

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
UNAN - LEON
Facultad de Ciencias Químicas
Escuela de Ingeniería de Alimentos**



Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos.

Elaboración de documentos técnicos para el Aseguramiento de la Calidad en el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA) de la empresa Camarones de Nicaragua S.A (CAMANICA S.A)

Autor: Br. Francisco Javier Castillo Montoya.

Tutora: Msc. Brenda Cisneros Mairena

León, Mayo del 2007.

AGRADECIMIENTO

Antes que todo a Dios por su infinita misericordia y bondad por estar siempre en los momentos más difíciles.

A mi madre que siempre fue mi apoyo, por entregar la vida y el alma para que llegara a coronar mi carrera.

A mi hijita linda, bella que es mi fuerza y ganas de luchar en la vida y de salir adelante pese a todo los obstáculos que se presenten.

A mi esposa por siempre animarme en los momentos que parecía todo perdido.

A mi tutora por su paciencia y tiempo dedicado, cuando a pesar de sus responsabilidades apartaba un poco de tiempo para cumplir este propósito.

Francisco J. Castillo Montoya

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre (q,e,p,d) que siempre quiso que llegara a ser algo en la vida , aun recuerdo sus palabras hay que estudiar primero y después lo demás.

A mi madre por ser mi modelo de fuerza y lucha.

A mi niña Emily Fransseska por ser la alegría de mi vida.

Francisco J. Castillo Montoya

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
III. MARCO TEÓRICO.....	3
3.1 Normas ISO 9000.....	4
3.2 Normas 17025 Requisitos para laboratorios de ensayos.....	4
3.3 ¿Que aporta un sistema de gestión de calidad?.....	5
3.3.1 Etapas de control de calidad.....	5
3.3.2 Un sistema de gestion de la calidad requiere un control sobre:.....	6
3.4 El manual de políticas y procedimientos.....	6
3.4.1 Manual de calidad.....	6
3.4.2 Manual de procedimientos.....	7
3.4.2.1 Contenido típico del manual de procedimientos.....	8
3.4.3 Bioseguridad en el laboratorio de microbiología.....	10
3.4.3.1 Normas generales de bioseguridad en el laboratorio.....	10
3.4.3.2 Principios de Bioseguridad.....	11
3.4.4 Preparación de medios de cultivos.....	12
3.4.4.3 Ajuste del pH de los medios de cultivos.....	14
IV. METODOLOGIA.....	15
V. RESULTADOS	17
VI. CONCLUSIONES.....	18
VII. RECOMENDACIONES.....	18
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	20
IX. ANEXOS	
• MANUAL DE CALIDAD	
• MANUAL DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO	
• MANUAL DE BIOSEGURIDAD	
• MANUL DE PERSONAL	
• MANUAL DE PREPARACION DE MEDIOS	

I.-INTRODUCCION

La empresa Camarones de Nicaragua, S. A. (Camanica S.A.), es una de las principales empresas productoras y exportadoras de camarón en Nicaragua. CAMANICA S. A se ha venido consolidando como una empresa pionera en el cultivo de camarón a nivel nacional, con una importante participación en el rubro de exportaciones a nivel internacional. Posee un laboratorio para la producción de post larva con una capacidad mensual de cuarenta millones de camarón localizada en la playa de Las Peñitas en el departamento de León, la empresa también cuenta con granjas propias para cultivo de camarón y también explota granjas bajo riesgo compartido y alquiladas, todas distribuidas a lo largo de río Estero Real. Posee un amplio mercado en Estados Unidos de Norteamérica y Europa, exigente en cuanto a la calidad microbiológica de los productos que importan. Cuenta con el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA) donde se realizan ensayos microbiológicos, físicos-químicos e histopatológicos los que proporcionan datos para determinar si el camarón puede ser vehículo responsable de enfermedades gastrointestinales y contribuye en gran medida a identificar el origen de la contaminación.

El laboratorio DIAGNICA fue creado en 1998 tiempo después del huracán Mitch, su primer quehacer estuvo centrado en el estudio de bacterias que estaban presentes en los estanques, debido a los arrastres de agua provocados por las lluvias en los terrenos aledaños.

Desde su inicio el laboratorio se conformó por un equipo multidisciplinario que ha desarrollado diversas líneas de investigación en el área de microbiología directamente relacionados a la inocuidad del camarón, además se encuentra el área de Histopatología, que proporciona diagnósticos tempranos que reflejan la condición de salud del camarón que se cultiva en las granjas.

El laboratorio de microbiología alimentaria ocupa un lugar primordial entre los servicios analíticos, requiere para su correcto funcionamiento de un adecuado y constante control de calidad en cada una de las etapas del proceso que involucra el manejo de la muestra.

En general este control debe identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías relativas al cuidado de la muestra. En este contexto el control de calidad envuelve el monitoreo de los medios de cultivos, reactivos, instrumentos, procedimientos y el personal para asegurar una adecuada practica en el aislamiento, identificación y caracterización de posibles bacterias patógenas. El aseguramiento de la calidad en el laboratorio proporciona la fiabilidad de los resultados.

El principal objetivo de elaborar los documentos técnicos de calidad es que sirvan como documentos de soporte, facilitando así la total reproducibilidad del trabajo rutinario que realiza el personal del laboratorio DIAGNICA, además que funcione como material de consulta el cual brindará toda la información necesaria para tomar acciones correctivas cuando sea necesario o se presenten desviaciones en el trabajo cotidiano. La existencia del manual de procedimientos en el laboratorio provee ventajas como: tener credibilidad ante los clientes, desarrollar mayores ventajas competitivas frente a otros laboratorios, facilitar las auditorias que se le realizan al laboratorio por parte de los países importadores, es una herramienta útil para obtener la acreditación.

