



Madrid, diciembre de 2018

Metodología para la Toma de Muestra de Microorganismos Altamente Patógenos en Las Matrices Ambientales Aire, Agua y Suelo/Sedimento



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Instituto
de Salud
Carlos III

cnsa

Centro Nacional de Sanidad Ambiental
Instituto de Salud Carlos III
Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades
Monforte de Lemos, 5 – Pabellón 12
28029 MADRID (ESPAÑA)
Tel.: 91 822 24 97
Fax: 91 387 78 16

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<http://publicacionesoficiales.boe.es>

Para obtener este informe de forma gratuita en Internet (formato pdf):

<http://publicaciones.isciii.es>



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

EDITA: INSTITUTO DE SALUD CARLOS III
Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades

NIPO EPUB : 062180229

NIPO PDF : 062180213

I.S.B.N.: No (Free online version)

Publicación incluida en el programa editorial del suprimido Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y editada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, de acuerdo con la reestructuración ministerial establecida por Real Decreto 355/2018, de 6 de junio.

Editores

Dr. David Galán Madruga. Científico Titular de OPI. Investigador Principal (IP) (por parte del CNSA) y coordinador del proyecto: *Iberian network of laboratories of biological alert. Accreditation of methods for detection of highly pathogenic agents. Project IB/BIOALERNET*

Dr. Francisco José Ruíz Boada. Director del Centro Nacional de Sanidad Ambiental. IP (por parte del CNSA) del proyecto: *Iberian network of laboratories of biological alert. Accreditation of methods for detection of highly pathogenic agents. Project IB/BIOALERNET*

D.^a Gema Díaz López. Jefa del Servicio en Toxicología Ambiental. Coordinadora (por parte del CNSA) del proyecto: *Iberian network of laboratories of biological alert. Accreditation of methods for detection of highly pathogenic agents. Project IB/BIOALERNET*

Autores de los capítulos teóricos (orden alfabético)

Dr. David Galán Madruga. Científico Titular de OPI. Área de Contaminación Atmosférica. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo. Titulado Superior de Actividades Técnicas y Profesionales. Área de Contaminación Atmosférica. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

D.^a Gema Díaz López. Jefa del Servicio en Toxicología Ambiental. Área de Toxicología Ambiental. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

D. Miguel Ángel Lucena Lozano. Director de Programa de Garantía de Calidad. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

Dra. Rosalía Fernández Patier. Jefa del Área de Contaminación Atmosférica. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

Dra. Sonia Aguayo Balsas. Científico Titular de OPI. Unidad de Contaminación Hídrica. Centro Nacional de Sanidad Ambiental. Instituto de Salud Carlos III

Cita recomendada

Galán Madruga D, Díaz López G, Sánchez Íñigo FJ, Aguayo Balsas S, Ángel Lucena MA, Fernández Patier, R Ruíz Boada FJ. **Metodología para la Toma de Muestra de Microorganismos Altamente Patógenos en Las Matrices Ambientales Aire, Agua y Suelo/Sedimento.** Madrid; Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Sanidad ambiental: 2018.

Autores por capítulos

Aire: **Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo, Dra. Rosalía Fernández Patier y Dr. David Galán Madruga**

Agua y suelo/sedimento: **Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo y Dra. Sonia Aguayo Balsas**

Plan de calidad: **Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo, D.^a Gema Díaz López y D. Miguel Ángel Lucena**

Agradecimientos

A la Unión Europea por la financiación del proyecto IB/BIOALERNET (HOME/2012/ISEC/AG/CBRN/4000003810) y al Instituto de Salud Carlos III por facilitar la realización de dicho proyecto.

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN GENERAL	11
2 GLOSARIO	14
3 SIGLAS Y ABREVIATURAS	18
4 CONSIDERACIONES GENERALES EN LA TOMA DE MUESTRAS DE MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS EN MATRICES AMBIENTALES	19
4.1 SEGURIDAD DEL PERSONAL ENCARGADO DE LA TOMA DE MUESTRA	19
4.1.1 Medidas de seguridad para la toma de muestra de agentes biológicos del grupo 1 que pudieran estar presentes en bioaerosoles, agua y/o suelo	19
4.1.2 Medidas de seguridad para la toma de muestra de agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4 que pudieran estar presentes en bioaerosoles, agua y/o suelo	20
4.2 DESCONTAMINACIÓN DE EQUIPOS	22
4.2.1 Esterilización	22
4.2.1.1 Métodos físicos	23
4.2.1.1.1 Esterilización por calor húmedo	23
4.2.1.1.2 Esterilización por calor seco	23
4.2.1.2 Métodos químicos	23
4.2.1.2.1 Esterilización con plasma de baja temperatura generado por peróxido de hidrógeno	23
4.2.1.2.2 Esterilización por óxido de etileno	24
4.2.2 Control de calidad de los recipientes de toma de muestra	24
4.2.2.1 Ensayo de esterilidad	24
4.2.2.2 Ensayo de presencia de agentes de inactivación	25
4.2.2.3 Ensayo de toxicidad residual en los recipientes de toma de muestra	25
4.3 MANIPULACIÓN Y TRANSPORTE DE EQUIPOS AL EMPLAZAMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRA	25
4.3.1 Tiempo, condiciones de conservación y transporte de la muestra	26
4.3.1.1 Custodia de la muestra	26
4.3.1.2 Distribución de muestras	26
4.3.1.3 Descontaminación de equipos	27
4.3.1.4 Desinfección de nivel intermedio	27
4.3.2 Tiempo, condiciones de conservación y transporte de la muestra	28
4.3.2.1 Recipientes de transporte	28
4.3.2.2 Descontaminación de equipos	29
4.3.2.2.1 Esterilización	29
4.3.2.2.2 Custodia de la muestra	29
4.3.2.2.3 Distribución de muestras	29
4.4 REGISTRO DE TOMA DE MUESTRA	29
4.5 REGISTRO DE DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS	30
4.6 RESULTADOS	30
5 PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE BIOAEROSOL/AGENTES BIOLÓGICOS ALTAMENTE PATÓGENOS EN MATRIZ AIRE	31
5.1 GENERAL	31
5.1.1 Sedimentación	31
5.1.2 Impactación	32
5.1.3 Centrifugación	32
5.1.4 Borboteo	33
5.1.5 Filtración	33
5.2 CALIBRACIONES DE EQUIPOS	33
5.3 REQUISITOS DE TOMA DE MUESTRA	35
5.4 EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA	35
5.4.1 Bacterias	35
5.4.2 Mohos	36
5.4.3 Virus	38
5.4.4 Realización de la toma de muestra	39
5.4.4.1 Bacterias	39
5.4.4.1.1 Fundamento	39
5.4.4.1.2 Preparación de la toma de muestra	40

5.4.4.1.3 Toma de muestra	40
5.4.4.1.4 Duración de la toma de muestra	41
5.4.4.2 Mohos	41
5.4.4.2.1 Fundamento	42
5.4.4.2.2 Preparación de la toma de muestra	43
5.4.4.2.3 Toma de muestra	43
5.4.4.2.4 Duración de la toma de muestra	44
5.4.4.3 Virus	44
5.4.4.3.1 Fundamento	44
5.4.4.3.2 Preparación de la toma de muestra	45
5.4.4.3.3 Toma de muestra	45
5.4.4.3.4 Duración de la toma de muestra	46
5.4.4.3.5 Recipientes de transporte de la muestra	46
6 PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE MATRICES AMBIENTALES ACUÁTICAS PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS	47
6.1 CALIBRACIONES DE EQUIPOS	48
6.2 PREPARACIÓN DE EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA	49
6.3 REQUISITOS DE LA TOMA DE MUESTRA	50
6.4 EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA	51
6.4.1 Equipamiento	51
6.4.1.1 Recipientes de toma de muestra	51
6.4.2 Otros materiales	52
6.4.3 Reactivos	53
6.5 REALIZACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA EN AGUAS NATURALES	53
6.5.1 Recomendaciones generales	53
6.5.2 Toma de muestra desde un puente	54
6.5.2.1 Consideraciones para la toma de muestra	54
6.5.3 Toma de muestra en el curso del agua	55
6.5.3.1 Consideraciones para la toma de muestra	55
6.5.4 Toma de muestra desde la orilla	56
6.5.4.1 Consideraciones para la toma de muestra	56
6.5.5 Toma de muestra desde una embarcación	56
6.5.5.1 Consideraciones para la toma de muestra	57
6.5.6 Toma de muestra de aguas subterráneas	57
6.5.6.1 Parámetros de toma de muestra	57
6.5.6.1.1 Toma de muestra de zona insaturada	57
6.5.6.1.1.1 Toma de muestra sólida seguida de extracción de agua subterránea (fluidos de los poros)	57
6.5.6.1.1.2 Toma de muestra de los fluidos de los poros de la zona insaturada	57
6.5.6.1.2 Toma de muestra de zona saturada	58
6.5.7 Toma de muestra en playas de baño	58
6.6 CONSIDERACIONES POSTERIORES A LA TOMA DE MUESTRA	59
6.6.1 Inactivación de desinfectantes	59
6.6.2 Muestras de agua para la determinación de microorganismos	59
6.6.2.1 Tiempo, condiciones de conservación y transporte de las muestras	59
6.6.2.2 Recipientes de transporte	61
7 PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE SUELO Y SEDIMENTOS PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS	62
7.1 INTRODUCCIÓN	62
7.2 CONSIDERACIONES RELEVANTES PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA	63
7.3 METODOLOGÍA EXISTENTE PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA	64
7.3.1 Barrenas pequeñas	64
7.3.2 Sondeos	64
7.3.2.1 Perforación por percusión	64
7.3.2.2 Perforación por rotación	64
7.3.2.3 Barrena mecánica	64

7.3.3	Sondas y dispositivos de muestreo controlados	65
7.3.4	Excavaciones (pozos de ensayo)	65
7.4	REQUISITOS PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA	65
7.5	EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA	66
7.5.1	Barrenas Auger	66
7.5.2	Barrenas tipo Core	68
7.5.3	Cajas de Kubiena	68
7.5.4	Draga de tijera para sedimentos (tipo van Veenhapper)	69
7.6	OTROS MATERIALES	69
7.7	REALIZACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA	70
7.7.1	Aspectos generales	70
7.7.1.1	Acceso	70
7.7.1.2	Toma de muestra de suelo	70
7.7.1.2.1	Toma de muestra de suelos superficiales	71
7.7.1.2.2	Toma de muestra de suelos subsuperficiales	71
7.7.1.2.3	Toma de muestra de suelos a profundidades moderadas en suelos inestables	71
7.7.1.2.4	Toma de muestra de suelos en profundidad	72
7.7.1.3	Toma de muestra de sedimentos	72
7.7.1.3.1	Toma de muestra de sedimentos en una masa de agua desde una embarcación o puente	72
7.7.1.3.2	Toma de muestra de sedimentos en una masa de agua desde la orilla	72
7.8	CONSIDERACIONES POSTERIORES A LA TOMA DE MUESTRA	72
7.8.1	Tiempo, condiciones de conservación y transporte de las muestras	72
7.8.1.2	Recipientes de transporte	74
7.9	PROTECCIÓN AMBIENTAL	74
8	REQUISITOS DE CALIDAD SEGÚN NORMA UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 PARA LA IMPLANTACIÓN DE UN SISTEMA DE CALIDAD PARA LA TOMA DE MUESTRA DE AGENTES PATÓGENOS ALTAMENTE PATÓGENOS EN MATRICES AMBIENTALES	76
8.1	IDENTIDAD LEGAL Y ORGANIZACIÓN	76
8.1.1	Identidad legal de la organización	76
8.1.2	Organización	76
8.2	CONFIDENCIALIDAD Y SALVAGUARDIA DE LA TOMA DE MUESTRA	79
8.3	CONTROL DE DOCUMENTOS	79
8.3.1	Actividades para los Documentos de Elaboración Interna	80
8.3.2	Elaboración de documentos internos	82
8.3.2.1	Elaboración del Manual de la Calidad	82
8.3.2.2	Estructura de los Procedimientos	83
8.3.2.3	Redacción de los Procedimientos	83
8.3.3	Identificación de documentos	83
8.3.3.1	Identificación de Procedimientos	83
8.3.3.1.1	Identificación de Documentos externos	84
8.3.3.1.2	Identificación de Formatos	84
8.3.4	Actualización / modificación de documentos	84
8.3.5	Distribución y Control de documentos	85
8.3.5.1	Documentos elaborados internamente	85
8.3.6	Documentos procedentes de fuentes externas	87
8.3.7	Comunicación de cambios en procedimientos de ensayo a ENAC	88
8.3.8	Recepción y envío de documentos	88
8.3.9	Archivo de documentos y su conservación	88
8.3.10	Elaboración de procedimientos de ensayo / calibración	89
8.3.11	Elaboración de procedimientos diferentes de los de ensayo / calibración	91
8.4	REVISIÓN DE SOLICITUDES, OFERTAS Y CONTRATOS	92
8.5	SUBCONTRATACIÓN	93
8.5.1	Implantación	93
8.5.2	Registros	94
8.6	COMPRA DE SERVICIOS Y SUMINISTROS	94
8.6.1	Detección de necesidades	94
8.6.2	Selección de proveedores	94

8.6.3 Tramitación de la compra	95
8.6.4 Recepción de los servicios y suministros	95
8.6.5 Almacenamiento de suministros	95
8.7 QUEJAS Y RECLAMACIONES	95
8.7.1 Recepción	95
8.7.2 Tramitación	96
8.7.3 Registros	96
8.8 CONTROL DE TRABAJOS NO CONFORMES. ACCIONES CORRECTIVAS	97
8.8.1 Control de trabajos no conformes	97
8.8.2 Acciones correctivas	103
8.8.3 Acciones preventivas	103
8.9 REGISTROS DE LA CALIDAD	106
8.10 AUDITORÍAS INTERNAS	106
8.10.1 Planificación	107
8.10.2 Preparación	108
8.10.3 Realización	108
8.10.3.1 Reunión previa	108
8.10.3.2 Comprobaciones	108
8.10.4 Informe	109
8.10.5 Seguimiento	109
8.10.6 Registros	110
8.11 REVISIONES POR LA DIRECCIÓN	110
8.12 PERSONAL	111
8.12.1 Proceso de recualificación	113
8.12.2 Proceso de autorización	113
8.13 LOCALES Y CONDICIONES AMBIENTALES	115
8.13.1 Áreas de ensayo, calibración interna	115
8.13.2 Condiciones Ambientales	115
8.13.3 Seguridad Personal	116
8.13.4 Acceso a áreas de ensayo	116
8.14 EQUIPOS	116
8.14.1 Recepción de equipos	117
8.14.2 Codificación e identificación de equipos	118
8.14.2.1 Listado de equipos	118
8.14.2.2 Ficha de equipos	119
8.14.2.3 Utilización de equipos	119
8.14.2.4 Control de equipos	120
8.14.3 Mantenimiento de equipos	120
8.14.4 Calibración / Verificación de equipos	121
8.14.5 Anomalías de equipos	125
8.14.6 Identificación del estado de los equipos	125
8.14.7 Almacenamiento y control de entradas/salidas de equipos	126
8.14.8 Baja de equipos	126
8.14.9 Archivo de documentación	127
8.15 TRAZABILIDAD	127
8.15.1 Requisitos específicos para calibraciones	128
8.15.2 Requisitos específicos para ensayos	129
8.15.3 Patrones y materiales de referencia	129
8.16 MANIPULACIÓN	130
8.17 INFORME DE ENSAYO	131
9 ANEXOS	135
10 BIBLIOGRAFÍA	178

ÍNDICE DE FORMATOS

anexo 1	Declaración de salvaguardia para el personal
anexo 2	Registro de difusión
anexo 3	Portada de procedimiento
anexo 4	Histórico de modificaciones
anexo 5	Hoja de procedimiento
anexo 6	Listado de documentos en vigor del sistema de calidad
anexo 7	Hoja de distribución/recepción de documentación
anexo 8	Control de distribución de documentos
anexo 9	Formato ficha de aparatos / instrumentos de medida (AA)
anexo 10	Formato ficha de materiales de referencia (MR)
anexo 11	Formato verificación de patrones y materiales de referencia
anexo 12	Formato ficha de reactivos (RR) y medios de cultivo (MC)
anexo 13	Formato ficha de material volumétrico y fungible (MV)
anexo 14	Formato verificación de certificados de calibración externa
anexo 15	Hoja de quejas y/o reclamaciones
anexo 16	Informe de trabajo no conforme (TNC) / acción correctiva (AC)
anexo 17	Informe de acción preventiva (AP)
anexo 18	Hojas de medición / toma de muestras matriz “aire”
anexo 19	Hojas de toma de muestras. otras matrices ambientales
anexo 20	Registro de programa de cualificación / recualificación
anexo 21	Tabla para establecer el periodo mínimo y el n° de ensayos mínimos necesarios para cualificar al personal
anexo 22	Registro de recualificación por registros de actividad supervisados
anexo 23	Registro de autorización para ejercer funciones de responsable técnico
anexo 24	Registro de autorización para ejercer funciones como jefe de garantía de calidad
anexo 25	Registro de autorizaciones
anexo 26	Formato listado de equipos (AA)
anexo 27	Formato listado de materiales de referencia (MR)
anexo 28	Formato listado de reactivos (RR) y medios de cultivo (MC)
anexo 29	Formato listado de material volumétrico y fungible (MV)
anexo 30	Formato plan/programa de mantenimiento / verificación / calibración de equipos
anexo 31	Formato historial de mantenimiento
anexo 32	Formato historial de operaciones
anexo 33	Formato registro de entrada/salida de equipos
anexo 34	Formato historial de calibraciones/verificaciones
anexo 35	Formato criterios de aceptación/rechazo de los resultados de las calibraciones
anexo 36	Formato informe de equipo con anomalías

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Tras su aparición en el siglo XX, la posibilidad de que se lleven a cabo ataques bioterroristas se ha convertido en una de las mayores amenazas sobre la población a nivel mundial. Dado que la calidad de vida de la ciudadanía y la salud pública están directamente ligadas, y que los ataques bioterroristas pueden producir efectos adversos, llegando incluso a producir muerte, se concluye que la ejecución de este tipo de ataques constituye una agresión directa sobre la salud pública. Esta razón explica la necesidad de fomentar planes de actuación frente a este tipo de situaciones de emergencia. A tal efecto y siguiendo las directrices de la OMS, instando a los países a prepararse frente a este tipo de ataques, muchos países movilizaron recursos con objeto de desarrollar planes de actuación enfocados a la prevención y/o al tratamiento de un supuesto ataque bioterrorista (Posada 2001). Los sistemas de vigilancia, definidos como herramientas fundamentales en el ámbito de la salud pública de un país, estarían englobados en los planes de actuación (Serna et al., 2007).

Un elemento crítico en la diseminación intencionada de agentes biológicos altamente patógenos responde a los medios de vehicular el agente biológico. La vía inhalatoria, oral, percutánea y dérmica engloban el conjunto de posibles vías de exposición o de entrada del agente en el cuerpo humano (Domínguez 2002).

En el marco planteado, resulta fácil entender la necesidad de disponer de sistemas de detección precisos y fáciles de implementar para minimizar el daño y prevenir la dispersión adicional de estos agentes, como consecuencia de la dificultad de predecir y prevenir agresiones bioterroristas (Thavaselvam 2010), que a su vez garanticen una respuesta eficaz frente a los daños ocasionados para la salud pública ante la posibilidad de una diseminación intencionada de este tipo de agentes en el medioambiente.

Atendiendo a esta preocupación, en España se crea en 2009 una Red de Laboratorios de Alerta Biológica, denominada “RE-LAB”. La RE-LAB constituye una infraestructura científico-técnica de apoyo al Sistema Nacional de Gestión de Crisis y la Administración General del Estado con el fin de dar una respuesta rápida, eficaz y coordinada contra las amenazas bioterroristas.

En este sentido, el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) es el organismo encargado de la dirección científico-técnica y gestión de dicha Red, con actividades enmarcadas en el ámbito de la seguridad biológica.

Entre las diferentes funciones encomendadas a la RE-LAB, se encuentra la elaboración de procedimientos de primera actuación y respuesta rápida, enfocados principalmente en la toma de muestras ambientales sospechosas de patogenicidad en el contexto de un ataque bioterrorista y traslado de las mismas de forma segura, acción que se coordina a través del Centro Nacional de Sanidad Ambiental (CNSA) como laboratorio integrado en la RE-LAB.

La participación del CNSA dentro de la RE-LAB queda claramente marcada en el campo de las técnicas de toma de muestra ambiental (aire, agua y suelo) y su protocolización con el fin de poder realizar una correcta recogida de muestras ambientales “in situ” para su posterior análisis en laboratorio.

Dentro del plan de acción NRBQ (Nuclear-Radiactivo-Biológico-Químico) de la Unión Europea, el CNSA a través del proyecto IB-BIOALERTNET, ha apostado por la normalización y acreditación de los procedimientos que permitan convertirse en un instrumento eficaz dirigido a responder rápida, eficientemente y de manera coordinada, contra los daños a la salud pública causados por una liberación accidental o deliberada de agentes biológicos patógenos.

Los grupos destinatarios a los que se dirige el proyecto son los laboratorios de referencia de España y Portugal con capacidad para identificar agentes altamente patógenos en primer lugar, las Fuerzas y Cuerpos de Seguridad del Estado y la sociedad civil en última instancia.

Los objetivos específicos a desarrollar fueron los siguientes:

- Establecer una Red Ibérica IB-BIOALERTNET con procedimientos de comunicación y procedimientos estandarizados.
- Desarrollar procedimientos para la toma de muestras ambientales a partir de matrices relevantes.
- Implementar un sistema de gestión de la calidad.
- Validar y acreditar métodos para la detección e identificación de agentes altamente patógenos.
- Identificar otros laboratorios en la Península Ibérica con los conocimientos necesarios para ser parte de la Red.
- Ampliar estos conocimientos al ámbito comunitario.

La detección de agentes biológicos está relacionada, a su vez, con dos procesos. El proceso de toma de muestra y el proceso analítico. Ambos procesos son esenciales, y la combinación de ambos procesos proporciona resultados analíticos fiables.

Los resultados analíticos, ayudarán a la toma de decisiones por parte de los organismos competentes, por lo que es necesario que las muestras se obtengan de forma correcta. Es decir, la realización de la toma de muestra debe incluir no sólo el proceso de toma como tal, sino aspectos tales como el diseño y empleo de registro de datos, aspectos relacionados con las condiciones de transporte, conservación y almacenamiento que eviten la alteración o degradación de la muestra, y aspectos relacionados con la custodia y trazabilidad de las muestras ambientales. Todos estos aspectos, entre otros, que conforman el proceso de toma de muestra, se van a desarrollar en el presente trabajo.

En base a lo anteriormente mencionado, resulta fácil entender que la toma de muestra incide de una manera significativa en la calidad de los resultados. Dado que lo que se pretende obtener es información relativa a la presencia o ausencia de los agentes biológicos, identificación y cuantificación de los mismos, y dado que esta información debe ser significativa y fiable, este aspecto pone de manifiesto que existe una relación directa entre el proceso de toma de muestra y el proceso analítico.

A consecuencia de la necesidad de mejorar la capacidad de detectar y caracterizar agentes biológicos altamente patógenos en distintas matrices ambientales, resulta fundamental desarrollar planes de toma de muestra para este tipo de agentes, que permitan posteriormente una correcta identificación mediante técnicas en laboratorio. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron el desarrollo de procedimientos de toma de muestra de agentes biológicos altamente patógenos en las matrices ambientales aire, agua y suelo así como la implementación de un sistema de calidad en el marco del proceso de toma de muestra.

Para ello, se llevó a cabo una recopilación de información relacionada con la toma de muestra de agentes biológicos altamente patógenos, que pudieran ser empleados en escenarios de guerra o ataque bioterrorista, una amplia revisión de la literatura científica y técnica con respecto a cuestiones relacionadas con el proceso de toma de muestra en las matrices

ambientales de interés. Sobre esta base, se revisaron y evaluaron diferentes estándares de las agencias de normalización, tales como: ISO (International Organization for Standardization), ASTM (American Society for Testing and Materials), AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), DIN (Deutsches Institut für Normung), AFNOR (Association française de Normalisation), CEN (Comité Europeo de Normalización).

De manera similar, se evaluaron otras fuentes de información como publicaciones científicas, regulaciones internacionales (OMS, ONU, UNESCO ...), libros, manuales, procedimientos de otros países, informes técnicos de agencias ambientales y manuales de instrumentación relacionados, así como información científico-técnica procedente de páginas web, como: APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Work Association), ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades), USDA (Departamento de Agricultura).

Se revisaron y evaluaron más de 100 fuentes bibliográficas, entre manuales de instrumentación (1,1 %), regulaciones nacionales e internacionales (3,6 %), informes técnicos (4,3 %), libros científicos (4,3 %), publicaciones científicas (21,3 %), páginas web (14,2 %) y normas técnicas científicas (51,4 %), véase figura 1.

El presente trabajo ha desarrollado procedimientos de toma de muestra de agentes biológicos altamente patógenos en matrices ambientales (aire, agua y suelo) y un sistema de garantía de calidad, teniendo en cuenta la información a nivel nacional e internacional existente relacionada con dicho proceso.

Por otro lado, se desarrollaron procedimientos con objeto de implementar un sistema de gestión de calidad que complementara los procedimientos de toma de muestra de agentes biológicos altamente patógenos en matrices ambientales relevantes mediante el desarrollo de un plan de calidad y procedimientos operativos estándar para establecer una metodología de toma de muestra adecuada. La implementación de un sistema de gestión de calidad engloba aspectos tales como el uso adecuado de los equipos involucrados en el proceso de toma de muestra, su calibración, mantenimiento, verificación, condiciones de almacenamiento y transporte al laboratorio.

Por otro lado, resulta fundamental uniformizar, por un lado, los procedimientos de toma de muestra, teniendo en cuenta la falta de consenso, especialmente en el caso de virus, y por otro lado, aquellas consideraciones anteriores y posteriores al proceso de toma de muestra (limpieza y desinfección de equipos, condiciones de almacenamiento y transporte, recopilación de datos durante el proceso de toma de muestra y expresión de resultados).

Se debe siempre continuar trabajando para mejorar aspectos que conduzcan a una toma de muestra segura, efectiva y rápida dada la índole del tipo de microorganismo que se debe muestrear. Aplicar siempre las mejores técnicas disponibles debe ser una prioridad que ha de ir siempre de la mano del aseguramiento de la calidad en la toma de la muestra con el fin de obtener muestras representativas.

2. GLOSARIO

Aire ambiente: el aire exterior de la baja troposfera, excluidos los lugares de trabajo (Real Decreto 102/2011 relativo a la mejora de la calidad del aire ambiente).

Aire de interiores: Aire que se encuentra en ambientes interiores tales como el interior de viviendas, lugares de trabajo (no sometidos a inspecciones de seguridad e higiene en lo referente a los contaminantes del aire), edificios públicos y medios de transporte entre otros (adaptada de la norma UNE-EN ISO 16000-1:2006).

Almacenamiento de muestra: Proceso, y su resultado, consistente en mantener disponible una muestra bajo unas condiciones predefinidas durante un intervalo de tiempo (generalmente) determinado, entre la toma y posterior tratamiento de esa muestra.

Análisis basados en cultivo: Cultivo. Crecimiento de microorganismos en medios de cultivo (ISO 16000-16:2008).

Análisis para caracterización: Conjunto de determinaciones que contribuyen a determinar, en un momento dado, las propiedades físicas, químicas y/o biológicas de una muestra para su eventual comparación con un material de referencia. Este análisis puede constituir un inventario de las características de la zona de estudio.

Análisis para control: Análisis efectuado periódicamente y destinado a observar la evolución de algunos parámetros de la matriz ambiental.

Análisis diagnóstico comparativo: Análisis, por comparación de observaciones emparejadas, destinado a evaluar una heterogeneidad de comportamiento.

Bacterias: Grupo amplio de microorganismos procariotas con un cromosoma en la región nuclear y que sólo se reproducen asexualmente por división celular (UNE-EN 13098:2000).

Bioaerosoles: Partículas de origen biológico, en suspensión en el aire (UNE-EN 13098:2000).

Blanco de campo: Muestra tomada de idéntica manera que una muestra real, salvo por el hecho de que no se ha expuesto al agente patógeno. El blanco resultante representa el número de unidades formadoras de colonias (UFC) que entran en la muestra simplemente por manipulación durante la toma de muestra (UNE-CEN/TS 16115-1:2013).

Borboteo: Combinación de impactación sobre una superficie y dispersión posterior en un medio líquido (UNE-EN 13098:2000).

Contaminación microbiana del aire: Concentración de microorganismos en el aire que exceden las concentraciones naturales o difieren en el tipo de los microorganismos que existen naturalmente (UNE-CEN/TS 16115-1:2013).

Corriente de agua: Agua que fluye continua o intermitentemente a lo largo de un curso bien definido, similar a un río, pero generalmente de menor escala.

Diámetro aerodinámico equivalente: Diámetro de una esfera de una densidad de 1 g/cm³, con idéntica velocidad de caída debido a la fuerza gravitacional en aire en calma que la partícula considerada, bajo las mismas condiciones de temperatura, presión y humedad relativa (UNE 77213:1997).

Duración del almacenamiento: Período de tiempo comprendido entre la toma de muestra y el inicio de su análisis en el laboratorio, para una muestra almacenada bajo condiciones predefinidas.

Eficacia de conservación biológica: Capacidad de un equipo de toma de muestra para mantener la viabilidad de los microorganismos en el aire durante la captación y, además, conservar intactos los productos microbiológicos (UNE-EN 13098:2000).

