

Acercamiento a la Acreditación y a las Buenas Prácticas de Laboratorios (BPL) dirigidas a laboratorios de ensayos de microbiología y biotecnología.

Autor:

Lic. Alejandra María Villoch Cambas. Dr. C.
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria
San José de la Lajas, La Habana, Cuba
Email: villoch@censa.edu.cu

Índice

Resumen

1. Introducción

2. Conceptos sobre BPL y Acreditación de laboratorios

2.1 Contenido de las Guías de BPL

2.2 Consideraciones sobre la acreditación de los laboratorios

3. Requerimientos técnicos para los laboratorios de microbiología y biotecnología

3.1 Personal

3.2 Instalaciones y Condiciones Ambientales

3.3 Reactivos y Medios de Cultivo

3.4 Ceparios

3.5 Animales de Laboratorios

3.6 Equipos

3.7 Muestras y Muestreo

3.8 Método de Ensayo y Validación

3.9 Control de Calidad para los resultados del laboratorio

3.10 Informe de Ensayos

Conclusiones

Bibliografía

Resumen

En un total de 30 páginas se hace un recuento de las Buenas Prácticas para Laboratorios de ensayos en especial los que utilizan métodos microbiológicos o biotecnológicos. Inicialmente se comenta sobre el surgimiento de la BPL y la acreditación de los laboratorios, la relación entre ambos y los documentos normalizativos que los sustentan. Someramente se trata acerca de los Sistemas de Gestión de la Calidad como requisito imprescindible para la acreditación. Sin embargo, la monografía se dirige fundamentalmente a los requisitos técnicos que deben cumplir estos laboratorios para lograr confiabilidad de los resultados y demostrar competencia. Dentro de estos requerimientos se abordan los relacionados con el personal, las instalaciones y condiciones ambientales, los reactivos y medios de cultivo, los ceparios, los animales de laboratorios, los equipos, las muestras y muestreo, los métodos de ensayo y validación, el control de calidad para los resultados del laboratorio, y el informe de ensayos.

Se hace hincapié en recomendaciones prácticas de cómo cumplir los requisitos de las diferentes guías de BPL y la norma ISO/IEC 17025:2005 para la acreditación

Palabras claves

BPL, acreditación, laboratorios microbiología y biotecnología.

1. Introducción

A principios de la década de los 60 del pasado Siglo, como parte de la guía elaborada para las Buenas Prácticas de Producción (BPP) de la industria farmacéutica, surgió el concepto de Buenas Prácticas de Laboratorios (BPL) En un capítulo de la citada guía se establecían los elementos que un laboratorio debía asegurar para lograr que los resultados de sus ensayos tuvieran una confiabilidad apropiada. Esto fue lo que posteriormente se denominó BPL.

Ya en los años 70, surgió el primer documento independiente de BPL, que estuvo dirigido a los laboratorios de control de los medicamentos; pero luego se fueron expandiendo a otros campos como los laboratorios clínicos, de toxicología, control de alimentos, diagnóstico veterinarios, entre otros. Esta evolución se consolidó, y hoy en día no se admite la existencia de ningún laboratorio de calibración o ensayo – independiente de su objeto de estudio- que no realice su labor bajo los principios de las BPL.

Paralelamente, la necesidad de demostrar que los resultados de los laboratorios son confiables también nació por la presión de un mundo que exigía la seguridad en los productos que consume (algunos tan delicados como los medicamentos y alimentos); el incremento de la competencia comercial; la globalización del mercado; el desarrollo tecnológico que conlleva industrias y laboratorios potentes y automatizados; el aumento de la cultura de los consumidores; y la consolidación del papel de los Estados como rectores de políticas, y ejecutivos del control para velar por la seguridad de su población.

Si se reflexiona que los laboratorios son los que en última instancia confirman el cumplimiento de los productos con sus especificaciones, se comprende la importancia que tiene el buen desempeño de su labor para el correcto desenvolvimiento del comercio, la garantía de los negocios, la seguridad de los productos para el consumo y la prevención de pérdidas económicas.

Por la importancia de los resultados de los laboratorios, que participan en la evaluación de conformidad de los productos, actualmente se exige la acreditación de los laboratorios que es un estadio superior a las BPL.

La acreditación es un proceso donde los laboratorios deben contratar a una organización, independiente y reconocida, para que los evalúen y avale la garantía de sus resultados. Es una forma de brindar confianza a los clientes, y su costo financiero se justifica cuando el ámbito de acción lo requiera.

La aplicación de las BPL y el cumplimiento de los requisitos necesarios para la acreditación (norma ISO/IEC 17025:2005) ayudan a una correcta organización del trabajo con un ahorro de tiempo y recursos, por lo que siempre resulta beneficioso.

Para los laboratorios que trabajan en el campo de la microbiología y la biotecnología es especialmente importante observar las BPL, dado la multitud de elementos que interviene en la ejecución de los ensayos e influyen en el resultado correcto. También se debe considerar que en este tipo de laboratorio, las características propias de los objetos de análisis donde la diversidad e individualidad de comportamiento de los entes biológicos incrementa la variabilidad de las respuestas, y la importancia de los resultados que generalmente se dirigen a áreas sensibles de la vida de los hombres, implica que se debe trabajar bajo las mayores medidas de garantías.

Esta monografía esta dirigida a este tipo de laboratorio, y es un acercamiento a los requisitos de BPL y a la acreditación, además que se ofrecen ideas prácticas de cómo lograrlos.

2.1 Contenido de las Guías de BPL.

A principios de la década de los 70 surgieron las guías de BPL (Dybaker, 1994) Las 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 (NC 26:212; 1992)

Las Buenas Prácticas recogen los principales aspectos que deben asegurarse en un laboratorio para que los resultados de los ensayos sean adecuados; y 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 esfuerzo. Así, para los que lo han aplicado, al final resulta más fácil llenar un registro bien diseñado que llevar una libreta de laboratorio tal y como se concebían por los primero químicos.

Los primero documentos de las BPL se concretaban fundamentalmente a los requisitos técnicos. En la Tabla 1 se presentan como ejemplo el contenido de dos documentos de BPL de los años 80 y 90, comparado con la Regulación cubana No 37 del 2004 que establece las BPL para los laboratorios que controlan la calidad de los productos de la industria médico farmacéutica.

Tabla 1: Contenido de algunos documentos de BPL

México, 1988, CIPIM	Cuba NC 26:212:1992	Cuba Reg. 37:2004, CECMED
Organización	Generalidades	Organización
Personal	Términos y definiciones	Personal
Instalaciones	Personal	Instalaciones y locales
Equipos, Instrumentos	Capacitación	Documentación
Reactivos	Locales	Equipos e instrumentos
Material de laboratorios	Aparatos y reactivos	Reactivos, soluciones, medios de cultivos, suspensiones celulares y animales de experimentación
Métodos analíticos	Ensayos	Muestras de ensayos
Muestras	Muestras	Materiales de referencias
Seguridad	Procedimientos estándares	Métodos de ensayos
Sistema de Calidad	Informes	Informes de resultados
Documentos	Seguridad	Inspecciones y auditorias
		Aseguramiento de la calidad de los ensayos
		Seguridad integral

Se puede apreciar que en el documento del 2004 se encuentran requisitos que anteriormente no aparecían, como son las inspecciones y las auditorias, los materiales de referencias, entre otros. Esto demuestra que la experiencia en la creación y aplicación de estas guías las han ido enriqueciendo y cada vez más son más completas.

Tampoco se puede obviar que la Regulación 37 esta dirigida a laboratorios de control de la calidad de medicamentos; y que el desarrollo de la industria biotecnológica y el incremento de productos biológicos ha motivado a que se consideren aspectos como las suspensiones celulares, los animales de experimentación, y otros, que no aparecen en la norma cubana NC 26:212 que en su momento también fue dirigida a este tipo de laboratorio.

Sin embargo, las BPL en su mayoría enfatizan en requisitos de carácter técnico y por ello presentan un nivel de exigencia inferior a la ISO/IEC 17025 con relación a los requisitos de Sistemas de Gestión de la Calidad.

En un artículo publicado por los reguladores participantes en la elaboración y aprobación de la Regulación 37: 2004 (Chovel et. al. 2006), ellos hacen una valoración de la relación de ésta con la norma internacional ISO/IEC 17025:2005. Muestran los acápites donde la Regulación 37 no está completamente armonizada con la ISO/IEC 17025 y se puede observar que todos pertenecen al capítulo 4 de esta última norma, que es el capítulo relacionado con los requisitos relativos a la gestión. En la Tabla 2 se puede ver un resumen de los acápites que los autores consideraron no armonizados totalmente.

Tabla 2. Diferencia de la Regulación 37:2004 con la ISO/IEC 17025:1999. (Tomado de Revista Normalización 2/2006)

No.	Acápite (17025:1999)	Cómo se contemplan en la Regulación 37:2004
4.2	Sistema de Calidad	No aparece en la Regulación 37 como requisito independiente, aunque se aborda parcialmente en algunas partes del documento
4.4	Revisión de solicitudes, ofertas y contratos	
4.5	Sub contratación de ensayos	
4.6	Compras	
4.7	Servicio al cliente	No considerado
4.8	Quejas	No considerado
4.9	Control de trabajos no conformes	No aparece en la Regulación 37 como requisito independiente, aunque se aborda parcialmente en algunas partes del documento
4.11	Acciones correctivas	
4.12	Acciones preventivas	
4.15	Revisiones por la dirección	

Los laboratorios clínicos han tenido su propia tradición en el camino de buscar la confiabilidad de los resultados y aunque inicialmente no se conocieran como Buenas Prácticas si existen diferentes artículos desde antes de la década de los setentas, de autores reconocidos, donde se recogen orientaciones parecidas a las BPL (Uldall, 1987). Posteriormente organizaciones de este tipo de laboratorio han creado sus propias guías. Tal es el caso de la comunidad europea con el grupo de trabajo EC4. También se puede consultar la ISO 15189:2003.

2.2 Consideraciones sobre la acreditación de los laboratorios

Un laboratorio puede alcanzar buenos resultados en sus ensayos con la aplicación de las BPL. Sin embargo, si tiene clientes externos que le solicitan un trabajo con confianza demostrada, debe acreditarse. La acreditación es un proceso que conlleva no solo el cumplimiento de las BPL sino también de los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2005 que es muy exigente; además este cumplimiento debe demostrarse ante evaluadores imparciales o llamados de tercera partes, como se aprecia en la Figura 1.

