# Instructivo de Buenas Prácticas de Laboratorio de Microbiología

**I-CC-007**

| **Elaborado por:** | **Revisado por:** | **Aprobado por:** |
|---|---|---|
| Erika Troncoso | Anthony Greig | Anthony Greig |
| Analista Microbiólogo | Jefe Control de Calidad | Jefe Control de Calidad |

NOTA: ESTE DOCUMENTO AL MOMENTO DE SER IMPRESO DEJA DE TENER VALIDEZ COMO DOCUMENTO CONTROLADO Y PASA A SER UNA COPIA NO CONTROLADA

## 1. OBJETIVO

El propósito de este instructivo es entregar nociones básicas sobre el trabajo de laboratorio, de manera de facilitarlo y hacerlo más seguro. Para lo que se establecen pautas de conductas, normas que se deben cumplir para asegurar los resultados de los análisis y la seguridad del personal a cargo de ello.

## 2. ALCANCE

Este procedimiento está dirigido a todos los analistas del Laboratorio de Microbiología. Los cuales realicen las distintas etapas que involucren la determinación de un análisis microbiológico.

## 3. RESPONSABILIDADES

| Cargo / Actividad | Verificar la correcta aplicación de este instructivo. | Es responsable de aplicar este instructivo y de llenar los registros que correspondan. |
|---|---|---|
| Jefe de Laboratorio | X | |
| Analista Calificado | | X |

## 4. DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Procedimiento de Rutinas de Laboratorio (revisar QAldes).

- Determinaciones de Microbiología (revisar QAldes).

## 5. MATERIALES

- Solución acuosa de detergente neutro.
- Paños de limpieza.
- Alcohol al 70 %.
- Bolsas estériles.
- Cucharas estériles.
- Bisturí estéril.

## 6. ASPECTO DE SEGURIDAD

- Manual Seguridad Interno
- Precauciones señaladas con el material cortante.

## 7. OPERACIÓN

### 7.1. Muestreo:

La recepción de muestras en el laboratorio es de responsabilidad del **Jefe de Laboratorio**, quien debe determinar si están aptas para el o los análisis solicitados (calidad y cantidad), indicando además la variante a usar (Por ejemplo: Recuento en placa o NMP) y la cantidad de muestra en el caso de Análisis Cualitativos (Por ejemplo: 25 ó 50 g).

El Analista deberá organizar el análisis de las muestras de modo que se realice en el menor tiempo posible.

El material de muestreo debe estar en condiciones estériles para su uso.

### 7.2. Preparación del flujo laminar:

Como la luz U.V no penetra los objetos, la campana debe estar completamente vacía para que esta sea eficaz. Después de transcurrido el tiempo de descontaminación (30 minutos) introducir los elementos de trabajo que sean necesarios y dejar sobre mueble-mesón, excepto las muestras a analizar que son las últimas en llevar a la sala.

- No colocar la balanza dentro de la campana mientras esté la luz ultravioleta (pantalla de balanza puede afectarse con la luz U.V)

- Todo material (piezas, partes, herramientas, etc.) debe ser limpiado antes de colocarlo en los mesones de trabajo. **(**Nunca en el interior de la campana cuando esté funcionando con luz U.V)

- Todo material que deba entrar en la zona de trabajo, debe ser puesto en los costados y nada debe colocarse entre los filtros y el sector en que se está trabajando. Tampoco debe apoyarse algún objeto en la reja protectora de los filtros.

- Si no se utiliza el flujo inmediatamente, puede volver a colocar la luz U.V en su interior, pero no con el material dentro de la campana.

- El analista debe utilizar gafas de seguridad mientras realiza la siembra, así evita que el aire filtrado llegue directo a los ojos.

### 7.2.1 Reglas de Trabajo en Campana de flujo

La cámara de flujo laminar está diseñada para proporcionar un ambiente estéril en la zona de trabajo para proteger del medio ambiente a los elementos que están dentro de ella.
La siguiente lista se debe tener presente y familiarizarse con estas normas para no tener problemas en su uso.

- Nunca almacene o guarde equipos dentro de la cámara.

- Nunca olvide encender la luz U.V y poner en funcionamiento el ventilador 30 min. antes de iniciar el trabajo

- Nunca sobrecargar el área de trabajo, planifique con anterioridad.