Eficacia física de la toma de muestra: Capacidad del dispositivo de toma de muestra para captar las partículas de un tamaño determinado suspendidas en el aire (UNE-EN 13098:2000).

Eficacia total de la toma de muestra: Producto de la eficacia física de la toma de muestra y la eficacia de conservación biológica (adaptado de la norma UNE-EN 13098:2000).

Emergencia ambiental: es un evento o circunstancia no deseada e inesperada, que ocurre de forma repentina y en cuyo resultado se produce la liberación no controlada de uno o de varios productos tóxicos en matrices ambientales (aire, agua o tierra) y que son potencialmente nocivos para la salud humana y/o el medioambiente, de manera inmediata o diferida en el tiempo.

Equipo de intervención: grupo de técnicos que se desplaza a la zona afectada y con una composición variable según la naturaleza de la emergencia.

Equipo de protección individual (EPI): Cualquier equipo destinado a ser llevado o sujetado por el trabajador para que le proteja de uno o varios riesgos que puedan amenazar su seguridad o su salud, así como cualquier complemento o accesorio destinado a tal fin (Real Decreto 773/1997).

Filtración: Captación de las partículas suspendidas en un gas o un líquido, haciéndolo fluir a través de un medio poroso (UNE-EN 13098:2000).

Hongos: Grupo variado de microorganismos eucariotas con núcleos rodeados de membranas que contienen varios cromosomas (UNE-EN 13098:2000).

Impactación: Captación de las partículas en suspensión en el aire aceleradas a través de un orificio o hendidura sobre una superficie por efecto de la inercia (UNE-EN 13098:2000).

Materia particulada en suspensión (MPS): Noción de todas las partículas rodeadas por aire en un volumen de aire dado y no perturbado (UNE-EN 12341:2015).

Microorganismo: Entidad microbiana (celular o no) capaz de multiplicarse o transferir material genético, o que ha perdido estas propiedades.

Moho: Hongo filamentoso de diversos grupos taxonómicos, principalmente Zigomicetos, Ascomicetos (Ascomicota) y Deuteromicetos (hongo imperfecto).

Muestra: Porción de la masa seleccionada a partir de una cantidad mayor de material.

Muestra elemental: Cantidad de materia tomada de una sola vez en una unidad de muestreo.

Muestra final: Muestra obtenida o preparada de acuerdo al plan de muestreo, destinada a ser utilizada como muestra para laboratorio.

Muestra global: Conjunto de muestras elementales.

Muestra global ordenada: Muestra sólida global obtenida después de ordenar elementos gruesos de más de 2 cm de tamaño.

Muestra para laboratorio: Muestra con el estado de preparación suficiente para ser enviada al laboratorio.

Muestra puntual; muestra única: Muestra de material recogida en un solo punto y en un momento determinado.

Muestra reducida: Parte representativa de la muestra global obtenida por un procedimiento de reducción de manera que su masa sea suficiente para constituir la muestra final.

Muestra compuesta de agua:

- *Integrada en profundidad:* Dos o más muestras acuáticas tomadas de forma discreta o continua a distintas profundidades en una misma ubicación de una masa de agua.
- *Integrada en superficie:* Muestra de agua obtenida como resultado de la combinación de una serie de muestras tomadas a una profundidad determinada en distintas ubicaciones de una masa de agua.

Muestra vertical: Muestra tomada en forma de ranura vertical en un estrato, o en otra subparte supuestamente homogénea.

Período de almacenamiento: Período de tiempo transcurrido entre el llenado del recipiente de muestra y el tratamiento posterior de la muestra en el laboratorio, si se almacena bajo condiciones predefinidas.

Punto de toma de muestra: Posición precisa en una zona de muestreo en la que las muestras son tomadas.

Registro: Documento que proporciona evidencia objetiva de actividades realizadas o de resultados obtenidos. *Un registro puede estar escrito o almacenado en cualquier soporte de datos.*

- *Un registro de calidad proporciona evidencia objetiva de la extensión del cumplimiento de los requisitos para la calidad o de la eficiencia del funcionamiento de un elemento del sistema de la calidad.*
- *Alguno de los propósitos de los registros de la calidad son la demostración, la trazabilidad y las acciones preventivas y correctivas.*

Río: Caudal natural de agua que fluye continua o intermitentemente a lo largo de un curso bien definido, terminando en un océano, mar, lago, depresión continental, pantano u otro curso de agua.

Sub-muestra: Porción extraída de una muestra con la intención de que sea representativa de la misma.

Unidad de muestreo: Cantidad definida de materia, en la que los límites pueden ser físicos o hipotéticos. Una zona de prevalencia está dividida en distintas unidades de toma de muestra.

Unidad formadora de colonia (UFC): Unidad en que se expresa el número de microorganismos cultivables (UNE-EN 13098:2000).

Virus: Agente infeccioso de pequeño tamaño compuesto por material genético que únicamente puede replicarse en el interior de las células vivas de los organismos a los que parasita (adaptada de *Brock Biology of Microorganisms 2010 (13th Edition)*). Madigan, Martinko, Stahl & Clark, ISBN 978-0321649638).

Zona de muestreo: Área definida en el plan de muestreo en la que las muestras son tomadas.

Zona de prevalencia: Zona de toma de muestra supuestamente homogénea. Una parcela puede ser dividida en distintas zonas de prevalencia.

Zona saturada: Parte de un acuífero en el que los poros/espacios que lo conforman están completamente llenos de agua.

Zona insaturada: Parte de un acuífero en el que los poros/espacios que lo conforman no están completamente llenos de agua

3. SIGLAS Y ABREVIATURAS

AA	Aparato/s e instrumento/s
AC	Acción Correctiva
AP	Acción Preventiva
DC	Director de Centro
EA	European co-operation for Accreditation
JGC	Jefe de Garantía de Calidad
MC	Medios de Cultivo
MDC	Manual de Calidad
MR	Material/es de Referencia
MV	Material de vidrio, plástico o accesorio
NC	No Conformidad
PC	Plan de Calidad
PNC	Procedimiento Normalizado de Calibración
PNE	Procedimiento Normalizado de Ensayo
PNM	Procedimiento Normalizado de Mantenimiento
PNT	Procedimiento Normalizado de Trabajo
PNU	Procedimiento Normalizado de Utilización
POG	Procedimiento Operativo General
RR	Reactivos
RT	Responsable Técnico
TNC	Trabajo No Conforme

4. CONSIDERACIONES GENERALES EN LA TOMA DE MUESTRAS DE MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS EN LAS MATRICES AMBIENTALES AIRE, AGUA Y SUELO/SEDIMENTO

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo; Dra. Rosalía Fernández Patier; Dr. David Galán Madruga, Dra. Sonia Aguayo Balsas, D^a Gema Díaz López

4.1 SEGURIDAD DEL PERSONAL ENCARGADO DE LA TOMA DE MUESTRA

El personal que, durante el desarrollo de su actividad laboral, está expuesto a agentes biológicos, debe seguir unas normas de seguridad a fin de minimizar los riesgos relacionados con dicha exposición. Estos aspectos quedan recogidos en la Directiva 90/679/CEE del Consejo sobre “protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo”. Dicha Directiva ha sido actualizada adaptándola al progreso técnico y modificada convenientemente en las Directivas 95/30/CE, 93/88/CEE, 97/65/CE y 97/59/CE, siendo finalmente codificada en la Directiva 2000/54/CE. Su correspondiente transposición al ordenamiento jurídico español se encuentra en el Real Decreto 664/1997 sobre “la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo”.

En base a dichos documentos y en función del riesgo de infección, los agentes biológicos se clasifican en cuatro grupos:

- a) Agente biológico del grupo 1: Aquél que resulta poco probable que cause una enfermedad en el ser humano.
- b) Agente biológico del grupo 2: Aquél que puede causar una enfermedad en el ser humano y puede suponer un peligro para los trabajadores, siendo poco probable que se propague a la colectividad y existiendo generalmente profilaxis o tratamiento eficaz.
- c) Agente biológico del grupo 3: Aquél que puede causar una enfermedad grave en el ser humano y presenta un serio peligro para los trabajadores, con riesgo de que se propague a la colectividad y existiendo generalmente una profilaxis o tratamiento eficaz.
- d) Agente biológico del grupo 4: Aquél que causando una enfermedad grave en el ser humano supone un serio peligro para los trabajadores, con muchas probabilidades de que se propague a la colectividad y sin que exista generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaz.

4.1.1 Medidas de seguridad para la toma de muestra de agentes biológicos del grupo 1 que pudieran estar presentes en bioaerosoles, agua y/o suelo

Para la toma de muestras de agentes biológicos del grupo 1 se deberán tomar medidas de correcta seguridad e higiene profesional, tales como, prohibición de comer, beber o fumar durante la realización de dicha actividad. En igual medida, el personal encargado de la realización de la toma de muestra deberá lavarse las manos después del contacto con equipos y materiales de toma de muestra de microorganismos no patógenos. Asimismo, se recomienda la utilización de los EPI apropiados (monos, batas o uniformes) para prevenir la contaminación de las prendas de calle.

4.1.2 Medidas de seguridad para la toma de muestra de agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4 que pudieran estar presentes en bioaerosoles, agua y/o suelo

Aunque en el Anexo II (Clasificación de los agentes biológicos) del Real Decreto 664/1997 existe una designación clara de aquellos microorganismos que no se transmiten por vía aérea, al no tener conocimiento previo sobre la naturaleza del microorganismo potencialmente patógeno presente en la matriz a muestrear, no se deben hacer distinciones respecto a las medidas de seguridad pertinentes. Dada la peligrosidad de este escenario, se deben seguir fielmente la normativa en cuanto a medidas de prevención, formación y actuación del trabajador en estos casos, recogida en el Real Decreto 664/1997 y desglosada en la Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos y, en cualquier caso, las medidas de seguridad deberán ser las máximas posibles, independientemente de la categorización final del agente biológico en base a su riesgo de infección.

La toma de muestra de microorganismos sospechosos de ser altamente patógenos no se debe realizar en aquellas condiciones presentes en un laboratorio de contención, se deben realizar empleando medidas de protección que corresponderán con aquellas que puedan aportar los EPI.

Dada la elevada peligrosidad, en relación a la toma de muestra de agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4, que existe respecto a un riesgo de infección y en cumplimiento del Real Decreto 664/1997, se deberá informar al personal encargado de realizar la toma de muestra de estos agentes de aquellas medidas profilácticas disponibles, procesos de vacunación, así como de las ventajas e inconvenientes asociadas a dichas medidas. Si la persona a realizar la actividad de toma de muestra decide optar por la vacunación, su centro de trabajo deberá poner a su disposición la totalidad de vacunas eficaces frente a patógenos ambientales disponibles. El proceso de vacunación no debe suponer gasto alguno a la persona encargada de realizar la toma de muestra, pudiendo petitionar un certificado de vacunación a título personal o a las autoridades sanitarias.

En base al contexto de alerta sanitaria en el que se enmarca la toma de muestra de microorganismos sospechosos de ser altamente patógenos (de naturaleza generalmente desconocida), se deberá trabajar con ropa de protección contra agentes biológicos de tipo 1-B subtipo 1 c y de la clase más elevada posible en cuanto a las pruebas de resistencia a la penetración (de líquidos contaminados bajo presión hidrostática, de agentes biológicos por vía húmeda, por aerosoles líquidos contaminados y por partículas sólidas contaminadas, véase la Tabla 1).

Esta ropa de protección son trajes herméticos a gases y vapores, que cubren totalmente el cuerpo, poseen costuras y uniones estancas, incluyendo guantes y botas y requieren de un equipo de protección respiratoria para suministrar aire respirable que puede ser autónomo o semiautónomo, de forma que se suministra aire a presión positiva, tratándose por tanto de trajes que trabajan ligeramente presurizados.

Los requisitos y métodos de ensayo para la ropa de protección contra agentes biológicos se describen en la norma UNE-EN 14126:2004/AC:2006.

Tabla 1. Tipos de ropa contra agentes biológicos. Adaptado de NTP 772 (INSHT)

Ropa contra agentes biológicos	Descripción
Tipo 1-B	Herméticos a gases y vapores. Cubren totalmente el cuerpo, poseen costuras y uniones estancas. Incluyendo guantes y botas. Requieren equipo de protección respiratoria para suministrar aire respirable que puede ser autónomo o semiautónomo, lo que conlleva la subclasificación siguiente: Tipo 1 a: Totalmente envolventes, con equipo de respiración autónomo llevado en el interior del traje. Tipo 1 b: Permiten llevar el equipo de respiración autónomo en el exterior del traje. Tipo 1 c: Se combinan con un equipo semiautónomo, de forma que se les suministra aire a presión positiva y por tanto son trajes que trabajan ligeramente presurizados. (UNE-EN 943-1:2003)
Tipo 2-B	También son trajes de protección frente a gases y vapores. Son equivalentes al tipo 1c, pero las costuras y uniones no son estancas. (UNE-EN 943-1:2003)
Tipo 3-B	Herméticos a líquidos presurizados, en forma de chorro. (UNE-EN 14605:2005)
Tipo 4-B	Herméticos a líquidos pulverizados. (UNE-EN 14605:2005)
Tipo 5-B	Traje con conexiones herméticas frente a partículas sólidas suspendidas en aire. (UNE-EN ISO 13982-1:2005)
Tipo 6-B	Ofrecen una protección limitada frente a salpicaduras de productos químicos líquidos. (UNE-EN 13034:2005)
Ropa de protección parcial	Son prendas que protegen partes concretas del cuerpo. (UNE-EN 14605:2005)

Dentro de este marco de actuación, y una vez se abandone la zona presuntamente contaminada, resulta fundamental la desinfección de los equipos, trajes y material empleados durante la toma de muestra de microorganismos sospechosos de ser altamente patógenos mediante una ducha química en el primer punto que sea posible. La descontaminación química inactiva el agente a través del uso de desinfectantes antimicrobianos o agentes esterilizantes. Actualmente existen tres tipos de descontaminación química antimicrobiana: mediante líquidos, a través de espumas y geles o mediante gases y vapores.

En un contexto de emergencia se empleará hipoclorito sódico o cálcico según normativa OTAN. Dicha normativa determina el uso de una disolución de hipoclorito sódico o cálcico al 0,5 % para la desinfección de personas (con posible contacto directo del desinfectante con la piel) y de la misma solución preparada al 5 % para la descontaminación de los EPI. En el proceso de descontaminación de estos equipos hay que tener la precaución de que ninguna partícula del agente contaminante quede retenida y sin entrar en contacto con el desinfectante antes de volver a utilizarla. La disolución de hipoclorito al 0,5 % sólo debe utilizarse sobre la piel, no debiéndose emplear sobre ojos o heridas abiertas en abdomen, pecho, cráneo o columna vertebral. Los EPI deben estar en contacto con la disolución de hipoclorito un periodo de tiempo comprendido entre 10 y 15 minutos, para a continuación realizar enjuagues con agua desionizada.

Asimismo, deberá comprobarse permanentemente la integridad de los EPI (filtros, sellos, juntas). Dicha comprobación deberá hacerse utilizando microorganismos sustitutos inofensivos, cuya liberación en las condiciones de comprobación simulen la liberación de los microorganismos en el proceso de trabajo de toma de muestra real. Los equipos deberán estar listos para su utilización inmediata, por lo que la realización de estas comprobaciones deberá estar programada periódicamente. Se deberá disponer de equipos alternativos para que exista disponibilidad permanente, incluso durante los procesos de comprobación.

4.2. DESCONTAMINACIÓN DE EQUIPOS

La descontaminación de los equipos e instrumentos implicados en la toma de muestra garantizará que los microorganismos captados sean exclusivamente aquellos presentes en el medioambiente. Se deberán seguir las recomendaciones recogidas en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio (2005, OMS) para la esterilización de equipos.

4.2.1 Esterilización

Se trata de un proceso de descontaminación que destruirá todas aquellas formas de microorganismos (bacterias, mohos, virus y/o parásitos) presentes en un determinado equipo o instrumento. El proceso de esterilización a utilizar dependerá de los equipos empleados y, más concretamente, del material o composición de dichos equipos.

Entre las alternativas de esterilización de equipos que se describen a continuación habrá que escoger aquella que sea compatible con el equipo de toma de muestra a utilizar en cuanto a su resistencia frente a altas temperaturas.

Así la desinfección por altas temperaturas será siempre posible en recipientes de vidrio, mientras que su aplicación a aquellos recipientes de plástico va a depender de la composición del mismo y su densidad. En la Tabla 2 se recogen las directrices para una correcta esterilización de distintos materiales plásticos.

Tabla 2. Mecanismos de desinfección en función del material del recipiente

Tipos de esterilización en función del material plástico	Métodos físicos		Métodos químicos	
	Esterilización por calor húmedo	Esterilización por calor seco	Plasma a baja t^a y peróxido de Hidrógeno	Gas (Óxido de Etileno)
ABS	no	no	sí	sí
HDPE	no	no	sí	sí
LDPE	no	no	sí	sí
PC	sí	no	sí	sí
PFA/FEP	sí	sí	sí	sí
PMP (TPX®)	sí	no	sí	sí
PP	sí	no	sí	sí
PS	no	no	sí	sí
PTFE	sí	sí	sí	sí
ETFE/ECTFE	sí	sí	sí	sí
PVC	no	no	sí	sí
SI	sí	sí	sí	sí

4.2.1.1 Métodos físicos

4.2.1.1.1 Esterilización por calor húmedo

El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de patógenos, siendo el método más sencillo, económico y práctico para esterilizar. El vapor de agua es un agente germicida dado que produce hidratación, coagulación e hidrólisis de las albúminas y proteínas de las bacterias.

La aplicación de vapor de agua saturado a presión (tratamiento en autoclave) es el medio más eficaz y fiable de esterilizar cualquier material.

Los recipientes se autoclavan a una temperatura de $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una presión de 2,0265 bar durante un periodo mínimo de 15 min. El fundamento del autoclave consiste en sustituir el aire por vapor de agua durante el proceso de esterilización.

4.2.1.1.2 Esterilización por calor seco

El calor seco, agente físico no corrosivo, se utiliza para esterilizar aquellos objetos de laboratorio que puedan soportar temperaturas iguales o superiores a $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un periodo de tiempo entre 2 h a 4 h. Todo material resistente al calor e incompatible con vapor de agua debe ser esterilizado mediante calor seco. Previo al proceso de esterilización por calor seco, se deberá limpiar, secar y envolver en papel de aluminio el material a esterilizar. El proceso de esterilización por calor seco se fundamenta en que produce la coagulación de las proteínas y elimina pirógenos.

Los equipos empleados en un proceso de esterilización por calor seco, hornos Pasteur o Estufas de Pupinela, deberán poder trabajar a una temperatura de $170\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un periodo mínimo de 1 h después de finalizada la etapa de precalentamiento.

4.2.1.2 Métodos químicos

El empleo de productos químicos permite desinfectar a temperatura ambiente aquellos equipos o instrumentos cuya composición no resiste la esterilización por calor.

4.2.1.2.1 Esterilización con plasma de baja temperatura generado por peróxido de hidrógeno

Se trata de un método ideal para esterilizar material termosensible (requiere equipo especializado). Es un proceso de esterilización que no produce contaminantes, generando como residuos vapor de agua y oxígeno, por tanto no requiere aireación al no ser un proceso tóxico.

El proceso de esterilización por plasma se fundamenta en un proceso de difusión de vapor de peróxido de hidrógeno dentro de la cámara o equipo de esterilización y por estimulación electromagnética de las moléculas de peróxido de hidrógeno a un estado de plasma a baja temperatura. Dado que el peróxido de hidrógeno es un agente oxidante, ataca los radicales hidroxilos de las membranas lipídicas, ADN y otros componentes esenciales del microorganismo, provocando así su muerte celular.

El ciclo de esterilización con plasma de baja temperatura generado por peróxido de hidrógeno se realiza a temperaturas comprendidas entre $10\text{ }^{\circ}\text{C} - 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un periodo de 75 min.

4.2.1.2.2 Esterilización por óxido de etileno

El óxido de etileno es un compuesto químico tóxico, carcinogénico y mutagénico, por lo que se tratará de la última opción a la hora de elegir método de esterilización. Debido a sus efectos nocivos sobre la salud, requiere la aireación del material una vez esterilizado. Además presenta ciclos de esterilización largos. Con estas desventajas, su uso se justifica en el hecho de que es un agente esterilizante útil para materiales sensibles al calor (temperaturas superiores a 60°C) y la humedad (humedad relativa superior al 90 %), teniendo además buena capacidad de difusión y penetrabilidad. El óxido de etileno inactiva los microorganismos mediante un proceso llamado alquilación.

Los esterilizadores de óxido de etileno han de estar ubicados en zonas cerradas y de acceso restringido, que deben disponer de un sistema de ventilación adecuado sin recirculación y con presión negativa. El óxido de etileno se encuentra almacenado en cartuchos, conteniendo cada cartucho la cantidad de óxido de etileno necesaria para un solo ciclo. La perforación del cartucho se produce de forma automática en el interior del esterilizador. El personal encargado de la realización del proceso de esterilización por óxido de etileno deberá tener adecuado entrenamiento y recibir elementos de bioprotección.

Los ciclos de esterilización por óxido de etileno pueden realizarse en dos rangos de temperatura:

- Ciclo frío: temperatura entre 27 °C y 37 °C durante 5 h – 5 h 30 min.
- Ciclo caliente: temperatura entre 55 °C y 60 °C durante 2 h – 3 h.

4.2.2 Control de calidad de los recipientes de toma de muestra

El laboratorio debe asegurar la esterilidad de los recipientes de toma de muestra, tanto si se han preparado internamente como si se trata de recipientes comerciales, independientemente del material de fabricación (vidrio o plástico). Los recipientes comerciales se deberían distribuir con un certificado de esterilización, como condición para su aceptación, y también es aconsejable realizar ensayos de esterilidad del lote en uso. Esto corresponde al lote de recipientes tras su etiquetado, adición de agentes de inactivación, si procede, y almacenamiento.

4.2.2.1 Ensayo de esterilidad

Usualmente se garantiza la esterilidad de los recipientes mediante el control del proceso de esterilización. En caso contrario, se debería ensayar la esterilidad de los recipientes.

a) Método del “frasco rodado”

Consiste en introducir de 20 ml a 50 ml de agar nutritivo fundido (agar de recuento en placas) en el recipiente de ensayo y revestir internamente las paredes con agar haciendo rotar la botella mientras se va enfriando (añadiendo una pequeña cantidad de agua, si es necesario). La incubación a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durante cinco días no debería mostrar crecimiento alguno visible.

b) Método del caldo líquido

Consiste en introducir en el interior del recipiente de 20 ml a 50 ml de tioglicolato u otro caldo nutritivo, se hace girar la botella para humedecer las paredes y se incuba a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durante cinco días. No debería aparecer turbidez alguna si el recipiente está estéril.

4.2.2.2 Ensayo de presencia de agentes de inactivación

La presencia de tiosulfato puede comprobarse utilizando un método iodométrico. Se añaden 10 ml de agua destilada al recipiente y se valora con solución de yodo, empleando almidón o tiofeno como indicador del punto final de la valoración.

4.2.2.3 Ensayo de toxicidad residual en los recipientes de toma de muestra

La toxicidad residual en los recipientes de toma de muestra puede provenir del procedimiento de lavado del material de vidrio, a partir de la liberación de componentes o aditivos de las botellas de plástico así como del proceso de esterilización. El uso en rutina de recipientes de vidrio o de polietileno no requiere la comprobación de la toxicidad de modo regular, pero en caso de que se suscite cualquier duda, se ensaya, por ejemplo, conforme al método de Geldreich, 1975.

4.3 MANIPULACIÓN Y TRANSPORTE DE EQUIPOS AL EMPLAZAMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRA

Durante el transporte de equipos al emplazamiento de la toma de muestra se deberá mantener la esterilidad e integridad tanto de los soportes de toma de muestra como de los equipos implicados en la toma de muestra. Así, durante el periodo de almacenaje de los equipos, previo a la fase de captación, como durante su manipulación y transporte al punto de toma de muestra, se deberá asegurar el cumplimiento de estas premisas. De existir dudas sobre el cumplimiento de alguna de ellas, por un lado para equipos, se deberá proceder a revisar el funcionamiento de éstos y una vez comprobado, se deberá proceder nuevamente a su esterilización, y por otro lado, para material fungible, se deberá desechar y reemplazar por material nuevo.

En cualquier caso, la manipulación previa a la salida de los equipos al emplazamiento de toma de muestra deberá ser la menor posible quedando justificadas aquellas operaciones de preparación que no pudieran realizarse en el emplazamiento de toma de muestra. En estos casos, se deberá garantizar las condiciones de esterilidad mediante el trabajo en campana y con guantes desechables. Previo al traslado de equipos al punto de toma de muestra, se deberá verificar que las entradas y/o salidas de los equipos a trasladar estén cerradas para evitar la entrada de aire y microorganismos aerotransportados.

Durante el período de transporte, de ser posible, los equipos deberán ir protegidos asépticamente de forma similar al periodo de almacenaje. Si no fuera posible, se deberán envolver en recipientes estériles o cubrir en su totalidad con film protector. En igual medida, los equipos durante el proceso de transporte, deberán proporcionar protección y fijación correcta al medio de transporte.

Una vez en el emplazamiento de toma de muestra, los equipos se expondrán al medioambiente inmediatamente antes de la toma de muestra.

4.3.1 Tiempo, conservación y transporte de muestras de matrices ambientales sospechosas de contener microorganismos no patógenos

Desde la finalización de la toma de muestra hasta su análisis en laboratorio, se deberá hacer todo lo posible para:

- Evitar la contaminación de la muestra
- Reducir al mínimo cualquier cambio químico, físico o biológico de la muestra en cuestión

Para ello, una vez finalizada la toma, las muestras resultantes deben ser protegidas frente a posibles alteraciones, tales como radiación solar, humedad, desecación, calor o polvo introduciéndolas en envases sellados que las mantengan en oscuridad. Se recomienda que en el caso de virus, la temperatura durante el almacenamiento intermedio y el transporte hacia el laboratorio de destino sea de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

En el caso específico de realizar una toma de muestra de bioaerosoles, cuando el objetivo de la toma de muestra sean bacterias o mohos, la temperatura de almacenamiento y transporte no deberá exceder la temperatura de incubación (25°C). En el caso de toma de muestra de mohos, los filtros cargados deberán ser transportados con la cara de toma de muestra hacia arriba en los contenedores sellados. En este tipo de muestras, la temperatura durante el transporte no debe exceder la temperatura de incubación (25°C).

En todo caso deberán registrarse las condiciones durante el almacenamiento y transporte (temperatura, humedad y duración). Las muestras deberán procesarse en el laboratorio tan pronto como sea posible tras la toma, preferiblemente no más tarde de 24 h después de haber sido captadas. En el caso particular de muestras de agua potables, el análisis debería iniciarse idealmente el mismo día de la toma de muestra.

4.3.1.1 Custodia de la muestra

Las diferentes muestras captadas de microorganismos no patógenos en las diferentes matrices ambientales deberán presentar una codificación individual por muestra (apartado 4.4). Dicha codificación permitirá la trazabilidad de la muestra durante el proceso de transporte, almacenamiento y análisis. Para garantizar la integridad de las muestras, todas las etapas en las que la muestra está involucrada deberán estar registradas. Al tratarse de microorganismos no patógenos no aplica una cadena de custodia al no trabajar en un contexto de amenazas sanitarias.

4.3.1.2 Distribución de muestras

Finalizado el proceso de toma de muestra, se procederá al traslado de las muestras al laboratorio de análisis. Se deberá cumplimentar un formato de distribución de las muestras entre el órgano que realiza el transporte y el laboratorio que recibe las muestras para su análisis.

4.3.1.3 Descontaminación de equipos

Una vez realizada la toma de muestra, en función de la peligrosidad de los microorganismos susceptibles de haber sido captados (patógenos o inoos), la descontaminación de los equipos será más o menos intensa. Al igual que en la descontaminación de equipos previa a la toma de muestra, se deberán seguir las recomendaciones recogidas en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio (2005, OMS).

4.3.1.4 Desinfección de nivel intermedio

Aquella desinfección que destruye todas las formas bacterianas vegetativas y la mayoría de virus y mohos, pero no destruye necesariamente las esporas.

Debe tenerse en cuenta que por su propia función, destrucción de microorganismos, muchos desinfectantes tienen características de toxicidad importantes para el ser humano, por lo que se deberán adoptar las medidas de protección y prevención adecuadas y seguir siempre las instrucciones para su aplicación contenidas en la etiqueta y en las fichas de seguridad. Los desinfectantes que se utilicen deben estar adecuadamente etiquetados según la normativa correspondiente (RD 255/2003, transposición al ordenamiento jurídico español de la Directiva 1999/45/CE), si se han adquirido comercialmente o si son de preparación propia. Al adquirir productos químicos, se deberá exigir la entrega de la ficha de seguridad correspondiente.

Agentes desinfectantes

Como agentes desinfectantes se encuentran:

- Etanol (alcohol etílico, C_2H_5OH) y 2-propanol (alcohol isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$). Ambos compuestos tienen propiedades desinfectantes similares. La máxima eficacia se conseguirá utilizándose en concentraciones acuosas de entre 700 g/l y 850 g/l (aproximadamente un 70 % (v/v)) que deberán estar en contacto con la superficie a desinfectar como mínimo durante 15 min. Las concentraciones más altas o más bajas pueden no tener tanto poder germicida. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcoholes es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados.

Los alcoholes son volátiles e inflamables y no deben utilizarse en las proximidades de llamas desnudas. Las soluciones de trabajo deben almacenarse en recipientes apropiados para evitar la evaporación.