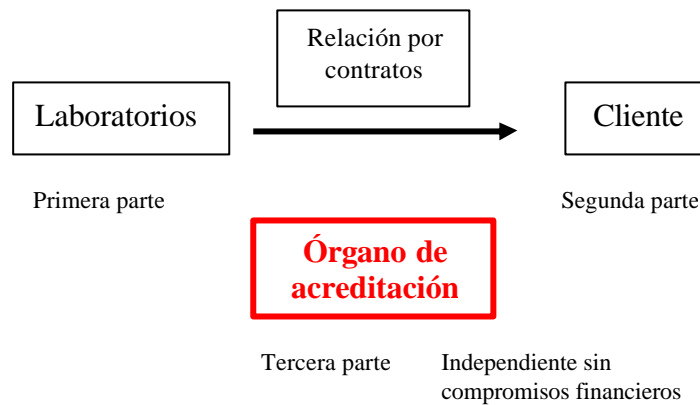


Figura 1. Relaciones de los laboratorios con los clientes y con los órganos de acreditación

Se debe conocer que la acreditación de los laboratorios no es más que una actividad de las muchas que tiene la evaluación de conformidad.

La evaluación de conformidad se diseña para proveer demostración de que los requerimientos especificados, relativos a los productos, procesos, sistemas, personas y organización, se cumplen (ISO/IEC 17000:2004).

Por tanto, para realizar una evaluación de conformidad, primeramente se debe contar con los requerimientos especificados que en la mayoría de los casos se encuentran en normas reconocidas y aprobadas internacionalmente. Así, tenemos que para la certificación de los Sistemas de Gestión de la Calidad se utiliza la norma ISO 9001:2000, pero para la acreditación de los laboratorios los requerimientos exigidos están recogidos en la norma ISO/IEC 17025:2005.

Para una mejor comprensión de lo expresado, a continuación recogemos las definiciones de certificación y acreditación dadas por la ISO 17000.

La **certificación** es el aval dado por una tercera parte a los productos, procesos, sistemas y personas como demostración de que cumplen con sus especificaciones. Mientras que la **acreditación** es el reconocimiento otorgado, por una tercera parte, a organizaciones evaluadoras de conformidad como aval de que cumplen con los requisitos especificados y de que son competentes como evaluadores. Como los laboratorios son precisamente organizaciones evaluadoras de conformidad deben ser acreditados. Estos conceptos se ejemplifican en la Figura 2.

La ISO/IEC 17025:2005 es la segunda edición de esta norma elaborada por el Comité de evaluación de la conformidad (ISO/CASCO) Contiene todos los requisitos que deben cumplir los laboratorios de ensayo y de calibración si desean demostrar que poseen un sistema de gestión, son técnicamente competentes y son capaces de generar resultados técnicamente válidos. En el capítulo 4 de esta norma, se establecen los requisitos para una gestión sólida. El capítulo 5 define los requisitos para la competencia técnica en los tipos de ensayos o de calibraciones que el laboratorio lleva a cabo.

En la Tabla 3 se presentan la cantidad de requisitos demandados en el Capítulo 4 de la ISO/IEC 17025:2005. La numeración es personal y puede que otros especialistas apliquen otros criterios, hemos querido contar independientemente incisos que aparecen como parte integrante de un requisito porque de hecho son exigencias que deben cumplirse. En realidad la cantidad exacta no es tan importante como la comprensión de que encierra cada uno de los postulados de la norma.

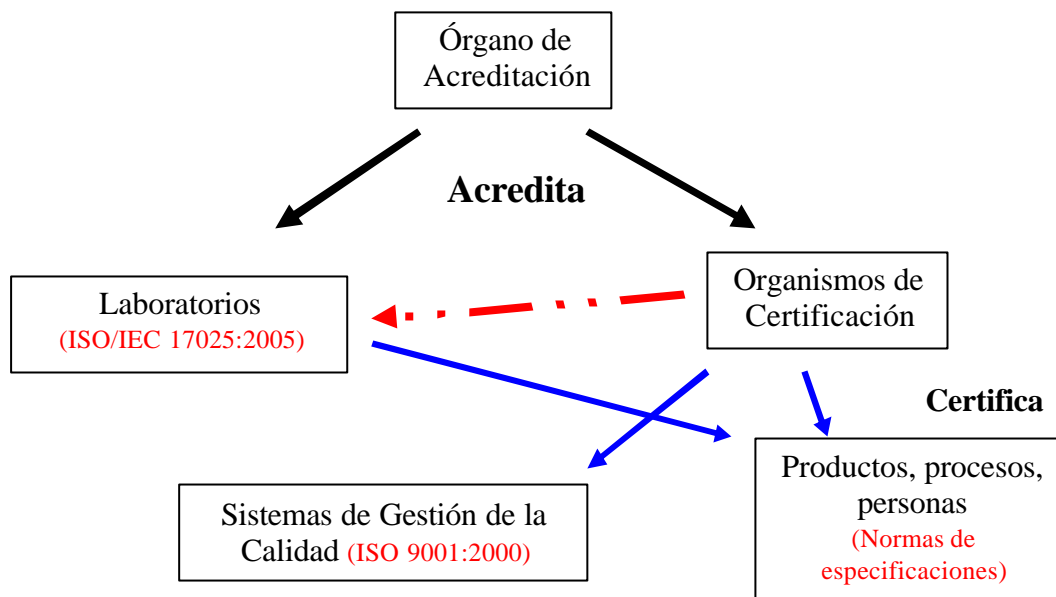


Figura 2. Relación entre la acreditación y la certificación

Tabla 3. Requisitos del Capítulo 4 de la norma ISO/IEC 17025:2005

Capítulo 4. Requisitos relativos a la Gestión		Total de requisitos	Observaciones
No.	Requisitos		
4.1	Organización	10	Considerados como requisitos los incisos de 4.1.5
4.2	Sistema de Gestión	9	Considerados 5 incisos de 4.2.3
4.3	Control de documentos	11	Considerado los de emisión de documentos, procedimientos y control de cambio
4.4	Revisión de pedidos, ofertas y contratos	7	Considerando 3 inciso como requisitos
4.5	Subcontrataciones de ensayos	4	-
4.6	Compra de servicios y suministros	4	-
4.7	Servicios al cliente	5	Considerando como requisitos independientes los incisos que aparecen
4.8	Quejas	1	
4.9	Control de trabajos de ensayos no conformes	6	También se han contado independiente los incisos
4.10	Mejora	1	Incorporados en la segunda edición de esta norma del 2005. Es un solo requisito pero conlleva un gran esfuerzo
4.11	Acciones correctivas	5	Uno de los requisitos se desglosó en varios aspectos
4.12	Acciones preventivas	2	-
4.13	Control de registros	7	Aunque los registros son documentos por la características de sus funciones se trata aparte de 4.3
4.14	Auditoria internas	4	Son pocos requisitos los que aparecen en esta norma pero en realidad para realizar adecuadamente esta actividad el laboratorio debería aplicar la norma ISO 19 011: 2002
4.15	Revisión por la Dirección	2	Si se consideran como requisitos todos los aspectos que la Dirección debe revisar serían muchos más

Como se observa en la tabla, a esta norma se han incorporado los requisitos de la Norma ISO 9001, cubiertos por el sistema de gestión del laboratorio, que se consideraron pertinentes al alcance de los servicios de ensayo y de calibración. De esta manera, de acuerdo a la declaración de la ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation, www.ilac.org) se elimina la confusión en que caían algunos laboratorios y clientes que además de la acreditación solicitaban la certificación de su Sistema de Gestión por las ISO 9001. Así, se plantea en el prólogo de la ISO/IEC 17025, que los laboratorios de ensayo y de calibración que cumplen esta Norma Internacional funcionarán, por lo tanto, también de acuerdo con la Norma ISO 9001; aunque posteriormente aclara que la conformidad demostrada con esta Norma Internacional no significa que el sistema de gestión de la calidad implementado por el laboratorio cumple todos los requisitos de la Norma ISO 9001.

Sobre este aspecto, en la Figura 3 se presenta la declaración textual de la ILAC en su comunicado de agosto del 2005.

This laboratory is accredited in accordance with the recognised International Standard ISO/IEC 17025:2005. This accreditation demonstrates technical competence for a defined scope and the operation of a laboratory quality management system (refer joint ISO-ILAC-IAF Communiqué dated 18 June 2005)"

Figura 3. Declaración de la ILAC con relación a la solicitud de certificación de los laboratorios por la ISO 9001.

El verdadero alcance y comprensión de los requisitos conlleva, en determinados casos, alguna dificultad para la acreditación. Resulta útil intercambiar con los auditores para esclarecerse en los criterios que considerarán cuando revisen el laboratorio. Otra práctica recomendada es contratar a consultores expertos que ayuden a la preparación. También, las organizaciones nacionales, regionales e internacionales que rigen el tema de la acreditación están emitiendo guías y políticas donde definen su posición e interpretación sobre determinados requisitos. En la Tabla 4 se presentan ejemplos de algunos de estos documentos.

Tabla 4. Documentos de políticas y guías sobre determinados requisitos de la norma ISO/IEC 17025

APLAC (Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation)	ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation)	EA (European cooperation for Accreditation)
APLAC TC 005. APLAC Interpretation and guidance on the estimation of uncertainty measurement in testing	ILAC P9:2005. Policy for participation in National and International Proficiency Testing	EA 4/16. EA Guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing
APLAC TC 2. Guidelines for internal audits	ILAC P10:2002. ILAC. Policy on Traceability of measurements results	Eurachem/EA. Guide 2002. Accreditation for microbiological Laboratories
APLAC TC3. Guidelines management reviews	ILAC G17:2002. Introducing the concept of uncertainty of measurement in testing in association with the application of the standard ISO/IEC 17025	

Todos los laboratorios, independiente de su tamaño y objeto de trabajo, deben cumplir con los requisitos planteados por el Capítulo 4 de la norma ISO/IEC 17025. Sin embargo, para cumplimentar los requisitos del Capítulo 5 se debe considerar el tipo de trabajo que realiza el laboratorio. Por ejemplo, en los laboratorios de microbiología dentro de los reactivos son muy importantes los medios de cultivo, lo cual no se aplica a un laboratorio de ensayos químicos. Por esta razón, la ISO/IEC 17025 plantea, en su Anexo B que los requisitos especificados están expresados en términos generales y podría ser necesaria alguna aplicación: entendiéndose por aplicaciones a una elaboración de los requisitos establecidos en forma general en esta Norma Internacional, para campos específicos de ensayo y de calibración, tecnologías de ensayo, productos, materiales, o ensayos o calibraciones determinados. Se reconoce que en determinados casos, las aplicaciones pueden ser bastante amplias, como cuando se trata de campos enteros de ensayo y para ello puede ser necesario preparar un documento de aplicación por separado que complemente a esta Norma Internacional.

Amparados por este anexo, varias organizaciones y bloques de países como los europeos, han elaborados guías específicas con aplicaciones para la acreditación de laboratorios de microbiología. Por ejemplo, en la Tabla 4 se observa la guía preparada por Eurachem/EA para laboratorios de microbiología. Precisamente en el resto de la monografía nos ocuparemos de los requisitos técnicos específicos para este tipo de laboratorio. Debe aclararse que algunos de los temas solo se tratarán de manera somera, porque la extensión de los mismos requiere una monografía propia; tal es el caso de selección y validación de métodos de ensayos, esterilización, animales de laboratorios, entre otros.