II.-OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Elaborar los documentos técnicos que soporten el Programa de Aseguramiento de la Calidad en el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA) de la empresa CAMANICA, S. A.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Elaborar un Manual de Calidad que contenga los elementos de calidad para vigilar y monitorear las actividades que efectúa el laboratorio DIAGNICA.
- Diseñar un Manual de Procedimiento Normalizados de Trabajo para los ensayos microbiológicos en el laboratorio DIAGNICA, Procedimiento para el Muestreo, Preparación y Manejo de Muestras, Procedimientos para el Lavado y Esterilización de Cristalería.
- Elaborar un Manual de Bioseguridad para el personal técnico del laboratorio con el fin de evitar accidentes.
- Diseñar un Manual de Higiene de Personal que describa el reglamento para el personal técnico que labora en el laboratorio.
- Estructurar un Manual de Preparación de Medios en el cual se indiquen las consideraciones y cuidados a tomar en esta etapa.

III. MARCO TEORICO

El cultivo del camarón en Nicaragua ha tenido auge en los últimos años, alcanzando, según datos del Ministerio de Agricultura, exportaciones de 7.5 millones de libras anuales, con un valor de 29.5 millones de dólares. La actividad acuícola es regida por normas sanitarias que permiten una producción de calidad capaz de competir en el mercado internacional.

Larveros de Nicaragua (LARVINIC) es el primer laboratorio de larvas que ha cumplido con los requisitos acuícola establecidos en la legislación de nuestro país regidas por el Ministerio Agropecuario y Forestal (MAGFOR) es Camarones de Nicaragua S.A. (CAMANICA), a la cual le fue entregada la certificación sanitaria. Esta extensión de la empresa se encuentra ubicada en las peñitas León. CAMANICA S.A. es una empresa productora y procesadora de camarón congelado en distintas presentaciones, cuenta con un sistema de control de calidad tanto físico, químicos que incluye las tallas el nivel de meta bisulfito en el camarón, la calidad de agua, las temperaturas etc. así como el control microbiológico que asegura que el producto procesado y cosechado posee la calidad requerida para su comercialización a nivel nacional como a nivel internacional, ya que la empresa cuenta con clientes a nivel internacional que exigen buena calidad química y microbiológica.

El laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA) es un laboratorio que tiene sus instalaciones ubicadas en la empresa Camanica S.A. Es el encargado de monitorear la calidad microbiológica de todo el ciclo productivo del camarón desde la preparación de los estanques de cultivo, muestras de precosecha, análisis de producto fresco y terminado.

El objetivo primordial del laboratorio es detectar bacterias patógenas en el camarón (*Salmonella*, *Shiguella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrios: parahaemolyticus*, *vulnificus*, *alginolyticus*, *cholerae*), consideradas indicadores de peligro al ser humano y por lo tanto limitadoras del mercado internacional. Por esta razón realiza ensayos microbiológicos al Laboratorio de Larvas (Larvinic), en los cuales evalúa las aguas de todos los estanques sembrados con larvas, el macerado de nauplios, las aguas de salida de playa, pila de oxidación, mar, reservorio; a las granjas en todos los estanques (dos veces, una al inicio y otra al final del ciclo), reservorio, efluente, estero, precosecha; en planta al producto fresco y producto terminado, personal, bodega, cafetín, cocina.

Camanica S.A. procesa camarón en presentaciones de camarón entero, camarón cola o Shell-on y valor agregado (pelado y descabezado). Con una composición nutricional del camarón de: proteínas 22 %, Carbohidratos 7%, Calcio 4%, grasa total 2%, Grasa saturada 0%, Colesterol 54%, y sus Características Físico-Químicas son: Ph 4.5-6.5, Temperatura 0.5-15 °C, Sulfitos (SO₂) 100-150 ppm

El camarón tiene una vida útil de 18 meses en refrigeración a -18 °C. Existen muchas formas de contaminar el producto con microorganismos patógenos empezando con la calidad del agua, la cosecha, hasta la manipulación del producto en la planta, por esto es necesario realizar análisis microbiológicos que aseguren que el camarón ha sido tratado en condiciones óptimas, y asegurar mediante los resultados de los análisis que este esta exento de microorganismos que pueden dañar la salud del consumidor. (14)

El laboratorio de microbiología moderno requiere para su correcto funcionamiento de un adecuado y constante control de calidad sobre todas las etapas, manejo y reporte de los análisis realizados a las muestras, en este contexto el control de calidad en microbiología envuelve el monitoreo de los medios de cultivo, reactivos, instrumento, procedimiento y el personal para asegurar una adecuada práctica en el aislamiento, identificación y caracterización de agentes etiológicos.

3.1 Normas ISO 9000

Es una norma internacional de calidad que emplean algunas empresas, según la ISO 9001 (Sistemas de gestión de la calidad: requisitos) es el resultado de una actitud energética y comprometida, de esfuerzos sinceros, de una ejecución talentosa. Representa la mejor elección entre muchas alternativas.

Antiguamente la calidad era medida en el proceso final de un producto o servicio, lo que persigue la ISO 9000 es involucrar todo el proceso de producción, desde el desarrollo de la idea. Este sistema de calidad alcanza a toda una organización, esta enfocada a dar confianza al cliente, las partes interesadas son el cliente y el proveedor.