- Hipoclorito sódico ($NaClO$). El cloro, oxidante de acción rápida, es un germicida químico de uso muy extendido. En general, se utiliza en forma de hipoclorito sódico. El cloro, especialmente en forma de lejía, es sumamente alcalino y puede ser corrosivo para los metales. Su actividad se ve considerablemente reducida por la materia orgánica (proteínas), por lo que en caso de que exista suciedad visible se recomienda realizar una limpieza superficial previa a su aplicación. Se trata de un agente oxidante, energético y corrosivo para los metales.

En su aplicación, se deberá mantener el material a desinfectar en contacto con diluciones de 5 g/l a 10 g/l de cloro libre (mayor concentración en función de la carga de materia orgánica presente) durante un período de 30 min. Estas soluciones son inestables, por lo que se recomienda su preparación individualizada de forma previa a su utilización.

4.3.2 Tiempo, conservación y transporte de muestras de matrices ambientales sospechosos de contener microorganismos

El tiempo y los requisitos para la conservación de muestras sospechosas de albergar microorganismos altamente patógenos son los mismos que los indicados en el punto 4.3.1 para los no patógenos.

Sin embargo, para el transporte de muestras sospechosas de patogenicidad, se deberá seguir escrupulosamente las directrices recogidas en la “*Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2013–2014*” emitida por la Organización Mundial de la Salud-OMS. En este documento se especifican, entre otros aspectos, requisitos que afectan al transporte aéreo, marítimo o terrestre de sustancias de la categoría A, como las muestras ambientales que pudieran contener microorganismos sospechosos de ser altamente patógenos. La reglamentación de la OMS cumple las exigencias recogidas en el Artículo 21 del Convenio Postal Universal (BOE nº 303 de 27 de diciembre de 1966).

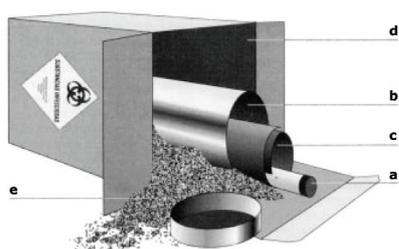
4.3.2.1 Recipientes de transporte

Los embalajes destinados a las sustancias infecciosas y las muestras de diagnóstico constan de tres capas (según Figura 1):

- Recipiente primario. Un recipiente impermeable y estanco que contiene la muestra. El recipiente se envuelve en material absorbente suficiente para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
- Embalaje/envase secundario. Un segundo embalaje/envase estanco, impermeable y duradero que encierra y protege el recipiente o recipientes primarios. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un embalaje/envase secundario, pero se deberá usar suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de rotura o fuga.
- Embalaje/envase exterior. Los embalajes/envases secundarios se colocan en embalajes/envases exteriores de expedición con un material amortiguador adecuado. Los embalajes/envases exteriores protegen el contenido de los elementos exteriores, como daños físicos, mientras el bulto se encuentra en tránsito. Ninguna de las caras del embalaje/envase exterior tendrá dimensiones inferiores a 10 cm × 10 cm.

Los requisitos de marcación, etiquetado y documentación correspondientes a las sustancias infecciosas de categoría A que cada embalaje/envase preparado para su expedición deberá poseer están claramente definidos en la “*Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2013–2014*” emitida por la Organización Mundial de la Salud-OMS y habrá que seguirlos estrictamente.

Figura 1. Embalaje de material biológico peligroso



- a.- Recipiente primario
- b.- Embalaje/envase secundario
- c.- Material absorbente
- d.- Embalaje/envase exterior
- e.- Material de relleno

4.3.2.2 Descontaminación de equipos

4.3.2.2.1 Esterilización

El procedimiento de esterilización, posterior a la toma de muestra, será similar al previo a la toma de muestra, descrito en el apartado 4.3.1.3 de este procedimiento.

4.3.2.2.2 Custodia de la muestra

Para garantizar la integridad de las muestras, todas las etapas en las que la muestra está involucrada deberán estar documentadas.

En el caso de muestras ambientales que pudieran contener microorganismos sospechosos de ser altamente patógenos, en España será la Unidad Militar de Emergencias (UME) la encargada de realizar la toma de muestra de estos agentes sospechosos o de, en su caso, movilizar a otras Fuerzas y Cuerpos de seguridad del Estado; siendo en todo caso responsabilidad de dichos organismos la custodia de la muestra durante el proceso de captación y transporte al laboratorio de análisis en base a sus procedimientos.

4.3.2.2.3 Distribución de muestras

Semejante al apartado 4.3.1.2.

4.4 REGISTRO DE TOMA DE MUESTRA

Se deberán registrar el objetivo de la toma de muestra y todos los detalles de la misma en el registro correspondiente, que irá adjunto al soporte de toma de muestra. En igual medida, se deberá incluir aquella información relativa a la localización del punto de toma de muestra, en el que se incluirá un dibujo de los alrededores de la localización de la toma de muestra.

Cada muestra captada deberá ser codificada individual e inequívocamente de forma que permita una identificación única de la misma. Una posibilidad de codificación es emplear un código alfanumérico de ocho letras (AA-BB-CCCC) y dos dígitos (XX) como se explica a continuación:

Letras

AA - Peligrosidad (supuesta) del microorganismo captado	AP: Altamente patógeno NP: No patógeno
BB - Tipo de microorganismo sospechoso de ser captado	BA: Bacterias
	MO: Mohos
	VI: Virus
CCCC - Localización del punto de toma de muestra 4 primeras letras del municipio	

Números

XX - Orden cronológico de toma (del 01 al 99)

Por ejemplo, siguiendo esta codificación, la primera muestra tomada como producto de una alerta provocada por un virus altamente patógeno liberado en Madrid llevaría el siguiente código: AP-VI-MADR-01

Es fundamental para la posterior etapa analítica que quede registrado el caudal de toma de muestra así como el período durante el que ésta se ha realizado.

También deberá registrarse una mínima información respecto a las condiciones meteorológicas en las que la muestra fue tomada. Por último, es importante que todas aquellas características específicas, anomalías e interferencias que pudieran ser pertinentes para el resultado de la toma (por ejemplo, percepción de olores extraños, tipo y localización de posibles fuentes de emisión adicionales, variaciones de funcionamiento de la(s) fuente(s) de emisión objeto de la investigación, turbulencia de polvo causada por paso de vehículos) queden registradas.

4.5 REGISTRO DE DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS

De forma previa a la entrega de la muestra en el laboratorio de microbiología de destino, deberá rellenarse por parte del tomador de la muestra un registro con una información relativa a la identificación de la misma, el propósito de la toma e información de la entidad tomadora. Asimismo, el laboratorio de destino deberá aportar cierta información propia a este registro, dejando constancia de la recepción de la muestra firmándolo y sellándolo, de forma que constituya prueba fehaciente de que la muestra ha sido recibida por su parte.

4.6 RESULTADOS

Una vez el laboratorio emita el correspondiente informe de resultados, será necesario calcular las UFC por unidad de volumen o determinar para el caso de microorganismos altamente patógenos la presencia / ausencia de éstos en el volumen de muestra captada, indicando éste en el informe de resultados. Los resultados serán informados por parte del laboratorio que realiza la toma de muestra.

5. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE BIOAEROSOL/AGENTES BIOLÓGICOS ALTAMENTE PATÓGENOS EN MATRIZ AIRE

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo; Dra. Rosalía Fernández Patier; Dr. David Galán Madruga

Este procedimiento se utilizará para la toma de muestra de bacterias, mohos y virus en cualquier tipo de aire (ya sea aire ambiente o de interiores), pudiendo ser estos bioaerosoles, en cualquiera de los casos, inocuos y/o patógenos.

5.1 GENERAL

Los métodos para la toma de muestra de bioaerosoles persiguen la captación de estas partículas de origen biológico. La mayoría de las técnicas de toma de muestra en aire dependen del diámetro aerodinámico equivalente de las partículas aerotransportadas, de sus propiedades de adhesión, del movimiento browniano, de los gradientes térmicos y de la inercia de las partículas.

A nivel europeo, existen dos grupos de trabajo centrados en el tema

- El CEN/TC 264/WG 28 (*Measurement of bioaerosols in ambient air and emissions*) se encuentra desarrollando métodos normalizados para la medición de bioaerosoles. Este grupo de trabajo ha publicado hasta la fecha una especificación técnica (CEN/TS 16115-1:2011) dirigida a la determinación de mohos en aire ambiente mediante sistemas de filtrado y análisis basados en cultivo y ha adoptado una norma ISO (EN ISO 16000-19:2014) enfocada en la estrategia muestreo de mohos en aire de interiores. Este grupo de trabajo se ubica en el comité técnico CEN/TC 264 (*Air quality*), el cual se encarga, entre otros cometidos, de la normalización de métodos para la caracterización de la calidad del aire en lo que respecta a aire ambiente y emisiones.
- El CEN/TC 137/WG 5 (*Measurement of biological agents: Standardization of methods for assessment of workplace exposure due to biological agents including measurement strategy and the determination of biological agents in the workplace atmosphere*) realiza una tarea semejante al anterior pero centrándose en ambientes de trabajo. Como resultado del trabajo del grupo CEN/TC 137/WG 5, cabe citar la norma UNE-EN 13098:2000 donde se recogen aspectos relacionados con la medida de microorganismos y endotoxinas en el aire del lugar de trabajo.

De forma general, todas las técnicas de toma de muestra de bioaerosoles a describir en el presente procedimiento se basan en la aspiración de un volumen de aire para posteriormente retener su contenido (partículas aerotransportadas) en distintos soportes de muestreo. En función del fundamento teórico específico, existen diferentes mecanismos de toma de muestras de bioaerosoles, siendo estos métodos:

5.1.1 Sedimentación

Se trata de un método simple de toma de muestra del material particulado presente en el aire (bioaerosoles entre otros). Consiste en que las partículas aerotransportadas son recogidas sobre una superficie adherente (para bioaerosoles agar en una placa Petri o re-

cubriendo un portaobjetos, placas de contacto denominadas RODAC...) por su capacidad de sedimentar por gravedad.

El método de sedimentación es un método económico que no necesita equipos auxiliares, sin embargo, ha de tenerse especial cuidado para que el punto identificado para realizar la toma no se vea afectado por la existencia de corrientes de aire que favorezcan la sedimentación de las partículas de mayor tamaño en detrimento de aquellas inferiores sesgando el resultado final.

Debido al fundamento del método de sedimentación, donde la toma de muestra no se realiza a partir de un volumen de aire conocido, no es posible obtener como resultado una concentración de microorganismos por volumen de aire en aire ambiente o aire de interiores.

Sin embargo, como variables conocidas, durante la toma de muestra empleando el método de sedimentación, se encuentran el área de toma de muestra y el tiempo de toma de muestra, permitiendo realizar un análisis cuantitativo en base a estas variables (el resultado se da en concentración de microorganismos por unidad de área y unidad de tiempo).

Por ello, el método de sedimentación es útil para estudios iniciales y para la estimación aproximada de la carga microbiológica desde un punto de vista cualitativo, siempre que se elijan de forma adecuada los medios de cultivo.

5.1.2 Impactación

Este es un mecanismo de toma de muestra de partículas aerotransportadas donde un volumen de aire es aspirado por una bomba de aspiración que forma parte de los equipos de toma de muestra. Así, el aire aspirado pasa a través de un orificio de entrada siendo dirigido durante la toma de muestra de bioaerosoles a la superficie del medio de cultivo, pudiendo tratarse éste de medio agar sobre una placa Petri, placa RODAC o un portaobjetos. Dicho orificio puede consistir en una rendija o en un cabezal con un elevado número de orificios de igual diámetro. La materia particulada con suficiente momento de inercia abandona la corriente de aire e impacta sobre la superficie del medio de cultivo.

El método de impactación permite realizar toma de muestra de materia particulada, bien sobre una superficie única o bien sobre superficies sucesivas en base a diferentes fracciones de tamaño (diámetro aerodinámico equivalente), catalogándose, en este último caso, como método de impactadores de cascada.

5.1.3 Centrifugación

Se trata de una variante del método de toma de muestras por impactación. En este caso, la toma de muestra de partículas aerotransportadas (bioaerosoles entre otras) está basada en el uso de la fuerza centrífuga para ayudar a la separación de la materia particulada de la corriente de aire de aspiración.

Se basa en la creación de un remolino en el cual el material particulado, con suficiente inercia, deja la corriente de aire aspirada para impactar sobre la superficie del medio de cultivo de recogida.

5.1.4 Borboteo

Este método de toma de muestra fuerza al aire aspirado a pasar a través de un volumen conocido de solución captadora (suero salino, agua de peptona con agentes humectantes, medios líquidos).

El material particulado abandona la corriente de aire por disolución en la solución captadora o por impactación en la misma, quedando así retenidas en dicho medio.

5.1.5 Filtración

Se trata de un método de toma de muestra de material particulado en suspensión que se fundamenta en forzar al aire aspirado a pasar a través de un medio de filtración, filtros o soportes de toma de muestra, medio donde quedan depositadas las partículas aerotransportadas. El filtro más utilizado es el filtro de membrana de policarbonato, dado que el material particulado puede ser extraído fácilmente por agitación en líquidos adecuados, procediéndose posteriormente en el caso de bioaerosoles a la siembra de la suspensión formada en medios de cultivos específicos.

5.2 CALIBRACIONES DE EQUIPOS

Todos los equipos implicados en la toma de muestra objeto del presente procedimiento deberán ser calibrados y verificados periódicamente en base a los parámetros caudal y tiempo para asegurar la exactitud de los resultados que de ellos se deriven. Existen normas, especificaciones técnicas o documentos equivalentes que ofrecen indicaciones para la calibración de algunos de los equipos incluidos en el presente procedimiento. Se recomienda realizar la calibración según los parámetros recogidos en los documentos citados en base a las especificaciones que en ellos se indiquen.

Así, para la toma de muestra de bacterias mediante borboteador, sería conveniente calibrar el caudal según las indicaciones recogidas en la norma VDI 4252 Parte 3. Estos equipos se utilizarán también para la toma de muestra de virus y en lo que respecta a calibración se recomienda seguir las mismas recomendaciones que las dadas para la toma de muestra de bacterias en la norma VDI 4252 Parte 3.

La calibración se realiza usando un caudalímetro patrón con una incertidumbre expandida no superior a $\pm 4\%$. El proceso de calibración se realizará conectando el medidor de referencia para la calibración al orificio de entrada del borboteador, para a continuación ajustar la presión de trabajo en 40 kPa. A partir de este momento se deberá registrar el caudal durante un período de 30 min.

Estos equipos se calibrarán con una frecuencia anual (o ante incumplimiento de verificación) en el rango comprendido entre 1 m³/h y 2,5 m³/h. Para realizar la calibración se elegirán cuatro puntos distribuidos homogéneamente en el rango anterior. Como criterio de aceptación se establece un máximo de incertidumbre expandida más corrección de: $[I + C] \leq 10\%$, siendo "I" la incertidumbre expandida y "C" la corrección. En caso de superarse este valor, si la incertidumbre expandida es inferior al 10 %, procede realizar una corrección.

Tras la calibración y de forma regular, se deberán realizar verificaciones en función de la estabilidad del equipo. Además, estos equipos se verificarán siempre antes y después de cada campaña de toma de muestra y semanalmente durante la realización de la campaña.

Para la realización de toma de muestra de mohos mediante sistemas de filtros, se recomienda tener en cuenta las indicaciones en relación con la calibración recogidas en la especificación técnica CEN/TS 16115-1:2011 y en la norma ISO 16000-16:2008.

La calibración debe realizarse usando un caudalímetro patrón con una incertidumbre expandida no superior a $\pm 3\%$. El proceso de calibración se realizará conectando el medidor de referencia para la calibración al orificio de entrada del captador de bajo volumen. A partir de este momento se deberá registrar el caudal durante un período de 30 min.

Estos equipos se calibrarán con una frecuencia anual (o ante incumplimiento de verificación) en el rango comprendido entre 2 m³/h y 4 m³/h. Para realizar la calibración se elegirán cuatro puntos distribuidos homogéneamente en el rango anterior. Como criterio de aceptación se establece un máximo de incertidumbre expandida más corrección de: $[I + C] \leq 5\%$. En caso de superarse este valor, si la incertidumbre expandida es inferior al 5%, procede realizar una corrección.

Tras la calibración y de forma regular, se deberán realizar verificaciones en función de la estabilidad del equipo. Además, estos equipos se verificarán siempre antes y después de cada campaña de toma de muestra y semanalmente durante la realización de la campaña.

En el caso de virus, aun no existiendo normativa vigente que describa la toma de muestra de estos agentes biológicos en matriz aire, y dado que existe bibliografía científica que especifica la utilización de equipos de toma de muestra para estos bioaerosoles semejantes a equipos de toma de muestra de bacterias en matriz aire, para la calibración de equipos de captación de virus se seguirá la metodología empleada para la calibración de equipos de captación de bacterias en matriz atmosférica.

De forma general la verificación de los equipos, entendiéndolo como una comprobación del cumplimiento de los requisitos especificados en equipos calibrados, estará siempre sometida a la urgencia de la realización de la toma de muestra. Es por ello que en aquellos casos de emergencia biológica por agentes sospechosos de ser altamente patógenos en que el factor limitante es el tiempo y el objetivo principal es proporcionar una detección e identificación rápida de los agentes causantes de dicha emergencia frente a una respuesta cuantitativa exacta, puede obviarse la verificación previa a la toma de muestra. En estos casos los equipos deberán verificarse lo más rápidamente posible tras la toma de muestra.

Es necesario calibrar anualmente los sistemas de medida de tiempo integrados en los equipos de toma de muestra para poder medir correctamente la duración de la toma de muestra. La calibración de los equipos medidores de tiempo se realizará por comparación de la indicación del equipo con el sistema de transmisión de señales horarias del Real Instituto y Observatorio de la Armada (ROA) de San Fernando (Cádiz), depositario del Patrón Nacional de Tiempo.

Siempre se seleccionarán puntos de calibración de forma que se cubra todo el intervalo de medidas para las que se utilizará el equipo medidor de tiempo. En el caso de los borboteadores empleados para la toma de muestra de bacterias y virus; se calibrará en tres puntos distribuidos homogéneamente en el rango comprendido entre 10 min y 60 min. Igualmente, los equipos de toma de muestra de mohos se calibrarán en tres puntos distribuidos homogéneamente en el rango comprendido entre 10 min y 24 h.

El criterio de aceptación de calibración de tiempo es $[I + C] \leq 2$ min para un período de calibración de 60 minutos y de $[I + C] \leq 5$ min para un período de calibración de 24 h. No se realizará verificación de tiempo, se procederá a calibrar siempre que se detecten anomalías.

5.3 REQUISITOS DE TOMA DE MUESTRA

Dado que el objetivo final del proceso de toma de muestra es la obtención de muestras representativas de microorganismos en matriz atmosférica, que pudieran ser inocuos o patógenos, resulta fundamental la elaboración de un plan de toma de muestra donde se definan los emplazamientos de toma de muestra. Si las condiciones de seguridad lo permiten, y de conocerse los focos de emisión, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra deberán situarse lo más próximo posible a dichos focos de emisión. En caso de no disponer de información, respecto al episodio ambiental, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra responderá a obtener la mayor representatividad de la zona de estudio.

Se deberán evitar influencias que pudieran modificar el resultado de medición. Por ejemplo, no se permite que ninguna persona se coloque en el paso de aire hacia el dispositivo de toma de muestra.

En caso de existir una emergencia biológica causada por uno o varios agentes altamente patógenos, deberá analizarse toda información disponible sobre la zona afectada, así como de la naturaleza de la amenaza biológica.

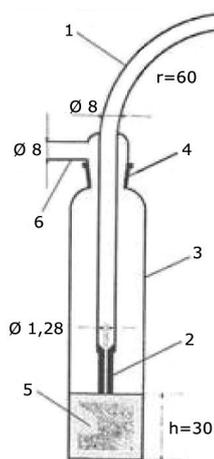
Finalizada la emergencia biológica por agente altamente patógeno, se procederá a la evaluación temporal de la calidad del aire para este patógeno en el dominio de estudio.

5.4 EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA

5.4.1 Bacterias

A continuación, se enuncian los diferentes equipos para la toma de muestra en matriz aire de bacterias.

Figura 2.- Borboteador (dimensiones en mm)



Leyenda:

- 1.- Tubo de entrada
- 2.- Capilar (boquilla crítica)
- 3.- Recipiente de toma de muestra (borboteador)
- 4.- Cuello esmerilado
- 5.- Solución

Los diferentes dispositivos y componentes auxiliares que componen un borboteador, así como los reactivos empleados para la toma de muestra de bacterias son los siguientes:

Dispositivos

- Sistema de toma de muestra: Dispositivo formado por un recipiente de toma de muestra de vidrio borosilicato (borboteador) con la solución captadora y un sistema de entrada (vástago). Las medidas recomendadas de este sistema de toma de muestra se especifican en la Figura 2. Se recomienda la utilización de borboteadores largos y estrechos, de forma que se incremente el recorrido de las burbujas en la solución captadora y consecuentemente se aumente así la eficiencia de captación.
- Bomba de aspiración: Dispositivo que en base a sus especificaciones técnicas debe asegurar un caudal de entre 1 m³/h y 1,5 m³/h.
- Medidor de caudal: Dispositivo que mide el caudal de aire.

Componentes auxiliares

- Nevera: Componente necesario para el transporte de las muestras una vez captadas.
- Recubrimiento estéril (film de aluminio) para los orificios de entrada y salida del borboteador.
- Soporte con pinza: Componente que fija el sistema de toma de muestra a una altura de 1,5 m.
- Guantes de protección desechables: Componente que permite evitar la contaminación por microorganismos patógenos y asegurar la seguridad de los trabajadores.
- Desinfectante: Por ejemplo isopropanol o etanol (70 %, contenido en volumen).

Reactivos

- Solución salina: Reactivo fisiológico estéril (9 g/l NaCl)

5.4.2 Mohos

A continuación, se enuncian los diferentes dispositivos y componentes auxiliares que componen los equipos para la toma de muestra en matriz aire de mohos.

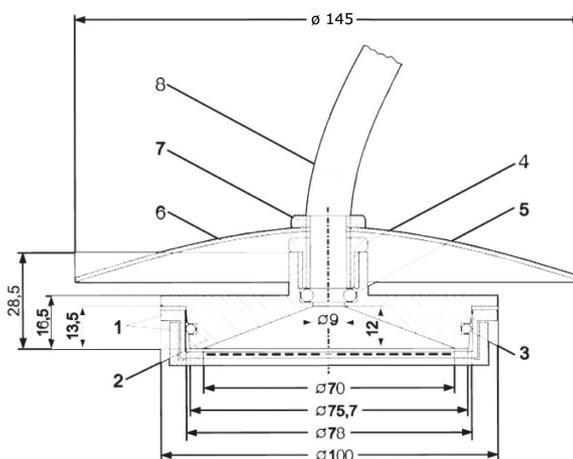
Mecanismo de toma de muestra: Filtración

Dispositivos

- Pértiga: Dispositivo que posiciona el cabezal de toma de muestra de bioaerosoles a una altura comprendida entre 1,5 m y 2,5 m.
- Cabezal de toma de muestra de bioaerosoles: Conjunto integrado por el portafiltros con los filtros insertados, el adaptador, la cubierta de salida y el tubo de salida (véase Figura 3).
- Portafiltro: Dispositivo donde se ubican los filtros. Debe ser estéril, pudiendo tratarse de un portafiltros desechable (fabricado de compuestos multipoliméricos con base acrílica como el *Cyrolite*®) o esterilizable (fabricado en un material metálico como el acero inoxidable).
- Filtro: Medio de gelatina estéril con un tamaño de poro de 3 µm y filtro de policarbonato, estéril con un tamaño de poro de 0,8 µm.

- Bomba de vacío: Dispositivo que asegura un caudal constante de 3 m³/h durante la operación continua con una incertidumbre expandida de un 5 %, debiendo estar el caudal siempre dentro del rango de 2,7 m³/h a 3,3, m³/h.
- Medidor de volumen de aire: Dispositivo que determina el volumen de aire que es aspirado a través del cabezal de toma de muestra de bioaerosoles en metros cúbicos.
- Cronómetro: Dispositivo que permite programar el tiempo y duración de la toma de muestra.
- Carcasa protectora: Dispositivo que permite proteger el equipo de toma de muestra de condiciones ambientales adversas (opcional).

Figura 3. Cabezal de toma de muestra de bioaerosoles con portafiltro (dimensiones en mm)



- 1.- Portafiltro desechable
- 2.- Adaptador
- 3.- Sellador (silicona)
- 4.- Acoplamiento hembra ensartado
- 5.- Sellado
- 6.- Cubierta de protección
- 7.- Contratuerca
- 8.- Tubo de salida

(Adaptado de UNE-CEN/TS 16115-1:2013)

Componentes auxiliares

- Contenedor estéril: Componente que contiene el filtro durante el transporte, por ejemplo placas Petri.
- Contenedor aislado: Componente que permite el transporte de muestras.
- Guantes de protección desechables: Componentes que permiten evitar la contaminación por microorganismos patógenos y asegurar la seguridad de los trabajadores.
- Desinfectante: Por ejemplo isopropanol o etanol (70 %, contenido en volumen).
- Pinzas estériles: Componentes que permiten manejar los filtros evitando el contacto directo con éstos.

5.4.3 Virus

La bibliografía científica indica que los borboteadores de vidrio borosilicato son los equipos de toma de muestra de virus utilizados con mayor frecuencia.

Existen estudios científicos que ponen de manifiesto que estos equipos recuperan concentraciones de virus equivalentes a aquellas que se obtienen con los equipos de toma de muestra de alto volumen, concentraciones de virus mayores que con los impactadores Andersen (de cascada) y concentraciones de virus semejantes o iguales a aquellas que se consiguen con los equipos de toma de muestra de rendija. En base a ello, en el presente procedimiento se adoptan como equipos de toma de muestra de virus en matriz aire los impactadores líquidos o borboteadores.

A continuación se enuncian los diferentes dispositivos y componentes auxiliares que componen un borboteador, así como los reactivos empleados para la toma de muestra de virus en aire.

Dispositivos

- Sistema de toma de muestra: Dispositivo formado por un borboteador con un sistema de entrada (tubo) y un recipiente de toma de muestra con solución captadora. El modelo más frecuentemente empleado es el AGI-30 (el número hace referencia a la distancia en milímetros que separa la punta de la boquilla crítica de la base del frasco).
- Bomba de vacío: Dispositivo que, en base a sus especificaciones técnicas, debe asegurar un caudal de entre 0,75 m³/h y 1 m³/h.
- Medidor de caudal: Dispositivo que mide el caudal de aire.

Componentes auxiliares

- Nevera: Componente necesario para el transporte de las muestras una vez tomadas.
- Recubrimiento estéril (film de aluminio) para los orificios de entrada y salida del borboteador.
- Soporte con pinza: Componente que fija el sistema de toma de muestra a una altura de 1,5 m.
- Equipamiento habitual para técnicas microbiológicas: Por ejemplo sustancias desinfectantes, film sellante, pinzas, tubos de ensayo...

Reactivos

- Agua: Desionizada y estéril
- Medio de cultivo: Agua desionizada con 0,5 % NaCl y 0,5 % Antiespumante
- Medio de peptona: Agua desionizada con 1 % Peptona, 0,01 % Tween 80 y 0,005 % Antiespumante

5.4.4 Realización de la toma de muestra

5.4.4.1 Bacterias

Entre los bioaerosoles presentes en aire, las bacterias tienen un gran peso, desde el punto de vista cuantitativo así como cualitativo. En este apartado se definirán los requisitos para la toma de muestra activa de bacterias aerotransportadas que forman parte de la materia particulada en suspensión.

5.4.4.1.1 Fundamento

El mecanismo de toma de muestra de bacterias se fundamenta en un mecanismo de borboteo usando el principio de boquilla crítica y empleando como solución captadora una disolución salina (9 g/l NaCl).

Durante el proceso de borboteo, un determinado volumen de aire es aspirado a través de una solución captadora quedando retenidos los bioaerosoles en la solución captadora. El bioaerosol es aspirado horizontalmente por un tubo de entrada fluyendo, a su través, hacia un capilar vertical donde el bioaerosol se acelera antes de llegar a la solución captadora, véase Figura 4.

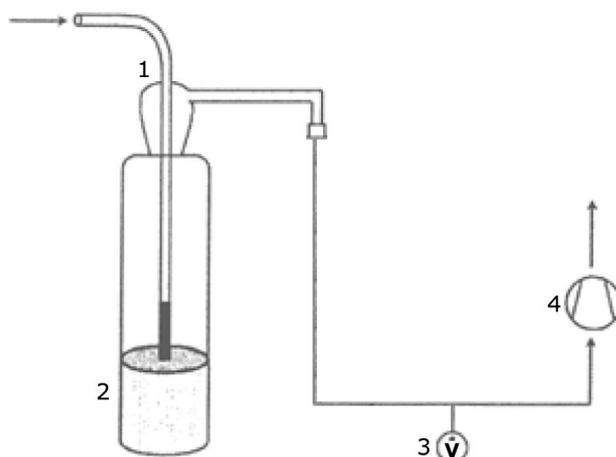
La materia particulada en suspensión, en cuya composición se encuentran los bioaerosoles objeto de estudio, se introduce en la solución captadora a alta velocidad produciéndose así una disminución de su velocidad, proceso que permite la separación del material particulado en la solución de recolección. Cualquier aglomeración de partículas sería disuelta por el impacto, por lo que microorganismos unidos se detectarían de forma individual. Se evitará la pérdida de solución captadora mediante una correcta regulación del caudal de entrada de aire.