3. Requerimientos técnicos para los laboratorios de microbiología y biotecnología

Los requerimientos técnicos que solicita la ISO/IEC 17025:2005, para la acreditación de los laboratorios, se presentan en el Capítulo 5 de dicha norma. En la Tabla 5 se presenta un resumen de los mismos. Se aclara que al igual que en la Tabla 3 la enumeración es muy propia del autor.

Tabla 5. Requisitos para la acreditación de los laboratorios del Capítulo 5, relativos a los aspectos técnicos, de la norma ISO/IEC 17025: 2005

Capítulo 5. Requisitos técnicos		Total de requisitos	Observaciones
No.	Requisitos		
5.1	Generalidades	10	Considerados como requisitos los incisos de 4.1.5
5.2	Personal	17	Considerados 5 incisos de 4.2.3
5.3	Instalaciones y condiciones ambientales	6	Aspecto crítico para los laboratorios que nos ocupa porque las aplicaciones que se elaboran al amparo del Anexo B son muy amplias.
5.4	Método de ensayo y validación de método	37	No todos deben ser cumplimentados, depende del tipo de ensayo que se ejecute. Se solicitan 16 requisitos para ensayos no normalizados.
5.5	Equipos	20	
5.6	Trazabilidad de las mediciones	8	Aspecto muy debatido y ha conllevado que las diferentes organizaciones expresen su posición.
5.7	Muestreo	5	-
5.8	Manipulación de los ítems de ensayo	6	-
5.9	Aseguramiento de la calidad de los resultados de los ensayos	7	El número es pequeño pero implica un gran esfuerzo. Comprende los ensayos de aptitud, el uso de materiales de referencias, entre otros

5.10	Informe de resultados	21	Algunos son opcionales. Por ejemplo los laboratorios que no brindan dictamen técnicos no tiene que cumplir los relacionados con este tema
------	-----------------------	----	---

Estos requisitos principales se tratarán a continuación considerando lo que exige esta norma y también otros documentos de BPL y publicaciones de autores diversos.

3.1 Personal

Todas las normas y guías que establecen como alcanzar una calidad apropiada en cualquier actividad humana, dedican una especial atención a los requisitos que deben cumplir los hombres y la atención que se le debe dar a las personas (ISO 9001: 2000; ISO/IEC 17025:2005) Por muy alta que sea la tecnología con se cuente, siempre, en última instancia, los resultados de su aplicación depende del hombre y su motivación hacia el trabajo. Sobre este particular no existen dudas y las gerencias de cualquier Organización dedican múltiples recursos para la formación de sus Recursos Humanos y su atención.

En un estudio realizado por Plenabi y Carraro en 1997, se demostró estadísticamente que el 70% de los resultados errados, en el laboratorio estudiado, tuvieron causas humanas. Ellos discuten que en otros estudios se ha encontrado que este valor asciende hasta un 97%.

La ISO/IEC 17025 exige, como responsabilidad de la Dirección de los laboratorios, el asegurar la preparación y competencia del personal para la realización de su trabajo, lo mismo sea si tienen que operar equipos, que realizar ensayos, preparar medios de cultivos, u otra operación.

El personal nuevo debe ser entrenado y solo después de demostrada su capacidad se le permitirá realizar el trabajo sin supervisión. Dentro de la capacitación resulta esencial el conocimiento de las normas de conductas en el laboratorio y la organización del trabajo de manera que el trabajador sepa a quien dirigirse ante una dificultad. Dos de los requisitos de la ISO/IEC 17025 se presentan textualmente en la Figura 4.

- La dirección del laboratorio debe formular las metas con respecto a la educación, la formación y las habilidades del personal del laboratorio. El laboratorio debe tener una política y procedimientos para identificar las necesidades de formación del personal y para proporcionarla. El programa de formación debe ser pertinente a las tareas presentes y futuras del laboratorio. Se debe evaluar la eficacia de las acciones de formación implementadas.
- El laboratorio debe mantener actualizados los perfiles de los puestos de trabajo del personal directivo, técnico y de apoyo clave involucrado en los ensayos o las calibraciones.

Figura 4. Dos de los requisitos de la ISO/IEC 17025:2005 relativo al personal.

Se reconoce que en los laboratorios de microbiología y biotecnología la preparación del personal es de una importancia extrema, tanto para lograr en los ensayos los resultados confiables como por los aspectos de seguridad. El personal debe estar totalmente consciente que la aplicación de la BPL es importante para garantizar los resultados de su trabajo, pero que también son esenciales para la seguridad.

En la Tabla 6 se presentan una información adaptada de las indicaciones de la norma europea EN 12741:1999 como prácticas necesarias de este tipo de laboratorio para la seguridad del personal.

Tabla 6 Indicaciones de la EN 12741 sobre prácticas básicas para laboratorios de biotecnología

No.	Requisito	Medidas
1	Evitar el contacto de material peligroso con la piel y la boca	En el laboratorio: no mantener comida ni bebidas; no fumar; no aplicar cosmético Utilizar dispositivos para pipetear Evitar el uso de jeringuillas y material cortantes Colocar cuidadosamente en contenedor apropiado la cristalería rota
2	Evitar la salida de material peligros de las áreas de laboratorios	Lavar la manos antes de comenzar el trabajo, a la salida del laboratorio y después de tocar los materiales Usar ropa de protección que no sale del laboratorio Decontaminar todo el material que sale del laboratorio Utilizar contenedores diseñados para traslado de material Establecer un plan contra vectores
3	Evitar accidentes con equipos	Usar ropa de protección Cubrir los cabellos largos No usar joyas durante el trabajo Permitir solo el uso por personal capacitado
4	Evitar la contaminación de material ajeno al laboratorio	Prohibido la permanencia en el laboratorio de cualquier cosa no relacionada con los ensayos
5	Disminuir los riesgos en accidentes	Establecido el plan de medida ante accidentes Algunas medidas en este plan pueden ser las siguientes: Información inmediata al supervisor. Derrame de medio de cultivo con material infeccioso desinfectar el área con guantes

3.2 Instalaciones y condiciones ambientales.

Como la ISO/IEC 17 025 está redactada para poder aplicarse a todo tipo de laboratorio sus requisitos están expresados de forma muy general. Así para las instalaciones, solo exige que las condiciones sean tales que faciliten la realización correcta de los ensayos, y que las condiciones ambientales no invaliden los resultados ni comprometan la calidad requerida. También solicita que los requisitos técnicos de las instalaciones y las condiciones ambientales, que puedan afectar a los resultados de los ensayos, deben documentarse, asegurando el control y registro de las condiciones ambientales cuando éstas puedan influir en la calidad de los resultados. De igual manera, recomienda que exista una separación eficaz entre áreas vecinas en las que se realicen actividades incompatibles; y que se tomen todas las medidas para prevenir la contaminación cruzada, incluyendo el control al acceso y el diseño de las diferentes dependencias.

Una de las formas más efectivas de reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada es mediante la construcción del laboratorio según un diseño "sin camino de regreso", o sea según un flujo recto de las operaciones. Cuando esto no sea posible, deben tomarse medidas alternativas, como realizar los procedimientos de manera secuencial, o la separación de actividades en el tiempo o en el espacio.

En general, es conveniente que existan áreas separadas o claramente designadas para las siguientes actividades: recepción y almacenamiento de muestras; preparación de las muestras; áreas analíticas diferenciadas de las áreas de apoyo; áreas de apoyo (preparación de medios de cultivo y reactivos, esterilización y descontaminación,

almacenamiento, lavado de material, etc.). El área de lavado (después de la descontaminación) puede compartirse con otras partes del laboratorio, siempre que se tomen las debidas precauciones para evitar la transferencia de trazas de sustancias que podrían afectar negativamente al crecimiento microbiano. La conveniencia de la separación física debe juzgarse considerando los parámetros específicos del laboratorio (por ejemplo, número de ensayos realizados, tipo de ensayos, etc.)

Resulta importante también asegurar el orden y la limpieza del laboratorio, y en el caso de los laboratorios de microbiologías es necesario preparar procedimientos para estas operaciones.

Con el objetivo de reducir el riesgo de contaminación y facilitar las labores de limpieza y desinfección, se recomiendan una serie de medidas como las que se presentan a continuación, sin que éstas sean exhaustivas

- uniones cóncavas entre suelo, paredes y techos.
- iluminación empotrada en los techos.
- las áreas de trabajo deben estar debidamente ventiladas, lo que puede conseguirse mediante ventilación natural o forzada, o mediante el uso de unidades de aire acondicionado, equipadas con filtros para el polvo en la entrada de aire;
- disponer de suficiente espacio para almacenamiento.
- las tuberías que transportan líquidos no deben pasar por encima de las superficies de trabajo, a no ser que estén provistas de un revestimiento herméticamente sellado.
- no se recomienda el empleo de cortinas y /o persianas internas en las ventanas. Si esto fuera inevitable, deben estar incluidas en el programa de limpieza regular del laboratorio.
- utilización de pantallas solares exteriores.
- las paredes, techos, suelos y superficies de trabajo deben ser lisas, de material no absorbente y fácil de limpiar y desinfectar.
- no se recomiendan los azulejos como material de recubrimiento de las superficies de trabajo.
- minimizar la apertura de puertas y ventanas durante la realización de los ensayos.
- los armarios, estanterías, equipos y material de laboratorio deben estar colocados de forma que se evite la acumulación de polvo y se facilite su limpieza. Se recomienda el uso de armarios hasta el techo.
- utilizar lavamanos de accionamiento no manual.

Para mantener las condiciones ambientales que se requiere para los ensayos microbiológicos, la limpieza y desinfección son cruciales. Por ello se establecerá un programa documentado de limpieza y desinfección que tenga en cuenta los resultados de la vigilancia de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada. La vigilancia tendrá en cuenta los niveles de biocontaminación tanto el aire como de las superficies de trabajo. Se definirán los recuentos máximos de microorganismos que se consideren aceptables y estarán dispuestas las medidas a tomar para corregir las situaciones en que se sobrepasen estos límites. Estas medidas incluyen, por ejemplo:

- limpieza y desinfección a fondo del laboratorio (incluyendo superficies de trabajo y filtros del aire acondicionado)
- incremento de la frecuencia de las operaciones de limpieza y desinfección.
- modificaciones en los procedimientos de limpieza y desinfección.

- Cambio de desinfectantes.

Con relación a las instalaciones también hay que considerar los aspectos de bioseguridad, y por tanto las mismas se deben adaptar de acuerdo a la clasificación de los microorganismos que se trabajen.