La certificación ISO 9000 tiene las siguientes ventajas:

- La confianza reforzada entre los actuales y potenciales clientes en la capacidad de la empresa para suministrar en forma consistente los productos y/o servicios acordados.
- La verificación de esta capacidad es efectuada por un organismo independiente.
- Existe una mejor posición competitiva.
- La auditoria externa que implica la certificación según ISO 9000, permite identificar oportunidades de mejoramiento del sistema de calidad.
- Es posible sustituir las auditorias de calidad de cada uno de los clientes por la efectuada por un solo organismo idóneo.
- Ayuda a su vez en los procesos de mejoramiento de la calidad iniciados por los clientes.
- Produce un mejoramiento en la motivación y en el trabajo en equipo del personal ya que la certificación es la resultante del esfuerzo colectivo.
- La norma ISO 9000 tiene las siguientes desventajas:
- Requieren gran esfuerzo y tiempo para lograr el objetivo.
- El sistema origina cierta burocracia.(3)

3.2 Norma 17025 Requisitos para laboratorios de ensayos.

La norma 17025 es una norma para determinar la competencia técnica de un laboratorio. La acreditación de laboratorio ISO 17025 es el criterio que usan los laboratorios para demostrar la capacidad técnica de realizar métodos de pruebas específicos; generar los datos de calibración válidos, resultados de las pruebas, y operar un sistema de calidad efectivo. La ISO 17025 se aplica a cualquier organización que desee asegurar a sus clientes de su precisión, exactitud y capacidad de repetición de resultados. (8)

En la calidad es importante considerar las características del producto que se ofrece y las necesidades de los clientes y lo que ambos esperan como calidad.

- Satisfacer plenamente las necesidades del cliente

- Cumplir las expectativas del cliente y algunas más.
- Despertar nuevas necesidades del cliente.
- Lograr productos y servicios con ceros defectos.
- Diseñar, producir y entregar un producto de satisfacción total.
- Producir un artículo o servicios de acuerdo a las normas establecidas.
- Dar respuesta inmediata a las solicitudes de los clientes.
- Una categoría tendiente siempre a la excelencia.

Para un laboratorio la calidad supone conseguir resultados conforme a una norma de actuación basadas en que todo debe estar protocolizado y que todas nuestras acciones deben estar documentadas.

El sistema de control es un proceso a través del cual se asegura el logro de los objetivos adoptando las correcciones necesarias a las desviaciones de la ejecución con respecto a los planes formulados, a las instrucciones emitidas y a los principios establecidos. También se debe cerciorar que los hechos vayan de acuerdo con los planes establecidos. El aseguramiento de la calidad en el laboratorio tiene como objetivo que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad de conformidad con los límites establecidos. Además de las actividades que se realizan para identificar el origen de las variaciones significativas y para minimizar sus efectos sobre la validez de los resultados se deben establecer programas intralaboratorios con el objeto de evaluar el grado de confianza que se puede tener en los resultados de análisis, así como para identificar las áreas analíticas que requieren mayor atención. El analista es responsable de la calidad de los resultados que lleva a cabo sobre cada muestra que examina, debe tener un amplio conocimiento sobre los métodos de análisis y aplicar estos tal y como están descritos, incluyendo las practicas y los controles necesarios. Es su deber informar de todos los hechos importantes que pueden afectar la información correcta de los resultados.

3.3 ¿Que aporta un sistema de gestión de calidad?

- Definición de funciones y responsabilidades
- Definición de objetivos
- Definición de pautas de actuación
- Transparencia
- Detección precoz de fallos
- Corrección de deficiencias
- Sistematizar el análisis de datos, la corrección y la mejora continua
- Cambio cultural

3.3.1 Etapas del control de calidad

Establecimiento de normas estándares: Las normas son criterios establecidos con los cuales se pueden medir los resultados reales, estos son criterios o estándares pueden ser relativas a las áreas jurídicas o administrativas, así tenemos normas legales, reglamentarias, estándares físicos o monetarios, etc.

Medición de la ejecución de acuerdo con los estándares: Consiste en la valoración de los hechos o actividades de acuerdo con los estándares establecidos. Puede suceder que

existan actividades difíciles de medir, para las cuales sea complicado desarrollar estándares, en tal caso será de utilidad efectuar una evaluación de la ejecución o una evaluación general a través de algunas herramientas de administración.

Comparación entre lo real y lo programado: Las mismas herramientas y otras técnicas de administración permiten revelar las desviaciones con respecto a las normas o estándares, esta comparación se efectúa tanto internamente con la propia administración, como externamente a través de las revisiones por parte de los organismos externos de control. Lo fundamental de esta etapa, es determinar las causas de los desajustes a fin de rectificarlos e impedir que se produzcan las mismas deficiencias.

Corrección de las desviaciones: Esta no es una fase solo de control, por cuanto al ejecutarla intervienen además aquellas funciones en las cuales recaen las medidas correctivas, se puede corregir reorientando planes o modificando metas, o mediante el ejercicio de las funciones asignando o aclarándolas, o bien a través de una mejor dirección impartiendo ordenes o haciendo cumplir las disposiciones legales o reglamentarias, de modo que se asegure en la mejor forma el logro de los objetivos de la institución. Las medidas correctivas que se formulen deben fundamentarse en los principios básicos de control interno y las normas legales que rigen la acción de la entidad.

Certificación de un sistema de calidad: La certificación es el procedimiento por el cual una tercera parte garantiza por escrito que un producto, proceso o servicio, cumple con los requisitos especificados o explícitos. La tercera parte es una entidad sin ánimo de lucro acreditada por la entidad nacional de acreditación (ENAC) para dichas funciones, de certificación.

La norma en vigor es la denominada ISO 9001: 2000 “Sistema de gestión de calidad”. Requisitos con enfoque hacia la mejora continua y la satisfacción del cliente. Es recomendable que exista un responsable de la calidad, que es el que se encarga de la puesta en marcha y control de sistema, con apoyo de la dirección- gerencia (de ahí una de las dificultades de su implantación en el sistema público sanitario) y de la redacción de un manual de calidad.

