar, tomar asada y estriar sobre Salmonella Shigella, realizar lo mismo con el caldo tetratonado. Incubar a °C por 24-48 horas. Realizar control negativo de cada medio.</p>
<p>6.1.8.15 Al culminar el tiempo de incubación de los medios selectivos para <u><i>Salmonella typhi</i></u> las colonias características en agar Verde Brillante son colonias pequeñas de color amarillo</p>

<p>Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
---	---	--



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles

Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 8 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

claro y en agar salmonella shigella colonias rojas..

6.1.8.16 El desarrollo de colonias características en cada uno de los medios selectivos indica la presencia de bacterias patógenas. Si no existe desarrollo de colonias se determina la ausencia de patógenos.

www.bdigital.ula.ve

6.2. VERIFICACIÓN DE FINALIZACIÓN DE LAS CALIFICACIONES DEL EQUIPO UTILIZADO EN EL MÉTODO ANALÍTICO

6.2.1. VERIFICACIÓN DE FINALIZACIÓN DE LAS CALIFICACIONES DEL EQUIPO UTILIZADO

	SI	NO	Realizado por	Fecha
¿Se culminó exitosamente la Calificación de Instalación?	X			
¿Se culminó exitosamente la Calificación de Operación?	X			
¿Se culminó exitosamente la Calificación de Ejecución?	x			

6.2.2. OBSERVACIONES

Los equipos utilizados durante la realización de la validación del método analítico microbiológico, son equipos considerados heredados dichas verificaciones de instalación, verificación y ejecución están especificadas en el Procedimiento Normalizado de Trabajo de cada equipo utilizado.

6.3. VERIFICACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN RELACIONADA CON LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	---



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO



Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 9 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.3.1. DOCUMENTACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

	SI	NO	N/A	Ubicación	Realizado por	Fecha
Método Analítico Interno						
Especificaciones de Materias Primas Internas						
Especificaciones del Producto Terminado Internas						
Método Analítico Oficial	x			USP 31 <61>		

6.3.2. DOCUMENTACIÓN DE LA CALIFICACIÓN DEL EQUIPO UTILIZADO

	Nro PNT	Fecha de Calificación	Ubicación	Realizado por	Fecha
PNT para verificar la Calificación de Instalación, de Operación y de Ejecución de Incubadora Memmert 30°C			Laboratorio de Microbiología		
PNT para verificar la Calificación de Instalación, de Operación y de Ejecución de Incubadora Memmert 37°C			Laboratorio de Microbiología		
PNT para verificar la Calificación de Instalación, de Operación y de Ejecución de Cuenta Colonias			Laboratorio de Microbiología		

6.4. CLASIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

6.4.1. CLASIFICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 10 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.4.1.2 ÁREA DE MICROBIOLOGÍA		
	SI	NO
Método Cualitativo (Turbidez de los medios)	x	
Método Cuantitativo	x	
Método de Identificación	x	

6.5. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO ANALÍTICO

6.5.1. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO DEL MÉTODO A SER VALIDADOS			
Método Microbiológico <input type="checkbox"/>			
	SI	NO	REFERENCIA
Exactitud		X	USP 31 <61>
Precisión		X	USP 31 <61>
Especificidad		X	USP 31 <61>
Límite de Detección		X	USP 31 <61>
Límite de Cuantificación		X	USP 31 <61>
Linealidad		X	USP 31 <61>
Rango		X	USP 31 <61>
Fortaleza		x	USP 31 <61>
Repetibilidad	x		
Robustez	x		

Observaciones: Los métodos de las farmacopeas se consideran validados. Así pues, no es necesario realizar ninguna revalidación a la hora de poner el método en marcha en cualquier laboratorio. Generalmente, estos métodos han sido sometidos a ensayos interlaboratorios para confirmar su buen funcionamiento al ser utilizados en diferentes centros de trabajo, o bien, se consideran validados por su utilización a lo largo del tiempo. Las farmacopeas proporcionan métodos oficiales de análisis que no necesitan validarse. No obstante, puede ser necesaria una comprobación o revalidación de algún parámetro para confirmar la validez de los métodos en casos concretos. (AEFI, 2001).

