

Criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según NC-ISO/IEC 17025:2006

María Teresa Fernández-Santisteban, Aidin Martínez-Sánchez

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca).
Via Banca 804 y Carretera Central. San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
* maritere.fernandez@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Los laboratorios que realizan ensayos microbiológicos y que obtienen sus resultados como parte de un servicio o de actividades de investigación y desarrollo les favorece implantar un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) y reconocer su competencia mediante el proceso de acreditación. La implementación de un SGC y la acreditación aporta confianza tanto en la competencia técnica del laboratorio, como en su capacidad para proporcionar un servicio adecuado a las necesidades de sus clientes según normas nacionales e internacionales reconocidas y aceptadas. El objetivo del trabajo es precisar los criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos tomando como referencia la NC-ISO/IEC 17025:2006 y realizar una valoración de los criterios más importantes dentro del laboratorio de microbiología del ICIDCA.

Palabras clave: acreditación, ensayos microbiológicos, ISO, valoración.

ABSTRACT

The laboratories that perform microbiological tests and that obtain their results as part of a service or research and development activities to favor the implementation of a Quality Management System (QMS) and recognition of their competence through the accreditation process. The implementation of a QMS and accreditation provides confidence in both the technical competence of the laboratory, as in its capacity to provide an adequate service to the needs of its clients according to recognized and accepted national and international standards. The aim of this work is to specify the criteria for the accreditation of laboratories that perform microbiological tests, taking as reference the NC-ISO/IE 17025:2006 and to make an assessment of the most important criteria within the Microbiology laboratory of the ICIDCA.

Key words: accreditation, microbiological tests, ISO, assessment.

INTRODUCCIÓN

El creciente uso de los sistemas de gestión ha producido un aumento de la necesidad de asegurar que los laboratorios que forman parte de organizaciones mayores o que ofrecen otros servicios, puedan funcionar de acuerdo con un sistema de gestión de la calidad que opere de acuerdo a los principios de la norma ISO 9001 y la norma ISO/IEC 17025. La norma ISO/IEC 17025 es uno de los criterios obligatorios que emite la Oficina Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC) para la acreditación de los laboratorios de ensayos, debido a que este documento contiene requisitos que permiten

a los laboratorios demostrar que operan de forma competente y que tienen la capacidad de generar resultados válidos. Los laboratorios de microbiología realizan dentro de sus ensayos microbiológicos: ensayos de esterilidad, límite microbiano, detección, aislamiento, recuento e identificación de microorganismos y sus metabolitos en diferentes materiales y productos o cualquier otro tipo de ensayo en el que utilicen microorganismos como parte de un sistema de detección. La acreditación de este tipo de laboratorios será el reconocimiento formal de su competencia y capacidad técnica para llevar a cabo estos ensayos específicos. Teniendo en cuenta este análisis, el objetivo del trabajo es dar a conocer los

criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según la NC ISO/IEC 17025:2006 y realizar una valoración de los criterios más importantes dentro del laboratorio de microbiología del ICIDCA.

MATERIALES y MÉTODOS

Para evaluar los criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según NC ISO/IEC 17025:06, se analizaron los factores más importantes que determinan la exactitud y la confiabilidad de los ensayos realizados por un laboratorio de microbiología, entre ellos: las instalaciones y las condiciones ambientales, los reactivos y medios de cultivo, los equipos, la validación de métodos, el aseguramiento y control de la calidad de los resultados y la trazabilidad de las mediciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la conformidad de cada uno de estos criterios, se debe analizar el cumplimiento de los requisitos técnicos de la NC ISO /IEC 17025:06 (1) por los laboratorios que realizan ensayos microbiológicos, los cuales se resumen a continuación:

Instalaciones

La ubicación, el diseño y la distribución de las diferentes dependencias del laboratorio debe ser tal que el peligro de contaminación de las muestras, ya sea derivado de las condiciones ambientales, contaminación cruzada u otras causas, sea mínimo. Se debe favorecer un diseño “sin camino de regreso”, es decir que la circulación de las muestras y el personal sea en una sola dirección, con entrada y salida diferentes. Cuando esto no sea posible, deben tomarse medidas alternativas, como las siguientes:

- Realizar los procedimientos de manera secuencial, tomando las debidas precauciones para garantizar la integridad de los ensayos y de las muestras.
- Separar las actividades en el tiempo o en el espacio.