La velocidad y cambios en la dirección del viento (si los hay) durante la toma de muestra pueden influir en la eficacia física de la toma de muestra. La concentración de microorganismos puede ser subestimada debido a una retención temprana de las partículas presentes en el aire aspirado en la curva del borboteador así como debido a una separación incompleta en la solución captadora. Además, fenómenos de reaerosolización tras la separación pueden igualmente conducir a una reducción en el número de microorganismos retenidos en la solución captadora.

Existen multitud de factores que pueden influir en la eficacia de conservación biológica, y por lo tanto, en el rendimiento general del proceso. Los microorganismos sensibles pueden dañarse irremediablemente durante el proceso de toma de muestra por desecación.

En el apartado 4.3.6.1 se describen los dispositivos y componentes auxiliares para un equipo de toma de muestra de bacterias.

Figura 4. Diseño esquemático del dispositivo de toma de muestra para bacterias



- 1.- Sistema de entrada del borboteador
- 2.- Recipiente de toma de muestra con la solución captadora
- 3.- Medidor del caudal másico
- 4.- Bomba de aspiración

De forma opcional, pueden incorporarse al sistema un precipitador de humedad y/o una válvula de presión

(Adaptado de VDI 4252 Part 3 (2008))

5.4.4.1.2 Preparación de la toma de muestra

La disolución salina, como solución captadora, se compone de 30 ml solución salina estéril (9 g/l NaCl).

Durante el transporte del equipo al emplazamiento de la toma de muestra, el tubo de entrada deberá estar instalado y los orificios de entrada y salida se deberán cubrir con tapones estériles de papel de aluminio.

La potencia de la bomba de vacío debe asegurar un caudal de 17 l/min en aquella zona entre la salida del capilar y la entrada de la bomba. El caudal se deberá verificar mediante un caudalímetro. Los borboteadores se calibrarán en el rango comprendido entre 1 m³/h y 2,5 m³/h, por lo que procederá realizar la verificación en algún punto comprendido en este rango. El criterio de aceptación de la verificación es de un 5% como corrección, es decir, el valor medido no deberá desviarse más de un 5% del valor nominal. Si se desviase por encima de ese valor, debería volverse a calibrar.

5.4.4.1.3 Toma de muestra

El equipo empleado para la toma de muestra de bacterias se fijará en su soporte con una pinza, de manera que el orificio del tubo de entrada quede a una altura de 1,5 m respecto al suelo. Dicho tubo deberá presentar una orientación horizontal y dirección contraria al viento. La salida del borboteador se conectará al dispositivo de toma de muestra y a la bomba de vacío usando un tubo a prueba de vacío y siguiendo el esquema de la Figura 4.

Inmediatamente antes de la toma de muestra, se deberá retirar el tapón de aluminio del tubo de entrada. El dispositivo de toma de muestra se pondrá en marcha al encender la bomba de aspiración. Durante la toma de muestra se deberá prestar especial atención para que la condensación de la solución captadora en los tubos de conexión al cartucho desecador no retorne al borboteador y pudiera provocar algún tipo de contaminación. Se deberá registrar el caudal al inicio y final de la toma de muestra para controlar el caudal específico del borboteador.

Finalizada la toma de muestra, se retirará el tubo de entrada y se cerrará asépticamente el recipiente de toma de muestra. El recipiente deberá refrigerarse de inmediato mediante su inclusión en una nevera provista de dispositivos acumuladores de frío apropiados.

Cualquier influencia que pueda modificar o alterar los resultados de la medida deberá ser evitada, por ejemplo, ninguna persona debe estar frente al orificio de entrada del dispositivo de toma de muestra.

En cada localización de toma de muestra, dentro del área de estudio, se debe realizar una serie de blancos de campo para su posterior análisis. Se debe realizar un blanco de campo cada día de campaña de toma de muestra, preferentemente a la mitad de una serie de medidas. En el caso de blancos de campo, la disolución salina, como solución captadora, se debe analizar de forma análoga a las muestras de campo. El resultado del análisis de la disolución salina procedente de la toma de muestra de un blanco de campo proporciona información respecto al número de bacterias procedentes de la manipulación del borboteador durante el proceso de toma de muestra, expresado como UFC.

5.4.4.1.4 Duración de la toma de muestra

El período de toma de muestra estará comprendido entre 10 min y 60 min, con valor promedio de 30 min. Para períodos de toma de muestra superiores, los 30 ml de disolución salina o solución captadora puede sufrir procesos de evaporación. En estos casos sería conveniente aumentar el volumen de dicha solución para contrarrestar las pérdidas por evaporación.

5.4.4.2 Mohos

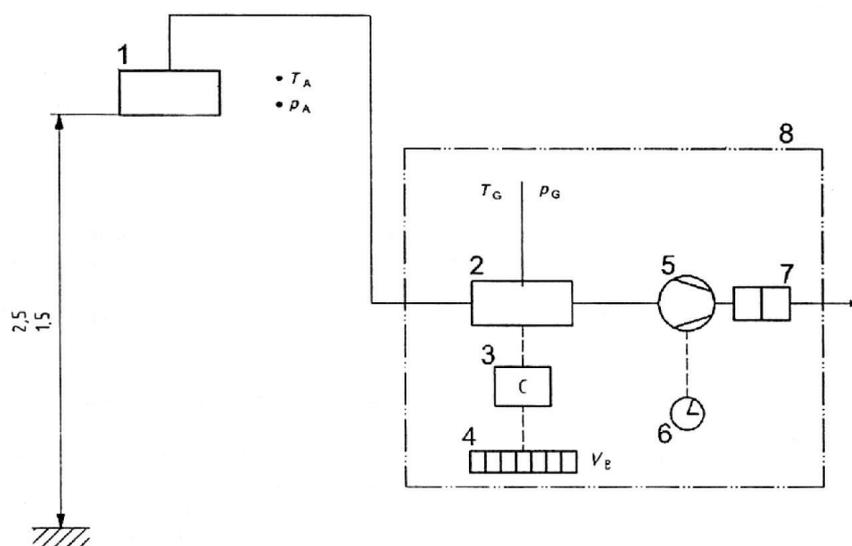
En el medio ambiente existen esporas de mohos filamentosos pertenecientes a diferentes grupos taxonómicos (Zigomicetos, Ascomicetos, Deuteromicetos). Ellos forman un micelio (hifas) y esporas denominadas conidiosporas (conidia), esporangiosporas o ascosporas, que llegan a ser visibles macroscópicamente.

La mayoría de las esporas están en el rango de tamaño de 2 μm a 10 μm , pudiendo llegar en algunos casos a 30 μm y sólo unas pocas hasta 100 μm . Las esporas de algunos géneros de mohos son pequeñas y pueden transportarse por el aire (por ejemplo *Aspergillus*, *Penicillium*) mientras que otras son mayores y por lo tanto menos móviles.

En este apartado se describe el procedimiento para la toma de muestra de mohos como parte de la materia particulada en suspensión (en este caso materia particulada en suspensión entendida como partículas con diámetro aerodinámico de hasta aproximadamente 30 μm) usando un mecanismo de toma de muestra de filtración con combinación de filtro gelatina/policarbonato seguido del cultivo basado en análisis en agar DG18 (Dichloran Glicerol agar). El tiempo de la toma de muestra podrá durar entre 10 min y 24 h.

En el apartado 5.4.2 se describen los dispositivos y componentes auxiliares para un equipo de toma de muestra de mohos en aire ambiente.

Figura 5. Diseño esquemático del dispositivo de toma de muestra para mohos con filtro



- 1.- Cabezal de toma de muestra de bioaerosoles
- 2.- Medidor de volumen de aire
- 3.- Circuito electrónico para conversión en metros cúbicos de operación
- 4.- Pantalla de volumen de aire captado en metros cúbicos de operación
- 5.- Bomba de vacío
- 6.- Cronómetro
- 7.- Filtro para material desbastado
- 8.- Carcasa protectora

(Adaptado de UNE-CEN/TS 16115-1:2013)

5.4.4.2.1 Fundamento

Durante el proceso de filtración para la toma de muestra de mohos se aspira un determinado volumen de aire a través de un filtro, donde tiene lugar la separación de la materia particulada en suspensión.

Los mohos en matriz aire se captan, con alta eficacia, en filtros de gelatina. Como soporte, debajo de los filtros de gelatina, se usan filtros de policarbonato y filtros de protección para aumentar la estabilidad.

La eficacia física de la toma de muestra de los filtros de gelatina y de policarbonato es superior a 95 % para mohos con un diámetro aerodinámico $> 1 \mu\text{m}$, usando una velocidad de superficie en el filtro de $v = 21,7 \text{ cm/s}$. La combinación de los dos filtros asegura una eficacia total de la toma de muestra del 99 %.

La eficacia de conservación biológica está principalmente influida por la desecación. El efecto de la desecación no es constante, sino que depende de la duración de la toma de muestra, la temperatura, la humedad relativa y otros parámetros, como la estación del año así como el tipo de hongo. Afortunadamente, la mayoría de las esporas fúngicas son relativamente insensibles a la desecación, de manera que el método del filtro se puede aplicar con éxito en este campo.

5.4.4.2.2 Preparación de la toma de muestra

Se debe realizar una comprobación del equipo de toma de muestra de mohos previa al proceso de toma de muestra.

Para la toma de muestra de mohos se deberán utilizar exclusivamente filtros estériles y portafiltros estériles. Si no se dispone de filtros estériles desechables de fábrica con portafiltros, entonces se deben insertar los filtros estériles en el portafiltros en la campana de seguridad en el laboratorio y empaquetar en esterilidad. Para este propósito, se ubicarán en el portafiltros, en primer lugar el filtro de policarbonato y en segundo lugar el filtro de gelatina. Se debe garantizar la esterilidad del filtro hasta el momento de la toma de muestra. Durante el transporte, se deben proteger los filtros del polvo, calor y fuertes vibraciones.

Se debe conectar el medidor de volumen de aire entre la bomba y el cabezal de toma de muestra de bioaerosoles, a fin de determinar el volumen de aire captado sin falsificación causada por la fuga de caudal de la bomba. El volumen del aire captado se muestra en metros cúbicos de operación y con una exactitud en pantalla de $0,01\text{m}^3$.

El equipo deberá verificarse antes de la toma de muestra en el rango de calibración (entre $2\text{ m}^3/\text{h}$ y $4\text{ m}^3/\text{h}$), con un criterio de aceptación de la verificación de un 5% como corrección, es decir, el valor medido no deberá desviarse más de un 5% del valor nominal. Si se desviase por encima de ese valor, debería volverse a calibrar.

El cabezal de toma de muestra de bioaerosoles deberá instalarse normalmente a una altura de 1,5 m a 2,5 m con el filtro en una posición colgante de acuerdo con la Figura 5.

5.4.4.2.3 Toma de muestra

El proceso de toma de muestra se deberá realizar con las mayores condiciones asépticas posibles. Los portafiltros y filtros estériles se deberán montar en el dispositivo de toma de muestra, usando guantes desechables con objeto de evitar una posible contaminación. Previamente, se deberán inspeccionar visualmente los portafiltros y filtros para comprobar su integridad, así como la comprobación del correcto asiento del portafiltros en el dispositivo de toma de muestra. Esta comprobación se deberá repetir después de quitar el portafiltros del dispositivo.

El dispositivo de toma de muestra se deberá poner en marcha de acuerdo con las instrucciones de operación del fabricante.

Se recomienda que el caudal de aspiración sea de $3\text{ m}^3/\text{h}$.

Finalizada la toma de muestra, los filtros y portafiltros se deberán quitar del dispositivo, usando guantes desechables, y los filtros deberán, nuevamente, verificarse visualmente para comprobar su integridad y se deberán sellar, a fin de evitar cualquier contaminación secundaria.

Se deberá realizar, como mínimo, un blanco por día de medición. El blanco se debería realizar, preferiblemente, en la mitad de todas las mediciones realizadas durante un día. Para este propósito, se coloca un portafiltros estéril con filtro en el cabezal de toma de muestra de bioaerosoles con la bomba apagada, después se retira, se empaqueta y se procesa analíticamente; se debe evitar una exposición prolongada del filtro al aire ambiente. El blanco de campo resultante representa el número de UFC que están en la muestra simplemente por manejo del filtro durante la toma de muestra.

5.4.4.2.4 Duración de la toma de muestra

Se deberá determinar la duración de la toma de muestra en base al objetivo de medición y, generalmente, deberá estar comprendida entre 10 min y 24 h.

Durante el proceso de toma de muestra, el caudal del aire captado no deberá reducirse más del 10%, como resultado del aumento de la carga de filtro.

5.4.4.3 Virus

Los virus, en muchos casos, son agentes patógenos para humanos y animales al replicarse en el interior de sus células y alterar el metabolismo de éstas. Se trata de partículas que tienen fase extracelular e intracelular.

Las células infectadas por virus son una fuente común de dispersión de estos microorganismos, pudiendo ser diseminados directamente al aire circundante (aerosolización primaria) o hacia fluidos y superficies que pueden convertirse en fuentes de transmisión secundaria, por tanto, como cualquier otro microorganismo, los virus pueden ser aerotransportados.

A pesar de que, debido a la aparición de distintas crisis sanitarias provocadas por microorganismos patógenos aerosolizados, existe un gran interés en el desarrollo de métodos, de toma de muestra de virus, fiables y eficientes que permitan detectar, identificar y enumerar los bioaerosoles presentes en la atmósfera en un determinado momento, actualmente no existe ningún método normalizado y aplicable en todos los casos para la toma de muestra de virus presentes en aire.

Se ha demostrado que la eficacia física de la toma de muestra de virus aerotransportados está en función de la morfología de los virus, de su naturaleza hidrofílica y de la humedad relativa del ambiente (Tseng & Li, 2005).

En cualquier caso, el mecanismo de toma de muestra de virus más utilizado, según la bibliografía científica, es el mecanismo de borboteo (Lin et al. 1997; Dart and Thornburg 2008). En particular, la comunidad científica cita los borboteadores tipo AGI-30.

No se recomienda el mecanismo de filtrado para la toma de muestra de virus en matriz aire, porque éstos agentes pueden sufrir daños estructurales al presentar una sensibilidad mucho más elevada que las bacterias y mohos a los factores de estrés que implica el proceso de toma de muestra por filtración. Éste hecho unido a la deshidratación, que conlleva el proceso de filtrado, complica el posterior análisis, especialmente si éste se realiza mediante cultivo.

En cualquier caso, teniendo en cuenta el amplio rango de tamaños que pueden presentar los virus (de nanómetros a micrómetros) y consecuentemente de propiedades aerodinámicas, es necesario que los procedimientos que se elaboren para tal fin se adapten al objetivo específico de cada toma de muestra. Al no tratarse de un procedimiento normalizado, los resultados deberán ser siempre interpretados con cautela.

5.4.4.3.1 Fundamento

La probabilidad de detectar virus aerotransportados depende de tres factores fundamentales: la concentración de virus en el aire, la eficacia física de la toma de muestra de recuperar partículas aerotransportadas y de la sensibilidad analítica del ensayo diagnóstico

usado para detectar el/los patógeno/s en la muestra, estando este último factor fuera del proceso de toma de muestra.

Los borboteadores basan su funcionamiento en la aceleración de las partículas contenidas en el aire a través de un orificio estrecho ubicado a una distancia fija desde la base del recipiente contenedor del líquido. El fundamento ha sido recogido en el punto 5.4.4.1.1 del presente procedimiento.

5.4.4.3.2 Preparación de la toma de muestra

Al utilizarse el borboteador, será recomendable seguir las recomendaciones generales relativas al transporte y caudal de la bomba dadas en el apartado 5.4.1 para bacterias.

Tseng & Li (2005) demostraron que no existe diferencia en la eficacia física de la toma de muestra de virus cuando se utilizan los siguientes medios de recolección como líquido de toma de muestra:

- Agua desionizada estéril
- Medio de cultivo (agua desionizada con 0,5 % cloruro sódico (NaCl) y 0,5 % Antiespumante A (polímero de silicona activa 100 %))
- Medio de peptona (agua desionizada con 1 % Peptona, 0,01 % Tween 80 (monooleato de polioxietileno sorbitán) y 0,005 % Antiespumante A (polímero de silicona activa 100 %))

Los virus pierden infectividad en presencia de medios que contengan NaCl o peptona. En condiciones normales, por su disponibilidad universal y bajo coste de obtención y mantenimiento, la solución captadora a utilizar para la toma de muestra de virus será el agua desionizada y estéril. Cuando existan sospechas de patogenicidad para humanos o animales de los virus a captar, se empleará cualquiera de los otros dos medios referidos anteriormente.

5.4.4.3.3 Toma de muestra

Para la toma de muestra el borboteador se fijará en su soporte con una pinza para que el orificio de entrada del tubo quede a una altura de 1,5 m, con una orientación horizontal, respecto al nivel del suelo y siempre en dirección contraria al viento. La salida del borboteador se conectará al dispositivo de toma de muestra y a la bomba de vacío usando un tubo a prueba de vacío y siguiendo el esquema de la Figura 4.

Inmediatamente antes de la toma de muestra se retirará el tapón de aluminio del tubo de entrada y se añadirán al borboteador 30 ml de la solución captadora seleccionada. El dispositivo de toma de muestra se pondrá en marcha al encender la bomba. El caudal deberá ser registrado al inicio y al final del proceso de toma de muestra para controlar el caudal específico del dispositivo de toma de muestra.

Finalizada la toma de muestra, se retirará el tubo de entrada y se cerrará asépticamente el recipiente de toma de muestra. El recipiente deberá ser enfriado inmediatamente.

Se debe evitar la influencia de cualquier factor o variable que pueda modificar los resultados de la medida, por ejemplo, ninguna persona debe estar frente al orificio de entrada del dispositivo de toma de muestra.

En cada localización de toma de muestra se deberá tomar una serie de blancos de campo para su análisis. Se deberá tomar un blanco de campo cada día de captación durante la campaña de toma de muestra, preferentemente a la mitad de una serie de medidas. Para ello, se evitará la exposición del borboteador abierto al aire ambiente. El blanco de campo se analizará del mismo modo que una muestra problema. El resultado del análisis proporcionará información sobre el número de bacterias procedentes sólo de la manipulación del borboteador durante la toma de muestra.

5.4.4.3.4 Duración de la toma de muestra

El período de toma de muestra será de una duración entre 10 min y 30 min, siendo el periodo de toma de muestra habitual de 15 min, periodo de mayor consenso en la comunidad científica. Tiempos superiores a 30 min pueden producir problemas en la toma de muestra de virus en matriz aire, tales como evaporación del medio o líquido de recolección, riesgo de reaerosolización y elevada mortalidad de los microorganismos captados.

5.4.4.3.5 Recipientes de transporte de la muestra

Los recipientes de transporte deberán garantizar que la muestra no se contamina ni altera. Para ello, se deberán utilizar en el transporte contenedores estériles tipo placas Petri, donde incluir el soporte de toma de muestra de mohos (filtro), siendo sellada la separación entre ambas placas una vez ubicado el filtro en su interior.

En el caso de los borboteadores utilizados para la toma de muestra de bacterias y virus se deberán cerrarlos recipientes nada más finalice su captación.

En todos los casos se deberá disponer de contenedores aislados en los que introducir los contenedores estériles que contienen la muestra para su transporte a una temperatura adecuada (nunca superior a la temperatura de incubación).

6. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE AGUA EN MATRICES AMBIENTALES ACUÁTICAS PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS / MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo; Dra. Sonia Aguayo Balsas

Los métodos para la toma de muestra de agua para la detección de microorganismos en matrices ambientales acuáticas tienen como objetivo la toma de muestras representativas de agua para el posterior aislamiento, cultivo e identificación de aquellas especies de interés.

A nivel internacional, existe un gran grupo de trabajo centrado en el tema:

- ISO/TC 147 (*Water quality*). Se encarga de la normalización en el campo de la calidad del agua, incluyendo la definición de términos, la toma de muestra de aguas y la medida y reporte de las características del agua. Este comité técnico y los subcomités que engloba han publicado hasta la fecha un total de 285 normas. El subcomité ISO/TC 147/SC 6 (*Sampling - general methods*) se encarga de todo lo relacionado con la toma de muestra, habiendo publicado 21 normas relacionadas.

El homólogo europeo del anterior comité técnico es el siguiente:

- CEN/TC 230 (*Water analysis*). Se ocupa de la normalización en el área del análisis del agua, incluyendo la definición de términos, la toma de muestra de aguas, la medida y el reporte. Quedan fuera los límites de aceptabilidad de la calidad del agua. En concreto, dentro de este comité técnico se enmarca el grupo de trabajo CEN/TC 230/WG 3 (*Microbiological methods*), que se ocupa entre otros asuntos de las estrategias de toma de muestra para determinaciones microbiológicas.

Tradicionalmente y de forma general, el método más empleado para hacer frente al objetivo de tomar la muestra, ha sido la realización de tomas de muestras puntuales mediante el llenado de recipientes tipo botella, obteniendo muestras representativas de los microorganismos presentes en el punto de toma de muestra en cuestión. El frecuente uso de esta metodología ha permitido que sea validada para cuestiones normativas. Debe tenerse en cuenta que las muestras puntuales se toman en una localización y momento concretos, por lo tanto la información que de ellas se extrae debe circunscribirse exclusivamente a dichas situaciones.

Las normas que han supuesto la fuente principal de información para la realización de este procedimiento se basan en técnicas de toma de muestra de uso habitual por parte del personal implicado en el mantenimiento de la calidad del agua y la monitorización de sus principales parámetros indicadores de dicha calidad. Se hace distinción a lo largo del capítulo entre la toma de muestras de agua para la detección de microorganismos en función de su clasificación de patogenicidad o de la situación de que se trate (seguimiento o control de los parámetros de calidad, estudio de investigación o situación declarada de emergencia).

6.1. CALIBRACIONES DE EQUIPOS

Todos los equipos implicados en la toma de muestra objeto del presente procedimiento deberán ser calibrados y verificados periódicamente para asegurar la exactitud de los resultados que de ellos se deriven. Existen normas, especificaciones técnicas o documentos equivalentes que ofrecen indicaciones para la calibración de algunos de los equipos incluidos en el presente procedimiento. Se recomienda realizar la calibración según los parámetros recogidos en los documentos citados en base a las especificaciones que en ellos se indiquen.

En concreto y relacionados con la toma de muestra de aguas, implica el siguiente equipo:

Equipo multiparamétrico de campo para la determinación “in situ” de pH, oxígeno disuelto y conductividad.

Tras la calibración y tras la lectura de cada muestra, se deberán realizar verificaciones. Además estos equipos se verificarán siempre antes y después de cada campaña de toma de muestra y semanalmente durante la realización de la campaña.

De forma general la verificación de los equipos, entendiendo el proceso de verificación como una comprobación del cumplimiento de los requisitos especificados en equipos calibrados, estará siempre sometida a la urgencia de la realización de la toma de muestra. Es por ello que en aquellos casos de emergencia biológica por agentes sospechosos de ser altamente patógenos en que el factor limitante es el tiempo y el objetivo principal es proporcionar una detección e identificación rápida de los agentes causantes de dicha emergencia frente a una respuesta cuantitativa exacta, puede obviarse la verificación previa a la toma de muestra. En estos casos los equipos deberán verificarse lo más rápidamente posible tras la toma de muestra.

La calibración del equipo de campo multiparamétrico para la determinación de pH, oxígeno disuelto y conductividad se realizará atendiendo a las siguientes especificaciones en función del parámetro a determinar:

a. Determinación de pH.

Se realiza calibración al uso según las especificaciones técnicas del correspondiente equipo. Se utilizarán 3 patrones trazables al NIST: patrón de pH 2,00, 7,00 y 12,00. El rango de calibración está comprendido entre 2 y 12. Se debe controlar el valor de la pendiente de la recta en cada calibración que debe estar comprendida entre un 95 – 105%. La incertidumbre total asociada a la determinación del pH es de 0,2 unidades para todo el rango. La T^a a la que se realiza el ensayo deberá ser la temperatura ambiente $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Tras la calibración y tras la lectura de la muestra, se realizará la verificación por medio de una lectura de patrón de pH 4,00 ó 10,00. La medida de este patrón debe encontrarse en el intervalo: Nominal $\pm 0,2$ (valor de incertidumbre del ensayo).

b. Determinación de oxígeno disuelto

Se realiza calibración al uso según las especificaciones técnicas del correspondiente equipo. Como material de valor reconocido se usa agua purificada, saturada de aire, a presión y temperatura conocidas. Para muestras con bajas concentraciones de oxígeno disuelto (por debajo del 10% de saturación o 1 mg/l), es recomendable realizar las calibraciones con patrones con cero contenido de oxígeno disuelto¹.

Tras la calibración y tras la lectura de la muestra, se realizará la verificación por medio de una lectura del patrón saturado. El valor de Incertidumbre más corrección ($|U + C|$) obtenido en la verificación no debe superar el valor de un 10%, respecto al valor teórico esperado.

c. Determinación de la conductividad

Se realiza calibración al uso según las especificaciones técnicas del correspondiente equipo. Se utilizarán los siguientes patrones para realizar la calibración:

Patrón certificado de 100 $\mu\text{mS/cm}$ de conductividad

Patrón certificado de 1413 $\mu\text{mS/cm}$ de conductividad

Patrón certificado de 12,9 mS/cm de conductividad

Tras la calibración y tras la lectura de la muestra, se realizará la verificación por medio de una lectura del patrón saturado. El valor de Incertidumbre más corrección ($|U + C|$) obtenido en la verificación no debe superar el valor de un 5%, respecto al valor teórico esperado.

6.2 PREPARACIÓN DE EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA

Es conveniente preparar el equipo de toma de muestra tal y como se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Preparación de equipos previa a la toma de muestra
Adaptado de ISO 5667-1:2006

Equipo	Preparación
Recipientes de muestreo Embudos Cuerdas Cadenas Asas de extensión Filtros y equipos de filtración	Efectuar revisiones para detectar rozaduras profundas, signos de desgaste o desgarró y conexiones inseguras
Cajas y portamuestras	Asegurarse de que su número es suficiente para el uso diario. Inspeccionar para detectar daños o signos de deterioro. Si es necesario, frotar las cajas con un desinfectante.
Agentes de conservación	Verificar que no se ha excedido la “fecha de caducidad”. Comprobar que la pipeta cuenta gotas no está deteriorada y cambiarla si es necesario.
Recipientes	Comprobar el estado de los recipientes y tapones y descartar aquellos que se encuentren dañados, de modo que no sean seleccionados por otros operadores de muestreo. Asegurarse de que las botellas están tapadas para reducir así la contaminación y de que el almacenamiento se efectúa en condiciones seguras. Asegurarse de que los recipientes para tareas microbiológicas tienen su envoltura original intacta o de que están visibles las tiras indicadoras de esterilidad y que los recipientes no han superado la fecha de caducidad.
	...

Instrumentos de campo	Verificar que los calibrados están al día. Si no es así, no deben utilizarse sino sustituirse. Seguir las instrucciones del procedimiento de muestreo o del fabricante relativas a la conservación.
Kits de ensayo	Comprobar que los kits de ensayo necesarios para el programa diario están listos para su uso. Asegurarse de que están incluidas las instrucciones del fabricante o las instrucciones de trabajo. Comprobar que no ha expirado la fecha de caducidad; sustituir los kits si es necesario y almacenarlos independientemente de los recipientes de muestreo.
Etiquetas y documentos relativos a las muestras	Si las etiquetas están preimpresas, contrastarlas con el programa de muestreo para asegurar que no falta ninguna.
Equipos de seguridad individual	Asegurarse de que hay suficientes guantes desechables para el día, teléfono móvil, anclas para hielo, kit de primeros auxilios, secamos, gafas de protección etc.
Barrena para hielo	Comprobar que el motor arranca y que el taladro está afilado.
General	Siempre que se sospeche que pueda existir residuos de materia orgánica en el equipamiento implicado en la toma de muestra, es imprescindible realizar una limpieza previa a la subsiguiente descontaminación con un detergente no tóxico y exento de fosfatos, aclarando después con agua desionizada o destilada.

6.3 REQUISITOS DE LA TOMA DE MUESTRA

Dado que el objetivo final del proceso de toma de muestra es la obtención de muestras representativas de microorganismos en matriz acuática, que pudieran ser inocuos o patógenos, resulta fundamental la elaboración de un plan de toma de muestra donde se definan los emplazamientos de toma de muestra. Si las condiciones de seguridad lo permiten, y de conocerse los focos de emisión, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra deberán situarse lo más próximo posible a dichos focos de emisión. En caso de no disponer de información, respecto al episodio ambiental, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra responderá a obtener la mayor representatividad de la zona de estudio.

En condiciones normales, los puntos identificados para la toma de muestra deben poseer unas características representativas, teniendo en cuenta también las variaciones temporales y espaciales (verticales u horizontales). Se deberán evitar influencias que pudieran modificar el resultado de las determinaciones y/o análisis posteriores.

En caso de existir una emergencia biológica causada por uno o varios agentes altamente patógenos, deberá analizarse toda información disponible sobre la zona afectada, así como de la naturaleza de la amenaza biológica. En el contexto de alerta, dada la presunta naturaleza altamente patógena de los microorganismos susceptibles de encontrarse presentes en la matriz acuática, nuestra toma de muestras será siempre de tipo *puntual*.

Finalizada la emergencia biológica por agente altamente patógeno, se procederá a la evaluación temporal de la calidad del agua para este patógeno en el dominio de estudio.

Por otra parte, en el caso de estudios de investigación o de seguimiento de los parámetros de calidad de una masa de agua, se realizará una caracterización de la matriz para así tener información sobre su estado físico-químico (pudiendo éste influir en la supervivencia de los microorganismos que pudieran estar presentes), se realizará la determinación “in situ” de pH, oxígeno disuelto y conductividad.