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	--	---

	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 11 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.6. VALIDACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO ANALÍTICO

6.6.1. PARÁMETROS ANALÍTICOS A SER VALIDADOS
6.6.1.1. <i>NOMBRE DEL PARÁMETRO DE DESEMPEÑO ANALÍTICO</i>
6.6.1.1.1. Procedimiento de Validación
<p>Repetibilidad: Medida de la precisión de un método llevada a cabo sobre la base de un número suficiente de determinaciones de una mezcla homogénea del producto, en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio con los mismos equipos y reactivos; generalmente en un corto intervalo de tiempo, por lo cual evalúa la variabilidad intrínseca del proceso. (USP31)(AEFI,2001)</p>
<p>Especificidad – Exactitud: Para la determinación de este parámetro se evaluó el diluyente, el producto y los neutralizantes con un determinado inóculo de un microorganismo de prueba, como se describe a continuación: Evaluación del diluyente.</p>
<p>Precisión: expresa la variabilidad o más-menos del método analítico para determinar el grado de contaminación. Matemáticamente se expresa como coeficiente de variación que lo determinamos con la fórmula de coeficiente de variación.</p>
<p>Tolerancia: Se determinó este parámetro usando el mismo inóculo de cada una de las cepas de prueba sugerido por la USP 34 según el medio del cultivo. Se evaluó el Agar Trypticasa de Soya + neutralizantes y el Agar Lethen obteniendo un recuento similar en los dos medios evaluados no existiendo variación por cambio del medio.</p>
<p>Robustez: Capacidad de un método para mantenerse sin cambios ante pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método, que provee una indicación de su confiabilidad durante el uso normal. Las variaciones a las que hace referencia la definición son por ejemplo, cambios en las condiciones ambientales, en las condiciones de incubación (tiempo/temperatura), calidad y vida útil de medios de cultivo y reactivos, pH, etc. Proporciona idea de su fiabilidad o estabilidad durante su empleo de rutina (USP31)(AEFI,2001)</p>

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

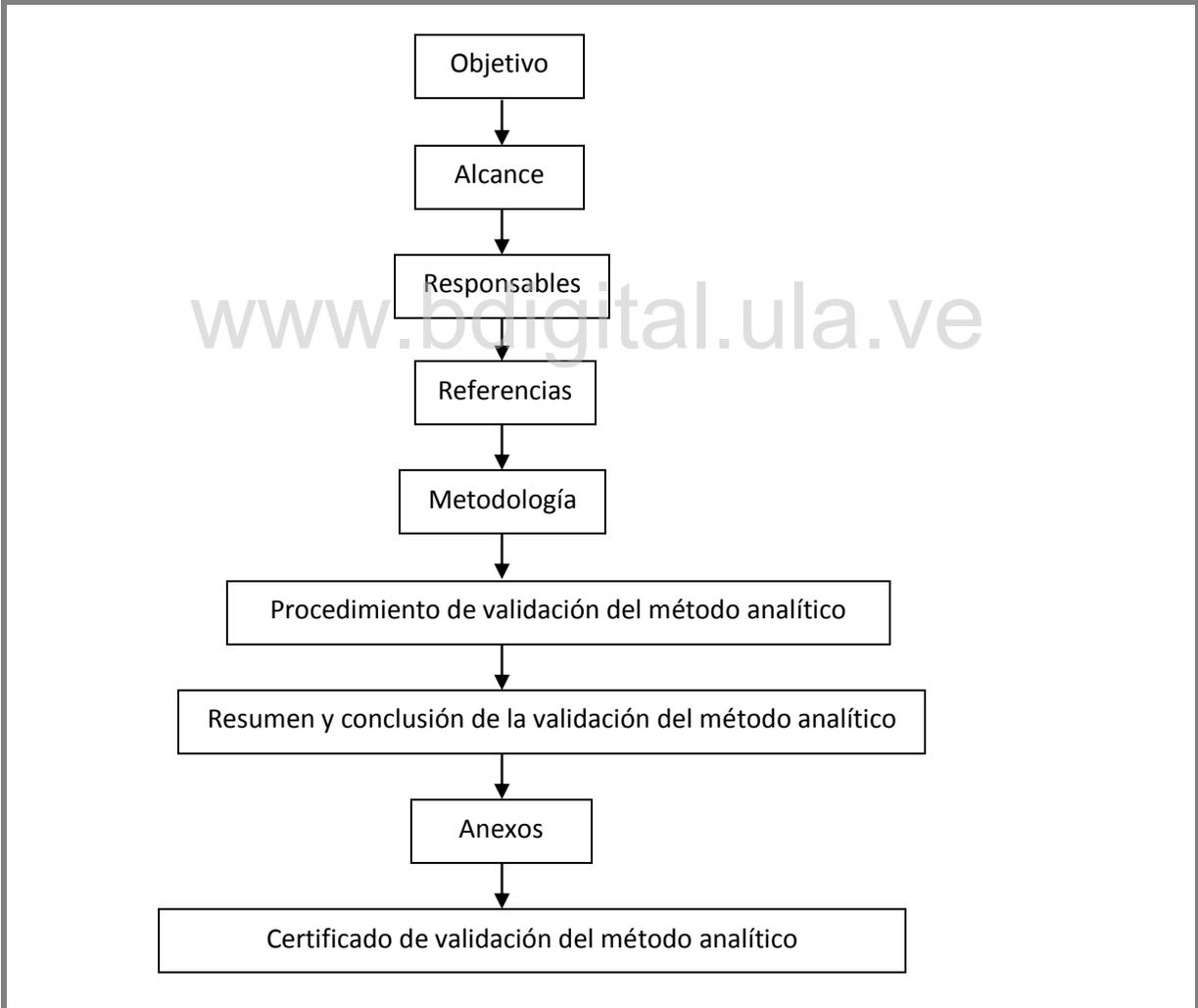
	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 12 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