Es recomendable además que los laboratorios dispongan de dos tipos de dependencias:

- Áreas auxiliares (oficinas de administración, aseos, guardarropas, almacenes, archivos).
- Áreas de ensayo (donde se llevan a cabo las actividades específicas de un laboratorio de microbiología).

En general, es conveniente que existan áreas separadas o claramente designadas para las siguientes actividades: recepción y almacenamiento

de muestras, preparación de muestras, mantenimiento de las cepas de referencias, áreas analíticas diferenciadas de las áreas de apoyo y áreas de apoyo (preparación de medios de cultivo y reactivos, esterilización y descontaminación, almacenamiento, lavado de material).

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, entre otros).

Los locales deben presentar condiciones adecuadas de acuerdo con las normas vigentes y las Buenas Prácticas de Laboratorio y disponer de un registro diario de su comportamiento. Cada uno estará debidamente señalado e identificado.

Referentes al diseño

Las áreas de trabajo deben ser suficientemente espaciosas como para poder mantenerse limpias y ordenadas. El espacio, dependerá del volumen de análisis a realizar y de la organización interna del laboratorio; requerirá uniones cóncavas entre suelo, paredes y techos; así como iluminación empotrada en los techos. Además, una buena ventilación que puede lograrse mediante ventilación natural o forzada, o el uso de acondicionadores de aire, equipados con filtros para el polvo.

Los sistemas de climatización y ventilación deben asegurar una temperatura entre 20 °C y 25 °C y una humedad relativa no superior al 70 %.

El empleo de tuberías es otro de los elementos a tener en cuenta para transportar líquidos que 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 persianas internas en las ventanas.

Referentes a materiales

Las paredes, techos, suelos y superficies de trabajo deben ser lisas, de material no absorbente y fácil de limpiar y desinfectar. Las superficies de madera de instalaciones y accesorios deben estar debidamente protegidas y selladas, evitar las maderas rugosas y sin revestir. No se recomiendan los azulejos como material de recubrimiento de las superficies de trabajo.

De acuerdo con el tipo de ensayo, la apertura de puertas y ventanas debe ser mínima. 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 e identificar las

puertas de acceso al área de trabajo con el símbolo de riesgo biológico

Para facilitar las labores de limpieza, los teléfonos y ordenadores que se encuentren dentro del área de ensayo pueden estar provistos de un protector. El sistema de ventilación de los equipos informáticos debe estar orientado de manera que se evite la contaminación. Por ejemplo, el flujo de aire no debe dirigirse hacia las superficies de trabajo; utilizar lavamanos de accionamiento no manual.

Condiciones ambientales

El laboratorio debe asegurar que sus condiciones ambientales no invaliden los resultados ni comprometan la calidad de sus ensayos. Es importante establecer un programa normalizado de limpieza y desinfección del laboratorio que tenga en cuenta los resultados de vigilancia de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada, así como restringir la entrada al laboratorio con solo personal autorizado y con la indumentaria apropiada para el tipo de ensayos que se realicen, despojándose de esta antes de abandonar el área.

Si se detecta una posible contaminación dentro del laboratorio, debe definir los recuentos máximos de microorganismos que considere aceptables y establecer medidas a tomar para corregir las situaciones en que se sobrepasen estos límites. Estas medidas incluyen, por ejemplo:

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

Lo ideal es que los laboratorios dispongan de más de una autoclave. Sin embargo, siempre que se tomen las debidas precauciones para separar las cargas de descontaminación y esterilización y cuando exista un programa normalizado de limpieza para controlar las condiciones ambientales, tanto externas como internas de la autoclave, el laboratorio puede utilizar una única autoclave.