3.3.2 Un sistema de gestión de la calidad requiere un control sobre:

- Las muestras (Características requeridas a las muestras que se envían para estudio)
- Los procesos (identificación de muestras, quien informa, quien puede hacer modificación, documentación escrita, procedimientos operativos o normalizados de trabajo “PNTs” de todos los procesos de laboratorio),
- La identificación y trazabilidad de los resultados (El sistema debe garantizar que se puede conocer en cualquier momento, con los registros realizados donde está el origen de error).
- Los resultados erróneos o no conformes (Tanto preanalíticos, error de asignación de numeración, como resultados anómalos derivados del propio análisis)
- El sistema (acciones correctivas y preventivas),
- Los equipos de medición (Teniendo en documento de funcionamiento y manteniendo de cada equipo, así como un protocolo de calibración).

La certificación ISO 9000 del sistema de la calidad de un laboratorio no esta relacionada con la calidad científica de los resultados de la entidad certificada, tampoco garantiza la competencia técnica del personal. un laboratorio puede estar certificado y disponer de métodos obsoletos o no aceptado en microbiología. Esto es posible, pero difícil, ya que normalmente se trata de los laboratorios dirigidos por personas calificadas que pueden aglutinar alrededor de sus proyectos a gran cantidad de buenos profesionales. Esto puede ser demostrado en parte, por la acreditación

Para asegurar la calidad de una empresa o en este caso de un laboratorio se deberá seguir un orden determinado de procedimientos que haga constar que el método empleado es el correcto, por esto toda empresa debe tener como soporte un manual de procedimiento que asegure todo lo anterior.

3.4 Manual de políticas y procedimientos

Son documentos técnicos que contienen todas las políticas y procedimientos relacionados con el funcionamiento y operación del área correspondiente y con la forma que interactúa con las demás áreas de la organización. (15)

3.4.1 Manual de calidad

El propósito primario del manual de calidad es proveer la adecuada descripción del sistema de calidad mientras sirve como referencia permanente en la implementación y mantenimiento de sistema. Este manual debe ser continuamente revisado y actualizado de acuerdo a la dinámica de evolución de los conocimientos científicos y de los procesos tecnológicos de forma tal de perfeccionar el sistema de calidad.

Es responsabilidad del director o jefe del laboratorio, el establecer, implementar y hacer cumplir el manual de calidad. La calidad es responsabilidad de todo el personal de laboratorio. (15)

Según el diccionario lo define como un libro que contiene lo más sustancial de un tema, y en este sentido, los manuales son vitales para incrementar y aprovechar el cúmulo de conocimientos y experiencias de personas y organizaciones.

Los manuales son una de las mejores herramientas administrativas, porque le permite a cualquier organización normalizar su operación. La normalización es la plataforma sobre la que se sustenta el crecimiento y el desarrollo de una organización, dando la estabilidad y solidez.

3.4.2 Manual de procedimientos

Es un documento que contiene la descripción de actividades que debe seguirse en la realización de las funciones de una unidad administrativa, o de dos o más de ellas. Incluye además los puestos o unidades administrativas que intervienen precisando su responsabilidad y participación.

Utilidad

- Permite conocer el funcionamiento interno por lo que respecta a descripción de tareas, ubicación, requerimientos y a los puestos responsables de su ejecución.
- Auxilian en la inducción del puesto y al adiestramiento y capacitación del personal ya que describen en forma detallada las actividades de cada puesto.

- Sirve para el análisis o revisión de los procedimientos de un sistema
- Interviene en la consulta de todo el personal.
- Que se desee emprender tareas de simplificación de trabajo como análisis de tiempos, delegación de autoridad, etc.
- Para establecer un sistema de información o bien modificar el ya existente.
- Para uniformar y controlar el cumplimiento de las rutinas de trabajo y evitar su alteración arbitraria.
- Determina en forma más sencilla las responsabilidades por fallas o errores.
- Facilita las labores de auditoria, evaluación del control interno y su evaluación.
- Aumenta la eficiencia de los empleados, indicándoles lo que deben hacer y como deben hacerlo.
- Ayuda a la coordinación de actividades y evitar duplicidades.
- Construye una base para el análisis posterior del trabajo y el mejoramiento de los sistemas, procedimientos y métodos.

3.4.2.1 Contenido típico del manual de procedimientos

3.4.2.1.1 Identificación

Este documento debe incorporar la siguiente información:

Logotipo de la organización.

Nombre oficial de la organización.

Denominación y extensión. De corresponder a una unidad en especial debe anotarse el nombre de la misma.

Lugar y fecha de elaboración.

Numero de revisión en su caso.

Unidades responsables de su elaboración, revisión, y/o autorización.

Clave de la formas. En primer termino, las siglas de la organización, en segundo lugar las siglas de la unidad administrativa donde se utiliza la forma y, por ultimo, el número de la forma. Entre las siglas y el número debe colocarse un guión o diagonal.

3.4.2.1.2 Índice o contenido

Relación de los capítulos y páginas correspondientes que forman parte del documento.

3.4.2.1.3 Prologo y/o introducción.

Exposición sobre el documento, su contenido, objeto, areas de aplicación e importancia de su revisión y actualización. Puede incluir un mensaje de las máximas autoridad de las areas comprendidas en el manual.

3.4.2.1.4 Objetivos de los procedimientos

Explicación del propósito que se pretende cumplir con los procedimientos.

Los objetivos son uniformar y controlar el cumplimiento de las rutinas de trabajo y evitar su alteración arbitraria; simplificar la responsabilidad por fallas o errores; facilitar las labores de auditoria, la evaluación del control interno y su vigilancia; que tanto los empleados y sus jefes conozcan si el trabajo se esta realizando adecuadamente; reducir los costos al aumentar la eficiencia general, además de otras ventajas adicionales.

3.4.2.1.5 Areas de aplicación y/o alcance de los procedimientos.

Esfera de acción que cubren los procedimientos.

3.4.2.1.6 Responsables

Unidades administrativas y/o puestos que intervienen en los procedimientos en cualquiera de sus fases.