6.4 EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA

6.4.1 Equipamiento

6.4.1.1 Recipientes de toma de muestra

Se deben emplear recipientes limpios y estériles. El volumen de los recipientes debería ser adecuado para la realización del análisis de todas las especies consideradas.

Para la toma de muestra de aguas por inmersión, se emplean botellas estériles tanto en su interior como en su exterior y protegidas, por ejemplo, con papel kraft (para mantenerlas secas después del autoclavado), con una lámina de aluminio o con una bolsa exterior de plástico. La bolsa se abrirá inmediatamente antes de proceder a la toma de muestra y podrá servir incluso como guante para sujetar el recipiente para conseguir una asepsia máxima antes de colocarlo en una pértiga o en otro dispositivo estéril con el que llevar a cabo la toma de muestra.

Si hubiese algún problema durante el transporte y manipulación de los equipos hasta el punto de toma de muestra que hiciese sospechar acerca de la integridad de la esterilidad de los mismos y siempre que el objetivo no fuese la toma de muestra de bacterias formadoras de esporas, el exterior de los recipientes de toma de muestra puede desinfectarse inmediatamente antes de su inmersión, por medio de un desinfectante adecuado (4.3.1.4 Desinfección de nivel intermedio).

Los recipientes pueden ser de vidrio o de distintos tipos de plásticos (polipropileno, poliestireno, polietileno, policarbonato). En general se prefiere el vidrio cuando se van a reutilizar, y el polietileno si se trata de material desechable.

La adherencia a las superficies puede reducir la detección de microorganismos y se tiene que considerar la tensión superficial crítica y si se emplea un material no normalizado.

Los cierres pueden ser de vidrio esmerilado o un tapón de plástico para botellas de vidrio, una tapa a presión, de plástico, para recipientes o tarros de plástico, o bien una tapa roscada, de plástico o de metal, para ambos tipos de recipientes. Las bocas de los recipientes con tapones de vidrio o de plástico deberían estar protegidas frente a la contaminación, por ejemplo, con papel de aluminio.

En la mayoría de los casos resulta suficiente utilizar botellas de 500 ml, ya que se suelen analizar menos de cinco tipos de microorganismos, cada uno de los cuales precisa para inoculación un máximo de 100 ml (*UNE-EN ISO 19458:2007*)

En algunos casos son necesarios volúmenes mayores que van desde 10 a unos cientos de litros, por ejemplo:

- para el análisis de aguas envasadas (250 ml por parámetro)
- para *Legionella* spp. o *Salmonella* spp. (hasta 1 l).
- para virus, cistos de *Giardia*, oocistos de *Cryptosporidium*, amebas en aguas limpias

En el caso de toma de grandes volúmenes de muestra y en el caso de microorganismos no patógenos, se puede realizar una etapa de concentración en el emplazamiento, empleando para ello un filtro de cartucho que posteriormente se transporta al laboratorio. Para evitar las dificultades que conlleva manipular, refrigerar o agitar estos volúmenes, se recomienda hacer una etapa de concentración *in situ* (floculación, centrifugación o filtración). Pueden emplearse bombas peristálticas provistas de tubo estéril.

- *Recipientes abiertos con tapón*. Sirven para tomar la muestra en superficie o inmediatamente bajo ésta. En presencia de material en suspensión no es posible tomar una muestra representativa o reproducible.
- *Recipientes cerrados*. Se trata de botellas adaptadas con válvulas de apertura y cierre que permiten obtener muestras a distintas profundidades. Para ello, se hace descender estos equipos mediante cuerdas o tornos de cable mientras que un sistema de válvulas acoplado permite evacuar el aire o gas contenido en el interior del recipiente. Las válvulas pueden abrirse de forma remota o ser automáticamente cerradas tras un movimiento de descenso-ascenso rápido del dispositivo. Cuando se tome muestra cerca del fondo es recomendable tener cuidado para evitar remover el sedimento subyacente.
- *Dispositivos de bombeo*. Bien manuales u operados por motor como las bombas de succión o sumergibles. Pueden situarse a la profundidad deseada por un cable o fijarse firmemente a la zona de toma de muestra.

Durante la toma de muestra de microorganismos es necesario comparar el uso de bombas con el uso de recipientes cerrados, ya que el resultado puede diferir. El tipo de bomba, la tasa de bombeo, la presión de succión, la visibilidad del tubo de captación y el movimiento de agua en la zona próxima al tubo de captación puede afectar el proceso de toma de muestra.

6.4.2 Otros materiales

- Pértiga o grandes pinzas o muestreadores
- Neveras portátiles y hielo o acumuladores de frío
- Marcadores, rotuladores, etiquetas
- Equipos de medición portátiles del pH, oxígeno disuelto, conductividad, temperatura, cloro
- Guantes estériles
- Mapas, lista de puntos de muestreo, hojas de muestreo
- Botas de agua (de seguridad)
- Llaves inglesas, alicates, destornilladores, cúter

- Bolsas de cierre hermético o contenedores herméticos de residuos
- Papel de laboratorio
- Jabón y toallas
- Tarros o vasos de precipitados, toallitas desinfectantes
- Encendedor, cerillas
- Carrito porta recipientes lastrado o equivalente
- Vehículo y documentos, identificación o tarjeta de autorización

6.4.3 Reactivos

- Etanol, fracción en volumen $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 70\%$, isopropanol, fracción en volumen $\varphi[(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}] = 70\%$, o solución de hipoclorito = $\rho(\text{ClO}^-) \approx 1\text{g/l}$
- Solución de tiosulfato sódico, pentahidratado, $\rho(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 18\text{ mg/ml}$
- Solución de sulfuro de sodio, $\rho(\text{Na}_2\text{S}) = 0,1\text{ mg/ml}$
- Solución de yodo, $c(\text{I}_2) = 0,05\text{ mol/l}$

6.5 REALIZACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA EN AGUAS NATURALES

6.5.1 Recomendaciones generales

1. Debe trabajarse siempre con precaución para evitar la contaminación de la parte interior o de la tapa del recipiente de toma de muestra.
2. El recipiente de toma de muestra no debe enjuagarse ni debe entrar en contacto con agua procedente de un recipiente no esterilizado.
3. Se debe ser cuidadoso para evitar la alteración del sedimento subyacente, particularmente en cursos de agua de movimiento lento. En estos casos las muestras se tomarán desde las orillas con una pértiga o desde un puente con un equipo adecuado.
4. La muestra ha de tomarse siempre de la parte activa del curso de agua para asegurar así su representatividad. De la misma manera, las muestras se tomarán siempre orientando la abertura del recipiente río arriba (o hacia el flujo de las olas en aguas no continentales).
5. Cuando sea posible, evitaremos tomar muestras de la capa más superficial, de la más profunda y próxima al lecho, de remolinos y/o de canales laterales.
6. Durante el llenado del recipiente, se deberá prestar atención para sacarlo del curso de agua cuando el nivel de llenado dentro del recipiente alcance un punto próximo al total. Si el recipiente se llena por completo deberemos desechar inmediatamente la cantidad sobrante aguas abajo, de manera que quede espacio suficiente para realizar una mezcla homogénea en el laboratorio.
7. Cuando se esté tomando la muestra a bordo de una embarcación, deberá hacerse siempre aguas arriba del sistema de refrigeración del motor para evitar cualquier tipo de contaminación.
8. La muestra debe ser ubicada en una nevera tan rápido como sea posible tras la toma.

6.5.2 Toma de muestra desde un puente

Este método se utiliza típicamente para tomar muestra desde un puente o una embarcación de grandes dimensiones.

La muestra deberá tomarse en una zona en la que la masa de agua presente una elevada tasa de mezcla para que sea representativa.

Se retirará el tapón recubierto de una capa de aluminio teniendo cuidado de no tocar el interior del recipiente o el interior del tapón, el cual deberá:

1. Ser mantenido con una mano libre o
2. Dejarse apoyado en una superficie firme tras darle la vuelta de forma que pueda evitarse la contaminación de su parte interior (la opción 2 se descarta en condiciones de viento fuerte, caso en el que habrá que proteger al tapón para evitar que se vuele).

Inmediatamente después se deberá hacer descender el recipiente a la superficie del agua, con precaución para evitar provocar desprendimientos de cualquier tipo que procedan del puente o embarcación en la que nos encontramos. Como última medida de precaución se deberá dejar que el fondo del recipiente o del contenedor del equipo de toma de muestra entre en contacto por unos segundos con la superficie del agua para a continuación elevarlo y permitir que cualquier residuo presente en el fondo caiga y se lo lleve la corriente.

Sin llegar a sumergir la boca del recipiente, deberá hacerse descender el equipo o recipiente unos 15 centímetros en el agua. La corriente reorientará el equipo o recipiente de manera que el recipiente estará aguas arriba del operador. Rápidamente deberá hacerse descender el equipo o recipiente unos 0,5 m para sumergirlo completamente. De este modo se minimiza la toma de muestra de la capa superficial.

En el siguiente paso se recuperará el recipiente teniendo cuidado una vez más de no provocar la liberación de residuos del puente o de la embarcación sobre la muestra o el equipo.

Si el recipiente se llena totalmente, entonces debe retirarse inmediatamente el exceso de muestra para asegurar que quede espacio para su posterior mezcla en el laboratorio.

En último lugar, el recipiente volverá a cerrarse con su tapa cubierta de papel de aluminio. Habrá que cerciorarse de que el aluminio está lo suficientemente abierto como para evitar el contacto con la parte superior o el interior del recipiente. Igual que al principio del proceso, deberá de evitarse el contacto de la mano con la parte inferior o el interior del tapón.

6.5.2.1 Consideraciones para la toma de muestra

Al seleccionar un punto de toma de muestra en un puente habrá que asegurarse de que:

- Haya profundidad de agua suficiente para sumergir el recipiente de toma de muestra.
- Una vez sumergido, el recipiente no deberá alterar los depósitos del fondo.
- Haya suficiente espacio de maniobrabilidad en el puente mientras se suspende el recipiente de toma de muestra de forma que se evite una potencial liberación de material de la estructura del puente.

- Independientemente de si la toma de muestra se realiza aguas abajo o arriba del puente, el operador debe tener visibilidad total del recipiente de toma de muestra y los equipos implicados en la misma durante todo el proceso

Si la profundidad del agua es insuficiente, se puede sustituir el descenso de un recipiente por una pértiga con un recipiente abierto en su extremo.

6.5.3 Toma de muestra en el curso del agua

Siempre que sea posible, hay que evitar entrar dentro de la masa de agua. Este método se aplica para tomar muestra desde un punto cercano a la masa de agua en cuestión, sobre una pequeña embarcación o si es imprescindible, mientras se está dentro cuando se trate de microorganismos no patógenos).

La muestra deberá tomarse en una zona en la que la masa de agua presente una elevada tasa de mezcla para que sea representativa. Se evitará la contaminación de la muestra vadeando aguas arriba. Si la muestra debe tomarse en un remolino, no deberemos vadear en ninguna zona próxima al mismo antes de la toma de muestra para no alterar la misma. La pértiga se utilizará siempre que haya que tomar muestras en un lago.

Se retirará el tapón recubierto de una capa de aluminio teniendo cuidado de no tocar el interior del recipiente o el interior del tapón, el cual deberá:

1. Ser mantenido con una mano libre o
2. Dejarse apoyado en una superficie firme tras darle la vuelta de forma que pueda evitarse la contaminación de su parte interior (la opción 2 se descarta en condiciones de viento fuerte, caso en el que habrá que proteger al tapón para evitar que se vuele).

A continuación se agarrará la base del recipiente de toma de muestras y se retirará su tapón. A continuación se invertirá el recipiente y en dirección contraria a la corriente (aguas arriba de la posición del técnico) se sumergirá la botella en el agua unos 15 cm para a continuación dirigir la boca del recipiente hacia la superficie del agua. Se dejará el tiempo suficiente para que se llene y a continuación se sacará del curso de agua.

Cuando se tome muestra desde una pequeña embarcación, deberá hacerse aguas arriba del motor y alejando el recipiente de la embarcación al dirigir la boca hacia la superficie.

Si el recipiente se llena totalmente, entonces debe retirarse inmediatamente el exceso de muestra para asegurar que quede espacio para su posterior mezcla en el laboratorio.

En último lugar, el recipiente volverá a cerrarse con su tapa cubierta de papel de aluminio. Habrá que cerciorarse de que el aluminio está lo suficientemente abierto como para evitar el contacto con la parte superior o el interior del recipiente. Igual que al principio del proceso, deberá evitarse el contacto de la mano con la parte inferior o el interior del tapón.

6.5.3.1 Consideraciones para la toma de muestra

En todos los casos y concretamente en aquellos en que el propio proceso de toma de muestra pueda ser una fuente de contaminación, los recipientes deberán llenarse directamente desde la masa de agua a ser captada. Se debe tener cuidado para evitar contaminación de las muestras y alteración del fondo o el margen del curso de agua.

6.5.4 Toma de muestra desde la orilla

Para alcanzar una zona de toma de muestra más representativa o inalterada desde la orilla de un río o arroyo. Se utiliza para tomar muestra en un lago o curso de agua de movimiento lento.

En primer lugar el recipiente cerrado de toma de muestra deberá fijarse en la pértiga mediante su abrazadera o mecanismo de fijación correspondiente.

A continuación será necesario desplazarse hasta una localización desde donde pueda tomarse una muestra representativa con ayuda de la pértiga.

Se retirará el tapón recubierto de una capa de aluminio teniendo cuidado de no tocar el interior del recipiente o el interior del tapón, el cual deberá:

1. Ser mantenido con una mano libre o
2. Dejarse apoyado en una superficie firme tras darle la vuelta de forma que pueda evitarse la contaminación de su parte interior (la opción 2 se descarta en condiciones de viento fuerte, caso en el que habrá que proteger al tapón para evitar que se vuele).

Se situará el recipiente sobre el punto desde el que se pretende realizar la toma de muestra.

Entonces se invertirá el recipiente y en un movimiento rápido se sumergirá por su boca en el agua unos 15 centímetros. Después deberá lentamente subirse hacia la superficie con la boca del recipiente hacia arriba hasta que se llene. Cuando se tomen muestras de un lago, lentamente se moverá el recipiente desde su punto de entrada hasta que se llene por completo.

Si el recipiente se llena totalmente, entonces debe retirarse inmediatamente el exceso de muestra para asegurar que quede espacio para su posterior mezcla en el laboratorio.

En último lugar el recipiente volverá a cerrarse con su tapa cubierta de papel de aluminio. Habrá que cerciorarse de que el papel de aluminio es lo suficientemente grande como para evitar el contacto con la parte superior o el interior del recipiente. Igual que al principio del proceso, deberá de evitarse el contacto de la mano con la parte inferior o el interior del tapón.

6.5.4.1 Consideraciones para la toma de muestra

Cuando la muestra deba tomarse desde una orilla, habrá que prevenir la contaminación de la misma por alteración del fondo o de la orilla del curso de agua. En condiciones normales se empleará una pértiga, aunque también se usa frecuentemente un recipiente sujeto a una cuerda.

6.5.5 Toma de muestra desde una embarcación

La toma de muestra desde una embarcación se realizará siguiendo cualquiera de los métodos anteriores desde la embarcación, considerando que el movimiento de la embarcación puede suponer un riesgo para el trabajador si se pone de pie, por lo que la toma debería realizarse desde una posición segura.

6.5.5.1 Consideraciones para la toma de muestra

Cuando se tome la muestra desde una embarcación deben tomarse precauciones para evitar la contaminación de la muestra por alteración de depósitos o por descargas de cualquier tipo procedentes del propio bote. Por ello es necesario emplear un barco adecuadamente mantenido, y la tripulación debe estar formada convenientemente.

6.5.6 Toma de muestra de aguas subterráneas

La toma de muestra de aguas subterráneas presenta una especial dificultad condicionada por las características constructivas de la captación y la técnica de toma de muestra.

Las instalaciones para la toma de muestra de aguas subterráneas están compuestas típicamente por tubos de acceso para dispositivos de muestreo portátiles o directamente entierran los dispositivos de muestreo “in situ”. Dentro del agua subterránea, la toma de muestra podrá hacerse en la zona saturada o en la zona insaturada.

6.5.6.1 Parámetros de toma de muestra

6.5.6.1.1 Toma de muestra de zona insaturada

6.5.6.1.1.1 Toma de muestra sólida seguida de extracción de agua subterránea (fluidos de los poros)

Es el método más frecuentemente utilizado para la toma de muestra de aguas subterráneas en la zona insaturada. Puede realizarse con dispositivos manuales o automáticos. Nos centraremos en los dispositivos manuales, mediante los que se realizará la toma de muestra directamente con tubos o barrenas tipo *Auger*.

6.5.6.1.1.2 Toma de muestra de los fluidos de los poros de la zona insaturada

Se pueden utilizar dos equipos para extraer el líquido contenido en los poros directamente desde el subsuelo:

a) Lisímetros

Se instalan sobre el terreno y aplican vacío a la superficie para sacar agua de los poros hacia el recipiente de toma de muestra. Básicamente están constituidos por una copa porosa al final de un tubo de toma de muestra que se instala en una perforación.

b) Toma de muestras del agua que percola en el suelo

Basan su funcionamiento en la gravedad y/o acción capilar para interceptar tanto el agua matricial como el agua que fluye a través de vías preferenciales tales como fisuras dentro de la zona insaturada. Su instalación requiere de la excavación de una zanja y la instalación de un túnel, en cuya parte superior se ubica el equipo toma de muestras que intercepta el agua del suelo.

6.5.6.1.2 Toma de muestra de zona saturada

Cualquier estructura con profundidad suficiente como para alcanzar una zona saturada de agua subterránea puede ser utilizada para realizar la toma de muestra (pozos de abastecimiento, manantiales, calicatas, zanjas...).

Para la zona saturada de aguas subterráneas y con el objetivo final de determinar los microorganismos en ella presentes, pueden emplearse para realizar la toma de muestra los siguientes equipos:

a) Equipo de toma de muestras en profundidad

Están diseñados para tomar muestras de agua subterránea a una profundidad específica. En esencia consisten en un recipiente que se hace descender por una perforación hasta alcanzar la masa de agua, dejando que se llene para a continuación retirarlo. Mediante un mensajero o válvula de control, desde la superficie puede hacerse que el recipiente se abra a una determinada profundidad y se cierre una vez esté lleno, para evitar que la muestra se contamine durante su ascenso a la superficie.

b) Bombas inerciales

Consisten en un tubo equipado con una válvula de no retorno en su extremo distal. Se hace descender el equipo por una perforación hasta la profundidad requerida y a continuación la muestra se toma mediante ascensos y descensos repetidos en una corta distancia (entre 0,3 m y 0,5 m). La válvula debe estar siempre al menos 50 cm bajo el agua para evitar la mezcla del agua y el aire.

c) Bombas de cámara

Este equipo comprende una cámara de muestra que tiene una válvula de control en su base (entrada del agua) y otra en la salida y una cámara hinchable de gas en el interior. Para tomar la muestra, se hace descender la bomba a la profundidad requerida y a continuación la cámara se hincha y deshincha sucesivamente mediante gas comprimido. La acción de hinchar y deshinchar llena la cámara de muestra y la hace ascender a la superficie a través de una manguera.

d) Bombas de superficie

Estas bombas se ubican en la superficie y basan su funcionamiento en el mecanismo de succión y ascenso. Hay distintos tipos, pero en esencia lo que hacen es aplicar un vacío a un recipiente de toma de muestra que a su vez está conectado a una manguera introducida en la masa de agua a muestrear, de forma que el recipiente termina llenándose.

6.5.7 Toma de muestra en playas de baño

Este método se utilizará cuando la muestra a tomar deba hacerse en una playa de baño.

En primer lugar se deberá avanzar hacia el interior de la masa de agua unos 75 centímetros.

A continuación deberá avanzarse en el agua hasta que ésta alcance el nivel de la rodilla. En ese momento se abrirá el recipiente y se insertará en el agua con un ángulo de 45 ° (con la boca de la botella hacia abajo). Se girará la botella hacia arriba unos centímetros por debajo de la superficie hasta que se llene. Una vez llena, se sacará y se desechará el exceso hasta que quede una cámara de aire. A continuación deberá cerrarse el recipiente. Puede

utilizarse una pértiga en el caso de que así sea posible evitar tomar muestras alteradas por levantamiento del sedimento.

Para muestras de agua de playa de baño, es recomendable entregar las muestras al laboratorio en 6 horas desde la toma de muestra.

Si existen problemas de seguridad, las muestras deben tomarse desde un punto alternativo.

6.6 CONSIDERACIONES POSTERIORES A LA TOMA DE MUESTRA

En este apartado se muestran únicamente aquellas especificidades que aplican a las muestras de agua y que las diferencian del capítulo 3, de generalidades.

6.6.1 Inactivación de desinfectantes

Para evaluar la calidad microbiológica de un agua desinfectada con un oxidante (por ejemplo, cloro, cloramina, bromo u ozono), se interrumpe la acción del oxidante tan pronto como se tome la muestra. Se añade un agente reductor, tal como el tiosulfato de sodio, a los recipientes de muestra.

La masa teórica de tiosulfato de sodio (pentahidratado) necesaria para inactivar 1 mg de cloro es 7,1 mg. Por lo tanto, se añaden 0,1 ml de solución de tiosulfato de sodio pentahidratado por cada 100 ml de capacidad del recipiente. Esto inactivará una concentración de cloro residual de 2 mg/l como mínimo y de hasta 5 mg/l, dependiendo de la dinámica de inactivación, lo que resulta suficiente para la mayoría de las muestras.

En ciertas circunstancias, tales como en los lavapiés de las piscinas, en medidas de desinfección (por ejemplo la erradicación de *Legionella* en los sistemas de distribución de agua potable), pueden encontrarse concentraciones más elevadas de cloro y, en estos casos, será necesaria una dosificación más alta de tiosulfato de sodio.

El tiosulfato de sodio no se destruye por autoclavado o por la aplicación de calor seco. Se debe asegurar que el pH de la disolución de tiosulfato de sodio esté próximo a neutralidad (un pH bajo puede originar su descomposición).

El tiosulfato de sodio no tiene efecto sobre la muestra y puede emplearse también para aguas no cloradas.

Para otros desinfectantes, es preciso aplicar las medidas de inactivación correspondientes. Si no es posible o factible realizar la inactivación, tiene que reflejarse en el informe.

6.6.2 Muestras de agua para la determinación de microorganismos

6.6.2.1 Tiempo, condiciones de conservación y transporte de las muestras

Las muestras se deben proteger de la luz solar.

Para las muestras cuyo transporte se prolongue durante más de 8 h, es necesario realizar un seguimiento y registrar la temperatura de manera al menos semicontinua.

Las condiciones de transporte deben quedar documentadas.

En todo caso y siempre que la conservación se realice mediante la introducción de refrigerantes individuales debe tenerse cuidado en:

- no colocar los bloques refrigerantes en contacto directo con la muestra, ya que esto puede provocar su congelación.
- ajustar el número, volumen y posición de los bloques refrigerantes al número de muestras, su masa y su temperatura inicial.

Se documenta el procedimiento requerido para tiempos de transporte más largos (> 8 h).

Se deben transportar de forma separada las muestras frías y calientes.

En la Tabla 4 se resumen las recomendaciones en lo que se refiere a tiempos máximos de conservación y valores de temperatura recomendados y aceptables para algunos microorganismos.

Respecto al tiempo al igual que en capítulo 3, el período transcurrido desde la toma de muestra hasta el análisis debería ser lo más corto posible, y debe reflejarse en los informes de laboratorio.

Los resultados obtenidos empleando tiempos de conservación superiores al tiempo recomendado deberían ir acompañados de una nota que exprese que los resultados han sido obtenidos una vez transcurridas *n* horas.

Tabla 4. Valores recomendados (R) y aceptables (A) de tiempos máximos de conservación de la muestra, incluido el tiempo requerido para el transporte, y de temperaturas, salvo especificación en contra de normas específicas.

	Tiempo máximo de conservación (h), incluido el transporte		Temperatura de conservación del agua (°C)		Observaciones
	R	A	R	A	
Generalidades					
Microorganismos cultivables (22 °C, 30 °C ó 36 °C)	8	12	5 ± 3		
Indicadores fecales, bacterias vegetativas					
E. coli (y bacterias coliformes)	12	18	5 ± 3		
Enterococos	12	18	5 ± 3		
Clostridium perfringens	12	18	5 ± 3		
Esporas					
Esporas de bacterias reductoras de sulfitos (Clostridium spp.)	24	72	5 ± 3		Mortalidad observada en aguas brutas tras 24 h
Virus					
Bacteriófagos	48	72	5 ± 3		

	Tiempo máximo de conservación (h), incluido el transporte		Temperatura de conservación del agua (°C)		Observaciones
	R	A	R	A	
Patógenos fecales					
Salmonella spp. y otras <i>Enterobacteriaceae</i>	12	18	5 ± 3		
Enterovirus	48	72	5 ± 3	-20	
	1 mes		- 70	ambiente	
Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	24	96	5 ± 3		
Cistos de <i>Giardia</i>	24	96	5 ± 3		
Otros microorganismos					
Amebas	24	96	5 ± 3	5 ± 3 ambiente	Algunas veces aparece lisis a las pocas horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	12	ambiente		
<i>Legionella spp.</i>	24	48	5 ± 3		Sensible al oxígeno
Cianobacterias	48	72	5 ± 3		Muestra estabilizada en un vial exento de polvo + formaldehído (concentración final 3%) en la oscuridad
<i>Campilobacter (thermophilic spp.)</i>	24		3 ± 2		
Bacterias totales por epifluorescencia	1 año	72	ambiente		Muestra estabilizada a pH=2
Huevos de helmintos	48	1 semana	5 ± 3		
			5 ± 3		

6.6.2.2 Recipientes de transporte

Los recipientes de transporte deberán garantizar que la muestra no se contamina ni altera. Los recipientes que contienen muestras deben protegerse y sellarse durante el transporte de tal modo que no sufran deterioro o pérdida de ninguna parte de su contenido. El embalaje de los recipientes debe proteger a éstos de posible contaminación externa, en particular cerca de la zona de apertura y no deberían constituir en sí mismos una fuente de contaminación.

Los recipientes de vidrio deben estar protegidos de eventuales rupturas mediante el uso de un embalaje apropiado. Las muestras deben transportarse tan pronto como sea posible, una vez realizada la toma de muestra y, si fuera necesario, conforme a lo indicado en las tablas 3 y 4, en condiciones de refrigeración.

7. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE SUELO Y SEDIMENTOS PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS ALTAMENTE PATÓGENOS

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo; Dra. Sonia Aguayo Balsas

Los métodos para la toma de muestra de suelo y sedimento para la detección de microorganismos tienen como objetivo la toma de muestras representativas para el posterior aislamiento, cultivo e identificación de aquellas especies de interés.

A nivel internacional, existe un gran grupo de trabajo centrado en el tema:

- ISO/TC 190 (Soil quality). Se encarga de la normalización en el campo de la calidad del suelo, incluyendo todo lo que tenga que ver con el trabajo con suelos “in situ” y con materiales del suelo destinados a su reutilización incluyendo sedimentos excavados. Este comité técnico y los subcomités que engloba han publicado hasta la fecha un total de 157 normas. El subcomité ISO/TC 190/SC 2 (Sampling) se encarga de aquellos temas implicados en la toma de muestra, habiendo publicado 8 normas relacionadas.

El homólogo europeo del anterior comité técnico es el siguiente:

- CEN/TC 345 (Characterization of soils). Se ocupa de la normalización en el área de la calidad del suelo, incluyendo la clasificación, definición de términos, toma de muestra de suelos y la medida y el reporte de las características del suelo. Queda fuera del ámbito de este comité técnico la definición de límites de aceptabilidad para contaminación del suelo y aspectos de ingeniería civil.

7.1 INTRODUCCIÓN

Cuando ha de caracterizarse un volumen de suelo o sedimento, es generalmente imposible examinar la totalidad y es por lo tanto necesario tomar muestras. Es necesario que las muestras recogidas sean tan representativas del total que debe caracterizarse como sea posible, y deberían tomarse todas las precauciones para asegurarse, si es posible, de que las muestras no sufran modificaciones en el intervalo entre la toma de muestra y el análisis.

El suelo es una matriz compleja, en la que hay que tener en cuenta diversas variables si queremos que la muestra sea representativa. Algunas de éstas son:

- Variaciones en la composición mineralógica, permeabilidad y capacidad sorcitiva y de tamponamiento.
- Variaciones temporales en la composición del medio.
- Posibles errores sistemáticos o puntuales durante la toma de muestra, manipulación, transporte, el almacenamiento o su alicuotado.

Las normas que han supuesto la fuente principal de información para la realización de este procedimiento se basan en técnicas de toma de muestra de uso habitual por parte del personal implicado en el mantenimiento de la calidad del suelo.

7.2 CONSIDERACIONES RELEVANTES PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA

La técnica de toma de muestra dependerá del objetivo del estudio. La elección de la técnica y los correspondientes equipos de toma de muestra debe hacerse tras las consideraciones del analista responsable de las determinaciones ulteriores.

Si se requieren muestras de suelo agrícola en medio aerobio, la toma de muestra normalmente se realizará hasta la profundidad real de cultivo. Se debería eliminar toda la vegetación superficial, capa de residuos recubiertos de musgo, raíces visibles, trozos grandes de plantas o residuos leñosos y cualquier fauna del suelo, para minimizar la adición de carbono orgánico fresco al suelo. Los constituyentes orgánicos introducidos procedentes de raíces u otras fuentes, pueden originar cambios impredecibles en la actividad y composición de la microflora del suelo. Si los suelos naturales muestran horizontes distintos, las muestras deberían tomarse también de cada uno de estos horizontes.