Resultados Obtenidos y Cálculos realizados
<p>Especificidad- Exactitud: se realizó el cálculo de la t de F experimental comparada con la t de tablas: F Experimental=2,5838 F de tablas= 5,050. El resultado obtenido es que las varianzas son homogéneas ya que F experimental es menor que el F de tablas. Luego al obtener varianzas homogéneas se calculó la desviación estándar combinada obteniendo como resultado = 3,1010 Con el resultado obtenido se aplicó la t de student experimental obteniendo = 2,3296 el resultado obtenido con la t de student de las tablas: 2,571 El resultado obtenido de t experimental es menor que t tablas entonces no existe diferencia significativa entre la recuperación con producto y con diluyente.</p> <p>Cálculos de los % de recuperación, la exactitud y la precisión La exactitud es el porcentaje de recuperación frente al valor del inoculo. La recuperación obtenida se encuentra de los límites establecidos (mayor 50%), nuestro método es correcto.</p> <p>Precisión: expresa la variabilidad o más-menos del método analítico para determinar el grado de contaminación. Se obtuvo un coeficiente de variación = 3,26% Un coeficiente de variación superior al 15-20% cuestiona el sistema de trabajo, ya que se deben revisar todos los elementos que intervienen en el método de control como instrumental , personal, e.o.; a fin de detectar el origen de las desviaciones.</p>

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<p>PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO</p>	
<p>Título: Control microbiológico de productos no estériles</p>		
<p>Número DM-MA-PVMA0001</p>	<p>Pág. 13 de 15</p>	<p>Copia N° 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

6.6.2. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO



<p>Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
---	---	--

	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 14 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.7. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

6.7.1. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Se establecen los siguientes Criterios de Aceptación a ser Verificados Documental y Físicamente:

- 6.7.1.1. Toda la Documentación referente a la Validación del Método Analítico referida en el punto 6.3. debe estar disponible y/o anexa a este Protocolo.
- 6.7.1.2. Deberán existir y estar Vigentes los Procedimientos Normalizados de Trabajo relacionados:
- 6.7.1.3. Los Instrumentos de Medición y Control o Instrumentación Crítica del Equipo que se utiliza en la Validación del Método Analítico deben estar incorporados al Programa de Calibración y se deben encontrar en estado Calibrado.
- 6.7.1.4. El Equipo utilizado en la Validación del Método Analítico se debe encontrar en estado Calificado, es decir deben estar vigentes los Protocolos de las Calificaciones de Instalación, Operación, Ejecución y Reporte Final.
- 6.7.1.5. Los Parámetros de Desempeño Analítico (Exactitud, Precisión, Especificidad, Límite de Detección, Límite de Cuantificación, Linealidad, Rango, Fortaleza y Robustez) Validados deben reunir los requisitos o Límites de Aceptación establecidos en el Proceso de Validación.

Observaciones: _____

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN MÉTODO ANALÍTICO MICROBIOLÓGICO	
Título: Control microbiológico de productos no estériles		
Número DM-MA-PVMA0001	Pág. 15 de 15	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. RESUMEN Y CONCLUSIÓN DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

7.1. RESUMÉN Y CONCLUSIÓN DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO				
	SI	NO	FIRMA	FECHA
¿Todos los Parámetros de Desempeño correspondientes del Método Analítico han sido validados?	X			
¿El Criterio de Aceptación se cumplió para todas los Parámetros de Desempeño Analítico?	X			

8. CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Después de haber completado el **Protocolo de Validación del Método Analítico** del Método Analítico según USP 31 <61> en el laboratorio de docencia e investigación de Microbiología se considera que se Cumple los Criterios de Aceptación suficientes para establecer Evidencia Documentada de que dicho Método Analítico cumple con los Requisitos necesarios para las aplicaciones Analíticas sucesivas, por lo que se **APRUEBA** la Validación del Método Analítico.