Reactivos, medios de cultivo y equipos

La calidad de los reactivos y medios de cultivos debe ser la apropiada para los ensayos. Se debe verificar la calidad de cada lote de reactivo a su entrada al laboratorio usando controles positivos y negativos de microorganismos que sean reconocidos. Estos controles junto con un almacenamiento apropiado aseguran que los mismos cumplan con las especificaciones requeridas de calidad del producto conservándose en el tiempo.

Los equipos, sus componentes e instrumental de

laboratorio deben mantenerse limpios. Se esterilizarán o desinfectarán según un programa establecido por el laboratorio, manteniendo registros que demuestren el correcto uso de los mismos.

En los documentos de la familia ISO/TR 11133 (2, 3), incluyen un conjunto de directrices para la preparación y esterilización de medios de cultivo, los tiempos de almacenamiento recomendados y el mantenimiento y cuidado de los equipos. Asimismo, es importante identificar la o las personas que han realizado estas operaciones.

Trazabilidad de las mediciones y validación de métodos

Para demostrar la trazabilidad, todo laboratorio de microbiología debe utilizar cepas de referencia de microorganismos suministrados por una colección nacional o extranjera reconocida. Debe demostrarse que las cepas de referencias mantienen sus características originales. Por lo tanto, es recomendable realizar bancos de subcultivos que faciliten una reserva con las condiciones iniciales y con un número de pases bien definido.

El laboratorio, además, debe disponer de métodos de ensayos validados y fiables para proporcionar resultados exactos y reproducibles. Las cepas de referencia juegan un papel fundamental en este aspecto ya que las mismas son utilizadas para validar los métodos de ensayo y realizar el control de calidad interno durante la evaluación de estos.

De manera general, validar métodos microbiológicos requiere:

- Comparar con un método de referencias.
- Usar cepas de referencia y cepas de referencia certificadas.
- La evaluación sistemática de factores
- Ensayos interlaboratorios
- La estimación de la incertidumbre

La validación de los métodos de ensayo debe reflejar las condiciones reales de ensayo. Esto puede conseguirse utilizando muestras contaminadas naturalmente o inoculadas con un nivel conocido de microorganismos contaminantes. El microbiólogo debe estar consciente de que la inoculación de una muestra con microorganismos contaminantes imita tan solo, de una manera superficial, la presencia de contaminantes naturales. No obstante, a menudo es la mejor y la única solución disponible (4).

Aseguramiento de la calidad de los resultados

El laboratorio debe realizar su control interno de calidad, de manera tal que pueda realizar la evaluación continua de su trabajo. El mayor objetivo es asegurar la consistencia de los resultados día a día y su conformidad con los criterios establecidos.

El control interno considerará la evaluación de reactivos, medios de cultivos, calidad de materiales

y cultivos de referencias, métodos de ensayos, y otros.

Los programas de ensayos de aptitud organizados externamente constituyen un medio independiente por el cual se puede evaluar objetivamente y demostrar la fiabilidad y precisión de los resultados obtenidos como una manera de comprobar la calidad de los ensayos y adoptar las medidas oportunas.

Evaluación de los criterios relacionados con la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología del ICIDCA

El laboratorio de microbiología del ICIDCA juega un papel fundamental en la realización de ensayos microbiológicos que involucran al sector azucarero. El análisis microbiológico al azúcar, al agua de proceso que se utiliza en la obtención de azúcar y a la miel obtenida en el proceso de fabricación son algunos de ellos. Independientemente de que el laboratorio cuenta con un personal calificado y con habilidades demostradas, los ensayos microbiológicos deben cumplir con los criterios que a modo de resumen se analizan en este artículo.

A continuación se evaluarán algunos de los criterios que se toman en cuenta cuando se realiza la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según la NC ISO/IEC 17025:2006 en el laboratorio de microbiología del ICIDCA y que son la causa de que el laboratorio no se encuentre acreditado.