Si se realizan estudios en lugares con una elevada carga de contaminación microbiana, debería considerarse la posibilidad de utilizar técnicas de barrenado, sondeo o similares con preferencia a técnicas de excavación a fin de minimizar y disminuir los problemas debidos a la exposición de los materiales y su alteración y a la dispersión potencial de la contaminación.

Hay dos tipos básicos de muestras que se recogen con objeto de estudiar el suelo y las condiciones del suelo:

- a) Muestras alteradas: muestras obtenidas del suelo sin ningún intento de preservar la estructura; es decir que las partículas del suelo se recogen “sueltas” y se permite que se muevan unas respecto a otras. Las muestras puntuales pueden recogerse en poco tiempo utilizando barrenas manuales u otras técnicas similares de toma de muestra
- b) Muestras sin alterar: muestras obtenidas del suelo utilizando un método pensado para preservar la estructura del suelo; es decir se emplea un equipo de muestreo especial de tal forma que las partículas de suelo y los huecos no puedan cambiar respecto a la distribución que existe en el suelo antes de realizar la toma de muestra.

Para algunos exámenes microbiológicos pueden necesitarse muestras sin alterar. Estas muestras pueden tomarse por ejemplo mediante una caja de Kubiena, un extractor o un cilindro. En cada caso, el equipo se introduce en el suelo y seguidamente se retira con la muestra de tal forma que el suelo se recoge en su forma física original.

La selección de técnicas de toma de muestra debería guiarse por las siguientes cuestiones:

- a) ¿Cuáles son las características de interés del suelo?
- b) ¿Qué tipo de muestra, por lo tanto, se requiere?
- c) ¿Qué cantidad de muestra se necesita para los estudios planificados?
- d) ¿Qué precisión de los resultados se requiere y por lo tanto qué método puede utilizarse?
- e) ¿Cuál es la accesibilidad del lugar de muestreo?
- f) ¿Qué profundidad tiene que alcanzarse y cuáles son las características físicas del suelo?

Además, los costes, la seguridad, la disponibilidad de un equipo de personas cualificado, la maquinaria o los instrumentos, el tiempo y los aspectos ambientales conducirán a la selección final de la técnica de toma de muestra adecuada.

7.3 METODOLOGÍA EXISTENTE PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA

7.3.1 Barrenas pequeñas

La utilización de barrenas de pequeño tamaño puede realizarse mediante ejecución manual o por medio de un motor.

Las técnicas manuales de barrenado se utilizan habitualmente para la toma de muestra en suelos homogéneos, por ejemplo suelos agrícolas, siendo más fáciles de utilizar en suelos arenosos sin obstáculos como las piedras. Las formas preferidas de las barrenas manuales a utilizar para la toma de muestras de suelo, son aquellas que toman un cilindro de suelo de muestra. La toma de muestra con barrenas manuales permite la conservación del perfil del suelo y a profundidades previamente seleccionadas.

Las técnicas con barrenas a motor disminuyen el trabajo necesario para realizar la toma de muestra, teniendo la misma base metodológica. En este caso se deberá prestar especial atención si se utilizan motores de combustión a causa de la posible contaminación de la muestra por el combustible utilizado, los lubricantes del motor y los humos producidos.

7.3.2 Sondeos

Los sondeos pueden realizarse mediante distintas técnicas.

7.3.2.1 Perforación por percusión

Con un cable ligero y utilizando generalmente un anillo móvil con cabestrante accionado por un motor diésel y una grúa trípode. Esta técnica suele emplearse para estudios geotécnicos, pudiéndose llevar a cabo sondeos profundos superiores a 20 m de profundidad.

7.3.2.2 Perforación por rotación

Mediante la rotación (accionada por un motor) de una cabeza cortante en el extremo de un eje que penetra en el suelo mientras gira. El lubricante (necesario para refrigerar la cabeza cortante) eleva el residuo desde la cabeza cortante hasta la parte superior del sondeo formado y expelle el material a nivel del suelo, con el consiguiente riesgo de contaminación. Esta técnica es particularmente útil para la toma de muestras utilizando sólo técnicas apropiadas a mayor profundidad.

7.3.2.3 Barrena mecánica

Un motor hace girar la barrena con una gran fuerza descendente. La cabeza cortante consta de una o más espirales a 360°, habitualmente con una pequeña separación para prevenir que el suelo caiga fuera de la barrena cuando se extrae del sondeo. El método para hacer el sondeo es introducir la cabeza cortante, aproximadamente 1 m en el suelo, retirar la cabeza del orificio y separar los residuos. Este proceso se repite hasta que se alcanza la profundidad requerida.

7.3.3 Sondas y dispositivos de toma de muestra controlados

Estos sistemas consisten en un tubo hueco con o sin un cono director, o una barra sólida que se introduce en el suelo, utilizando energía hidráulica o fuerza mecánica. Se utilizan habitualmente para recoger muestras a diferentes profundidades, y poder penetrar rápidamente hasta la profundidad donde ha de tomarse la muestra o en aquellos casos en que se necesite obtener un cilindro continuo (muestra inalterada).

Pueden utilizarse sondas y equipos para la toma de muestra denominados de ventana, continuos o las conocidas sondas controladas.

7.3.4 Excavaciones (pozos de ensayo)

Esta es una técnica ampliamente utilizada para la toma de muestras en emplazamientos donde se realizan estudios de seguimiento de los niveles de contaminación. Las ventajas de este método son entre otras: su aplicabilidad bajo un amplio rango de condiciones del suelo, la oportunidad de realizar una observación próxima de los estratos y la velocidad con la que puede realizarse el trabajo.

Para excavar pozos de ensayo de hasta unos 2 m por excavación manual, pueden utilizarse palas mecánicas, picos y horquillas, y si solamente se necesita un número pequeño de estas excavaciones, ésta puede ser la técnica más sencilla para la toma de muestras. El pozo de ensayo debería tener una superficie plana de aproximadamente 1 m x 1 m para permitir una fácil recogida del suelo o de las muestras, y para la grabación del perfil del suelo.

7.4 REQUISITOS PARA REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA

Dado que el objetivo final del proceso de toma de muestra es la obtención de muestras representativas de microorganismos en matriz sólida (suelo o sedimento), que pudieran ser inocuos o patógenos, resulta fundamental la elaboración de un plan de muestreo y toma de muestra donde se definan los emplazamientos.

Si las condiciones de seguridad lo permiten, y de conocerse los focos de emisión, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra deberán situarse lo más próximo posible a dichos focos de emisión. En caso de no disponer de información, respecto al episodio ambiental, la ubicación de los emplazamientos de toma de muestra responderá a obtener la mayor representatividad de la zona de estudio.

El aspecto más relevante a considerar a la hora de realizar una toma de muestra de suelo o sedimento radica en la planificación del muestreo, en el estudio de la zona afectada, su histórico, identificación de zonas sensibles, conocimiento del nivel freático y existencia de pozos de agua subterráneos, así como de las características físico químicas de la matriz de la que vamos a tomar la muestra en el contexto de estudio y asociado al comportamiento del microorganismo a identificar. Una inadecuada selección de los puntos o sitios para realizar la toma puede conllevar la obtención de falsos negativos en los análisis posteriores.

En condiciones normales, los puntos identificados para la toma de muestra deben poseer unas características representativas, teniendo en cuenta también las variaciones espaciales (verticales u horizontales) y temporales. Se deberán evitar influencias que pudieran modificar el resultado de la medición.

Cuando el terreno está contaminado con microorganismos potencialmente peligrosos para la salud humana, puede ser necesario realizar un estudio como parte de la evaluación de peligro y/o riesgo, es decir, para determinar la naturaleza y alcance de la contaminación, para identificar los peligros asociados a la exposición, para identificar los blancos potenciales y vías de exposición, y para evaluar los riesgos relativos al uso actual y futuro del emplazamiento y terrenos vecinos.

Teniendo en cuenta que algunas muestras pueden permanecer almacenadas durante largos períodos de tiempo, es necesario tener un plan para mantener documentada toda su información relacionada, así como para mantener la cadena de custodia.

En caso de existir una emergencia biológica causada por uno o varios agentes altamente patógenos, deberá analizarse toda información disponible sobre la zona afectada, así como de la naturaleza de la amenaza biológica. En el contexto de la alerta, dada la presunta naturaleza altamente patógena de los microorganismos susceptibles de encontrarse presentes en la matriz sólida (suelo o sedimento), nuestra toma de muestras será siempre de tipo puntual. Deberían desarrollarse las estrategias de muestreo en base a los emplazamientos específicos.

Finalizada la emergencia biológica por agente altamente patógeno, se procederá a la evaluación temporal de la calidad del suelo para este patógeno en el dominio de estudio.

7.5 EQUIPAMIENTO DE TOMA DE MUESTRA

7.5.1 Barrenas Auger

Las barrenas Auger generalmente consisten en una cabeza barrenada tubular con cuchillas, un tubo extensor y un agarrador en forma de “T” (Figura 6).

Figura 6 – Dispositivo completo y montado de barrena tipo Auger



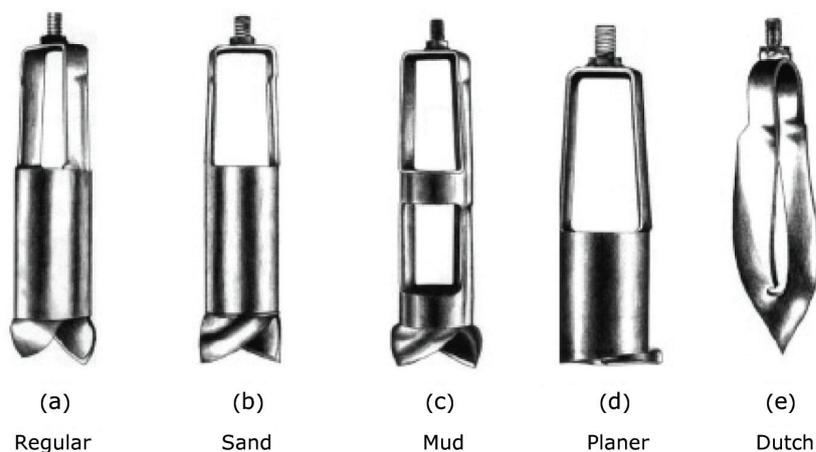
Adaptado de: AMS - The world's finest sampling equipment. <http://www.ams-samplers.com/>

El Auger se rota girando el asa en forma de “T” hasta que la barrena está llena. Se recupera el dispositivo, se vacía la barrena y se repite el proceso para tomar más muestra hasta que sea suficiente.

Generalmente las barrenas Auger están disponibles en acero inoxidable y existen los tipos que se listan a continuación:

- Normal: Se utiliza para suelo y residuos comunes además de para crear un orificio inicial a partir del cual se puedan tomar muestras inalteradas a una profundidad determinada (Figura 7a).
- Arena: Diseñada para su uso en suelos arenosos y extremadamente secos. El cabezal está especialmente creado para retener arena dispersa (Figura 7b).
- Barro: Se trata de un cilindro abierto para facilitar una fácil extracción de muestras pesadas, de suelo húmedo o arcillas. Las piezas cortantes están más separadas de lo normal que en los Auger normales para facilitar la entrada de suelos pegajosos (Figura 7c).
- Plana: Se emplea para retirar material disperso de la superficie de un agujero previamente realizado con otro cabezal Auger de forma previa a una toma de muestra en profundidad. También puede emplearse para recuperar materiales sólidos de la base de tanques (Figura 7d).
- Holandesa: Está diseñada para tomar muestra en suelos con abundante presencia de raíces, elevada presencia fibrosa o zonas pantanosas (Figura 7e).

Figura 7 – Tipos de cabezales para barrenas Auger



Adaptado de: D 6907 – 05 Standard Practice for Sampling Soils and Contaminated Media with Hand-Operated Bucket Augers

Estos equipos presentan la toma de muestra de suelos las siguientes:

Ventajas: Bajo coste, rápida disponibilidad, fácil manejo, operable por una o dos personas, disponible en distintas versiones para adaptarse a distintos tipos de suelos, abundante cantidad de muestra tomada, obtención de una muestra cilíndrica representativa.

Desventajas: Las muestras de profundidades menores pueden estar contaminadas, las muestras suelen estar alteradas siendo difícil elaborar un perfil de suelo exacto, generalmente la toma de muestra se restringe a 1-2 metros, la extracción de las muestras de las barrenas cerradas es incómoda, la toma de muestra bajo el agua es difícil.

7.5.2 Barrenas tipo Core

Este tipo de barrenas permiten realizar tomas de muestra subsuperficiales relativamente inalteradas de suelos a partir de perforaciones previamente realizadas con barrenas Auger. Se realiza por aplicación de presión mediante impacto sobre la barrena a la profundidad deseada, de forma que la muestra de suelo rellena completamente el interior de la barrena (generalmente ocupado por un cilindro vacío que es posible cerrar herméticamente mediante dos tapones ubicados a cada lado).

Figura 8. Barrena tipo Core

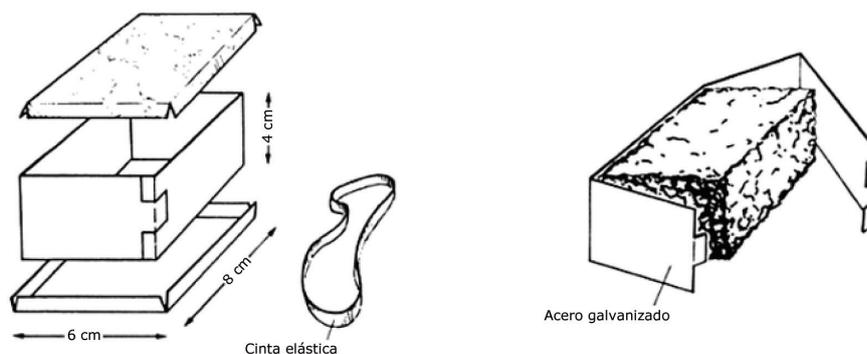


Adaptado de: AMS - The world's finest sampling equipment. <http://www.ams-samplers.com/>

7.5.3 Cajas de Kubiena

Un método fiable y ampliamente normalizado para obtener muestras de suelo que estén lo menos alteradas posibles es el uso de cajas o marcos Kubiena. Éstos consisten en un pequeño marco metálico rectangular (de latón, aluminio, acero estañado o galvanizado) (figura 9) con dos tapas, superior e inferior, para proteger la muestra. En un ángulo del marco hay una pestaña que lo mantiene cerrado, levantándola, el marco se abre y puede sacarse la muestra con facilidad sin dañarla. El marco puede ser tan grande como lo requiera el estudio en cuestión, sin embargo, para la mayoría de los trabajos rutinarios bastan cajas de 4 x 6 x 8 cm.

Figura 9. Caja Kubiena para la toma de muestras orientadas e inalteradas



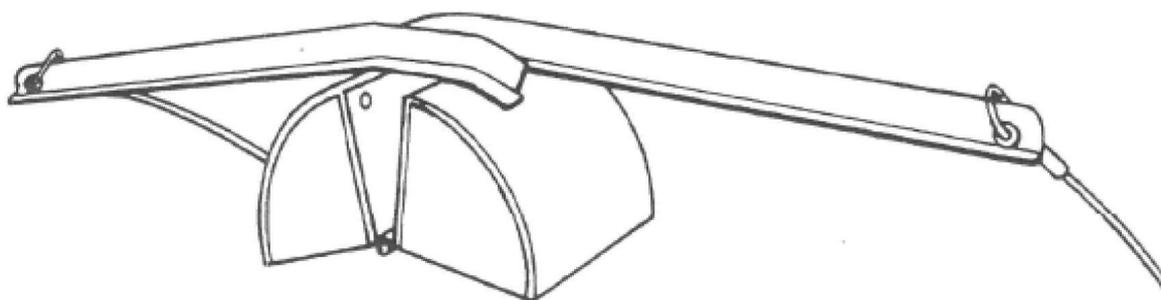
Adaptado de: *Muestreo y Descripción de Suelos*. J.M. Hodgson. Editorial Reverté, 1987

Las cajas Kubiena no son apropiadas para horizontes muy duros, los cuales deben muestrearse con un martillo o cuchillo, teniendo cuidado de indicar la orientación en cada muestra antes de guardarla en la bolsa de plástico convenientemente etiquetada.

7.5.4 Draga de tijera para sedimentos (tipo van Veenhapper)

El sistema consiste en dos cubetas (recipientes de acero inoxidable o galvanizado de capacidad variable entre 0,5 litros y 25 litros) mutuamente articuladas y con agujeros de drenaje para permitir la evacuación de agua que se cierran para llevar a cabo la toma de muestra del sedimento superficial, que queda retenido dentro de las cubetas cerradas (figura 10). Su funcionamiento se basa en la liberación de un bloqueo (generalmente mediante gravedad) cuando se ha alcanzado la capa sedimentaria permitiendo que las cubetas se cierren. Los modelos pequeños pueden ser operados manualmente sin necesidad de un cabrestante.

Figura 10. Draga de tijera para sedimentos (tipo van Veenhapper)



Adaptado de: ISO 5667-12:1995

7.6 OTROS MATERIALES

- Contenedores de almacenaje/transporte
- Neveras portátiles y acumuladores de frío
- Marcadores, rotuladores, etiquetas
- Guantes estériles
- Mapas, lista de puntos de muestreo, hojas de muestreo
- Formatos de revisión del sitio de medición, plan de medición y hoja de toma de muestra
- Botas de agua (de seguridad)
- Llaves inglesas, alicates, destornilladores, cúter
- Bolsas de cierre hermético o contenedores herméticos de residuos

7.7 REALIZACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA

7.7.1 Aspectos generales

El proceso consta de dos etapas separadas:

7.7.1.1 Acceso

Al punto de toma de muestra (retirada de la cubierta o capa de sellado, excavación o perforación de un orificio para alcanzar la profundidad deseada de toma de muestra).

7.7.1.2 Toma de muestra de suelo

Cuando se pretenda realizar toma de más de una muestra consecutiva, se deberá desinfectar la barrena Auger o la caja Kubiena y cualquier otro tipo de instrumento o material que haya estado en contacto con la muestra o bien tener disponibles varios cabezales esterilizados.

Dado que la toma de muestra se realiza para posteriores estudios microbiológicos, se recomienda que, siempre que sea posible, ésta se haga sobre suelos con un contenido de agua no demasiado elevado, de forma que posteriormente sea posible el tamizado de su contenido en el laboratorio.

Previamente a la toma de muestra y siempre que el objetivo no sea tomar una muestra superficial, se deberán haber quitado los primeros centímetros de material superficial tipo ramas, arena o piedrecitas en un radio de aproximadamente 15 cm en el punto de toma de muestra. Para proceder con la toma de muestra, se recomienda comenzar a barrenar rotando el agarrador en “T” mientras se presiona el Auger contra el suelo. En un contexto normal, se pueden desechar los primeros centímetros (depositándolos en una bolsa dispuesta a tal efecto, nunca sobre el suelo para evitar problemas de contaminación). En un contexto de emergencia, las muestras incluirán la totalidad del material tomado.

La cantidad de muestra de suelo o sedimento necesaria para estudios biológicos, depende considerablemente de los fines del estudio. La cantidad dependerá de las determinaciones a realizar en el laboratorio, y puede ser difícil de calcular. Es por ello que, a no ser que el material sea muy costoso o la probabilidad de tener que reanalizar sea muy baja, se recomienda almacenar suficiente material para poder realizar al menos cinco identificaciones del microorganismo que requiera una mayor cantidad de muestra.

Por último, una vez tomada la muestra, se recomienda rellenar el orificio con material limpio tipo bentonita, cemento o substrato circundante de acuerdo a la normativa vigente aplicable.

7.7.1.2.1 Toma de muestra de suelos superficiales

Dado que para análisis microbiológicos es necesario tomar muestras de suelo inalteradas, deberemos emplear el marco Kubiena. Para ello, se pule con un cuchillo una superficie bien lisa alrededor del punto escogido para obtener la muestra. Se saca una de las tapas y se introduce el marco en el suelo por la cara abierta, presionando con suavidad sobre la superficie del perfil. A continuación, con un cuchillo afilado, se corta y separa el suelo alrededor del marco de manera que éste vaya penetrando deslizándose sobre los bordes de la muestra, produciendo siempre la mínima compresión posible. En condiciones ideales, la caja no debería forzarse al penetrar en el suelo. Por fin, la caja se presiona levemente hasta introducirla en todo su espesor y se saca excavando cuidadosamente con cuchillo y paleta. A continuación, la muestra se corta nivelándola con el marco, se colocan las tapas y se cierra con bandas elásticas o cintas adhesivas resistentes al agua. La orientación de la muestra debe señalarse en el marco con cuidado y sin ambigüedad, para ello se utiliza un marcado resistente al agua, con el que se indican también los números del perfil, del horizonte y la profundidad.

Si no es posible emplear la caja Kubiena, emplearemos las barrenas Auger con el máximo cuidado para obtener una muestra lo más inalterada posible. Para ello, se llevará el Auger a la profundidad deseada y una vez se haya tomado la muestra se depositarán los cortes realizados en el contenedor adecuado para su posterior procesamiento.

7.7.1.2.2 Toma de muestra de suelos subsuperficiales

Si lo que se necesitan son muestras subsuperficiales inalteradas debe emplearse en primer lugar una barrena Auger plana (Figura 7d) para limpiar y nivelar la base del orificio. A continuación, cambiaremos la barrena Auger por una de tipo Core (Figura 8) y la introduciremos sin tocar las paredes hasta la base del orificio, forzando gradualmente a partir de aquí hasta que se complete la toma de muestra. Posteriormente, se extrae el dispositivo de toma de muestra, se extruye la misma y se descartan los primeros 2,5 cm, pues se tratará de material tomado previamente a haber alcanzado la profundidad requerida.

Si no es posible emplear una barrena tipo Core, de nuevo se empleará las barrenas Auger con el máximo cuidado para obtener una muestra lo más inalterada posible. Lo que haremos será introducir el Auger hasta la parte superior del intervalo de profundidad deseada y retirar cuidadosamente ese cabezal. A continuación, introducir un cabezal limpio y rotarlo para tomar la muestra. Una vez tomada, se retira con mucha precaución para evitar contaminación de la muestra con material de las paredes del orificio realizado y se deposita en el contenedor que tendremos preparado a tal efecto. Si se toma la muestra de una vez directamente con un solo cabezal Auger, se debe desear la parte superficial de la misma hasta la profundidad deseada, pues contendrá material superficial que no es objeto del estudio.

7.7.1.2.3 Toma de muestra de suelos a profundidades moderadas en suelos inestables

Para la obtención de muestras a profundidades moderadas en suelos inestables, se recomienda reforzar las paredes del orificio con una carcasa. De este modo se evitará que este colapse antes de continuar tomando muestra. El diámetro interior de la carcasa tendrá que ser ligeramente superior al del cabezal Auger.

7.7.1.2.4 Toma de muestra de suelos en profundidad

Si es necesario tomar muestras a mayor profundidad, se deberían utilizar equipos mecánicos para la toma de muestras.

7.7.1.3 Toma de muestra de sedimentos

7.7.1.3.1 Toma de muestra de sedimentos en una masa de agua desde una embarcación o puente

La draga deberá estar bloqueada de forma que las cubetas estén en posición abierta. Entonces se hace descender en el agua por medio de un pescante y el cabrestante, o manualmente en función de su tamaño. El dispositivo de bloqueo se libera al entrar en contacto con la superficie sedimentaria. Las mandíbulas se cierran y levantan mientras el material de la muestra se recoge en las cubetas. Una vez se ha hecho ascender la draga a la superficie, se coloca en una bandeja de recepción en la cubierta para trasvasarla al recipiente de almacenaje y transporte.

7.7.1.3.2 Toma de muestra de sedimentos en una masa de agua desde la orilla

Preferiblemente, el tomador de la muestra se ubicará en una base firme y sin entrar en contacto directo con el agua y los sedimentos subyacentes. Si no es posible, se tomará avanzando la mínima distancia necesaria hacia el interior de la masa de agua desde la orilla procurando alterar lo menos posible el medio. Debe emplearse una barrena de tipo Core (Figura 8) que introduciremos accionando el martillo que sustituye en estos casos al brazo en forma de T (Figura 8), forzando gradualmente a partir de aquí hasta que se complete la toma de muestra.

7.8 CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS POSTERIORES A LA TOMA DE MUESTRA

En este apartado se muestran únicamente aquellas especificidades que aplican a las muestras de suelo y sedimento y que las diferencian del capítulo 3, de generalidades.

7.8.1 Tiempo, condiciones de conservación y transporte de las muestras

Desde la finalización de la toma de muestra de suelo o sedimento para la determinación de microorganismos hasta su análisis en laboratorio, se deberá hacer todo lo posible para:

- Evitar la contaminación de la muestra
- Reducir al mínimo cualquier cambio químico, físico o biológico de la muestra en cuestión

Las condiciones físico-químicas que tengan lugar durante el almacenamiento pueden inducir cambios en las propiedades del suelo o sedimento, por lo que es muy importante mantenerlas bajo control. Es altamente recomendable consultar con el laboratorio de análisis previamente todo lo relativo a estas condiciones para evitar problemas analíticos posteriores. Entre otras alteraciones, se puede modificar el contenido en agua, la actividad biológica, puede tener lugar la evaporación o precipitación de sustancias volátiles y pueden darse reacciones químicas con la atmósfera y con el propio recipiente donde la muestra se encuentre.

Respecto al tiempo, el período transcurrido desde la toma de muestra hasta el análisis debería ser lo más corto posible, y debe reflejarse en los informes de laboratorio. La mayor parte de los procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio de microbiología recomiendan que las muestras se envíen al laboratorio inmediatamente después del muestreo. Deberían evitarse la vibración u otros daños a las muestras no alteradas a fin de mantener la estructura original durante el transporte.

Si no existiese alerta sanitaria y se quisieran conservar las condiciones aerobias de un suelo, las muestras deberían ser transportadas y conservadas de forma que se minimizasen los cambios en el contenido de agua del suelo. Para ello deberían mantenerse en la oscuridad (los constituyentes de suelo sensibles a la luz requieren un almacenaje en la oscuridad, o al menos en recipientes que absorban la luz) a (4 ± 2) °C y, cuando fuese posible y no supusiese a un riesgo, con libre acceso de aire. Se considera adecuado un tipo de recipiente que permita dicho acceso, como una bolsa de plástico semiabierta (ligeramente atada). Debería tenerse cuidado para que el suelo no se almacene en cantidades que permitan la compactación física, la rotura de las bolsas o la existencia de condiciones anaerobias en el fondo de los recipientes (las bolsas no deben apilarse unas encima de otras de forma que se compacte el material en ellas contenido o se interrumpa el acceso de aire). Las muestras de suelo deberían procesarse antes de su conservación, con objeto de asegurar unas condiciones aerobias estables.

Excepto aquellas muestras destinadas a análisis de ADN o ARN, es esencial que los suelos no se sometan a congelación, desecación o encharcamiento durante su conservación. Para análisis de ADN, las muestras deben congelarse a (-20 ± 5) °C (si no se tratan inmediatamente). Para análisis de ARN, las muestras deberían congelarse a (-80 ± 5) °C. Si es necesario almacenar las muestras de suelo durante períodos mayores (> 3 meses) puede ser apropiada la congelación de las muestras a (-20 ± 5) °C, (-80 ± 5) °C o (-180 ± 5) °C aunque, generalmente, no se recomienda. Para un número de suelos de climas templados, se ha visto que el almacenamiento a (-20 ± 5) °C hasta 12 meses no inhibe la actividad microbiana.

Es preferible utilizar los suelos tan pronto como sea posible después de haber realizado la toma. Cualquier retraso debido al transporte debería minimizarse. Si el almacenaje es inevitable, éste no debería exceder de 3 meses, a menos que haya evidencia de actividad microbiana continuada.

En caso de que no se pretenda mantener la aerobiosis en nuestra muestra, los recipientes que contienen las muestras deberían protegerse y sellarse de tal forma que las muestras no se deterioren o se pierda parte de su contenido durante el transporte. El embalaje debería proteger los recipientes de una posible contaminación externa, particularmente cerca de la boca y no debería ser él mismo una fuente de contaminación.

7.8.1.2 Recipientes de transporte

La elección y preparación de los recipientes, puede ser de una gran importancia. Los problemas que se encuentran con gran frecuencia son:

- adsorción en las paredes de los recipientes
- limpieza inapropiada, lo que da lugar a la contaminación del recipiente antes del muestreo
- contaminación de la muestra por el material del que está hecho el recipiente
- reacción entre los constituyentes de la muestra y el recipiente

El propósito del recipiente es proteger la muestra de las pérdidas por adsorción, volatilización o contaminación por sustancias extrañas.

Otros factores que pueden considerarse en la selección del recipiente utilizado para recoger y almacenar la muestra, comprenden:

- resistencia a las temperaturas extremas
- resistencia a la rotura
- impermeabilidad al agua y gases
- facilidad para la reapertura
- tamaño, forma y masa
- disponibilidad
- posibilidad de limpieza y reutilización

Además, los recipientes deben ser cuidadosamente elegidos respecto a su material de construcción, tipo de cerramiento y dimensiones. Otras funciones que deben ser validadas son la protección que ofrecen frente a una posible contaminación o la capacidad de mantener la muestra protegida de la luz o el aire.

7.9 PROTECCIÓN AMBIENTAL

El material expuesto en la superficie puede representar un peligro para el ambiente a causa de la liberación de olores, humos, polvo, líquidos contaminantes o agua contaminada. Por ejemplo, a las corrientes, lagunas o terreno adyacente pueden llegar polvo o agua contaminada. Esto puede ser difícil de controlar, y puede solamente minimizarse trabajando cuidadosamente. Esto es igualmente importante al término del estudio; el relleno de los pozos de exploración y la limpieza del emplazamiento después del estudio deberían asegurar que no se produzca tal exposición.