	Nombre	Cargo	Firma
Ejecutado por:			
Revisado por:			
Verificado y Aprobado por:			

Mérida, ____/____/____

Ejecutado Nombre: Prof. Clody Rojas. Cargo: Coordinador de Validación Firma: Fecha: 05/01/15	Revisado por: Nombre: Prof. Prof. Eva Castellano. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado y Aprobado por Nombre: Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C

Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 1 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO, USO Y LIMPIEZA DE LA INCUBADORA MEMMERT 30°C
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1. FOTOGRAFÍA DE LA INCUBADORA MEMMERT 30°C INDICANDO SUS PARTES.
 - 13.2. FORMATO DE REGISTRO Y USO DEL EQUIPO

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C

Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 2 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

Este procedimiento tiene por finalidad describir el adecuado manejo, uso, limpieza y calificación de la incubadora Memmert a 30°C y de esta forma garantizar el buen funcionamiento del equipo, para obtener óptimos resultados de ensayo. Ubicada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento esta aplicado específicamente a la Incubadora Memmert a 30°C. A los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se realiza cada vez que el equipo requiera ser utilizado para un determinado análisis microbiológico o control de medios de cultivo, durante el tiempo recomendado de incubación, o cada vez que se considere útil su uso.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C

Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 3 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado del manejo, uso, limpieza y calificación de la Cuenta Incubadora Memmert 30°C, debe portar: bata blanca de laboratorio, guantes, tapa boca y zapato adecuado.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Incubadora Memmert 30°C

Modelo: 845 Schwasach

Serial: 477004

Ubicación: Edificio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. En el salón A2, ultimo mesón a mano derecha.

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Paño Antipartículas

5.3.2 Agua destilada

5.3.3 Solución hidroalcohólica al 70%

5.3.4 Material a incubar

5.4 PRECAUCIONES

5.4.1 Comprobar que el equipo y los materiales estén en buen estado.

5.4.2 Precisar la vestimenta de protección necesaria para realizar el análisis.

5.4.3 Comprobar que la temperatura de la incubadora sea de 30°C.

5.4.4 Colocar el material, previamente rotulado, dentro de la incubadora.

5.4.5 Revisar que la puerta del equipo quede correctamente cerrada.

5.4.6 Realizar la adecuada limpieza cada vez que se requiera.

5.4.7 Evitar derrames de líquidos sobre el equipo.

5.4.8 Lavar y sanitizarse las manos luego de manipular el material a incubar.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C		
Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 4 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6. PROCEDIMIENTO

6.1 MANEJO Y USO DEL EQUIPO

- 6.1.1 Inspeccionar el equipo de que se encuentre en buen estado y limpio.
- 6.1.2 Asegurarse que la incubadora esté conectada a la red eléctrica de 110 voltios y que este encendido el botón rojo que se encuentra en la parte frontal superior del equipo.
- 6.1.3 Verificar, con el termómetro que se encuentra dentro del equipo, la temperatura en grados centígrados (°C), debiendo encontrarse a 30 ± 2 .
- 6.1.4 Abrir la incubadora halando los botones de apertura de adentro hacia afuera verticalmente, nunca girarlos.
- 6.1.5 Ingresar al equipo el material que va a ser incubado, previamente rotulado.
- 6.1.6 Las placas deben ser colocadas de manera invertida; y los tubos de ensayos en gradillas.
- 6.1.7 Ajustar la puerta al cerrar presionando el botón hacia el interior del equipo.
- 6.1.8 Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se retira el material con precaución de no derramar ningún medio de cultivo.
- 6.1.9 Limpiar el equipo

6.2 LIMPIEZA DEL EQUIPO

- 6.2.1 Limpie con el paño y la solución jabonosa la parte superior del equipo.
- 6.2.2 Elimine el exceso de jabón con un paño humedecido con agua, hasta que no quede residuos.
- 6.2.3 Limpiar con solución hidroalcohólica con la ayuda de un paño humedecido.
- 6.2.4 Realizar un control microbiológico del equipo mediante la técnica de hisopado frotando el interior del equipo con un hisopo estéril luego estriar en agar plate count e incubar a 30°C, además de un control negativo del medio de cultivo utilizado. Luego contar las unidades formadoras de colonias, el resultado debe ser ausencia de crecimiento tanto en la muestra como en el control negativo de lo contrario realizar nuevamente la limpieza del equipo.
- 6.2.5 Reportar en el formato del laboratorio el uso y limpieza del equipo.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C		
Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 5 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.3 CALIFICACION DEL EQUIPO

6.3.1 INSTALACIÓN.

6.3.1.1 Verificar el estado del cable y el encendido de la luz del bombillo rojo que se encuentra en la parte frontal superior del equipo, al realizar la conexión del equipo a la red eléctrica de 110V, cumpliendo según el aparte de 6.1.1 de este procedimiento.