3.4.2.1.7 Políticas o normas de operación.

En esta sección se incluyen los criterios o lineamientos generales de acción que se determina en forma explícita para facilitar la cobertura de responsabilidad de las distintas instancias que participan en los procedimientos.

3.4.2.1.8 Conceptos

Palabras o términos de carácter técnico que se emplean en el procedimientos, las cuales, por su significado o grado de especialización requiere de mayor información o ampliación de su significado, para hacer más accesible al usuario la consulta del manual.

3.4.2.1.9 Procedimiento (descripción de las operaciones).

Presentación por escrito, en forma narrativa y secuencial, de cada una de las operaciones que se realizan en un procedimiento, explicando en que consiste, cuando, como, donde, con que, y cuanto tiempo se hacen, señalándose los responsables de llevarlos a cabo.

3.4.2.1.10 Formulario de impresos.

Formas impresas que se utilizan en un procedimiento, las cuales se dentro del mismo o se adjuntan como apéndices.

3.4.2.1.11 Diagramas de flujo.

Representación grafica de la sucesión en que se realizan las operaciones de un procedimiento y/o el recorrido de formas o materiales, en donde se muestran las unidades administrativa, o los puestos que intervienen en cada operación descrita. Además suelen hacer mención del equipo o recursos utilizados en cada caso. Los diagramas representados en forma sencilla y accesible en el manual, brinda una descripción clara de las operaciones, lo que facilita su comprensión. Para este efecto es aconsejable el empleo de símbolos y/o gráficos simplificados.

3.4.2.1.12 Glosarios de términos

Lista de conceptos de carácter técnico relacionados con el contenido y técnicas de elaboración de los procedimientos, que sirven de apoyo para su uso o consulta. (9)

3.4.3 Bioseguridad en el laboratorio de microbiología

Durante el trabajo diario de la sección de microbiología, se dan situaciones de potenciales riesgos que varían según el agente infeccioso y los procedimientos utilizados. Las Normas de Bioseguridad pretenden reducir a un nivel aceptable el riesgo inherente a la manipulación de material peligroso.

El trabajo en el laboratorio de microbiología es, como en la mayoría de las otras secciones del Laboratorio, un trabajo de grupo. La actitud ante las practicas seguras de cada uno de los integrantes del equipo, determinan su propia seguridad, así como la de sus compañeros y la de la colectividad del Laboratorio.

Por otra parte, el equipamiento y el diseño del Laboratorio de Microbiología es parte fundamental en el esfuerzo de protección de los empleados en el ejercicio de sus labores.

Un programa de seguridad gestionado por profesionales bien entrenados, con un alto grado de participación por parte de los trabajadores, puede llevar no sólo a una disminución del número de lesiones y enfermedades, sino también a un incremento de la satisfacción del trabajador y de su productividad.

El propósito de este Manual es describir la metodología a seguir en un programa de Bioseguridad en microbiología, tal que sea una guía para el trabajo seguro en el laboratorio que envuelve microorganismos potencialmente peligrosos.

3.4.3.1 Normas generales de bioseguridad en el laboratorio:

La peligrosidad de un agente está directamente relacionada con el tipo de microorganismo y la manipulación a la que es sometido. Por ello es básico:

- Conocer los agentes, sustancias y productos peligrosos que existen en el laboratorio.
- Conocer la metodología de trabajo del laboratorio.
- Conocer el equipamiento del laboratorio.
- Conocer las medidas a tomar en caso de emergencia.
- Conocer las **leyes** relacionadas con la seguridad biológica.
- Respetar y hacer cumplir todo lo anterior.

Para que se produzca un accidente por agente biológico deben concurrir básicamente cuatro elementos:

- Un huésped susceptible
- Un agente infeccioso.
- Una concentración suficiente de este
- Una ruta de transmisión apropiada

De todos ellos, el que mejor se puede controlar en el laboratorio es la ruta de transmisión.

Las rutas de transmisión más comunes en el laboratorio son la aérea y la inoculación directa, muy por encima de todas las demás, aunque la oral, la percutánea y el contacto directo con la piel o las mucosas también son posibles.

3.4.3.2 Principios de Bioseguridad

El término “contención” se utiliza para describir métodos seguros para manejar materiales infecciosos en el medio ambiente del laboratorio donde son manipulados o conservados. El objetivo de la contención es reducir o eliminar la exposición de quienes trabajan en laboratorios u otras personas, y del medio ambiente externo a agentes potencialmente peligrosos.

La contención primaria, la protección del personal y del medio ambiente inmediato del laboratorio de la exposición a agentes infecciosos, es provista tanto mediante buenas técnicas microbiológicas como a través del uso de equipos de seguridad adecuados.

La contención secundaria, la protección del medio ambiente externo al laboratorio de la exposición a materiales infecciosos, se logra a través de una combinación del diseño de la instalación y prácticas operativas. Por lo tanto, los tres elementos de contención incluyen prácticas y técnicas de laboratorio, equipos de seguridad y el diseño de la instalación. La evaluación del riesgo del trabajo a realizar con un agente específico determinará la combinación apropiada de estos elementos.

3.4.3.2.1 Prácticas y Técnicas de Laboratorio.

El elemento más importante de la contención es el cumplimiento estricto de las prácticas y técnicas microbiológicas estándar. Las personas que trabajan con agentes infecciosos o materiales potencialmente infectados deben conocer los riesgos potenciales, y también deben estar capacitados y ser expertos en las prácticas y técnicas requeridas para manipular dichos materiales en forma segura. El director o la persona a cargo del laboratorio es responsable de brindar u organizar la capacitación adecuada del personal.