Cuando estos residuos provienen de taladros o sondeos, la cantidad probablemente será pequeña y su depósito en el exterior del emplazamiento no creará ningún problema. Tales residuos deberían recogerse juntos y depositarse, al final del estudio, en un sitio adecuado.

Si se alcanza la capa freática, los pozos de exploración se llenarán con agua que puede estar contaminada o cubierta con fluidos no acuosos tales como aceites. En estas circunstancias, se debe poner especial cuidado en el relleno a fin de prevenir el escape o dispersión de los líquidos contaminantes sobre la superficie del emplazamiento o sobre el suelo no contaminado.

Si se instalan sondeos o excavaciones que penetren en los estratos impermeables, por ejemplo arcilla, pueden formarse nuevas vías que dan lugar a un aumento de la dispersión de la contaminación. En estas situaciones, debería evitarse que las excavaciones perforen el estrato protector impermeable. En los sondeos, es posible perforar hasta el estrato impermeable e insertar un tapón de protección de bentonita o material similar a través del cual es posible practicar, a mayor profundidad, un sondeo de menor diámetro. De esta manera se forma un sellado que previene la dispersión de la contaminación.

Puede también producirse un aumento de la dispersión cuando la contaminación está presente debajo de una capa relativamente impermeable, tal como material sintético o un pavimento duro de hormigón. Si esta capa se rompe y la capa impermeable no se reemplaza, la creciente penetración resultante del agua de lluvia puede dar lugar a una mayor percolación y dispersión de la contaminación en el suelo y en el agua subterránea. En tales circunstancias, debería restablecer en el sondeo o excavación una capa protectora adecuada de baja permeabilidad y espesor apropiado. También en tales circunstancias, debido al posible asentamiento de los pozos de exploración rellenados, debería incorporarse en cuenta en las especificaciones del estudio, un período de mantenimiento a fin de que puedan corregirse los posibles efectos de cualquier asentamiento.

8. REQUISITOS DE CALIDAD SEGÚN NORMA UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 PARA LA IMPLANTACIÓN DE UN SISTEMA DE CALIDAD PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE AGENTES PATÓGENOS EN MATRICES AMBIENTALES

Dr. Francisco Javier Sánchez Íñigo; Dña. Gema Díaz López; D. Miguel Ángel Lucena Lozano

8.1 IDENTIDAD LEGAL Y ORGANIZACIÓN

8.1.1 Identidad legal de la organización

El centro deberá contar con identidad legal definida y deberá definir sus campos de actividad.

8.1.2 Organización

Dentro de la organización se encuentran definidos los siguientes puestos en relación con el Sistema de Gestión de la Calidad:

I. DIRECTOR/A DE CENTRO

II. RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE GESTIÓN DE CALIDAD

III. RESPONSABLE TÉCNICO

Estos tres puestos se configuran como personal clave para el Sistema de Calidad. El centro definirá todos los demás puestos necesarios para el desempeño de su actividad.

Descripción general de los puestos:

I. DIRECTOR/A DE CENTRO

Es la máxima autoridad ejecutiva del Centro y entre sus funciones cabe destacar las siguientes:

- Asistir a las reuniones de revisión del Sistema de la Calidad.
- Revisar la elaboración del Manual de Calidad.
- Decidir sobre la emisión/actualización de los POG.
- Aprobar los POG.
- Designar a los RT.
- Proponer las contrataciones que estime necesarias a sus superiores jerárquicos.
- Aprobar los planes y programas de formación tanto Técnicos como de Calidad.
- Establecer, negociar y documentar los acuerdos de cooperación con los clientes y conservar las copias de los registros de dichas cooperaciones.

- Establecer, negociar y documentar los acuerdos de cooperación con laboratorios externos con organismos de Normalización y Certificación y con Entidades de Inspección.
- Coordinación técnica externa del Centro o designación de la persona responsable en cada caso.
- Fijar, junto con el JGC, la periodicidad de las auditorias.
- Revisar, aprobar y firmar las propuestas de compra de equipos y materiales que crea convenientes.
- Gestionar su parte en las reclamaciones de los clientes según procedimiento establecido
- Asegurar el archivo de los registros generados en las subcontrataciones y cooperaciones.

II. JEFE DE GARANTÍA DE CALIDAD DE CENTRO (JGC)

Es el responsable de la implantación de los Sistemas de Calidad en el Centro, y de la supervisión de dicha implantación. Sus funciones son básicamente, aunque no en exclusiva, las siguientes:

- Supervisar la implantación del Sistema de la Calidad, y controlar su eficacia mediante su participación en la Revisión del Sistema de la Calidad.
- Participar con el Responsable de la Unidad de Gestión de la Calidad en la elaboración del Manual de la Calidad y los Procedimientos Operativos de Centro, cuando aplique.
- Promover la implantación de Sistemas de Calidad distintos al implantado cuando se consideren adecuados a las necesidades detectadas por el Centro.
- Prestar soporte técnico a las actividades de ensayo, para el cumplimiento de requisitos de acuerdo al Sistema de Calidad. Colaborar en tareas de validación, estimación de la incertidumbre, desarrollo de métodos de ensayo y de calibración de equipos, con los distintos Responsables Técnicos y Unidades de Laboratorio.

La designación del Jefe de Garantía de Calidad es función y responsabilidad del Director/a del centro. En su ausencia, el Jefe de Garantía de Calidad será sustituido por el Director de Centro.

III. RESPONSABLE TÉCNICO (RT)

El Responsable Técnico (RT) es el responsable máximo de los resultados analíticos y competencia técnica de las personas que intervienen en el ensayo.

Realizará, entre otras, las siguientes funciones:

- Participar en la revisión del Sistema de la Calidad.
- Asegurar la existencia y ejecución del plan y programa de calibración, verificación y mantenimiento de equipos.
- Asegurar la existencia y ejecución del plan de formación y programa de cualificación del personal a su cargo.

- Asegurar el cumplimiento de los requisitos que establezca el sistema de calidad para los equipos a su cargo: inventario, identificación, designación de responsables, mantenimiento, calibración, anomalías, etc.
- Asegurarse de la emisión/actualización de los PNT específicamente vinculados a su cargo, así como de su aprobación final para posteriormente ser distribuidos por el JGC.
- Asegurarse de la revisión de la documentación externa que se vaya a incluir en el Sistema de Calidad y de su aprobación y control, que garantice que siempre se utiliza la última edición válida en el caso de que se trate de las normas de ensayo.
- Llevar a cabo la elaboración o revisión de los Procedimientos Operativos Generales, cuando su experiencia técnica lo recomiende.
- Asegurar la trazabilidad de las medidas con respecto a patrones nacionales o internacionales, hasta donde sea aplicable y posible.
- Evaluar las propuestas de no conformidad, y en caso de aceptación, decidir sobre las acciones correctivas a seguir.
- Asegurar la evaluación, revisión, registro y control de los Trabajos No Conformes en su ámbito de responsabilidad
- Revisar la implantación y adecuación de las acciones correctivas y preventivas que le atañan.
- Responsabilizarse de la elaboración y firma de los informes finales de ensayo.
- Responsabilizarse de la evaluación de la calidad de los ensayos.
- Responsabilizarse de la validación de ensayos.
- Conocer las funciones y responsabilidades del personal a su cargo, y asegurarse de su cumplimiento.
- Gestionar técnicamente las reparaciones y sustituciones de los equipos a su cargo.
- Realizar las gestiones oportunas para asegurar que las condiciones ambientales que afectan tanto a los ensayos como al personal a su cargo sean las adecuadas.

La designación del RT es función y responsabilidad del Director del Centro. Esta designación se produce mediante la autorización a ciertas personas que por su formación y experiencia puedan ser RT.

SISTEMÁTICA PARA LA DELEGACIÓN DE FUNCIONES EN CASO DE AUSENCIA

Las funciones asignadas a cada puesto serán delegadas, en caso de ausencia. La sistemática para la delegación de funciones estará definida. Específicamente, estará definido el sistema de delegaciones por ausencia en los puestos de Director, Jefe de Garantía de Calidad y Responsable Técnico.

8.2 CONFIDENCIALIDAD Y SALVAGUARDIA DE LA TOMA DE MUESTRA

- I) Ninguno de los laboratorios que realizan actividades amparadas por este Plan de Calidad realizará ninguna que puedan comprometer su independencia en la tarea a realizar, garantizando su actuación como laboratorios libres de intereses distintos a su buen quehacer técnico.
- II) El personal que presta servicios en actividades amparadas por este Plan de Calidad no ejercerá actividades de carácter laboral, industrial, comercial, etc., con organizaciones que pudieran tener influencia sobre el resultado de su actuación.
- III) Toda información recibida, relativa a las actividades amparadas por este Plan de Calidad, independientemente del carácter que tenga (documental, verbal, del equipamiento, etc.), será tratada como confidencial.
- IV) Se dispondrá de políticas y procedimientos que aseguren la protección de la información confidencial, así como de procedimientos para proteger el almacenamiento y la transmisión electrónica de los resultados.
- V) El acceso tanto a la información como a las dependencias del laboratorio (si las hubiere) será restringido al personal autorizado.
- VI) Los ensayos/estudios se realizarán conforme a procedimientos/documentos escritos.
- VII) No se aceptarán ensayos cuya viabilidad o resultados previsibles puedan poner en peligro la integridad e independencia de juicio de los laboratorios.

El personal que desarrolle actividades amparadas por este Plan de Calidad deberá firmar un modelo de salvaguardia como el definido en el ANEXO 1, comprometiéndose por esta firma al cumplimiento de los puntos en él definidos.

8.3 CONTROL DE DOCUMENTOS

El término “procedimiento” utilizado en este documento hace referencia, indistintamente, a: Procedimientos Operativos Generales (POG), Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) y Planes de Calidad (PC).

Los procedimientos pueden hacer referencia a otros documentos concretos, indicando los apartados, pero no repitiendo su contenido.

Se emitirán tantos procedimientos como sean necesarios a fin de cubrir las distintas actividades desarrolladas por el Centro.

Los formatos que emanan de los documentos del Sistema de Gestión se recogerán como Anexos de los documentos. Los documentos y los formatos se encontrarán, por tanto, en la misma edición.

La responsabilidad de las diferentes actividades relacionadas con la elaboración y gestión de los documentos internos se describe a continuación:

Tabla 5. Cuadro de responsabilidades de gestión de documentos del sistema de la calidad

TIPO DE SISTEMA	DOCUMENTOS			
	DOCUMENTOS GENERALES		DOCUMENTOS PARTICULARES	
TIPO DE DOCUMENTO	MDC	POG	PNT, INSTRUCCIONES	PC
ACTIVIDAD				
PROPUESTA DE ELABORACIÓN/MODIFICACION	Personal del Centro al JGC y éste al DC	Personal del Centro al JGC y éste al DC	Personal del Centro al RT	Personal del Centro al RT
DECISIÓN DE ELABORACIÓN/MODIFICACION	DC	DC	RT	RT
ELABORACIÓN/MODIFICACION	DC/JGC	DC/JGC/ Persona designada por él	Persona designada por el RT	Persona designada por el RT
REVISIÓN	DC	DC/JGC	RT (1) o Persona designada (2)	RT (1) o Persona designada (2)
APROBACIÓN	DC	DC	RT	RT/DC
ASIGNACIÓN DE CÓDIGO	JGC	JGC	JGC	JGC
DISTRIBUCIÓN Y CONTROL	JGC	JGC	JGC	JGC
DIFUSIÓN	JGC, RT	JGC, RT	RT	RT
ARCHIVO	JGC	JGC	JGC	JGC

(1) Según corresponda con el ámbito de aplicación del PNT/Instrucción

(2) Persona designada por el responsable correspondiente de la decisión de elaboración/modificación del PNT/Formato

8.3.1 Actividades para los Documentos de Elaboración Interna

Las actividades a realizar tanto para la emisión como para la actualización de los documentos de Elaboración Interna del Sistema de la Calidad son:

- a) *Propuesta de Elaboración / modificación*: Podrá ser realizada por cualquier persona involucrada en el Sistema de la Calidad. Cuando la propuesta parta de una persona distinta a la definida en el cuadro de responsabilidades, le será comunicado esto a la persona señalada en el cuadro, por escrito, a través de su RT, si lo hubiere. El receptor de la propuesta la hará llegar al responsable de adoptar la decisión.

- b) *Decisión de Elaboración / modificación*: Corresponderá a la persona que ocupe el puesto que se indica en el Cuadro de Responsabilidades. El responsable de la decisión de Elaboración / modificación de un documento (que a su vez, coincide con el responsable de su aprobación), es también el responsable de la puesta en circulación de dicho documento
- c) *Elaboración / modificación*: Consiste en la preparación del borrador del documento y sus formatos. Independientemente de las personas que hayan colaborado, se responsabilizará de la misma la persona que ocupe el puesto definido en el Cuadro de Responsabilidades, firmando y fechando el documento.

En el caso de varios elaboradores, se considerará como elaborador responsable de un documento al elaborador que figure en primer lugar. La estructura de cada tipo de documento contemplado estará de acuerdo con los criterios establecidos en el procedimiento correspondiente.

El responsable de la aprobación del documento original designará al encargado de llevar a cabo las modificaciones del mismo o sus formatos derivados.

- d) *Revisión*: Consiste en la comprobación, por persona diferente a la que realizó el documento o formato, de que éste es completo, adecuado y está de acuerdo con los requisitos establecidos en este plan de calidad y los documentos que lo desarrollan. La persona que lleva a cabo esta actividad firmará, indicando nombre y fecha, en el documento.
- e) *Aprobación*: Consiste en la ratificación del documento y sus formatos, para su inclusión e implantación dentro del centro.
- f) *Distribución y Control*: Se realiza de acuerdo con lo descrito en el apartado denominado "Distribución y Control" de este apartado.
- g) *Difusión*: Consiste en dar a conocer el documento o formato a las personas que lo tengan que aplicar. La difusión de un documento coincide con su distribución escrita hasta el nivel que permita el acceso a todo el personal que lo precise. No obstante, se efectuará una difusión específica, bien a toda persona que así lo solicite por considerarla necesaria para una mejor comprensión del documento y su adecuada aplicación, o bien por estimarlo así el Responsable de Calidad o el Responsable Técnico.

Cuando sea solicitada difusión personalizada, se realizará de forma oral y/o por escrito, y siempre que sea posible, convocando una reunión a la que asistan los interesados, en la que se explique el contenido del documento y responsabilidades que define.

Cuando la reunión no sea posible o alguna persona no pueda asistir se le informará de donde se encuentra disponible una copia del documento, como difusión escrita, para su estudio.

Esta difusión específica se recogerá en el correspondiente formato de registro de difusión (formato correspondiente, ver ANEXO 2), en el que se refleje el título, código y edición del documento, las personas afectadas, la(s) fecha(s) de difusión y, en caso de reunión, la duración de la misma.

Estos registros serán conservados por el JGC.

- b) *Entrada en vigor*: La fecha de entrada en vigor (fecha de edición) de los documentos coincidirá con la fecha de edición anotada en la portada del mismo.
- i) *Archivo*: El archivo de documentos se realizará según lo descrito en el apartado “Archivo de documentos y su conservación”.

El período de conservación de los documentos y programas informáticos será de al menos 5 años a partir del uso de una nueva edición, revisión; salvo especificación distinta establecida en otros reglamentos, normas o bien por imposición contractual, siendo de aplicación siempre el período mayor.

8.3.2 Elaboración de documentos internos

8.3.2.1 Elaboración del Manual de la Calidad

El *Manual de Calidad* es un documento de elaboración interna, por lo que también se aplicará, en las actividades relacionadas con él, lo descrito en este apartado. Por otra parte, es un documento único, de él emanan los demás documentos internos y tendrá las siguientes particularidades:

Elaboración del Manual de Calidad: El Manual de Calidad estará estructurado en capítulos. Estos contemplarán los diferentes contenidos que aconsejan las Normas en cuyos requisitos se basa el Sistema de Calidad y que están referidas en la política de calidad del centro, pero no necesariamente la estructura será idéntica.

- *Formato del MDC*. Al ser el MDC un documento único, su formato no necesita estar estandarizado y será el que se considere más oportuno en cada edición por el responsable correspondiente, pero constará como mínimo de:
 - Portada
 - Página de índice de capítulos
 - Página de histórico de modificaciones
 - Páginas de los propios capítulos con el texto

En cada capítulo se reseñará su índice, se describirá el objeto y alcance del capítulo y se expondrá el resto del contenido estructurado en los apartados que convengan a su finalidad.

Cada página estará identificada inequívocamente. Para ello, en cada una constará el MDC, la edición, el capítulo correspondiente, la página y el número total de páginas.

- *Actualización del Manual de Calidad*: Al ser considerado el MDC como un documento único, la actualización de algún capítulo implicará el cambio de edición del MDC.

Cada actualización, por tanto, exigirá también la modificación de la Portada, de la página del Índice de capítulos y de la página del Histórico de Modificaciones.

Para la elaboración de Procedimientos se seguirán los siguientes apartados:

8.3.2.2 Estructura de los Procedimientos

La estructura de cualquier Procedimiento estará constituida por:

- Una página inicial de Portada (según formato definido en el ANEXO 3)
- En el formato se hará figurar el nombre y apellidos de la persona que firma y la fecha de la misma en los apartados de Elaborado, Revisado y Aprobado. El responsable de la aprobación definirá la fecha de entrada en vigor del documento (Fecha de edición). Las fechas se escribirán en números arábigos separados por barras con dos dígitos para el día, dos dígitos para el mes y los dos dígitos últimos para el año en curso.
- Una segunda página (o más si procede) de Histórico de Modificaciones.
- El resto de las páginas del documento (en formato correspondiente, ver ANEXO 5), encabezadas por un “Índice” en que se muestre la relación de puntos tratados en el propio Procedimiento.

Todas las páginas contendrán:

- Título del procedimiento
- Codificación del procedimiento
- Paginación con número total de páginas
- N° de edición

8.3.2.3 Redacción de los Procedimientos

Los procedimientos se redactan de acuerdo a los siguientes apartados:

1. Objeto
2. Alcance
3. Referencias
4. General
5. Descripción
6. Anexos, si procede

En los anexos de este procedimiento se desarrollan estos apartados definiendo su elaboración según sean de ensayo y calibración o sean de otro tipo.

8.3.3 Identificación de documentos

8.3.3.1 Identificación de Procedimientos

Todos los procedimientos se identificarán mediante un título y un código.

Título

El título será lo más breve y claro posible, permitiendo identificar inequívocamente cada procedimiento de forma que no pueda confundirse con ningún otro.

El título comenzará en todos los procedimientos utilizando las siglas: “POG, PNT, PC (según corresponda).....para-----“. Si es preciso figurará en el título el método de toma de muestra utilizado, matrices a las que es aplicable, o cualquier otro aspecto que lo distinga de otro procedimiento que trate del mismo tipo de determinación o tarea.

Código

El laboratorio elaborará un sistema inequívoco de codificación de documentos. No podrá repetirse ningún código, salvo para las sucesivas ediciones de un mismo documento, distinguiéndose en este caso por un número que haga referencia a la edición en la que el documento se encuentra.

8.3.3.1.1 Identificación de Documentos externos

En el caso de Documentos Externos se hará constar:

- La codificación propia del documento
- La descripción, nombre, título o contenido del mismo
- La fecha de edición del documento o equivalente (fecha de publicación, emisión, nº de revisión, etc.)
- La entidad emisora
- El ámbito de aplicación
- Lugar y reseña de su publicación, si procede
- En caso de existir un nexo con otro documento, su procedencia

8.3.3.1.2 Identificación de Formatos

El laboratorio elaborará un sistema inequívoco de codificación de formatos. No podrá repetirse ningún código, salvo para las sucesivas ediciones de un mismo formato, distinguiéndose en este caso por un número que haga referencia a la edición a la que pertenece.

8.3.4 Actualización / modificación de documentos

La actualización o modificación de un procedimiento es el conjunto de actividades que son necesarias hasta la aprobación de una modificación de un documento del Sistema de la Calidad.

Los documentos del sistema de calidad y los formatos correspondientes se encuentran en la misma edición, por lo que cualquier modificación del procedimiento o del formato implica una nueva edición del documento.

El nuevo documento se codificará como el anterior asignándole un nuevo número de Edición, correlativo con el que tuviese antes de su modificación. Los cambios realizados y su naturaleza se indicarán en su “Histórico de Modificaciones”, señalando:

- los párrafos modificados con respecto a la edición anterior, con letra cursiva
- los párrafos eliminados, con un punto en el margen izquierdo del documento, a la altura de la separación entre párrafos.
- si la modificación es total, se hará constancia de ello

Si el formato es una hoja de cálculo, sus sucesivas ediciones pueden corresponder a modificaciones del documento que lo genera y del cual es Anexo, y no a cambios en la hoja. Cualquier modificación en la hoja de cálculo precisa validación y su modificación se recogerá en el Histórico de Modificaciones del nuevo documento. El registro de validación acompañará al documento nuevo.

Modificación manual

Es posible la modificación manual de los documentos pendientes de reedición.

Estas modificaciones estarán claramente marcadas, firmadas y fechadas por el aprobador del documento.

El texto obsoleto se cruzará con una línea en rojo, pero dejándolo perfectamente legible. El nuevo texto se escribirá en el margen, en azul y con letra de imprenta.

El original del documento y todas las copias controladas existentes del mismo se actualizarán con la misma modificación y sistemática.

El documento modificado ha de reeditarse en un periodo máximo de tres meses.

Causas de actualización

Las causas fundamentales que pueden dar origen a una actualización de los documentos del Sistema de la Calidad, o sus formatos, son, entre otras, las siguientes:

- Detección de No Conformidades
- Cambio de política del centro
- Cambios en su organización
- Cambios en sus actividades
- Mejora del Sistema de la Calidad
- Revisión anual de los documentos del Sistema de la Calidad. (En caso de no realizarse modificaciones en alguno de los documentos se guardará un registro indicando que se ha producido la citada actualización. Este registro podría ser el acta de la reunión de Revisión del Sistema de la Calidad, si fuese adecuado).

8.3.5 Distribución y Control de documentos

La distribución y el control consisten en el envío de los documentos aprobados, incluidos los formatos, a aquellas personas o áreas que deben tener copia para su utilización o información. Así mismo, también radican en la existencia de listas por las que se conozca el estado de edición y distribución de los documentos.

8.3.5.1 Documentos elaborados internamente

Responsable de esta actividad es el JGC, que guardará el original de los documentos.

A) Control

El JGC dispondrá de una colección completa, actualizada, de todos los documentos en vigor. Para ello, todos los documentos que se vayan a utilizar, en cualquier actividad afectada

por el Sistema de la Calidad, deberán de ser enviados al JGC, tras su aprobación y antes de su entrada en vigor, para su codificación e inclusión en el listado y colección de documentos.

El control de los documentos se realizará mediante:

- Listas de documentos del Sistema de la Calidad (formato correspondiente, ver ANEXO 7).
- Otros procedimientos equivalentes alternativos de control de documentos (bases de datos informatizados, aplicaciones informáticas, etc.) que indiquen el estado de edición y distribución de los documentos del Sistema de Calidad.

El JGC mantendrán las listas de documentos en vigor.

Las listas se actualizarán cada vez que se modifique un documento.

En caso de generarse listas en papel, el JGC firmará las listas, aprobando así la actualización realizada. Si la lista consta de varias páginas se firmará, al menos, la última de ellas.

De cualquier modo, estos listados se encontrarán siempre a disposición del personal para evitar el uso de documentos no válidos u obsoletos.

B) *Distribución*

- Hoja de Distribución y Recepción de documentos (formato correspondiente, ver ANEXO 8): la distribución se realizará a través de ella, siendo devuelta por el destinatario con el acuse de recibo cumplimentado.
- Lista de Control de Distribución (formato correspondiente, ver ANEXO 9): se mantendrá esta lista para cada documento, con la relación de las personas a las que se les han enviado copias controladas y los números de éstas.

Los documentos de elaboración interna no se distribuirán sin que cada uno de los responsables haya firmado en la casilla correspondiente de realizado, revisado y aprobado.

Cuando algún miembro del centro necesite algún documento, lo solicitará por escrito (formato correspondiente) al JGC correspondiente, para garantizar el control y actualización, en revisiones futuras, de esta documentación.

Las *copias controladas* de documentos se identificarán de la siguiente manera:

- Copias en soporte papel

Con un sello con la cumplimentación de los siguientes datos en la portada

COPIA CONTROLADA N°

ASIGNADA A

.....

FECHA.....

- Copias en soporte informático

Si fuera posible, se identificarán con los mismos datos que las restantes copias controladas.

Si no fuera posible, la Hoja de Distribución y Recepción de documentos (formato correspondiente) actuará como comprobante de las copias enviadas.

Una copia controlada de todos los documentos del Sistema de la Calidad se encontrará a disposición de todo el personal que proceda.

Las copias No Controladas, cuya utilidad se restringirá a aquellos casos en que resulte imprescindible por el uso que se vaya a hacer de ellas, no tendrán por qué ser actualizadas cuando se revisen los documentos.

A los receptores de copias controladas de documentos se les enviarán las nuevas Ediciones de los mismos, debiendo destruir las copias obsoletas.

Como alternativa a la destrucción de las copias obsoletas, y para asegurar que, en cualquier caso, se evita el uso de documentos no válidos u obsoletos, se marcarán claramente con la leyenda: "OBSOLETO" aquellos documentos que, tras haber sido sustituidos por una nueva edición de los mismos, se conserven por motivos legales o para preservar cierta información.

8.3.6 Documentos procedentes de fuentes externas

Para los restantes documentos, sometidos en su control y distribución a los requisitos de este apartado, se aplicará lo definido en los documentos específicos que les afecten.

El control de los documentos procedentes de fuentes externas se realizará de forma análoga al control de los documentos elaborados internamente y se basará en los siguientes criterios:

- El sistema de control se realizará según sean documentos generales o documentos técnicos externos.
- En ambos casos existirá una lista de documentos externos en vigor que estará en posesión del responsable procedente:
- El JGC del Centro si el documento concierne a toda el centro
- El RT del laboratorio si el documento atañe sólo a su área de influencia

El responsable de la unidad correspondiente controlará la documentación externa de acuerdo con los requisitos especificados.

En el caso específico de documentación externa que se utilice para realizar un ensayo, como normas de ensayo, la Unidad de Garantía de Calidad controlará y mantendrá archivado un ejemplar que tendrá la consideración de Documento Original, archivándose como se indica en este documento. Se emitirán las correspondientes copias controladas a las unidades donde se efectúe el ensayo.

Cada RT debe responsabilizarse de utilizar la última edición válida de cada norma, salvo cuando no sea apropiado o posible. En caso necesario, la norma se complementará con la información adicional para asegurar su correcta aplicación y, en este caso, se generará el correspondiente PNT.

8.3.7 Comunicación de cambios en procedimientos de ensayo a ENAC

En el caso de entidades acreditadas es responsabilidad del JGC la comunicación a la Entidad de Acreditación de los cambios que afecten a procedimientos internos que se hallen en el alcance de acreditación.

8.3.8 Recepción y envío de documentos

Las solicitudes de ensayo recibidas y los informes de ensayo y sus modificaciones enviados deberán quedar registrados. Con este fin existirán registros de entrada y salida de correspondencia que deberán contener los siguientes datos:

- Fecha de entrada o salida.
- Procedencia y remitente o destino y destinatario.
- Clase de documento e identificación del mismo.
- Breve extracto de su contenido y/o observaciones.

El resto de los documentos serán controlados por el RT correspondiente que mantendrá en la carpeta de ensayo el original o una copia de todos los documentos recibidos o enviados. Esta correspondencia tendrá carácter confidencial y sólo estará disponible para aquellos usuarios a los que les sea necesaria para desarrollar su actividad.

8.3.9 Archivo de documentos y su conservación.

Los documentos del Sistema de la Calidad se archivarán de forma que cada archivo esté identificado con el concepto genérico de su contenido. Existiendo estos archivadores en poder del JGC. Los documentos deben ser conservados durante un periodo de al menos 5 años.

NOTA: Para el archivo de las copias controladas se utilizará el mismo criterio

Los documentos se clasificarán de la siguiente forma:

Archivador de ORIGINALES CALIDAD

En este archivador se guardará el original y la copia controlada, en su caso, de los siguientes documentos:

- Lista de documentos en vigor (MDC, POG según proceda)
- Manual de Calidad.
- Procedimientos Operativos Generales.

Archivador de HISTÓRICO DE CALIDAD

En este archivador se guardarán los documentos que hayan quedado obsoletos como consecuencia de las revisiones de los documentos archivados como ORIGINALES DE LA CALIDAD.

Archivador de ORIGINALES TECNICOS

En este archivador se guardará el original de los siguientes documentos:

- Lista de documentos técnicos en vigor, si procede
- Procedimientos Normalizados de Trabajo.

- Listado documentos en vigor relacionados con los documentos técnicos
- Todos los documentos en vigor recogidos en la anterior lista de formatos
- Planes de Calidad, etc.

Archivador de HISTÓRICOS TÉCNICOS

En este archivador se guardarán los documentos que hayan quedado obsoletos como consecuencia de las revisiones de los documentos archivados como ORIGINALES TÉCNICOS.

Archivador de DOCUMENTACION EXTERNA

En este archivador se guardarán todos los documentos externos que se consideren incluidos en el Sistema de la Calidad.