6.3.2 OPERACIÓN.

6.3.2.1 Verificar la temperatura de la incubadora con el termómetro que se encuentra dentro del equipo, al inicio de la jornada y antes de proceder a introducir el material a incubar, de lunes a viernes.

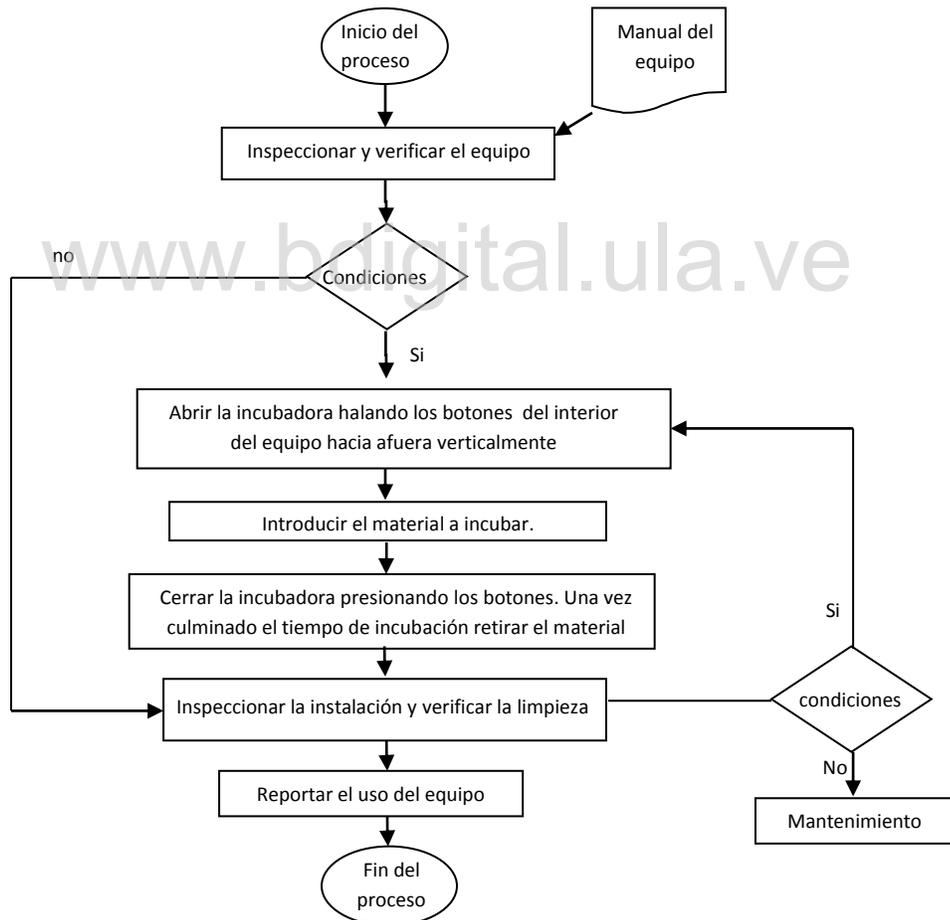
6.3.3 EJECUCIÓN

6.3.3.1 Realizar la observación de los controles positivos comparados con las muestras de análisis microbiológicos incubados.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
---	--	--

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	<p>PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)</p>	
<p>Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C</p>		
<p>Número DM-MA-AMM 00010</p>	<p>Pág. 6 de 11</p>	<p>Copia N° 1</p>
<p>Departamento: Microbiología y Parasitología</p>	<p>Cátedra: Microbiología Aplicada</p>	<p>Mención: Análisis de Medicamentos</p>
<p>Fecha de emisión: 05/01/15</p>	<p>Fecha de próxima revisión: 05/01/18</p>	<p>Vigencia: 3 Años</p>

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO, USO, LIMPIEZA DE LA INCUBADORA MEMMERT 30°C



<p>Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15</p>	<p>Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15</p>
--	---	--

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C		
Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 7 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

- 8.1 Agua destilada:** Tipo de agua de uso farmacéutico a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante un proceso de destilación.
- 8.2 Cultivo:** Conjunto de organismos microscópicos desarrollados en un laboratorio en una sustancia preparada para favorecer su aparición.
- 8.3 Destilación:** Operación de separar, mediante evaporización y condensación, las diferentes sustancias presentes en el agua para obtener agua pura a nivel industrial.
- 8.4 Incubadora:** Es un equipo cerrado que permite controlar la temperatura, humedad y otras condiciones necesarias para el desarrollo de un cultivo microbiológico.
- 8.5 Medio de Cultivo:** Conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes, que proveen condiciones bioquímicas y biofísicas apropiadas para el aislamiento, desarrollo y mantenimiento de un cultivo microbiológico.
- 8.6 Microorganismo:** Ser vivo que solo puede visualizarse con el microscopio.
- 8.7 Paño antipartículas:** Retazos de tela de algodón, limpia, útil en los procesos tanto de mantenimiento como en la industria en general, caracterizado por no permitir que se adhieran a su superficie las partículas.
- 8.8 Solución hidroalcohólica:** Preparado antimicrobiano que posee propiedades de limpieza. Es de fácil aplicación y se volatiliza rápidamente.
- 8.9 Temperatura:** Parámetro físico que expresa el grado de calor de un cuerpo o del ambiente.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C

Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 8 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1 www.biologia.edu.ar/microind/esterilizacion.
- 9.2 www.acequilabs.com.co/usos-y-funcionamiento/incubadora-de-laboratorio-usos-y-funcionamiento.html
- 9.3 www.quiminet.com/articulos
- 9.4 www.extranet.fisher.com.uk/webfiles

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

- 11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 <p>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</p>	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C		
Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 9 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS

13.1 Fotografía de la incubadora Memmert 30°C.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 30°C		
Número DM-MA-AMM 00010	Pág. 10 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

13.2 FORMATO DE REGISTRO Y USO DEL EQUIPO

 Registro y uso de equipos INCUBADORA MEMMERT 30°C 				
Fecha	Usuario autorizado	Estado Inicial	Condiciones de operación Temperatura	Firma

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C

Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 1 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABILIDAD
 - 3.1 DIRECTA
 - 3.2 INDIRECTA
4. FRECUENCIA
5. CONDICIONES GENERALES
 - 5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA
 - 5.2 EQUIPOS
 - 5.3 MATERIAL A UTILIZAR
 - 5.4 PRECAUCIONES
6. PROCEDIMIENTO
7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO, USO Y LIMPIEZA DE LA INCUBADORA MEMMERT 37°C
8. GLOSARIO
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS
10. CONTROL DISTRIBUCION DE COPIAS
11. CONTROL DE CAMBIOS
12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT
13. ANEXOS
 - 13.1. FOTOGRAFÍA DE LA INCUBADORA MEMMERT 37°C INDICANDO SUS PARTES.
 - 13.2. FORMATO DE REGISTRO Y USO DEL EQUIPO
 - 13.3. FORMATO DE REGISTRO CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN INCUBADORA MEMMERT 37°C

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C

Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 2 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

1. OBJETIVO

Este procedimiento tiene por finalidad describir el adecuado manejo, uso, limpieza y calificación de la incubadora Memmert a 37°C y de esta forma garantizar el buen funcionamiento del equipo, para obtener óptimos resultados de ensayo. Ubicada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

2. ALCANCE

Este procedimiento está aplicado específicamente a la Incubadora Memmert a 37°C. A los estudiantes de la asignatura de Microbiología General y las menciones: Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos, así como a los profesores y al personal que labora en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3. RESPONSABLES

3.1 DIRECTOS: Estudiantes de la asignatura de Microbiología General y de las Menciones Análisis de Medicamentos, Tecnología Industrial Farmacéutica, Dermocosmética y Ciencia de los alimentos así como a los profesores, técnicos y farmacéuticos al servicio del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

3.2 INDIRECTOS: Jefe de Cátedra y Jefe de Departamento del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

4. FRECUENCIA

Este procedimiento se realiza cada vez que el equipo requiera ser utilizado para un determinado análisis microbiológico o control de medios de cultivo, durante el tiempo recomendado de incubación, o cada vez que se considere útil su uso.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C		
Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 3 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

5. CONDICIONES GENERALES

5.1 PERSONAL Y VESTIMENTA

5.1.1 El personal encargado del manejo, uso, limpieza y calificación de la Cuenta Incubadora Memmert 30°C, debe portar: bata blanca de laboratorio, guantes, tapa boca y zapato adecuado.

5.2 EQUIPO

5.2.1 Incubadora Memmert 37°C

Modelo: 3600w

Serial: 4770250

Ubicación: Edificio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. En el salón A2, ultimo mesón a mano derecha.