Existen diversas clasificaciones de los microorganismos, por lo general las agencias reguladoras de la bioseguridad de cada Estado establece cual clasificación es la que rige en el país, ya que depende de las condiciones sanitarias de cada territorio. Generalmente esta clasificación comprende la lista oficial de los agentes biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas. Se organizan teniendo en cuenta el riesgo individual que enfrenta el trabajador de laboratorio y el peligro para la comunidad y el medio ambiente. También considera la naturaleza propia del agente en cuanto patogenicidad y virulencia, si es endémica o no del país, el modo de transmisión, la disponibilidad de medidas profilácticas, la existencia de tratamiento eficaz y las consecuencias socioeconómicas.

Los grupos de clasificación son los siguientes

- Grupo 1 se consideran los de escaso riesgo individual y comunitario.
- Grupo 2 los que tienen un riesgo individual moderado y comunitario limitado.
- Grupo 3 es para los que tienen un riesgo individual elevado y comunitario bajo.
- Grupo 4 son los que presentan un riesgo individual y comunitario elevado.

Un ejemplo de algunos de los microorganismos que pertenece a los diferentes grupos de acuerdo a la Resolución cubana se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7. Ejemplo de algunos de los agentes biológicos de la lista de clasificación de acuerdo a su riesgo según Resolución No. 42/99 de Cuba.

Grupo	Afectación al Hombre	Afectación animales	Afectación Plantas
2	<i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Treponema</i> spp Virus de la Hepatitis E Ortomyxoviridae	<i>Aeromonas</i> spp <i>Anaplasma centrale</i> <i>Mycoplasma gallisepticum</i> <i>Pasteurellas</i> spp <i>Adenovirus</i> canino <i>Babesia</i> spp	<i>Erwinia chrysantemi</i> <i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>Bipolares bicolor</i> Mosaico del tabaco Mosaico del tomate
3	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Brucella</i> spp <i>Mycobacterium abscessus</i> Arenaviridae Virus de la Coriomeningitis Retroviridae Agente de la enfermedad Creutzfeld Jakob	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycoplasma agalactiae</i> <i>Coccidioidis immitis</i>	<i>Pseudomonas desayuna</i> Sugar cane Fiji Disease <i>Globodera rostochiensis</i>
4	Virus Ebola Poxvirus Virus de la Viruela Humana	Virus de la Fiebre del valles del Rift Virus de la Peste Bovina Virus de la Fiebre Aftoso	

Las instalaciones cumplirán con requisitos establecidos de acuerdo a los agentes que trabajan. Así se considera que deben tener un diseño para garantizar una seguridad biológica de nivel 1 si trabajan con agentes del grupo de riesgo 1; nivel de seguridad 2 para agentes del grupo 2; nivel 3 para los agentes del grupo 3 y nivel 4 para los agentes del grupo 4. La mayoría de las agencias establecen que si el volumen de trabajo es superior a los 10 Litros el agente pasa al grupo de riesgo inmediato superior.

Los requisitos para los diseños según los niveles de seguridad también se pueden encontrar en las regulaciones de los países y organizaciones internacionales. La norma europea EN 12128:1998 presenta estos requisitos. Generalmente, para que los laboratorios logren las licencias de explotación de los Estados, deben cumplir los mismos.

Los laboratorios deben tener en cada puerta la indicación del personal que tiene acceso, además tener colocado el signo gráfico del tipo de riesgo que se maneja en él.

3.3 Reactivos, Medios de Cultivos.

Para garantizar la calidad de los resultados un elemento importante son los reactivos. Para ellos se exige que sean de fabricantes o distribuidores reconocidos. Es necesario mostrar, a los auditores del proceso de acreditación, los certificados de calidad de los mismos y probar que en los contratos establecidos con los proveedores se establece el compromiso de entrega de estos certificados. Actualmente resulta relativamente fácil el obtenerlos porque la mayoría de los fabricantes los tienen disponible por vía electrónica a través de internet.

Aunque los reactivos adquiridos sean de la calidad requerida se deben manipular de forma que mantengan esta condición inicial. Una de las exigencias a mostrar a los auditores, es que en los almacenes se mantiene las condiciones ambientales requeridas para la correcta conservación y que estas condiciones son controladas. Incluso, la autora tuvo la experiencia en un proceso de acreditación, donde se estableció un incumplimiento o no conformidad de la norma ISO/IEC 17025, porque los termómetros e hidrómetros de medición de estos almacenes no estaban calibrados.

Resulta importante almacenar los reactivos, separando aquellos cuya evaporación o sublimación pueda resultar contaminante para otros, o que causan daños en la etiqueta de los frascos que los contiene. Se debe mantener un control estricto de la existencia de los mismos.

Partiendo de reactivos apropiados, el siguiente paso es garantizar que la preparación de las soluciones se realice de forma adecuada. Las BPL recomiendan que la preparación, de soluciones reactivas y de los medios de cultivo en el laboratorio, deba estar a cargo de un personal designado y debidamente entrenado; el cual procederá según los métodos establecidos en los procedimientos aprobados. Si los laboratorios son grandes, con varias unidades, una práctica de buenos resultados es designar a un responsable para la preparación y distribución al resto del personal.

Se exige por la ISO/IEC 17025 y por todas las guías de BPL, que cada solución reactiva preparada en el laboratorio, incluyendo las de uso microbiológico y los medios de cultivo, esté identificada con una etiqueta apropiada, indicando como mínimo los siguientes datos:

- Nombre de la solución
- Identificación específica (lote de la solución)
- Tipo de solución (reactivo, valorada, buffer, indicador)
- Concentración de la solución (p/v, v/v, %, N o M)
- Factor de corrección de la concentración (para soluciones valoradas)
- Condiciones de almacenamiento
- Fecha de preparación
- Fecha de vencimiento
- Nombre o iniciales de la persona que la preparó

Es recomendable que los últimos tres datos, señalados con letra roja, se pongan en una pequeña etiqueta separada, de manera que el resto de la información se mantenga aparte en una etiqueta mayor y definitiva, y así no tenga que ser cambiados ante cada nueva

preparación. Es útil que la etiqueta mayor permanente se cubra con un material impermeable al agua (como scotch), y se oriente a todos los analistas que viertan la solución por el lado contrario a la etiqueta.

Independientemente de la etiqueta, es necesario mantener un registro de la preparación de las soluciones, el cual permite seguir la trazabilidad de la misma. Para ello el registro debe reflejar la siguiente información: código del lote de agua purificada utilizada en su preparación; cantidad total de solución preparada; nombre, número de lote, procedencia y cantidad de cada reactivo (o medio de cultivo) empleado en su preparación; descripción simplificada de las operaciones ejecutadas durante su preparación y cálculos realizados; referencia bibliográfica (cuando proceda); fecha de preparación y fecha de vencimiento; nombre y firma del analista responsable de la preparación, y nombre y firma de la persona que supervisa.

Los analistas principiantes a veces olvidan de que el agua es considerada un reactivo especial, por lo que su calidad debe ser tal que garantice la no interferencia en las determinaciones analíticas. La calidad de agua para la preparación de medios de cultivo y reactivos para uso microbiológico debe garantizar, igualmente, las especificaciones de calidad previstas.

Las BPL exigen que cada lote de agua que se emplee en el laboratorio, sea previamente analizado, notificándose en el registro correspondiente, el número de lote, ensayos realizados, resultados y límites de aceptación, soluciones utilizadas durante el análisis, nombre del analista y fecha de análisis, nombre de la persona que supervisa y fecha de supervisión. El agua aprobada se protegerá de temperaturas que puedan fomentar la contaminación microbiana. La calidad del agua es muy inestable por lo que para su almacenamiento se emplearán envases que la preserven de la contaminación. La limpieza de estos envases debe seguir un procedimiento aprobado donde se indique la frecuencia en que se realizará.

Dentro de los reactivos, en los laboratorios de microbiología y biotecnología no se puede olvidar que los medios de cultivos definen los resultados; a pesar de ello en muchos casos no se toman medidas para comprobar su eficacia. Con demasiada frecuencia se confía ciegamente en quien los preparó y en el comercializador de ellos. Más aún en la actualidad, donde se pueden comprar listos para el uso. Si bien es cierto que las empresas que ofertan estos productos tienen una gran tradición y seriedad en su trabajo, no puede descuidarse un elemento que con demasiada frecuencia impone la repetición de los ensayos.

Los requisitos exigidos para los laboratorios que aspiran acreditarse son muy rigurosos con relación a esto.

Ante todo debe solicitarse siempre el certificado de calidad del fabricante y conservar esta documentación, así como registrar la fecha de recepción, la fecha de caducidad y la fecha de apertura del envase. Resulta obvio que no deben consumirse después de la fecha de caducidad y que además el almacenamiento debe realizarse en las condiciones apropiadas de manera que se conserven sus propiedades iniciales, cumpliendo el principio que los lotes que primero entraron o se vencen deben usarse primero. Debe considerarse que, especialmente luego de abierto el frasco, las condiciones de almacenamiento son críticas para la correcta conservación. También que el mantener los envases herméticamente cerrados previene que se humedezcan y ocurran compactación y cambio de color.

Si se garantiza la calidad del medio deshidratado y los componentes a utilizar, entonces se debe prever una correcta preparación de acuerdo a los procedimientos establecidos. En estos procedimientos, algunas de las operaciones a las que se le prestará una atención especial son: las de pesada y disolución; la esterilización donde se tendrán en

cuentan todas las medidas planteadas para esta operación; el control del agua utilizada que debe ser destilada, desionizada o de ósmosis inversa, de manera que este libre de sustancias que puedan inhibir el crecimiento de los microorganismos.

Ya anteriormente se habló sobre la inestabilidad de la calidad del agua, y que ésta debe guardarse en material inerte y controlarse justo antes de su uso para conocer su calidad. El control debe considerar la conductividad, pH y la contaminación microbiana. Los resultados obtenidos se registrarán. Una consideración importante es que el agua desionizada puede tener una alta carga microbiana y deben tomarse las medidas para resolver esta dificultad.

En el documento ISO/TC 11133-1, se incluyen una serie de directrices para la preparación y esterilización de medios, así como los tiempos de almacenamiento recomendados.

Es necesario mantener un programa de control de calidad a los medios de cultivo que se utilicen en el laboratorio. En él se debe incluir la comprobación de la promoción del crecimiento, esterilidad, características organolépticas y pH.

Así, la promoción del crecimiento es la verificación de que los lotes de medios facilitan el crecimiento de determinados cultivos microbianos procedentes de una colección reconocida. También debe verificar que los medios selectivos inhiben el crecimiento de microorganismos no deseados. En lugar de utilizar el método frecuente de cultivo en línea, se recomienda utilizar un procedimiento cuantitativo que consiste en inocular en el medio un número conocido, normalmente pequeño, de microorganismos y evaluar el número de microorganismos recuperados. Este método puede utilizarse para establecer el nivel de recuperación por debajo del cual se rechaza un lote.

3.4 Ceparios

Los organismos o agentes biológicos que se emplean como parte de los ensayos, son decisivos para lograr confiabilidad en los resultados. Así la guía europea Eurachem/EA Guide 2002, plantea que como parte de los requisitos de trazabilidad, de un laboratorio de microbiología para acreditarse, se debe utilizar cepas de referencia de microorganismos suministrados por una colección nacional o internacional reconocida.