Instalaciones

El laboratorio de microbiología del ICIDCA no cumple con los requisitos referentes al diseño de sus instalaciones según los criterios expuestos en el

trabajo. Con el interés de lograr la acreditación, el laboratorio está trabajando en función de revertir esta situación, por lo que tiene previsto un proceso inversionista para su remodelación y transformación, que comenzará en el año 2020. En la figura 1, se muestra un croquis realizado por los investigadores del ICIDCA que muestra la vista en planta del laboratorio con la distribución de sus áreas.

El proyecto de remodelación de un laboratorio de este tipo es necesario someterlo a un proceso de licenciamiento por parte del Centro Nacional de Seguridad Biológica (CSB). Específicamente deberá tenerse en cuenta la resolución No. 76 del 2000, Reglamento para el otorgamiento de autorizaciones de esta entidad. El logro más importante de esta resolución es el establecimiento de una metodología general para la confección de los expedientes técnicos a presentar a la autoridad reguladora, en el caso de las actividades relacionadas con el proceso de remodelación de una instalación, y con las prácticas asociadas a la liberación de organismos al medio ambiente, así como las fases de investigación, ensayo y producción de organismos, y la importación y exportación de estos (5). Por ello, para realizar los ensayos microbiológicos y poder acreditar el laboratorio de Microbiología, es imprescindible poseer primeramente la correspondiente autorización del CSB.

Condiciones ambientales

El laboratorio de microbiología realiza la limpieza de todas sus áreas, los equipos y las superficies de trabajo, teniendo en cuenta la posibilidad de contaminación cruzada. Sin embargo, es importante que establezca un programa bien documentado de toda esta actividad, así como del control y seguimiento de las condiciones ambientales, incluyendo ilumina-

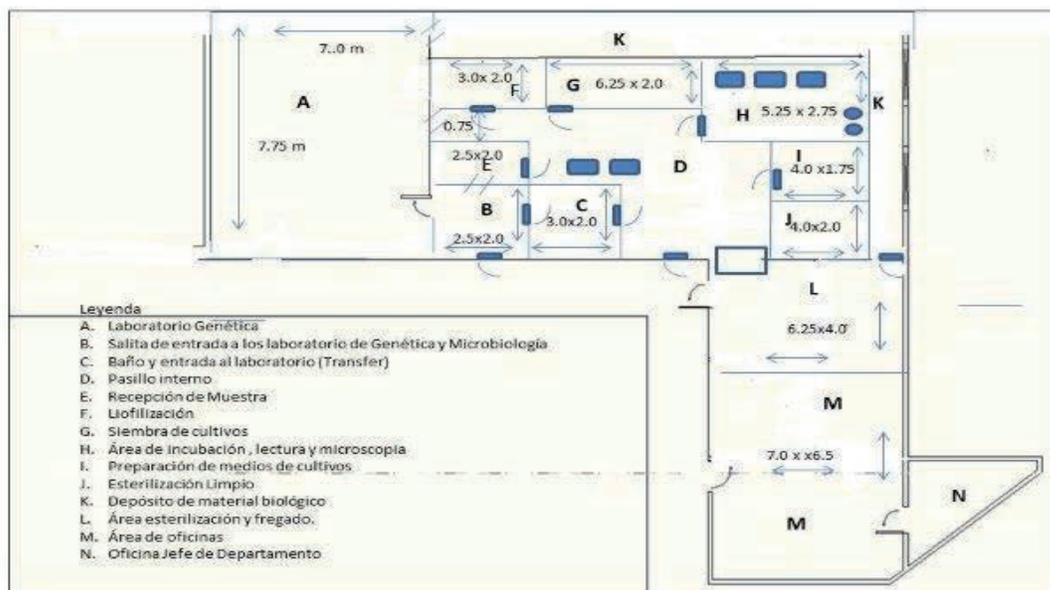


Figura 1. Croquis del laboratorio de microbiología del ICIDCA

ción, fuentes de energía, temperatura y humedad. Estas condiciones no son las apropiadas para las funciones y operaciones que se realizan dentro del laboratorio.