5.3 MATERIAL A UTILIZAR

5.3.1 Paño Antipartículas

5.3.2 Agua destilada

5.3.3 Solución hidroalcohólica al 70%

5.3.4 Material a incubar

5.4 PRECAUCIONES

5.4.1 Comprobar que el equipo y los materiales estén en buen estado.

5.4.2 Precisar la vestimenta de protección necesaria para realizar el análisis.

5.4.3 Comprobar que la temperatura de la incubadora sea de 37°C.

5.4.4 Colocar el material, previamente rotulado, dentro de la incubadora.

5.4.5 Revisar que la puerta del equipo quede correctamente cerrada.

5.4.6 Realizar la adecuada limpieza cada vez que se requiera.

5.4.7 Evitar derrames de líquidos sobre el equipo.

5.4.8 Lavar y sanitizarse las manos luego de manipular el material a incubar.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C

Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 4 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6. PROCEDIMIENTO

6.1 MANEJO Y USO DEL EQUIPO

- 6.1.1 Inspeccionar que la incubadora esté conectada a la red eléctrica de 110 voltios y que este encendido el botón rojo que se encuentra en la parte frontal superior del equipo.
- 6.1.2 Verificar la limpieza del equipo.
- 6.1.3 Verificar, con el termómetro que se encuentra dentro del equipo, la temperatura en grados centígrados (°C), debiendo encontrarse a 37 ± 2 .
- 6.1.4 Abrir la incubadora halando los botones de apertura de adentro hacia afuera verticalmente, nunca girarlos.
- 6.1.5 Ingresar al equipo el material que va a ser incubado, previamente rotulado.
- 6.1.6 Las placas deben ser colocadas de manera invertida; y los tubos de ensayos en gradillas.
- 6.1.7 Ajustar la puerta al cerrar presionando el botón hacia el interior del equipo.
- 6.1.8 Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se retira el material con precaución de no derramar ningún medio de cultivo.
- 6.1.9 Limpiar el equipo

6.2 LIMPIEZA DEL EQUIPO

- 6.2.1 Limpie con el paño y la solución jabonosa la parte superior del equipo.
- 6.2.2 Elimine el exceso de jabón con un paño humedecido con agua, hasta que no quede residuos.
- 6.2.3 Limpiar con solución hidroalcohólica con la ayuda de un paño humedecido.
- 6.2.4 Realizar un control microbiológico del equipo mediante la técnica de hisopado frotando el interior del equipo con un hisopo estéril luego estriar en agar plate count e incubar a 30°C luego contar las unidades formadoras de colonias y verificar la limpieza del equipo. Luego contar las unidades formadoras de colonias, el resultado debe ser ausencia de crecimiento tanto en la muestra como en el control negativo de lo contrario realizar nuevamente la limpieza del equipo.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C		
Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 5 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

6.2.5 Reportar en el formato del laboratorio el uso y limpieza del equipo.

6.3 CALIFICACION DEL EQUIPO

6.3.1 INSTALACIÓN.

6.3.1.1 Verificar el estado del cable y el encendido de la luz del bombillo rojo que se encuentra en la parte frontal superior del equipo, al realizar la conexión del equipo a la red eléctrica de 110 V, cumpliendo según el aparte de 6.1.1 de este procedimiento.

6.3.2 OPERACIÓN.

6.3.2.1 Verificar la temperatura de la incubadora con el termómetro que se encuentra dentro del equipo, al inicio de la jornada y antes de proceder a introducir el material a incubar, de lunes a viernes.