Sin embargo, aunque inicialmente se cuenten con cepas de referencias, si estas no se manipulan bien pueden perder sus características. Por tanto, deben almacenarse en viales apropiados como tubos, ampollas o frascos que garanticen su pureza. Estos viales se identificarán de forma que permita conocer no solo el nombre, su número de referencia y la categoría sino también la fecha en que se guardó, su estabilidad y otros datos.

Cuando la cepa adquirida se emplea con frecuencia es necesario replicarla en un Banco Celular Primario (MCB, Master Cell Banc) de manera que se pueda contar con suficiente cantidad minimizando el número de pases. El MCB es el lote de células a partir del cual se derivarán todos los demás bancos celulares, y sirve para mantener como reserva las cepas originales. Un vial del MCB se puede replicar para formar bancos secundarios o de trabajo (WCB siglas en inglés) lo que permite que se emplee en los ensayos la cepa correctamente caracterizada con solo dos pases. Así se entiende que las cepas de referencias serán subcultivadas una sola vez para obtener las cepas de reserva (MCB), de las que se obtendrán las cepas de trabajo (WCB) Las cepas de trabajo no deben ser subcultivadas para sustituir a las cepas de reserva.

Las cepas de referencia se reconstituirán y someterán a los controles de pureza y ensayos bioquímicos que sean necesarios. Las cepas de reserva deben conservarse utilizando, una técnica que mantenga las características deseadas de las cepas de referencia, como por ejemplo, liofilización, ultracongelación (-70° C), conservación en

nitrógeno líquido, etc. Cuando se descongelan las cepas de reserva no deben volverse a congelar y reutilizar.

Las cepas de trabajo se conservarán en refrigeración durante un período de tiempo que asegure la viabilidad del microorganismo.

De esta forma se plantea, que en sentido general, las cepas bacterianas de trabajo no deben ser subcultivadas, sin embargo, pueden ser subcultivadas hasta un número determinado de veces cuando:

- así lo requieran los métodos normalizados
- el laboratorio pueda aportar evidencias documentadas que demuestren que no se ha producido pérdida de viabilidad, cambios en la actividad bioquímica, y/o cambios en la morfología.

La preparación de los Bancos de células debe realizarse según un procedimiento definido y preferiblemente validado, al igual que su conservación. Es recomendable que se guarden en dos unidades de almacenamiento (preferible en edificios separados) para evitar pérdidas. Estas unidades tendrán el nivel de contención necesario de acuerdo al grupo de riesgo y el acceso a ella debe ser estrictamente controlado. Es recomendable que el cepario lo maneje una sola persona que suministra al resto del personal los viales solicitados. Se llevará un inventario del contenido de cada banco.

La estabilidad de estos bancos debe ser controlada de forma que no se permitan cambios en las propiedades de las cepas. Se recomienda analizar regularmente la viabilidad y demás propiedades como forma de control de esta estabilidad.

En el caso de que los laboratorios utilicen en los ensayos cultivos de suspensiones celulares como sustratos, éstos deben garantizar que las células son adecuadas para el uso a través de la demostración de su autenticidad, viabilidad y no contaminación. De igual forma, deben aplicar procedimientos para evitar la contaminación cruzada entre líneas celulares diferentes que se empleen simultáneamente en el laboratorio.

Las suspensiones celulares serán identificadas una vez recepcionadas en el laboratorio y contarán con documentación que asegure su trazabilidad. En el momento de su utilización, las suspensiones celulares deben hallarse en una fase temprana de crecimiento a fin de conservar su susceptibilidad para los ensayos. Prácticamente todas las recomendaciones y exigencias que se han expresado para los ceparios se deben cumplir en el manejo de las células.

3.5. Animales de laboratorios

Existen guías de Buenas Prácticas específicas para la selección y manejo de los animales de laboratorios. Por la característica de este elemento el laboratorio debe tener personal preparado ampliamente en este tema. Dada la limitación de esta monografía, solo se expresará algunos de los requisitos que se deben cumplir con los animales inoculados y utilizados en ensayos de microbiología. Esto no significa, que no se cumpla con todos los requisitos de tenencia de los animales, ya que es la forma de garantizar la repetibilidad de los resultados.

Es importante que los animales de laboratorio se adquieran acompañados de un certificado de salud y un certificado genético, éste último si la línea animal lo requiere, emitidos por el Centro proveedor de animales de laboratorio. Además las condiciones de salud deben ser óptimas y presentar la edad y peso adecuado según los requerimientos del ensayo. El pienso que se le suministre a los animales cumplirá con los requerimientos nutricionales. Deben ser mantenidos en áreas que cubran los requisitos para asegurar la salud y el bienestar; pero además, dependiendo el grupo de microorganismo que se trabaje, se debe contar con las medidas de bioseguridad establecidas para ellos.

3.6 Equipos

Para que un laboratorio pueda acreditarse tiene que demostrar que posee todos los equipos necesarios para la correcta ejecución de los muestreos y ensayos, o que los subcontratas a laboratorios que a su vez son confiables.

Los equipos deben estar instalados en el lugar y la forma apropiada y poseer el diseño, la capacidad, el intervalo de medición y el nivel de precisión que garanticen la correcta ejecución de los ensayos. Es necesario contar con programas de calibración en los casos que de no hacerlo se pueda afectar significativamente a los resultados, y que todo equipo en uso esté calibrado o verificado. En la Tabla 8 se presenta la recomendación de guías de BPL sobre la verificación de equipos

Tabla 8. Frecuencia recomendada para la verificación de equipos

Tipo de aparato	Requisitos	Frecuencia sugerida
Equipos con temperatura controlada (incubadoras, baños, refrigeradores, congeladores)	a) Verificar la estabilidad y/o uniformidad de la temperatura b) Verificar la temperatura	a) Inicialmente y después de reparación/modificación b) Diariamente con cada uso
Estufas de esterilización	a) Verificar la estabilidad y/o uniformidad de la temperatura b) Verificar la temperatura	a) Inicialmente y después de reparación/modificación b) Con cada uso
Autoclaves	a) Verificar la estabilidad y/o uniformidad de la temperatura b) Verificar la temperatura c) Verificar el tiempo	a) Inicialmente y después de reparación/modificación b) Con cada uso c) semestralmente
Cabinas de seguridad	a) Verificar características técnicas b) Verificar la velocidad del aire c) Verificar el recuento de partículas	a) Inicialmente y después de reparación/modificación b) Anualmente c) Anualmente
Cabinas de flujo laminar	a) Verificar características técnicas b) Verificar la esterilidad	a) Inicialmente y después de reparación/modificación b) Mensualmente
pH metros	Ajuste de la respuesta utilizando como mínimo 2 tampones y verificación posterior	Diariamente/con cada uso

Balanzas	Ajuste del cero y verificación con la pesa de control	Diariamente/con cada uso
Destilador, desionizador y unidad de ósmosis inversa	a) Conductividad b) Contaminación microbiana	a) Semanalmente b) Mensualmente
Diluidores gravimétricos	a) Peso y volumen (peso) distribuido b) Verificar coeficiente de dilución	a) Diariamente b) Mensualmente
Distribuidores de medios	Verificar el volumen distribuido	Al inicio y periódicamente dependiendo de la frecuencia y naturaleza de uso.
Pipetas automáticas	Verificar la precisión y exactitud del volumen distribuido	Al inicio y periódicamente dependiendo de la frecuencia y naturaleza de uso.
Sembradores en espiral	a) Verificar características técnicas frente a método convencional b) Verificar el estado del punzón y puntos de inicio y fin c) Verificar volumen distribuido	a) Inicialmente y anualmente b) Diariamente/con cada uso c) Mensualmente
Contadores automáticos de colonias	Verificar frente al recuento manual	Anualmente
Jarra de anaerobiosis	Indicador anaeróbico	Con cada uso

Se exige que los equipos estén identificados con la indicación de su estado (como puede ser listo para uso, en uso, en limpieza, sin calibrar, rotos, entre otros) Deben ser operados por personal preparado, y que tengan sus instrucciones actualizadas. Todos deben contar con registros de uso colocados a su lado.

Se plantea que cada equipo tenga una documentación con los siguientes datos:

- La identificación del equipo y su software;
- El nombre del fabricante, la identificación del modelo, el número de serie u otra identificación única;
- Las verificaciones de la conformidad del equipo con la especificación
- La ubicación.
- Las instrucciones del fabricante.
- Las fechas, los resultados y las copias de los informes y de los certificados de todas las calibraciones, los ajustes, los criterios de aceptación, y la fecha prevista de la próxima calibración.
- El plan de mantenimiento y el mantenimiento llevado a cabo hasta la fecha.
- Control de los daño, mal funcionamiento, modificación o reparación del equipo.

El laboratorio debe tener procedimientos para la manipulación segura, el transporte, el almacenamiento, el uso y el mantenimiento planificado de los equipos de medición con el fin de asegurar el funcionamiento correcto y de prevenir la contaminación o el deterioro. En la Tabla 9 se presenta una información orientadora sobre el mantenimiento de los equipos, aunque no se debe olvidar que la frecuencia dependerá del uso, tipo y resultados previos del equipo

Tabla 9. Directrices para el mantenimiento de equipos

Tipo de aparato	Requisito	Frecuencia sugerida
Incubadoras, refrigeradores, congeladores y estufas	Limpiar las superficies internas y desinfectar si es necesario	Semestralmente
Baños maría	Vaciar, limpiar, desinfectar y rellenar	Cada mes o cada 6 meses si se utiliza un biocida
Centrífugas	Limpiar y desinfectar	Trimestralmente
Autoclaves	Verificar visualmente la junta, limpiar/drenar la cámara	Mensualmente
Cabinas de seguridad y de flujo laminar	Revisión/cambio de filtros	Anualmente
Microscopios	Limpieza de objetivos	Anualmente
pH metros	a) Limpiar electrodos b) Revisar/rellenar electrolito	a) Con cada uso b) Cuando sea necesario
Balanzas/Diluidores gravimétricos	a) Limpiar b) Revisar	a) Con cada uso b) Anualmente
Destilador	Limpiar y desincrustar	Según sea necesario
Desionizador, unidad de ósmosis inversa	Sustituir cartucho y membrana	Según las recomendaciones del fabricante
Jarra de anaerobiosis	Limpiar/desinfectar	Después de cada uso
Distribuidores de medios, equipos volumétricos, pipetas, equipos de filtración de membrana, etc.	Limpiar y desinfectar según sea apropiado	Con cada uso
Sembradores en espiral	a) Revisar b) Descontaminar, limpiar y esterilizar	a) Anualmente b) Con cada uso

Equipos de fundamental importancia en los laboratorios de microbiología son los gabinetes de seguridad (GS), los cuales se dividen en tres clases como se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Tipos de gabinetes de Seguridad, según EN 12469:2000

Clase	GS clase 1	GS clase 2	GS clase 3
Características	Con apertura frontal a través de la cual se realizan las operaciones en el interior. Filtrado aire de entrada	Con apertura frontal a través de la cual se realizan las operaciones en el interior. Filtrado aire de entrada y de salida	Área de trabajo totalmente cerrada y se opera a través de una barrera física (como guantes mecánicos unidos al gabinete) Filtrado aire de entrada y aire de salida tratado.
Protección	Operador	Operador	Operador y ambiente
Retención en la apertura	<10 UFC por ensayo en posición operador	<10 UFC por ensayo en posición operador	No aplicable
Protección del producto	No aplicable	<5 UFC por ensayo	No aplicable
Contaminación cruzada	No aplicable	<2UFC por ensayo	No aplicable

Por su alta influencia en los resultados, los gabinetes de seguridad deben seleccionarse de acuerdo a la clasificación de los microorganismos con que se trabaja. Así para los grupos de riesgos 3 y 4 se deben emplear gabinetes clase 3. Además se deben tener procedimientos para su limpieza, verificación de su desempeño, y mantenimiento. El uso se controlará a través del registro, esto permite planificar el mantenimiento al conocer las horas en que se han empleado.