Cada laboratorio está obligado a desarrollar o adoptar un manual de operaciones o de bioseguridad que identifique los riesgos que se encontrarán o puedan producirse, y que especifique las prácticas y procedimientos destinados a minimizar o eliminar las exposiciones a estos riesgos. Se debe alertar al personal acerca de los riesgos especiales y se le debe exigir que lea y cumpla las prácticas y procedimientos requeridos de seguridad y riesgos asociados a la manipulación de agentes infecciosos debe ser el responsable de la conducción de los trabajos con cualquier agente o material infeccioso. Esta persona tiene la obligación de consultar a profesionales especializados en bioseguridad u otros profesionales de la salud y seguridad respecto de la evaluación del riesgo.

Cuando las prácticas de laboratorio estándar no son suficientes para controlar los riesgos asociados a un agente o a un procedimiento de laboratorio particular, quizás sea necesario aplicar medidas adicionales. El director del laboratorio es responsable de seleccionar prácticas de seguridad adicionales, que deben guardar relación con los riesgos relacionados con el agente o procedimiento.

El personal, las prácticas de seguridad y las técnicas de laboratorio tienen que complementarse con un diseño de instalación y características de ingeniería, equipos de seguridad y prácticas de manejo adecuadas.

3.4.3.2.2 Equipos de Seguridad (Barreras Primarias).

Los equipos de seguridad incluyen gabinetes de seguridad biológica (BSCs), recipientes cerrados, y otros controles de ingeniería destinados a eliminar o minimizar las exposiciones a materiales biológicos peligrosos. El gabinete de seguridad biológica (BSC) es el dispositivo principal utilizado. Los equipos de seguridad pueden también incluir elementos de protección personal, tales como guantes, ambos, delantales, cobertores de zapatos, botas, respiradores, máscaras faciales, anteojos de seguridad o antiparras. Los equipos de protección personal se utilizan en general en combinación con gabinetes de seguridad biológica y otros dispositivos que contienen los agentes, animales o materiales que se manipulan. En algunas situaciones en las cuales resulta poco práctico trabajar en gabinetes de seguridad biológica, los equipos de protección personal pueden formar la barrera primaria entre el personal y los materiales infecciosos.

3.4.3.2.3 Diseño y Construcción de Instalaciones (Barreras Secundarias)

El diseño y la construcción de la instalación contribuyen a la protección de quienes trabajan en el laboratorio, proporcionan una barrera para proteger a las personas que se encuentran fuera del laboratorio, y protegen a las personas o animales de la comunidad de agentes infecciosos que pueden ser liberados accidentalmente del laboratorio. La gerencia del laboratorio es responsable de la provisión de instalaciones que guarden relación con la función del laboratorio y el nivel de bioseguridad recomendado para los agentes que se manipulan.

La barrera o barreras recomendadas dependerán del riesgo de transmisión de los agentes específicos. Por ejemplo, los riesgos de exposición de la mayor parte del trabajo en instalaciones del nivel de Bioseguridad 1 y 2 serán el contacto directo con los agentes o exposiciones a contactos inadvertidos a través de medio ambientes de trabajo contaminados. Las barreras secundarias en estos laboratorios pueden incluir la separación del área de trabajo del laboratorio del acceso al público, la disponibilidad de una sistema de descontaminación (por ejemplo, autoclave) e instalaciones para el lavado de las manos. (4)

3.4.4 Preparación de medios de cultivos.

Los medios de cultivo deshidratados se preparan, salvo pocas excepciones, como granulado.

A partir de las correspondientes materias primas y mediante molienda y mezclado se prepara en primer lugar una mezcla homogénea, finamente pulverizada. Esta mezcla se somete posteriormente al proceso de granulación. Ello supone aglutinar la mezcla polvorienta en pequeños grumos (granulado), consiguiéndose simultáneamente una gran reducción de su contenido en humedad.

Los medios de cultivo en forma de granulado ofrecen una serie de ventajas frente a los tradicionales medios de cultivo en polvo:

- La escasísima liberación de partículas (producción de polvo) durante la manipulación, reduciendo considerablemente la alergenización o respiración de sustancias tóxicas.
- La mayor fluidez del producto impide su adherencia a las paredes de recipientes y aparatos. La pesada resulta más fácil.
- Buena humectabilidad del granulado con agua, lo cual acelera los procesos de suspensión o de disolución. No se forman grumos difícilmente solubles.
- La distribución física homogénea de los componentes de la fórmula y el mantenimiento de dicha distribución en el granulado también son valiosos cuando el almacenamiento haya de ser prolongado. Gracias a ello no se producen efectos indeseables de desmezclamiento.
- Mejor conservación, favorecida por el escaso contenido en humedad, en el envase de vidrio, como protección frente a la entrada de vapor de agua, la distribución uniforme y constante de los componentes de la fórmula.

Debido a su particular composición, algunos medios de cultivo se presentan como granulado muy fino. También para estos medios de cultivo se aplican las ventajas ya citadas, en especial las relativas a la fluidez y distribución homogénea de sus componentes.

3.4.4.1 Disolución del medio de cultivo deshidratado

Para la preparación de medios de cultivo se utiliza agua limpia, recién destilada o recién desmineralizada y cuya reacción sea lo más cercana posible al pH neutro.

Los recipientes destinados a la preparación se limpiarán escrupulosamente con agua con el fin de eliminar totalmente eventuales residuos de otras sustancias. Los recipientes destinados a la preparación de medios de cultivo deben ser lo suficientemente grandes para que el medio pueda ser agitado con facilidad y concienzudamente. No se prepararán más de 1-2 litros por recipiente. Al medio de cultivo deshidratado y pesado se le añade una pequeña cantidad de agua para saturarlo y se agita suficientemente para conseguir una suspensión homogénea. Después se incorpora la cantidad de agua restante, aprovechando esta adición para desprender e incorporar al conjunto las partículas de medio de cultivo que hubieran quedado adheridas a la pared interna del recipiente.

Todo tipo de medio de cultivo es sensible al calentamiento. Por este motivo, no debe calentarse más de lo estrictamente necesario.