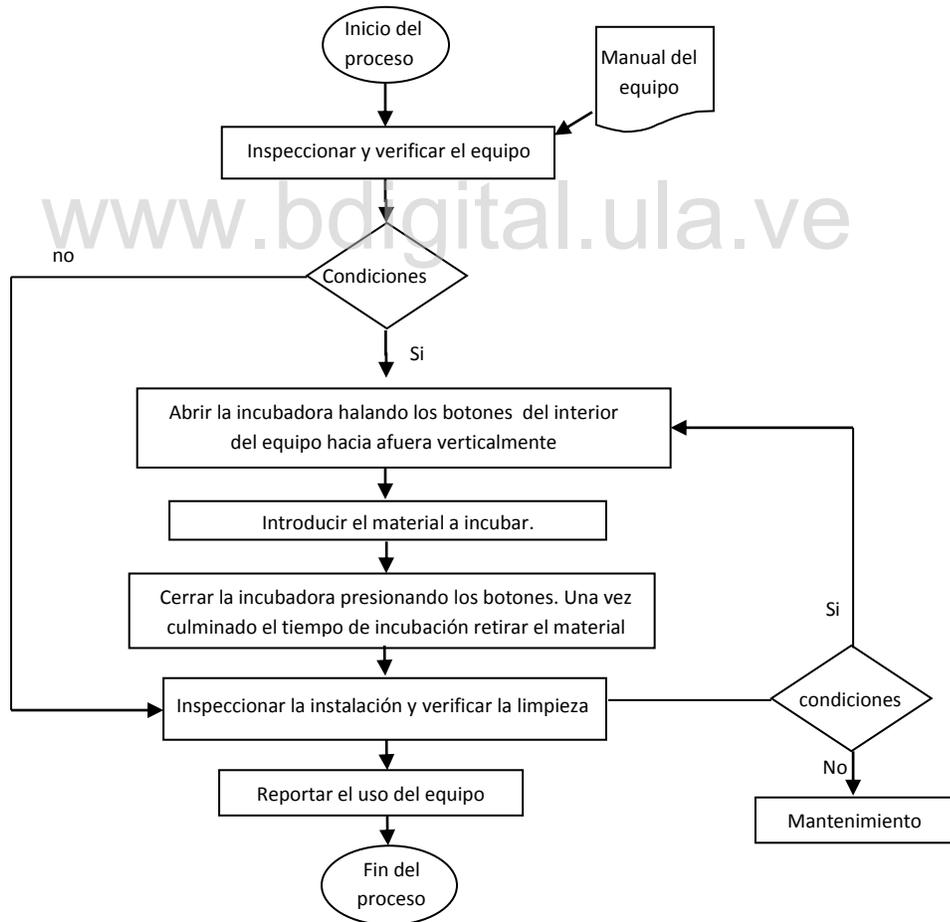
6.3.3 EJECUCIÓN

6.3.3.1 Realizar la observación de los controles positivos comparados con las muestras de análisis microbiológicos incubados.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C		
Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 6 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

7. FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE MANEJO, USO, LIMPIEZA DE LA INCUBADORA MEMMERT 37°C



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C

Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 7 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

8. GLOSARIO

8.1 Agua destilada: Tipo de agua de uso farmacéutico a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante un proceso de destilación.

8.2 Cultivo: Conjunto de organismos microscópicos desarrollados en un laboratorio en una sustancia preparada para favorecer su aparición.

8.3 Destilación: Operación de separar, mediante evaporización y condensación, las diferentes sustancias presentes en el agua para obtener agua pura a nivel industrial.

8.4 Incubadora: Es un equipo cerrado que permite controlar la temperatura, humedad y otras condiciones necesarias para el desarrollo de un cultivo microbiológico.

8.5 Medio de Cultivo: Conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes, que proveen condiciones bioquímicas y biofísicas apropiadas para el aislamiento, desarrollo y mantenimiento de un cultivo microbiológico.

8.6 Microorganismo: Ser vivo que solo puede visualizarse con el microscopio.

8.7 Paño antipartículas: Retazos de tela de algodón, limpia, útil en los procesos tanto de mantenimiento como en la industria en general, caracterizado por no permitir que se adhieran a su superficie las partículas.

8.8 Solución hidroalcohólica: Preparado antimicrobiano que posee propiedades de limpieza. Es de fácil aplicación y se volatiliza rápidamente.

8.9 Temperatura: Parámetro físico que expresa el grado de calor de un cuerpo o del ambiente.

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---



PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)



Título: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C

Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 8 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 9.1 www.biologia.edu.ar/microind/esterilizacion.
- 9.2 www.acequilabs.com.co/usos-y-funcionamiento/incubadora-de-laboratorio-usos-y-funcionamiento.html
- 9.3 www.quiminet.com/articulos
- 9.4 www.extranet.fisher.com.uk/webfiles

10. CONTROL Y DISTRIBUCION DE COPIAS

NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Prof. Clody Rojas	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Eva Castellano	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Yolima Rosales	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Ana Roa	Profesora de la Cátedra de Microbiología Aplicada		
Prof. Carlos Rodríguez	Profesor de la Cátedra de Microbiología Aplicada		

11. CONTROL DE CAMBIOS

- 11.1 Este procedimiento no presenta cambios en su estructura por ser edición Nro.1

Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

 UNIVERSIDAD DE LOS ANDES	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO (PNT)	
Titulo: Manejo, uso, limpieza y calificación de la Incubadora Memmert 37°C		
Número DM-MA-AMM 00011	Pág. 9 de 11	Copia N° 1
Departamento: Microbiología y Parasitología	Cátedra: Microbiología Aplicada	Mención: Análisis de Medicamentos
Fecha de emisión: 05/01/15	Fecha de próxima revisión: 05/01/18	Vigencia: 3 Años

12. PERSONAL ENTRENADO EN ESTE PNT

TEMA: _____
Instructor: _____
Material Didáctico Utilizado: _____

APELLIDO, NOMBRE	CARGO	CALIFICACION	FIRMA

13. ANEXOS

13.1 Fotografía de la incubadora Memmert 37°C.



Realizado por Nombre: Prof. Clody Rojas. Firma: Fecha: 05/01/15	Verificado por Nombre: Prof. Eva Castellano Firma: Fecha: 05/01/15	Aprobado por Nombre: Prof. Yolima Rosales Cargo: Jefe de Cátedra Firma: Fecha: 05/01/15
--	---	---