Las autoclaves son los equipos diseñados para esterilizar materiales por exposición de los mismos a vapor de agua a una presión superior a la atmosférica. También la selección de estos equipos dependerá del grupo de microorganismo que se trabaje. Esta selección considerará los criterios de estanquidad, su capacidad de limpieza y de esterilización. La estanquidad es la capacidad para limitar las fugas.

En la Tabla 11 se presenta los dos tipos de autoclaves que clasifica la EN 12347:1998 de acuerdo a las características del recinto de la cámara de esterilización.

Como se observa en la tabla una autoclave tipo II posee características adicionales de contención que impiden la liberación de microorganismos vivos hacia el entorno por lo que deben seleccionarse si se trabaja especímenes pertenecientes al grupo 3 ó 4 de la clasificación de microorganismos.

Tabla 11. Tipos de autoclaves de acuerdo a la EN 12347:1998

Criterio de clasificación	Autoclave tipo I	Autoclave tipo II
Capacidad a la esterilización	Puede esterilizarse	Puede esterilizarse
Capacidad a la limpieza	Capacidad a la limpieza sometida al ensayo y cuantificada en condiciones definidas o diseñadas teniendo en cuenta criterios especificados	Capacidad a la limpieza sometida al ensayo y cuantificada en condiciones definidas o diseñadas teniendo en cuenta criterios especificados
Estanquidad	Fuga no definida	Fuga sometida al ensayo en condiciones definidas y caudal de fuga inferior al valor umbral especificado

3.7 Muestra y muestreo

Existe un slogan de los analistas veteranos que dice:

Nunca el ensayo puede dar resultados mejores que la muestra con que se cuenta

Si bien, esto es cierto para cualquier laboratorio, en los de microbiología es especialmente dramático, pues en muchas ocasiones se trata de rescatar microorganismos que se deben mantener vivos, y evitar la contaminación con otros que no estaban en el material de partida.

En un trabajo realizado por Plebani y Carrazo en 1997 en los laboratorios de servicio del Hospital Universitario de Papua, se demostró que el 68,2% de los resultados erróneos se debieron a causas previas a la ejecución del ensayo, y de este por ciento la mayoría se relacionaba con la toma y el manejo de la muestra, destacándose dentro de ellos la incorrecta identificación, el uso de contenedores inapropiados, entre otros.

Algunos de los requisitos que la ISO/IEC 17025 exige para el manejo de las muestras en cualquier tipo de laboratorio se presenta en la Tabla 12.

Se facilita el cumplir con los requisitos planteados en la Tabla 12, si el laboratorio define que las muestras de ensayo estén a cargo de un personal autorizado para realizar su recepción, distribución y conservación. También ayuda que las muestras sean recepcionadas en un área destinada a tal fin; y que existan áreas separadas para la recepción y conservación de las muestras de productos a ser ensayados y para su retención después de los ensayos. Estos lugares deben asegurar la integridad e inviolabilidad teniendo en cuenta las condiciones de seguridad, temperatura y humedad. En el caso de laboratorios que no realicen el muestreo, las muestras deberán venir acompañadas de una solicitud de ensayo debidamente firmada, en la que se registrarán los datos correspondientes para su identificación, así como los ensayos a realizar.

Es importante que las muestras para ensayo sean representativas del lote del cual son extraídas.

Tabla 12. Requisitos que ISO/IEC 17025:2005 establece para el manejo de las muestras

No.	Requisito
5.8.1	El laboratorio debe tener procedimientos para el transporte, la recepción, la manipulación, la protección, el almacenamiento, la conservación o la disposición final de los ítems de ensayo, incluidas todas las disposiciones necesarias para proteger la integridad del ítem de ensayo o de calibración, así como los intereses del laboratorio y del cliente.
5.8.2	El laboratorio debe tener un sistema para la identificación de los ítems de ensayo. La identificación debe conservarse durante la permanencia en el laboratorio. El sistema debe ser diseñado y operado de modo tal que asegure que los ítems no puedan ser confundidos físicamente ni cuando se haga referencia a ellos en registros u otros documentos. Cuando corresponda, el sistema debe prever una subdivisión en grupos de ítems y la transferencia de los ítems dentro y desde el laboratorio.
5.8.3	Al recibir el ítem para ensayo, se deben registrar las anomalías o los desvíos en relación con las condiciones normales o especificadas, según se describen en el correspondiente método de ensayo. Cuando exista cualquier duda respecto a la adecuación de un ítem para un ensayo, o cuando un ítem no cumpla con la descripción provista, o el ensayo requerido no esté especificado con suficiente detalle, el laboratorio debe solicitar al cliente instrucciones adicionales antes de proceder y debe registrar lo tratado.
5.8.4	<p>El laboratorio debe tener procedimientos e instalaciones apropiadas para evitar el deterioro, la pérdida o el daño del ítem de ensayo durante el almacenamiento, la manipulación y la preparación. Se deben seguir las instrucciones para la manipulación provistas con el ítem. Cuando deban ser almacenados o acondicionados bajo condiciones ambientales especificadas, debe realizarse el mantenimiento, seguimiento y registro de estas condiciones. Cuando un ítem o una parte de él se deba mantenerse seguro, el laboratorio debe tener disposiciones para el almacenamiento y la seguridad que protejan la condición e</p> <p>NOTA 1. Cuando tengan que ser devueltos al servicio después del ensayo, se debe poner un cuidado especial para asegurarse de que no son dañados ni deteriorados durante los procesos de manipulación, ensayo, almacenamiento o espera.</p> <p>NOTA 2. Es recomendable proporcionar a todos aquellos responsables de extraer y transportar las muestras, un procedimiento de muestreo, así como información sobre el almacenamiento y el transporte de las muestras, incluida información sobre los factores de muestreo que influyen en el resultado del ensayo o la calibración.</p> <p>NOTA 3. Los motivos para conservar en forma segura un ítem de ensayo pueden ser por razones de registro, protección o valor, o para permitir realizar posteriormente ensayos o calibraciones complementarios.</p>

Después de observar las exigencias de la Tabla 12, hay poco que añadir sobre el tema de las muestras. Sin embargo, hemos observado que los laboratorios, que recién empiezan con la aplicación de los Sistemas de Gestión de la Calidad, cuando reciben las primeras auditorías tienen las mayores dificultades en lograr la trazabilidad de las muestras y conseguir localizarlas adecuadamente en los lugares de conservación.

La trazabilidad de las muestras significa que partiendo de los resultados de un ensayo el auditor logre, con una revisión de los diferentes registros, llegar hasta la muestra conservada y su registro de entrada. La revisión se realiza en sentido contrario a como se ejecuta el trabajo, tal y como se muestra en la Figura 5. Para evitar las confusiones es importante que la identificación de las muestras se diseñe y opere de modo que se asegure que las mismas no puedan ser confundidas físicamente o cuando se hace referencia a ellas en los registros u otros documentos. Esta identificación se mantendrá durante todo el ciclo de vida.

Se puede comprobar que muchas veces cuando se buscan en su lugar de conservación, la mala colocación y etiquetado hace difícil recuperarla. Los interesados pueden hacer una prueba de esto y verificar el manejo de las muestras de sus laboratorios.

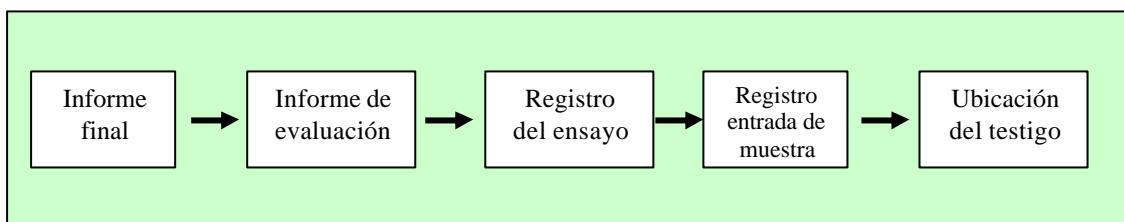


Figura 5. Secuencia a seguir para la comprobación de la adecuada trazabilidad de la muestra en un laboratorio

Las muestras se deben conservar hasta después de entregado el informe y recibir la satisfacción del cliente. Debe ser una práctica, que encontramos poco aplicada a pesar de ser la forma más correcta de preservar bien las muestras, separar una alícuota de la muestra inmediatamente después de ser recibida, de esta manera se puede garantizar mantener un testigo que conserve las características iniciales de la muestra. Generalmente lo que ocurre es que el laboratorio trabaja la muestra y luego de concluido el montaje del ensayo la guarda, así esta puede quedar afectada por todas las manipulaciones que sufrió en el laboratorio.

Muchos laboratorios no toman las muestras y los ensayos los realizan sobre muestras que le son proporcionadas por los clientes. En este caso siempre se debe aclarar que el resultado se basa sobre la muestra recibida, las conclusiones las debe asumir el cliente que supuestamente conoce las características del muestreo que realizó.

En caso de que el laboratorio realice los muestreos, entonces debe considerar los siguientes aspectos:

- Contar con un plan y procedimientos para el muestreo
- El plan y el procedimiento para el muestreo deben estar disponibles en el lugar donde se realiza el muestreo.
- Los planes de muestreo deben, siempre que sea razonable, estar basados en métodos estadísticos apropiados.
- El proceso de muestreo debe tener en cuenta los factores que deben ser controlados para asegurar la validez de los resultados de ensayo y de calibración.

Se tiene que considerar que la definición de la ISO/IEC 17025 del muestreo es: un procedimiento definido por el cual se toma una parte de una sustancia, un material o un producto para proveer una muestra representativa del total, para el ensayo. Es conveniente que los procedimientos de muestreo describan el plan de muestreo, la forma de seleccionar, extraer y preparar una o más muestras a partir de una sustancia, un material o un producto para obtener la información requerida.