Los medios nutritivos que no contienen agar ni gelatina se pueden disolver ya, por lo general, en agua fría o bajo ligero calentamiento. A fin de obtener una preparación adecuada se recomienda hacer uso de estas indicaciones.

Los medios nutritivos que contienen agar o gelatina deben ser calentados para conseguir su disolución. Este calentamiento se realiza en bañomaría o en marmita de vapor (por ejemplo, autoclave sin sobrepresión). En el caso de medios de cultivo que no deban ser sometidos a ulterior esterilización en autoclave es imprescindible prestar atención a su disolución completa. Puede reconocerse que se ha alcanzado

este grado cuando, al agitar, no se adhiere a la pared interna del recipiente partícula alguna de agar y la solución, viscosa, resbala libremente.

Algunos medios de cultivo muestran una turbidez inevitable (entre otros, por ejemplo, el Agar-bismuto-sulfito). Para estos medios hay que procurar una turbidez homogénea, distribuyendo lo mejor posible las partes insolubles.

3.4.4.2 Almacenamiento

Dentro de lo posible, los medios de cultivo deshidratados deberán conservarse en lugar seco, protegidos contra la luz, a una temperatura de +15 °C hasta +30 °C y en envases siempre bien cerrados. Inmediatamente después de retirar de los envases la cantidad de medio de cultivo que se necesite, deberán cerrarse éstos de nuevo firmemente. Bajo condiciones óptimas de almacenamiento, la mayoría de los medios de cultivo deshidratados - mantenidos cerrados en sus envases originales o después de abrirlos por primera vez, conservan sus cualidades durante 5 años, como mínimo, a partir de su fabricación.

3.4.4.3 Ajuste del pH de los medios de cultivos.

Cuando se utiliza agua neutra para su preparación, los medios de cultivo deshidratados muestran el valor de pH indicado para cada uno de ellos, a la temperatura de incubación prescrita en cada caso. A pesar de todo, se recomienda comprobarlo, sobre todo en el caso de lotes no recientes, y proceder a su corrección si fuera necesario.

El valor del pH depende mucho de la composición del medio de cultivo, de la temperatura que tenga este medio de cultivo en el momento de su medición y del tratamiento a que se haya sometido dicho medio de cultivo durante su obtención (disolverlo, esterilizarlo). Por este motivo, la medición del pH se hace después de la esterilización. En los medios de cultivo sólidos, la medición del pH se realiza a 45-50 °C y en los medios nutritivos líquidos se hace a temperatura ambiente. (6)

IV.-METODOLOGIA

El estudio desarrollado es de tipo descriptivo tomando como unidad de análisis en el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (Diagnica) de la empresa Camarones de Nicaragua S.A. (CAMANICA S.A.) ubicada en Km. 130 carretera León – Chinandega.

Fuentes de información:

Fuente primaria: Círculo de calidad constituido por el director, responsable y asistentes de laboratorio, quienes aportaron la descripción de los diferentes procedimientos y test de ensayos oficiales realizados de forma rutinaria en el laboratorio, utilizando para tal fin la lluvia de ideas.

Fuentes secundarias: Revisión bibliográfica de la documentación técnica necesaria la cual fue encontrada en libros de textos, manuales e Internet.

Variables de estudio: Para la conformación de la documentación técnica del programa de aseguramiento de la calidad del laboratorio Diagnica, se contemplo la elaboración de manuales considerados las variables de estudio:

- Manual de Calidad
- Manual de Procedimiento Normalizados de Trabajo
- Manual de Bioseguridad
- Manual de Personal
- Manual de Preparación de Medios

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

	Variables	Descripción
Aseguramiento de la calidad en el Laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA)	Manual de calidad	Describe las funciones y responsabilidades y engloba todos los elementos necesarios para asegurar la calidad en el laboratorio.
	Manual de procedimientos normalizados de trabajo	Describe los procedimientos normalizados de trabajo: <ul style="list-style-type: none"> • PNT Salmonella • PNT Shigella • PNT Recuento de mesofilas aerobias • PNT Recuento de enterobacteriaceae • PNT E.Coli • PNT Staphylococcus aureos • PNT Vibrio cholerae • PNT Vibrio vulnificus • PNT Vibrio alginolyticus • PNT Vibrio parahaemolyticus PNT Coliformes fecales • Procedimientos para el muestreo • Procedimientos para el lavado y esterilización de cristalería

Aseguramiento de la calidad en el Laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA)	Manual de bioseguridad	Se refiere directamente a la salud de los miembros del laboratorio, las condiciones que se les brinda, el equipo que se les proporciona, y como deben actuar en el trabajo.
	Manual de personal	Puntualiza las reglas obligatorias que deben de seguir el personal del laboratorio.
Manual de preparación de medios	Brinda las directrices de cómo deben preparar los medios de cultivo que se necesitan para los test de ensayos que se realizan en el laboratorio DIAGNICA.	

V.- RESULTADOS

Es importante destacar que la participación del grupo de trabajo conformado por el director del laboratorio, responsable del laboratorio y asistentes, fue esencial para la elaboración de estos documentos, lo que demuestra el compromiso de todos para garantizar la calidad del laboratorio.

Este proceso de consulta participativa dio como resultado los documentos que conforman el programa de Aseguramiento de la Calidad los cuales están contenidos en los manuales de control de calidad, procedimientos normalizados de trabajo, bioseguridad, higiene del personal, preparación de medios para el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua (DIAGNICA) los cuales se encuentran en la parte de anexo y se detallan a continuación:

Se elaboró el Manual de Calidad el cual engloba la calidad como un todo en las diferentes actividades del laboratorio, desde la manipulación de la muestra, los ensayos microbiológicos, equipos, infraestructura del laboratorio.