- Nunca usar sustancias tóxicas, explosivas volátiles o inflamables en esta cámara.

- Nunca trabaje con agentes contaminantes de alto riesgo.

- Nunca apoye objetos en la malla protectora.

- Nunca trabaje en la cámara cuando la luz U.V está encendida ya que es dañina para las personas.

- Nunca olvide limpiar muy bien los objetos e instrumentos que introducirá en la cámara.

- Pasado los 30 min., la unidad se encuentra descontaminada y está en condiciones para trabajar.

### 7.3. Pesaje de Muestras:

- Limpieza de toda la sala de siembra (campanas, mesones y piso). Primero limpiar con un paño con detergente neutro y luego desinfectar con alcohol al 70 %.

- Montar la cámara para pesar incluyendo la Balanza (con anterioridad limpiada y desinfectada), bolsas estériles y las cucharas previamente esterilizadas.

- Antes comenzar a pesar lavar muy bien sus manos y luego desinfectar con alcohol al 70%. Repetir esta actividad todas las veces necesarias para asegurar una correcta higiene en sus manos.

- Para muestras que vienen en envases cerrados: limpiar toda la zona a cortar con alcohol al 70 %, tomar el envase del extremo superior y luego proceda a cortar.

- Una vez abierto el envase con una cuchara estéril homogenice el contenido de la muestra y luego proceda a extraer la cantidad requerida para el análisis solicitado, cuidando en todo momento trasvasijar sin producir derrames sobre la bolsa utilizada. De ser así repetir el procedimiento.

- Al terminar de pesar la muestra guardar en los cajones correspondientes o en refrigeración según corresponda, a la espera para ser sembrada.

- Limpiar la superficie de la cámara y la balanza entre muestra y muestra, para que el lugar siempre permanezca libre de contaminación.

- Una vez terminada la jornada dejar todo limpio y guardar todo en el lugar que corresponda.

### 7.4 Limpieza después de cada uso

Después de cada uso el interior de la cámara debe limpiarse con solución acuosa de detergente neutro. Para limpiar la superficie de la cámara, no usar agentes limpiadores fuertes que contengan polvos abrasivos o bases amoniacales, Ej. Purex, Vim. No usar solventes como limpiadores, Ej. Tolueno, alcohol, acetona, ácido acético, soluciones de cloro o yodo.

Las superficies exteriores y los acrílicos deben limpiarse con un paño con agua y detergente suave sin usar solventes. Los acrílicos se tornan opacos si se usa alcohol para limpiarlos)

Para limpiar la superficie del mesón de la cámara de flujo laminar usar solución desinfectante de alcohol al 70%

### 7.5. Siembra de Muestras:

- Disponer en la cámara de flujo laminar todo lo necesario para comenzar la siembra (las placas previamente rotuladas, probeta estéril, pipetas estériles, tubos y frascos con agua de dilución y la muestra correspondiente).

- Lavar prolijamente sus manos y luego desinfectarlas con alcohol al 70 %, luego comenzar a trabajar.

- La cámara solo debe ser usada para los materiales anteriormente mencionados, ya que no es un depósito de material permanente, de ser así el flujo de esta puede obstaculizarse y no cumpliría su función.

- Ante cualquier derrame que se produzca dentro de la cámara detener el trabajo y limpiar y desinfectar cuidadosamente antes de reanudar nuevamente el trabajo.

- Una vez terminada la siembra guardar todos los materiales utilizados y limpiar y desinfectar el área de trabajo.

## 7.6. Lectura y Traspasos:

- Limpiar con un paño con detergente neutro y luego desinfectar con alcohol al 70% el área de trabajo.

- Disponer de los materiales y equipos a utilizar, ya sea para lectura (cuenta colonias, lupa estereoscópica y libro protocolo correspondiente) o para traspasos (mechero, asas de punta o argolla y los medios necesarios para la determinación correspondiente).

- Lavar prolijamente sus manos y luego desinfectarlas con alcohol al 70 %, luego comenzar a trabajar.

- Una vez terminada la lectura y/o el traspaso correspondiente eliminar todo el material según corresponda (placas envueltas o tubos en paquetes para su esterilización y posterior eliminación).

- Deje registro del trabajo realizado en los libros de protocolo correspondiente, limpiar y desinfectar toda el área utilizada.