El laboratorio debe tener procedimientos para registrar los datos y las operaciones relacionados con el muestreo que forma parte de los ensayos que lleva a cabo. Estos registros deben incluir el procedimiento de muestreo utilizado, la identificación de la persona que lo realiza, las condiciones ambientales (si corresponde) y los diagramas u otros medios equivalentes para identificar el lugar del muestreo según sea necesario y, si fuera apropiado, las técnicas estadísticas en las que se basan los procedimientos de muestreo.

3.8 Métodos de ensayo y validación

La norma ISO/IEC 17025:2005 exige que el laboratorio aplique métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos. Esto significa que seleccione los métodos que satisfagan las necesidades del cliente, pero usando preferentemente las

normas internacionales, regionales o nacionales. Especifica que el laboratorio debe asegurarse de que utiliza la última versión vigente de la norma, a menos que no sea apropiado o posible. Es por ello, que en el equipo auditor para la acreditación, siempre se invitan a expertos del campo de trabajo del laboratorio, quienes conocen las últimas ediciones de las normas. En caso que sea imprescindible utilizar métodos desarrollados por el laboratorio se tiene que demostrar con una validación completa que los mismos cumplen con los requisitos de desempeño.

A pesar de que los métodos normalizados se conocen porque tienen un desempeño adecuado, el laboratorio debe probar que les funciona de acuerdo a lo establecido en la norma y por ello deben realizar una comprobación de su funcionamiento. Esto debe ser demostrado por el expediente de validación del método, además de la ejecución del ensayo delante de los auditores.

Solamente se permiten desviaciones de los métodos de ensayo si ellas han sido documentadas, justificadas técnicamente, autorizadas, y aceptadas por el cliente.

Otra exigencia es que la introducción de los métodos de ensayo y de calibración desarrollados por el laboratorio para su propio uso debe ser una actividad planificada y debe ser asignada a personal calificado, provisto de los recursos adecuados.

Actualmente la mayoría de los métodos de ensayos utilizados de rutina en los laboratorios de microbiología, al igual que en la biotecnología, son alternativos. Esta tendencia se debe a que los métodos alternativos cubren mejor determinadas necesidades de los laboratorios como son mayor velocidad de respuesta, facilidad de ejecución y rapidez en la realización del ensayo, costos más bajos, y posibilidad de automatización. Se establece que los métodos alternativos son aquellos que estiman, para una categoría de productos, el mismo analito que es medido usando un método de referencia correspondiente; mientras que los métodos de referencias son los internacionalmente reconocidos y ampliamente aceptados (ISO16140:2003)

El laboratorio siempre debe demostrar que los métodos de ensayo que utiliza tiene un desempeño adecuado, por ello se solicita la validación de ellos para que puedan ser acreditados. Sin embargo el alcance de la validación depende del tipo de ensayo.

La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto (ISO/IEC 17025:2005) También se define como el proceso que da evidencias de que el método es capaz de servir a los propósitos de su uso; es decir, determinar o cuantificar los microorganismos o grupo de microorganismo específico, todo con una adecuada precisión y exactitud (ISO/TR 13843:2000)

Según la ISO/IEC 17025:2005, el laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados. También plantea que la validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados.

En este sentido la ISO/TR 13843 del 2000 clasifica las validaciones en primarias y secundarias de acuerdo a su propósito. La primaria la define como un proceso exploratorio con el objetivo de establecer los límites operacionales y el funcionamiento de un método nuevo, modificado o inadecuadamente caracterizado; mientras que la secundaria es la que debe realizar un laboratorio cuando va a implementar un método (bien validado) y debe verificar que le funciona bien.

La validación debe simular en todo lo posible las condiciones de rutina en que se ejecuta el método de ensayo, por eso se recomienda el uso de muestras contaminadas naturalmente con los organismos de interés. En caso de ser difícil la obtención de estas

muestras se pueden preparar contaminando muestras negativas, aunque se conoce que esto último no refleja fielmente lo que ocurre normalmente.

En el caso de que se trate de un ensayo de diagnóstico, se recomienda que las muestras positivas utilizadas se seleccionen de forma tal que reflejen las diferentes etapas de la enfermedad o enfermedades de que se trate, diferentes patrones de anticuerpos, diferentes genotipos, diferentes subtipos, entre otros. Y las muestras negativas que reflejen la población diana del ensayo, por ejemplo, donantes de sangre, pacientes hospitalizados, mujeres embarazadas, entre otros. Dentro de la selección de las muestras se puede considerar aquellas que presenten sustancias potencialmente interferentes como pueden ser: muestras que representan infecciones “relacionadas”; muestras procedentes de mujeres embarazadas multíparas, o pacientes positivos para el factor reumatoideo; muestras con anticuerpos humanos que puedan interferir, entre otros.

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) se refirieren a las pruebas de detección y/o cuantificación de ácidos nucleicos ya sea por amplificación de una secuencia objetivo, por amplificación de una señal o por hibridación. En el caso de la detección del genotipo se debe demostrar la adecuada validación del diseño de la sonda y el cebador, y también se validará ensayando muestras con genotipo caracterizado. Las validaciones de estos métodos deben incluir el estudio de la contaminación por arrastre, analizando al menos cinco series alternando muestras positivas fuertes y muestras negativas. Las muestras positivas fuertes serán muestras con títulos altos que se generen de forma natural.

En la Tabla 13 se presentan algunos de los indicadores de calidad a validar en los ensayos cuantitativos, cualitativos y diagnosticados, en estos últimos se presentan los relacionados con su capacidad de diagnóstico.

La validación de métodos de ensayos es un tema tan profundo y largo que no se puede abordar en toda su extensión en esta monografía. Por ello no explicaremos en detalle las definiciones de los indicadores de calidad presentados en la Tabla 13, y la forma de determinarlos. Normas recomendadas para atender este tema son la ISO 5725, en sus seis partes, las ya mencionadas ISO/TR 13843 y la ISO 16140.

Se exige que la gama y la exactitud de los valores que se obtienen empleando métodos validados (por ejemplo, la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo) tal como fueron fijadas para el uso previsto, deben responder a las necesidades de los clientes.

Sin embargo, los métodos microbiológicos no son robustos ya que los analitos y la mayoría de las impurezas son organismos vivos y esto provoca una amplia variabilidad, la que se puede deber a las afectaciones de factores como los efectos de matriz, la composición de la flora de la muestra, el estrés de la incubación, entre otros.

Es importante tener en cuenta lo expresado por la ISO 17025 de que la validación es siempre un equilibrio entre los costos, los riesgos y las posibilidades técnicas.

En el caso de que se adquieran Kit comerciales se debe requerir los datos de validación de los fabricantes, y solo validar si el método no tiene una validación completa.

Tabla 13. Indicadores de calidad a determinar en ensayos microbiológicos cuantitativos, cualitativos y diagnosticados. Adaptado de la ISO 5725:1994 e ISO 3534:1993

Ensayos cualitativos. Resultados numéricos en una escala continúa de números.	Ensayos cuantitativos. Resultado se expresa en forma binaria (si/no, detectable/no detectable, o positivo/negativo))	Diagnosticadores: Ensayo para el diagnóstico de enfermedades (cuantitativo o cualitativo)
Veracidad: Concordancia entre el resultado del método y el valor verdadero asignado a la muestra.	Valor de corte: es la concentración específica del analito en la muestra que distingue un resultado positivo de uno negativo	Sensibilidad clínica: porcentaje de positividad en muestras donde el analito a determinar está presente
Precisión: Concordancia de los resultados independientes de una misma muestra obtenidos bajo condiciones específicas	Precisión grado de concordancia entre los resultados de una serie de ensayos. Igual a los cuantitativos	Especificidad clínica: porcentaje de negatividad en muestras donde el analito a determinar está ausente
Linealidad: resultados del método directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra	Especificidad analítica: Igual a los cuantitativos	
Límite de detección: El menor valor del analito que el método puede detectar con un nivel de confianza especificado.	Límite de detección: se determina como la concentración del analito al cual el 95% de los resultados del ensayo son positivos.	
Límite de cuantificación: El menor valor del analito que se puede medir cuantitativamente con una determinada incertidumbre de medición.		
Sensibilidad analítica: La más pequeña diferencia en la concentración que puede ser medida con adecuada confianza.		
Especificidad analítica: Habilidad del método de detectar solamente el analito en presencia de otras sustancias de la muestra.		

En la norma ISO/IEC 17025 del año 1999 se estableció por primera vez la exigencia de la demostración de la incertidumbre de la medición para laboratorios de ensayos. Este requisito se mantiene en la edición del año 2005. Así se requiere que los laboratorios de ensayo tengan y apliquen procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. En los ensayos microbiológicos, la ILAC ha planteado que aún no existen las bases técnicas para enfrentar el reto que conlleva la determinación de la incertidumbre de estos ensayos.

Para garantizar los resultados de los ensayos, incluso cuando se haya realizado una validación, el laboratorio tendrá que verificar periódicamente que se cumplen los indicadores establecidos, es aquí donde comienza el control interno y las evaluaciones externas de la calidad de los ensayos.

3.9 Control de Calidad de los resultados del laboratorio.

La norma ISO/IEC 17025 requiere que los resultados de los ensayos se controlen para reconocer los errores cuando se presentan. De esta manera, plantea que el laboratorio debe tener procedimientos de control de la calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos llevados a cabo. Los datos resultantes deben ser registrados en forma tal que se puedan detectar las tendencias y, cuando sea posible, se deben aplicar

técnicas estadísticas para la revisión de los resultados. También exige que los datos generados por el control de la calidad, deben ser analizados y, si no satisfacen los criterios predefinidos, se deben tomar las acciones planificadas para corregir el problema y evitar consignar resultados incorrectos. Según esta norma el control interno puede incluir, entre otros, los elementos siguientes:

- el uso regular de materiales de referencia certificados o un control de la calidad interno utilizando materiales de referencia secundarios;
- la repetición de ensayos o calibraciones utilizando el mismo método o métodos diferentes;
- la repetición del ensayo o de la calibración de los objetos retenidos;
- la correlación de los resultados para diferentes características de un ítem.

El programa de control de calidad interno se concibe para evaluar con carácter continuo las actividades, asegurando la consistencia de las mediciones día a día. Dicho programa puede incluir: recuentos cruzados entre analistas, análisis duplicados de una misma muestra por distintos analistas, uso de materiales de referencia, técnicas estadísticas, uso de cartas controles, entre otros.

En el caso de los ensayos de amplificación de una secuencia diana, la inclusión de un control de funcionalidad para cada muestra ensayada reflejará el estado actual de la técnica. Hasta donde sea posible, este control se utilizará durante todo el proceso, esto es, extracción, amplificación/hibridación y detección.