Los tipos de ensayos que los clientes piden en el extranjero están descritos en el Manual de Procedimientos Técnicos Normalizados el cual se refiere directamente a los ensayos microbiológicos que se realizan a las muestras, las consideraciones que se deben tener en cuenta en el manejo y tratamiento de la muestra una vez que ingresa al laboratorio. También describe los ensayos para la identificación de *Salmonella ssp*, *Shigella ssp*, *E.coli*, *Enterobacteriaceae*, recuento total de anaerobias mesofilas a 30 °C, *Staphylococcus aureus*, y los vibrios: *cholera*, *vulnificus*, *parahaemolyticus*, *alginolyticus*, coliformes: totales y fecales.

En el laboratorio de microbiología es importante la higiene del personal y la higiene con que realiza sus funciones por eso se elaboró el Manual de Higiene de Personal que describe todo el equipo y materiales de protección necesarios, cuándo y cómo usarlos en las diferentes actividades que se realizan en el laboratorio, además de los cuidados que debe tener el personal del laboratorio antes y durante este realizando los ensayos microbiológicos.

En el Manual de Bioseguridad se encuentran todas las reglas que debe cumplir el personal técnico del laboratorio para conservar su propia seguridad, pues de lo contrario en caso de que exista violación a estas reglas el personal técnico puede infectarse con algún tipo de bacteria patógena (riesgo biológico) además se describen los riesgos físicos, químicos y el manejo de los diferentes desechos (sólidos, líquidos, cortopunzantes) que genera el laboratorio.

En el Manual de Preparación de Medios de Cultivos se proporcionan todas las pautas necesarias para la elaboración de estos como la metodología de trabajo, equipos y materiales de trabajo, Consideraciones a tomar en la preparación de medios, Conservación de medios preparados, todo con el fin de orientar al personal que participa en la elaboración de medios de cultivos.

VI.- CONCLUSIONES

Los documentos técnicos para el Aseguramiento de la Calidad en el laboratorio Diagnósticos de Nicaragua de la empresa Camarones de Nicaragua S.A. (CAMANICA S.A.) contiene todas las orientaciones y medidas dirigidas a toda persona que este relacionada con la funcionalidad del laboratorio, además muestra las pautas necesarias para su implementación y control.

Podemos afirmar que:

El Manual de Calidad establece la responsabilidad y compromiso del personal del laboratorio Diagnica, para asegurar la calidad de los resultados.

El Manual de Procedimientos Normalizado de Trabajo, establece los procedimientos encaminados a la obtención de resultados confiables.

El Manual de Bioseguridad para el personal del laboratorio describe las medidas que deben tomar el personal frente a situaciones de peligro con el fin de evitar accidente y daños al personal.

El Manual de Higiene del Personal señala la responsabilidad y los procedimientos a seguir por el personal del laboratorio Diagnica de mantener las condiciones de higiene tanto propias como del ambiente de trabajo.

Con el Manual de Preparación de Medios de Cultivo se pretende que el personal este instruido y capacitado en todo lo que se relaciona a la preparación de medios de cultivos adecuados para la realización de los test de ensayos, la calidad final de estos depende en gran medida del tipo de medio con que se comience a trabajar.

La utilidad primordial de estos es que sirvan de guía en las actividades que se realizan en el laboratorio, con la aplicación de estos manuales el laboratorio estará mejor preparado para las auditorias que realicen entidades internas y externas, además que tendrá ventajas competitivas frente a otras instituciones que ofrezcan los mismos servicios.

VII.- RECOMENDACIONES

- Revisar los manuales como mínimo una vez al año para actualizarlo con los cambios que se presenten, en todo lo relacionado con medios de cultivo, nuevas presentaciones y forma de preparación, ensayos aprobados requeridos para satisfacer las exigencias de los clientes
- Al preparar los medios de cultivos realizar todas las etapas del ensayo con medios de la misma casa comercial, ya que cada casa tiene sus propias características.
- Si hay algún cambio en cualquiera de los manuales comunicarlo por escrito al personal técnico del laboratorio.
- Capacitar al personal de nuevo ingreso conforme se establece en la norma 17025
- Realizar auditoria interna de forma periódica para garantizar que los procedimientos se realizan conforme a lo establecido en el manual

VIII.-BIBLIOGRAFIA

- 1) AOAC Arlington, V A. 2003 15 th ed. Association of Official Analytical Chemists, Official method of Analysis
- 2) Frances Pouch Downes Keith Ito, 2006, Compendium of Methods the Microbiological Examination of foods Fourth Edition, Edited by Edited by American Public Health Association. Government of Canada.
- 3) Guía y requisitos en la documentación de ISO 9001:2000 tercera edición
- 4) Campton, H 2004, manual de bioseguridad para laboratorios de microbiología. cuarta edición
- 5) Marroum, H 2001, Guía practica en la preparación de medios de de cultivos Para los ensayos editado por remel.
- 6) Merk, 2006, manual para la preparación de medios de cultivos, quinta edición.
- 7) Marti, M.C, 1999 Bioseguridad en laboratorios de microbiología Editorial Prisma.
- 8) Norma internacional ISO/IEC 17025 2005-05-15
- 9) Norman Lauder, 2001, manual de gestión de calidad editado por AMMAN.
- 10) NTON 05015-01 para el manejo y eliminación de residuos sólidos peligrosos.
- 11) NTON 05014-01 para el manejo y eliminación de residuos sólidos no peligrosos.
- 12) NTON 03 026 – 99 Norma sanitaria de manipulación de alimentos requisitos Sanitarios para manipuladores de alimentos.
- 13) Official methods of Analysis, FDA/CFSAN BAM, us Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, Bacteriological Analytical Manual Online. www.aoac.org.
- 15) Plan HACCP de la empresa Camarones de Nicaragua S.A. (CAMANICA S.A) 2006.
- 16) Principios de la gestión de la calidad ISO 9001 quinta edición.