Es importante además que el laboratorio cuente con áreas de cambio de ropa y un baño de fácil acceso, apropiadas para el número de trabajadores y separadas de las áreas del laboratorio.

Disponibilidad de recursos

El laboratorio de Microbiología presenta una colección de cultivos microbianos, depositaria mayoritariamente de cepas autóctonas aisladas, seleccionadas y conservadas a través de 50 años. Está constituida por bacterias, mohos y levaduras de interés industrial que garantizan importantes líneas de investigación en procesos biotecnológicos. Sin embargo, el laboratorio no cuenta con cepas de referencias, las cuales son utilizadas para acreditar o conservar la acreditación de un ensayo, demostrando así la trazabilidad. Además estas cepas son utilizadas para:

1. Evaluar la calidad de los cultivos.
2. Realizar controles de calidad durante los ensayos.
3. Controlar la calidad de los reactivos.
4. Efectuar pruebas confirmatorias, por ejemplo: análisis de coliformes fecales.
5. Validar los métodos.
6. Llevar a cabo el control de calidad interno.

Es importante entonces que el laboratorio adquiera estas cepas a través de proyectos de colaboración internacional o sean suministradas directamente por una colección nacional o extranjera (6).

El laboratorio, además cuenta con equipos capaces de asegurar la reproducibilidad y validez de sus resultados. A pesar de ello, uno de los problemas que inciden mayoritariamente en que no cumpla to-

talmente con el requisito "equipamiento" es la falta de un freezer de -70 °C, equipo fundamental para el mantenimiento y conservación de sus cepas de referencias y de trabajo.

La falta de un suministro estable de medios de cultivo y las respectivas evaluaciones del proveedor de estos medios, es otro de los problemas que posee el laboratorio en su paso hacia la acreditación. En el control de calidad de los medios de cultivo, la selectividad, la productividad y la especificidad son elementos indispensables para realizar los ensayos microbiológicos. Si no se presta la debida atención a este aspecto se pueden emitir resultados que no son confiables.

La calidad de un medio de cultivo preparado no depende exclusivamente de la garantía que representa la marca o el fabricante del medio deshidratado o del proveedor de los ingredientes del mismo, sino de igual forma, o quizás en mayor grado de su correcta preparación por parte del investigador/técnico que realiza los análisis.

CONCLUSIONES

El trabajo ha permitido precisar los factores de mayor incidencia a tener en cuenta para los laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según NC ISO/IEC 17025:06, lo cual constituye una base objetiva e indispensable en el proceso de evaluación de la conformidad de un servicio por los requisitos que demanda un cliente o usuario.

Se brinda una información relacionada con la situación que presenta el laboratorio de microbiología del ICIDCA en cuanto a su acreditación, con el objetivo de ofrecer los criterios que más afectan la realización de ensayos microbiológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NC-ISO/IEC 17025:2006-Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
2. ISO/TR 11133-1:2012. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Guía para la preparación y producción de medios de cultivo. Parte 1: Guías generales en el aseguramiento de la calidad para la preparación de medios de cultivo en el laboratorio.
3. ISO/TR 11133-1:2012. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Guía para la preparación y producción de medios de cultivo. Parte 2: Guías prácticas para las pruebas de desempeño de los medios de cultivo.
4. Camaró, M L.;Martínez, R.; Olmos, P.; Catalá, V.; Ocete, M. D.; Gimeno, C. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 33 (7), pp. 31-36, 2015.
5. Manual de inspección de seguridad biológica. Centro Nacional de Seguridad Biológica, 2004.
6. Del Puerto, C. A.; Iglesias, E.; Morales, T.; Baños, N.; Nocedo, M. D.; Carnota, G.; *et al.* Organización y manejo de la colección de cepas de referencia del Instituto Finlay. Vaccimonitor. 18 (1), 2009.