El control interno permite detectar los errores en el momento de su ocurrencia y tomar medidas correctivas, tiene un impacto inmediato y permite corregir los errores antes de entregar los resultados. Hay determinadas desviaciones que no se identifican con el control interno. Se trata de las desviaciones sistemáticas. Para ellos se necesita que los laboratorios se comparen entre sí, es la llamada evaluación externa, la cual es retrospectiva y está dirigida al mejoramiento del trabajo sin influencia directa en la entrega de los resultados (ECCLS, 1985)

Esto se reconoce en la ISO/IEC 17025, que reporta, como uno de los elementos a utilizar para el aseguramiento de la calidad de los resultados, la participación en comparaciones interlaboratorios o programas de ensayos de aptitud.

Los estudios donde varios laboratorios participan ensayando las mismas muestras para comparar los resultados se nombran de diferentes formas como son: ensayos intercolaborativos; ensayos de aptitud; ensayos de preeficiencia; ensayos de intercomparación. Los laboratorios clínicos europeos impusieron el nombre de esquemas de evaluación externa (Lieber, et al. 1996), refiriéndose a la participación sistemática en estudios interlaboratorios de un grupo de estas entidades, donde se organiza siempre por el mismo laboratorio cabecera con un cronograma planificado de reparto de muestras, siempre con el objetivo de mejorar los resultados y el desempeño de los laboratorios.

Según la ILAC, en su documento G22:2004, ensayo de aptitud es la determinación del desempeño del laboratorio mediante comparaciones interlaboratorio. Recomienda, a los órganos de acreditación, que estimen que la política del laboratorio para participar en ensayos de aptitud forme parte de control externo de la calidad de los laboratorios y que esté adecuadamente descrita en el Manual de Calidad o en otros documentos operativos. Esto se refiere particularmente a la planificación, el desempeño, la operación, la evaluación, las acciones correctivas, los registros y su almacenamiento. También plantea que no se debe confundir todos los estudios interlaboratorios como ensayos de aptitud, pues pueden tener otros objetivos como la validación de métodos; la

caracterización de materiales de referencia; la auto-evaluación del desempeño de un laboratorio en un ensayo, entre otros.

El desempeño de los laboratorios acreditados en ensayos de aptitud es una de las muchas herramientas que deben utilizar los organismos de acreditación como parte de sus procedimientos de acreditación.

En resumen, los laboratorios deben tener un programa de actividades llevadas a cabo con la finalidad de mejorar en conjunto su funcionamiento. Estas actividades incluyen promoción del uso rutinario del control de calidad interno, apoyo a programas de ensayos de aptitud y todas las medidas adoptadas para mejorar la reproducibilidad, tanto dentro del laboratorio como entre diferentes laboratorios, ya sea por medio de cursos de formación, conferencias o estudios intercolaborativos de métodos de laboratorio.

3.10 Informe de ensayo

Los resultados obtenidos por el laboratorio deben ser informados cumpliendo determinados requisitos que no dejen dudas ni quejas al clientes. La ISO/IEC 17025:2005 dice textualmente que los resultados de cada ensayo, o serie de ensayos efectuados por el laboratorio, deben ser informados en forma exacta, clara, no ambigua y objetiva, de acuerdo con las instrucciones específicas de los métodos de ensayo.

Plantea que el informe de ensayo debe incluir toda la información que se plantea a continuación

1. Un título (por ejemplo, “Informe de ensayo”)
2. El nombre y la dirección del laboratorio y el lugar donde se realizaron los ensayos o las calibraciones, si fuera diferente de la dirección del laboratorio
3. Una identificación única del informe de ensayo o del certificado de calibración (tal como el número de serie) y en cada página una identificación para asegurar que la página es reconocida como parte del informe de ensayo o del certificado de calibración, y una clara identificación del final del informe de ensayo o del certificado de calibración
4. El nombre y la dirección del cliente;
5. La identificación del método utilizado;
6. Una descripción, la condición y una identificación no ambigua del o de los ítems ensayados
7. La fecha de recepción del o de los ítems sometidos al ensayo, cuando ésta sea esencial para la validez y la aplicación de los resultados, y la fecha de ejecución del ensayo
8. Una referencia al plan y a los procedimientos de muestreo utilizados por el laboratorio u otros organismos, cuando éstos sean pertinentes para la validez o la aplicación de los resultados;
9. Los resultados de los ensayos con sus unidades de medida, cuando corresponda
10. El o los nombres, funciones y firmas o una identificación equivalente de la o las personas que autorizan el informe de ensayo
11. Cuando corresponda, una declaración de que los resultados sólo están relacionados con los ítems ensayados.

Además de estos requisitos indicados se requiere de otros según las necesidades como cuando corresponda, una declaración sobre el cumplimiento o no cumplimiento con los requisitos o las especificaciones, o información adicional que pueda ser requerida por métodos específicos, clientes o grupos de clientes.

Conclusiones

Hoy en día, ofrecer garantías de la confiabilidad de los resultados de los laboratorios es una imperiosa necesidad. Por ello, todos los laboratorios deben trabajar de acuerdo a los requisitos establecidos en las diferentes guías de BPL. Si los clientes (que a veces son los organismos reguladores de los Estados) exigen una demostración de esa confiabilidad avalada por una Organización de Tercera partes, se hace necesaria una acreditación. En este último caso, se debe cumplir con las exigencias de la norma ISO/IEC 17025:2005. En esta norma se solicita que los laboratorios posean un Sistema de Gestión de la Calidad, además de un cumplimiento de requisitos técnicos que abarcan todos los elementos que conforman el trabajo de los laboratorios. Establece las características que deben cumplir los recursos empleados, tanto humanos como materiales, dentro de los cuales se destacan las instalaciones, equipos, reactivos, y materiales en general. También comprenden requisitos para las operaciones, tal es el caso de la selección y validación de los métodos de ensayos; el control de la calidad, el muestreo y el manejo de las muestras, entre otros. La preparación de los laboratorios para asumir este reto, que aumenta cada día, es necesario que sea continua y sistemática.

Bibliografía

1. AOAC INTERNATIONAL Qualitative and Quantitative Microbiology Guidelines for Methods Validation. Journal of AOAC International Vol. 82, No. 2, 1999
2. CECMED. Regulación 37:2004. Buenas Prácticas de Laboratorios para el control de medicamentos
3. Chovel, M.L.; Figueras, Liana; Ramos María de los Angeles. 2006. Una renovación necesaria. Regulación de Buenas Prácticas para Laboratorios de control de medicamentos. Normalización 2/2006:64-78
4. CITMA Resolución No. 42/99. Lista oficial de Agentes Biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas
5. CITMA Resolución No. 8/2000. Reglamento general de seguridad biológica para las instalaciones en las que se manipulan agentes biológicos y sus productos, organismos y fragmentos de estos con información genética.
6. Dybkaer, R. (1994) Quality assurance, accreditation and certification needs and possibilities. Clin. Chem 40(7): 1416-1420
7. ECCLS 1985. Standard for quality assurance. Part 1. terminology and general principles. European Committee for Clinical Laboratory Standards. Documents Vol. 2(1)
8. EN 12128:1998. Biotecnología. Laboratorios de investigación, desarrollo y análisis. Niveles de contención de los laboratorios de microbiología, zona de riesgo, instalaciones y requisitos físico de seguridad.
9. EN 12347:1998. Criterios de clasificación para los esterilizadores de vapor de agua y de las autoclaves según sus características funcionales.
10. EN 12469:2000. Biotechnology. Performance criteria for microbiological safety cabinets.
11. EN 12738:1999. Biotechnology. Laboratories for research, development and analysis. Guidance for containment of animals inoculated with microorganisms in experiments.
12. EN 12741:1999 Biotechnology. Laboratories for research, development and analysis. Guidance for biotechnology laboratory operation.
13. EN 1619:1996. Biotecnología. Requisitos generales de gestión y organización para los procedimientos de conservación de cepas.
14. Eurachem/EA Guide 2002. Accreditation for microbiological laboratories

15. Guía ISO/IEC 43:1997, parte 1: Desarrollo y operación de esquemas de ensayos de aptitud
16. Guía ISO/IEC 43:1997, parte 2: Selección y uso de esquemas de ensayos de aptitud por parte del laboratorio.
17. ILAC G 22-2004. Uso del ensayo de aptitud como herramienta para la acreditación de ensayos.
18. ISO 16140:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for validation of alternative methods.
19. ISO 17000:2004. Conformity assessment. Vocabulary and general principles
20. ISO 19011: 2002 Guidelines for quality and/or environmental management systems auditing.
21. ISO 3534:1993. Statistics. Vocabulary and symbols. Part 2. Statistical quality control.
22. ISO 5725:1994 (series partes) Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results.
23. ISO 9001:2000. Sistemas de Gestión de la Calidad. Requisitos
24. ISO 15189:2003. Laboratorios medicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia.
25. ISO/IEC 17025: 2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración
26. ISO/TR 13843:2000 Water quality. Guidance on validation of microbiological methods.
27. ISO/TS 11133-1:2000 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1. General guidelines on quality assurance from the preparation of culture media in the laboratory.
28. Libeer, J.C.; Baadenhuiper, H.; Frase, C.G.; Petersen, P.H.; Ricós, Carmen; Stockl, D. y Thiepont, Linda. 1996. Characterization and classification of external quality assessment schemes (EAQ) according to objectives such as evaluation of method and participant bias and Standard deviation. Eur. J. Clin. Chem. Biochem. 34:665.678
29. NC 26:212 1992 Buenas Prácticas de Laboratorios. Norma cubana
30. Plenabi, M.; Carraro, P. 1997. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin. Chem. 43(8):1348.1351
31. Uldall, A 1987. Quality assurance in clinical chemistry. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 47. Suppl 187

Breve biografía del autor

Lic. Alejandra Villoch Cambas

Graduado de: Licenciada en Ciencias Farmacéutica Año: 1979

Ocupación actual: Directora de Calidad del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria.

Categoría Científica: Investigador Titular

Grado Científico: DR. en Ciencia Veterinarias

Ha investigado en el campo de la lechería y de la lactación. Desde el año 1987 se vinculó al desarrollo del Aseguramiento de la Calidad en laboratorios de ensayos para el sector agropecuario, fundamentalmente en laboratorios de ensayos de leche y sus derivados.

Se ha especializado en la temática de Calidad y realizados transferencias tecnológicas en el montaje de Sistemas de Gestión de la Calidad en laboratorios de ensayos para la agricultura, plantas de producción de alimentos, centros de investigación, plantas pilotos de producción. Ha participado y dirigidos proyecto de investigación relacionados con la obtención y evaluación de productos biológicos; el establecimientos de metodologías para la creación, evaluación y mejoramiento de Sistemas de Gestión de la Calidad; la creación de laboratorios de referencias para la evaluación de alimentos y diagnostico de enfermedades; la validación de procesos y ensayos analíticos; el establecimientos de sistemas HACCP, entre otros.

Tiene numerosos artículos publicados en diversas revistas, y un amplia participación en eventos científicos.