## 7.7 Instrucciones para el uso del Autoclave:

- Abrir el autoclave y llenar con agua destilada hasta el nivel cubriendo bien el calefactor. Siempre que se vaya a hacer funcionar se debe verificar este nivel de agua, si los calefactores no quedan cubiertos se pueden quemar.

- Cargar el equipo con el material a esterilizar, asegurándose que quede espacio entremedio del material; evitar cargarlo en exceso, para que circule el vapor

- Conectar la electricidad, encender el interruptor de partida y programar la temperatura y el tiempo de proceso que se requiere para el proceso de esterilización en panel de control de temperatura.

- Tapar y cerrar la puerta apretando las manillas lo suficiente para evitar pérdidas de vapor. No apretar demasiado para no dificultar la apertura de la puerta una vez terminado el proceso.

- Cerrar la llave de descarga de vapor.

- Una vez transcurrido el tiempo de proceso, apagar el equipo, dejar transcurrir un par de segundos y abrir la llave de descarga de vapor lentamente.

- Cuando el manómetro indique “0” de presión, proceder a soltar el tornillo de cierre, abrir la tapa con cuidado evitando que los vapores lleguen a la cara.

- Sacar los materiales esterilizados solo cuando se hayan enfriado lo suficiente.

### 7.8 Normas Generales:

- Como norma de higiene básica el personal debe lavar siempre sus manos al entrar y al salir del laboratorio.

- Siempre debe llevar delantal limpio y cofia. No está permitido el uso de aros colgantes ni anillos en las manos.

- Está prohibido beber y/o ingerir alimentos en el laboratorio de Microbiología.

- Se debe trabajar siempre con orden y limpieza.

- Se deben mantener los mesones limpios y libres de materiales innecesarios para el trabajo a realizar.

- Al circular por el laboratorio debe hacerlo con precaución y sin interrumpir el trabajo del resto de los analistas.

- No efectuar pipeteo con la boca, para ello utilizar una pro pipeta.

- No deje los medios de cultivo para esterilizar demasiado tiempo preparado antes de autoclavarlos, ya que pueden presentar alteraciones, sobre todo en épocas de calor.

- Asegúrese de que no haya posibilidad de equivocarse de canastillo, confundiendo uno sin autoclavar con uno que haya pasado por dicho proceso.

- Al introducir la carga de material a esterilizar, debe tener la precaución de dejar espacios holgados entre el material, evitando formar una masa muy compacta. La razón es permitir el libre flujo del vapor por todas las superficies del material y por otro lado disminuir el tiempo de precalentamiento. Mientras más grande y compacto es un cuerpo, más se tarda en llegar a su centro la temperatura deseada

- Nunca opere el autoclave si observa fugas de vapor o de agua. Busque solución a estos problemas.

- Revise regularmente los calefactores para asegurase que estén limpios, en buen estado y que se encuentren cubiertos de agua antes de comenzar el proceso.

- Antes de cerrar el autoclave asegúrese que la válvula de descarga de vapor no se encuentra obstruida.

- Para prevenir alteraciones en la composición de los medios de cultivo, no mantenga la presión durante mucho tiempo una vez apagado el autoclave, al mantenerlos por mucho tiempo a altas temperaturas suele alterara su calidad.

- Si se autoclavan medios de cultivo terminada la jornada de trabajo, estos deben ser sacados del autoclave. No deben quedar dentro hasta el día siguiente por posibles alteraciones que pueda producir el exceso de calor.

- Se debe poder verificar visualmente que un material determinado ha sido sometido a un proceso de esterilización. Para ello, en cada carga que se someta a un ciclo de esterilización, se utilizará una “cinta indicadora de esterilización en autoclave” (disponible comercialmente), la que se ubicará en el exterior del material.

- La cinta indicadora, que por efecto del calor, virará su color inicial a negro nos permitirá por tanto, identificar el material que fue sometido a esterilización, evitando de esta forma confundir el material no estéril con el estéril.

- Abra el autoclave según las instrucciones dadas.

## 8. REGISTROS.

- Registro de Resultados de Microbiología.
- Cuaderno protocolo según corresponda el análisis.

## 9. CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha | Descripción | Versión |
|---|---|---|
| 08-01-2019 | Oficialización del documento | V00 |