8.3.10 Elaboración de procedimientos de ensayo / calibración

Los procedimientos de ensayo/calibración constarán de los siguientes apartados:

1. OBJETO

Expondrá claramente el asunto del procedimiento de ensayo / calibración

2. ALCANCE

Establecerá:

- la descripción del tipo de objetos sometidos al ensayo / calibración y salvedades
- el campo de aplicación
- los parámetros o magnitudes y los rangos a determinar

Ejemplos: Este procedimiento se aplicará a: “todos los equipos de toma de muestras de tipo borboteador”; “todas las muestras de aguas continentales”; “todas las sondas térmicas o termómetros inventariados en el centro; etc.

3. REFERENCIAS

Se indicarán los documentos utilizados como referencia para elaborar el procedimiento, así como otros documentos que lo complementen. Siempre que sea aplicable, se agruparán las referencias en los siguientes subapartados:

- Documentos utilizados en la elaboración del procedimiento

En todos los casos se hará referencia a este documento.

Además, se referirán todos aquellos documentos externos (normas, reglamentos, manuales, etc.) que hayan sido utilizados como referencia, o que se hubieran utilizado/consultado durante la elaboración, indicando su revisión.

- Documentos a utilizar conjuntamente con el procedimiento

Se indicarán todos aquellos documentos internos o externos que se deben utilizar conjuntamente con el procedimiento para desarrollar la actividad en él descrita.

4. GENERAL

Cuando sea necesario, este apartado detallará toda aquella información que se considere útil o ayude a la utilización y comprensión del procedimiento como definiciones, abreviaturas, antecedentes, introducción teórica, fundamento del ensayo / calibración, etc.

Las medidas de seguridad que tengan que adoptarse en la aplicación del procedimiento se incluirán también en este apartado.

5. DESCRIPCIÓN

Se establecerán, como mínimo los siguientes subapartados:

- Aparatos y equipos

En este apartado se relacionarán los aparatos, equipos de medida y ensayo / calibración, instalaciones, material auxiliar, materiales fungibles, reactivos, soporte lógico (software), etc, necesarios para la realización del procedimiento.

La relación se podrá elaborar mediante descripción que incluya las especificaciones técnicas cuando sea necesario (p.e., la exactitud mínima suficiente, grado de calidad del vidrio, grado de calidad de los reactivos incluida el agua, etc.), o mediante indicación de su código específico, sea el de la propia entidad o el del fabricante (cuando el equipo reseñado pueda ser sustituido por otro similar o equivalente sin afectar al ensayo/calibración, así se hará constar). Así mismo, se detallarán las recomendaciones concretas que deben observarse en su preparación o utilización.

La relación de aparatos y equipos, elaborada según lo descrito en este apartado, podrá incluirse como ANEXO al procedimiento.

- Patrones y materiales de referencia

En este apartado se incluirán los patrones y materiales de referencia, haciendo mención de sus especificaciones técnicas cuando se considere necesario. Así mismo, se hará referencia a los requisitos de manipulación, transporte y almacenamiento para evitar cualquier deterioro, contaminación o pérdida de sus características.

- Preparativos

Se incluirán todas las tareas previas que sea preciso realizar o comprobar antes de empezar el propio ensayo/calibración. Como mínimo, se contemplarán las siguientes tareas:

- colocación de marcas de identificación, transporte y almacenamiento de los objetos de ensayo/calibración
- condiciones ambientales, acondicionamiento y períodos de estabilización
- controles previos al inicio del trabajo
- control del correcto funcionamiento de los equipos y, cuando proceda, calibraciones y ajustes previos
- recopilación de documentos necesarios, etc.

- Realización

En este apartado se describirá la secuencia de operaciones para llevar a cabo el propio ensayo / calibración. Se podrá subdividir en apartados, dependiendo de la complejidad del procedimiento

En el caso de que exista una norma o documento que describa suficientemente los trabajos, podrá hacerse referencia a ella indicando claramente la identificación, título y revisión de la misma. En este caso se incluirán todas aquellas aclaraciones a la norma que sean necesarias para asegurar la reproducibilidad y repetibilidad de la actividad objeto del procedimiento. El documento se incluirá como ANEXO.

Así mismo, se hará referencia a:

- los datos que deban registrarse
- los métodos de registro de observaciones y resultados (p.e., hojas o formatos para toma de datos, bases de datos informáticas, hojas de cálculo, etc.), que podrán ser incluidos, siempre que sean específicos, como anexo.

Optativamente, en el caso de que se considere necesario para la correcta comprensión del procedimiento, se podrá incluir un diagrama o esquema del procedimiento.

- Tratamiento de resultados

En este apartado se incluirán:

- métodos de cálculo, análisis y presentación de los resultados precisos para llegar al resultado final del ensayo / calibración.
- la incertidumbre o procedimiento para estimar la incertidumbre cuando se trate de una actividad cuantitativa o cuyo resultado dependa de medidas cuantitativas realizadas. Para ello se incluirá, en su caso, un análisis de incertidumbres máximas asociadas a la actividad, considerando los equipos, condiciones ambientales, etc. fijadas por el procedimiento.
- Evaluación de la calidad del ensayo / calibración

En este apartado se reseñarán:

- Controles de calidad
- Criterios o requisitos de aceptación/rechazo para dichos controles de calidad
- Acciones a tomar tras evaluar dichos controles de calidad

6. ANEXOS

Contendrán todos aquellos documentos, planos, fotos, gráficos, etc., que se consideren necesarios para usar, interpretar y evaluar la utilización del procedimiento o de los resultados obtenidos.

8.3.11 Elaboración de procedimientos diferentes de los de ensayo / calibración

Pueden ser los de Utilización de equipos, Mantenimiento de equipos, Procedimientos operativos generales.

Los procedimientos diferentes de los de ensayo y calibración podrán tener, cuando sea necesario y pertinente, los siguientes apartados:

1. OBJETO

Expondrá claramente el asunto del procedimiento, como, p.e., definir el sistema de..., establecer los criterios para la realización de..., describir las instrucciones para..., etc.

2. ALCANCE

Establecerá:

- el campo de aplicación
- la descripción del tipo de objetos sometidos a la actividad y salvedades, cuando proceda
- los parámetros o magnitudes y los rangos a determinar, cuando proceda

Ejemplos: Este procedimiento se aplicará a: “todas las auditorías internas de calidad a realizar...”; “todos los equipos de toma de muestras de tipo borboteador...”; “todas las muestras de aguas continentales...”; “todo el personal del centro...”; “los cursos de formación y seminarios que se imparten en el centro...”; “los albaranes de pedidos llegados a la unidad...”, etc).

3. REFERENCIAS

Se indicarán los documentos utilizados como referencia para elaborar el procedimiento, así como otros documentos que lo complementen. Siempre que sea aplicable, se agruparán las referencias en los siguientes subapartados:

- Documentos utilizados en la elaboración del procedimiento

En todos los casos se hará referencia a este documento.

Además, se referirán todos aquellos documentos externos (normas, reglamentos, manuales, etc.) que hayan sido utilizados como referencia, o que se hubieran utilizado/consultado durante la elaboración, indicando su revisión.

- Documentos a utilizar conjuntamente con el procedimiento

Se indicarán todos aquellos documentos internos o externos que se deben utilizar conjuntamente con el procedimiento para desarrollar la actividad en él descrita.

4. GENERAL

Cuando sea necesario, este apartado detallará toda aquella información que se considere útil o ayude a la utilización y comprensión del procedimiento como definiciones, abreviaturas, antecedentes, introducción teórica, etc.

Las medidas de seguridad que se considere necesario adoptar en la aplicación del procedimiento se incluirán también en este apartado.

5. DESCRIPCIÓN

Detallará, siempre que sea posible y aplicable:

- la secuencia de actuación de la actividad
- los medios necesarios para llevarla a cabo
- las responsabilidades
- los registros a generar
- los criterios de aceptación o rechazo, si procede
- el archivo de los registros generados

8.4 REVISIÓN DE SOLICITUDES, OFERTAS Y CONTRATOS

Las políticas y procedimientos de las revisiones de solicitudes, ofertas y contratos que pueden llevar a la firma de un contrato de ensayo y o calibración, asegurarán que:

- a) Se definan, documenten e interpreten correctamente los requisitos, incluidos los métodos a analizar.
- b) El centro tenga la capacidad y los recursos necesarios para cumplir los requisitos.
- c) Los métodos de ensayo y/o calibración seleccionados sean los apropiados y capaces de atender las necesidades de los clientes.

Antes de iniciar trabajo alguno se resolverán todas las diferencias que existan entre las solicitudes o las ofertas y los contratos. Cada contrato será aceptable tanto por el centro como por los clientes.

La revisión de la solicitud, la oferta y el contrato se realizarán de forma práctica y eficaz, teniendo en cuenta la influencia de aspectos financieros, legales y de tiempo. En caso de clientes internos, la revisión de las solicitudes, las ofertas y los contratos se podrán realizar de manera simplificada.

El análisis de la capacidad determinará que el centro posee los recursos financieros, humanos e informáticos necesarios, y su personal posee las aptitudes y la experiencia necesarias para realizar los ensayos y/o calibraciones en cuestión. El análisis podrá abarcar también los resultados de una participación anterior en una intercomparación de laboratorios o ensayos de aptitud y/o en la gestión de programas experimentales de ensayo o calibración utilizando materiales de referencia certificados con el fin de determinar incertidumbres de medida, límites de detección, límites de confianza, etc.

Se entiende por contrato cualquier acuerdo por escrito o verbal para prestar servicios de ensayo y/o calibración a un cliente. Deberá quedar constancia de la aceptación de los términos contratados por el cliente para todo tipo de contrato, ya sea por escrito o de palabra

La revisión abarcará también cualquier trabajo subcontratado.

8.5 SUBCONTRATACIÓN

Se podrá considerar conveniente subcontratar parte de un ensayo, que no pueda realizarse por los propios medios del centro. En los ensayos para los que se encuentre acreditado un laboratorio, la subcontratación debe ser circunstancial y con las limitaciones del organismo acreditador. En el caso de una subcontratación se deberán cumplir las siguientes condiciones:

Cuando los laboratorios subcontraten trabajo, ya sea por motivos imprevistos (por ejemplo carga excesiva de trabajo, necesidad de otros expertos o incapacidad temporal) o con carácter permanente (por ejemplo acuerdos de subcontratación permanentes, representación o franquicia), el trabajo podrá asignarse a un subcontratista acreditado por la Entidad de Acreditación o por entidad que haya suscrito acuerdo con EA (European Accreditation Laboratory) para realizar los ensayos subcontratados.

Los laboratorios informarán por escrito a los clientes de la situación y, cuando proceda, obtendrán la aprobación de estos, preferentemente por escrito. Así mismo, los laboratorios serán responsables ante los clientes del trabajo de los subcontratistas, salvo cuando sea el cliente o una autoridad reglamentaria quien especifique el subcontratista que debe utilizarse.

Los laboratorios mantendrán un registro de todos los subcontratistas que utilizan para ensayos y/o calibraciones y un registro de las evidencias de los cumplimientos de esta norma internacional para el trabajo en cuestión.

En los informes de ensayo se identificarán claramente los ensayos subcontratados.

8.5.1 Implantación

Una vez acordada la subcontratación, se exigirá al laboratorio subcontratado la aceptación de los requisitos descritos en la presente sección.

8.5.2 Registros

El JGC será responsable de los registros emitidos como consecuencia de la evaluación del laboratorio subcontratado y, en su caso, del programa de auditorías realizado. El DC será responsable de los registros de los acuerdos de subcontratación efectuados. El tiempo de conservación de estos registros será, al menos, el mismo que el de la documentación del ensayo global a la que pertenece la parte subcontratada.

8.6 COMPRA DE SERVICIOS Y SUMINISTROS

Los RT o el JGC, según proceda, son los responsables de la gestión de la compra de servicios y suministros de su área de influencia.

Entre los servicios y suministros que pueden adquirirse se encuentran:

- Participación en Ensayos Interlaboratorio
- Auditorías externas
- Auditorías internas
- Calibración y mantenimiento de equipos
- Cursos de formación
- Suministro de: aparatos e instrumentos de medida, reactivos, patrones y materiales de referencia, material volumétrico y material fungible

8.6.1 Detección de necesidades

Los RT o el JGC - según proceda -, serán los responsables de detectar las necesidades de compras de sus áreas de influencia.

8.6.2 Selección de proveedores

Los proveedores de los servicios y suministros que el laboratorio va a adquirir, deben cumplir con los requisitos mínimos exigidos a cierto producto/servicio.

La preferencia de uno (Proveedor preferente) frente a otros que también cumplan los requisitos (Proveedor autorizado) puede ser por ser un proveedor utilizado históricamente, por la rapidez del servicio, por evidencias de problemas técnicos asociados a otros proveedores o por cualquier otra circunstancia.

Normalmente, los pedidos de ese producto/servicio se realizarán a dicho proveedor preferente. En determinados casos, las Unidades de Laboratorio podrán optar por imponer como requisito de compra la pertenencia a determinada marca comercial.

Cada RT o JGC, según proceda, elaborará un listado de proveedores, donde se recogerá los productos/servicios y los proveedores (preferentes y autorizados) para cada uno de ellos.

8.6.3 Tramitación de la compra

Cada RT o JGC, según proceda, o en quien deleguen, efectuará la propuesta de compra.

En la propuesta de gasto se indicará el producto o servicio requerido con las referencias adecuadas, de acuerdo con los criterios de calidad aplicables (normativos, de PNT, etc.). La solicitud de una referencia determinada se considerará como especificaciones técnicas.

La propuesta de gasto es firmada por el RT o JGC, según proceda, que la envía al DC para su firma de VºBº; del DC.

8.6.4 Recepción de los servicios y suministros

A la recepción del servicio o suministro adquirido por el centro se procederá a su revisión – comprobación que cumple los requisitos especificados – y aprobación, dejando registros de la misma

La recepción, revisión y aprobación de los Aparatos e Instrumentos de Medida se registra en el Anexo “Ficha de Aparatos e Instrumentos de medida” (ANEXO 10).

La recepción, revisión y aprobación de Materiales de Referencia, se considera realizada cuando se registra en la “Ficha de Materiales de Referencia” (ANEXO 11) un nuevo lote recibido, tras darle su aprobación en el ANEXO 12 “Verificación de Patrones y Materiales de Referencia”.

La recepción, revisión y aprobación de los Reactivos, Medios de Cultivo, Material Volumétrico y Fungibles, se considera realizada cuando se registra en la “Ficha de Reactivos y Medios de Cultivo” (ANEXO 13) y “Ficha de Material Volumétrico y Fungible” (ANEXO 14) el lote recibido.

La recepción, revisión y aprobación de los Certificados de Calibración Externa se deja registrada al cumplimentar “Verificación de Certificados de Calibración Externa” (ANEXO 15).

8.6.5 Almacenamiento de suministros

Los responsables de los productos adquiridos deben almacenarlos identificados en áreas o locales designados para evitar el daño o deterioro de los mismos.

8.7 QUEJAS Y RECLAMACIONES

La sistemática de las actividades a realizar será la siguiente:

8.7.1 Recepción

El DC y los RT pueden tener entre sus competencias la de ser los interlocutores del centro con los clientes, siendo por tanto suya la responsabilidad de recibir las quejas y/o reclamaciones presentadas y cumplimentar la “Hoja de Quejas y/o Reclamaciones” (ANEXO 16).

8.7.2 Tramitación

Cada reclamación se identificará por el JGC con un código inequívoco.

A partir de este momento los pasos a seguir y las acciones a tomar son las siguientes:

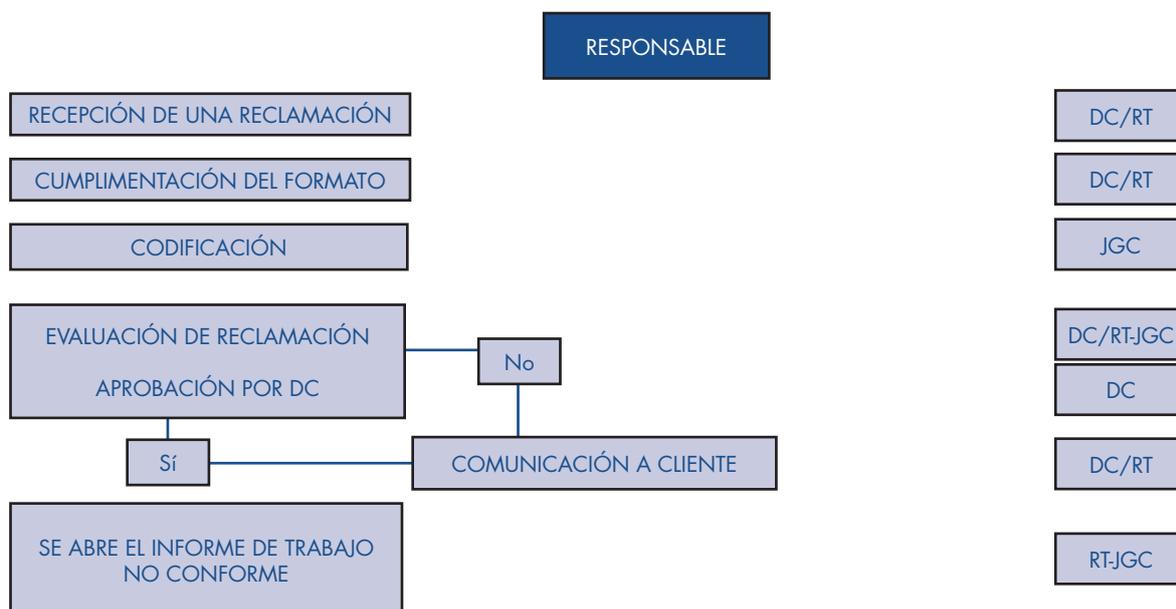
- 1) Las personas que reciben la queja y/o reclamación evalúan, con las personas implicadas, la queja y/o reclamación y determinan si es procedente o no, sometiendo la decisión a la aprobación del DC. En caso negativo el DC comunicará la decisión al cliente por escrito, y con explicación razonada de la misma. En caso positivo se continúa con las siguientes acciones.

Cuando la reclamación afecte a la Unidad de Garantía de Calidad, su valoración la realizará el JGC con las personas implicadas. El DC aprobará la decisión y comunicará, en caso negativo, la decisión al cliente con una explicación razonada de la misma. En caso positivo se continúa con las siguientes acciones.

- 2) En caso necesario, el JGC o el RT, según corresponda, emite un informe de Trabajo No Conforme dándole, a partir de este momento, el tratamiento descrito en el apartado correspondiente. Si se toman acciones inmediatas para satisfacer la reclamación, podrá dejarse registro de ello en el propio formato de reclamación, no siendo en este caso necesario abrir Trabajo No Conforme.
- 3) Si el DC o el JGC, lo estima oportuno, se iniciarán los trámites para realizar una verificación (auditoría) a las partes del Sistema de la Calidad afectadas.
- 4) Cuando proceda, el interlocutor inicial con el cliente informará a éste de las acciones correctoras propuestas para resolver el problema. Si el encargo de realización del ensayo estuviera ya finalizado y el informe emitido se procederá a una modificación del mismo.

8.7.3 Registros

En cualquier caso, todas y cada una de las quejas y/o reclamaciones (sean aceptadas o no), estarán debidamente documentadas. Sus registros serán remitidos al JGC que los archivarán adecuadamente.



8.8 CONTROL DE TRABAJOS NO CONFORMES. ACCIONES CORRECTIVAS

– No Conformidad (NC)

Incumplimiento de un requisito especificado

– Acción Correctiva (AC)

Acción tomada para eliminar las causas de una No Conformidad, de un defecto o cualquier otra situación indeseable existente, para impedir su repetición.

– Acción Preventiva (AP), según UNE-EN ISO/IEC 17025:2005

La acción preventiva es un proceso activo para identificar oportunidades de mejora, más que un proceso reactivo a la identificación de problemas o reclamaciones.

Las Acciones Preventivas, están orientadas por una parte a evitar desviaciones en las actividades sujetas al Sistema de Calidad, de ahí el elevado grado de exigencia que han de implicar en cuanto a su implantación, y, por otro lado, a identificar áreas y oportunidades de mejora. Estas oportunidades de optimización del Sistema de Calidad implantado, han de contemplarse desde la política y recursos de la propia organización y como medio de conocimiento de sus necesidades y carencias.

– Trabajo No Conforme de ensayo/calibración (TNC), según UNE-EN ISO/IEC 17025:2005

El trabajo de ensayo/calibración en el que alguno de sus aspectos o sus resultados no se ajustan a los propios procedimientos o a los requisitos acordados con el cliente.

Con el fin de controlar el cumplimiento de todos los requisitos del Sistema de Calidad, tanto los Técnicos (ensayo/calibración) como los de Gestión de la Calidad y los acordados con el cliente, se entenderá como Trabajo No Conforme (TNC) el incumplimiento de cualquier tipo de requisito en cualquier trabajo. Por tanto, el término Trabajo No Conforme será sinónimo del anterior “No conformidad”

Siempre que en los procedimientos se disponga de una sistemática para abordar un problema dado y éste se resuelva de acuerdo a dichos procedimientos, se entenderá que el trabajo es conforme. Por ello, para tratar de ajustarse en todo momento a los propios procedimientos, y por tanto evitar los TNC, es conveniente que las instituciones prevean en sus procedimientos el mayor número de posibles incidencias y las acciones a tomar en caso de que ocurran.

Una Acción Correctiva no es la simple corrección circunstancial de un problema, sino un proceso que se emprende para comprender las causas que lo han motivado y evitar que pueda repetirse. Por esta razón, cuando un TNC pueda volver a ocurrir o cuando haya dudas del cumplimiento de requisitos, deben emprenderse lo antes posible Acciones Correctivas.

8.8.1 Control de trabajos no conformes

El centro designará responsabilidades y autorizaciones para el tratamiento de los Trabajos No Conformes, evaluará la importancia de los TNC, adoptará inmediatamente medidas que corrijan el problema y analizará la aceptabilidad del trabajo. En caso necesario informará al cliente e interrumpirá el trabajo, y, en este caso, designará al responsable de autorizar su reanudación.

El sistema interno de identificación de Trabajos No Conformes y problemas se basa en las siguientes fuentes:

- Reclamaciones de clientes externos o internos.
- Auditorías, internas o externas.
- Revisión del Sistema de la Calidad por la Dirección.
- Incumplimiento de los requisitos establecidos en los documentos del Sistema de la Calidad.
- Control de las actividades mediante supervisión y revisión de las mismas.
- Autocontrol del personal sobre sus actuaciones diarias.
- Controles de calidad: evaluación de la calidad, ensayos de intercomparación.
- Calibración de instrumentos.
- Control de equipos.
- Informes de resultados de ensayo; Certificados de calibración.
- Falta de eficacia del Sistema de la Calidad que se haya definido.
- Otras causas

El proceso para el tratamiento de un posible TNC será el siguiente:

Detección

Análisis de causas y consecuencias

Acciones inmediatas

Cierre de TNC (si no proceden Acciones Correctivas)

Acciones Correctivas

Cierre del TNC (si proceden Acciones Correctivas)

Archivo del Informe de TNC

El proceso se registrará en el formato “Informe de Trabajo No Conforme (TNC)/ Acción Correctiva (AC)”. Es responsabilidad del JGC la codificación del “Informe de Trabajo No Conforme (TNC) / Acción Correctiva (AC)” (ANEXO 17) generado en la gestión del proceso. Por tanto, se ha de solicitar a la JGC dicho código antes de cumplimentar el informe.

La JGC asignará un código que identifique inequívocamente al informe.

1. DETECCIÓN

Los TNC pueden ser detectados por cualquier persona relacionada con las actividades dependientes del centro.

La persona que detecta, según su criterio, un posible TNC es responsable de informar a su RT a través de su superior jerárquico, y de cumplimentar, fechar y firmar el apartado DETECCIÓN del Informe de Trabajo No Conforme (TNC)/Acción Correctiva (AC). Si esta detección se produce en el transcurso de un ensayo, se registrará además en la Hoja de toma de datos.

Datos a cumplimentar:

ACTIVIDAD: Actividad, trabajo o proceso correspondiente (o su referencia).

ITEM: se procederá a identificar el ITEM afectado por el TNC. Se referirá al apartado de la norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 afectado:

REQUISITOS DE GESTIÓN

- 4.1 Organización
- 4.2 Sistema de gestión
- 4.3 Control de los documentos
 - 4.3.1. Generalidades
 - 4.3.2 Aprobación y emisión de los documentos
 - 4.3.3 Cambios a los documentos
- 4.4 Revisión de los pedidos, ofertas y contratos
- 4.5 Subcontratación de ensayos y de calibraciones
- 4.6 Compras de servicios y de suministros
- 4.7 Servicios al cliente
- 4.8 Quejas
- 4.9 Control de trabajos de ensayos o de calibraciones no conformes
- 4.10 Mejora
- 4.11 Acciones correctivas
 - 4.11.1 Generalidades
 - 4.11.2 Análisis de las causas
 - 4.11.3 Selección e implementación de las acciones correctivas
 - 4.11.4 Seguimiento de las acciones correctivas
 - 4.11.5 Auditorías adicionales
- 4.12 Acciones preventivas
- 4.13 Control de los registros
 - 4.13.1 Generalidades
 - 4.13.2 Registros técnicos
- 4.14 Auditorías internas
- 4.15 Revisiones por la dirección

REQUISITOS TÉCNICOS

- 5.1 Generalidades
- 5.2 Personal
- 5.3 Instalaciones y condiciones ambientales
- 5.4 Métodos de ensayo y de calibración y validación de los métodos
 - 5.4.1 Generalidades
 - 5.4.2 Selección de métodos
 - 5.4.3 Métodos desarrollados por el laboratorio
 - 5.4.4 Métodos no normalizados
 - 5.4.5 Validación de los métodos
 - 5.4.6 Estimación de la incertidumbre de la medición
 - 5.4.7 Control de los datos
- 5.5 Equipos
- 5.6 Trazabilidad de las mediciones
 - 5.6.1 Generalidades
 - 5.6.2 Requisitos específicos
 - 5.6.3 Patrones de referencia y materiales de referencia

- 5.7 Muestreo
- 5.8 Manipulación de los ítems de ensayo o de calibración
- 5.9 Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración
- 5.10 Informes de resultados
 - 5.10.1 Generalidades
 - 5.10.2 Informes de ensayos y certificados de calibración
 - 5.10.3 Informes de ensayos
 - 5.10.4 Certificados de calibración
 - 5.10.5 Opiniones e interpretaciones
 - 5.10.6 Resultados de ensayo y calibración obtenidos de los subcontratistas
 - 5.10.7 Transmisión electrónica de los resultados
 - 5.10.8 Presentación de los informes y de los certificados
 - 5.10.9 Modificaciones a los informes de ensayo y a los certificados de calibración

- DESCRIPCIÓN/REGISTRO: Breve explicación del problema detectado, o referencia a su registro (p.e., la hoja de toma de datos del ensayo).
- ORIGEN: se indicarán las fuentes que han originado la detección (quejas de los clientes, control de calidad, calibración instrumentos, control de materiales consumibles, la observación o supervisión del personal, la verificación de los informes de ensayo, las revisiones por la dirección y las auditorías externas o internas constituyen ejemplos).
- REQUISITO AFECTADO: se indicará si el requisito afectado es Técnico o de Gestión.

Si el TNC es detectado en el ámbito de responsabilidad del JGC, la gestión del mismo la realizará el JGC.

2. ANÁLISIS DE LAS CAUSAS Y CONSECUENCIAS DEL PROBLEMA

El RT iniciará una investigación rigurosa de todas las causas potenciales del problema, ya que, con frecuencia, la verdadera causa no resulta obvia. Esta es la parte esencial y a veces la más difícil del proceso.

Por otra parte, se asegurará de que se analicen las posibles consecuencias del problema detectado.

3. ACCIONES INMEDIATAS

Las Acciones Inmediatas son acciones de remedio rápido (como son el aplazamiento del trabajo, la información al cliente, la retención del Informe de ensayo/calibración, la repetición del ensayo u otras).

Las acciones encaminadas a evitar la repetición de los problemas se consideran Acciones Correctivas y necesitan un tratamiento diferente que se indica en el apartado Acciones Correctivas. Si el TNC precisa de estas acciones, estas no se pueden considerar acciones inmediatas y por lo tanto no pueden reflejarse ni ellas ni su gestión en el apartado Acciones Inmediatas.

Si se toman Acciones inmediatas se cumplimenta el apartado correspondiente tal como se indica a continuación.

Este apartado será cumplimentado (y tomadas las decisiones preliminares que en ella se contemplan), fechado y firmado, por el RT, o en su ausencia o por razones de urgencia, por quien esté autorizado por el RT o, en último caso, por quien detecte el TNC, si su cualificación lo permite.

Si el TNC es del ámbito de responsabilidad del JGC, es este el responsable de tomar decisiones, cumplimentar, fechar y firmar este apartado. En su ausencia o por razones de urgencia, por quien esté autorizado por el JGC.

Se dejará constancia de las Acciones Inmediatas a tomar, de los responsables de llevar a cabo estas acciones y el plazo de realización.

NOTA: Una tarea, trabajo, actividad o proceso no podrá aplazarse cuando, a juicio de quien toma la decisión, su aplazamiento implique un problema mayor que el que supondría su continuidad una vez adoptadas las acciones inmediatas que se consideren oportunas en ese momento. Por ejemplo, el deterioro o pérdida de una muestra o de reactivos irrecuperables.

4. CIERRE DEL TRABAJO NO CONFORME (si no proceden Acciones Correctivas)

Si tras la implantación de las Acciones Inmediatas el problema se resuelve, el RT o JGC, según el ámbito de responsabilidades afectado, revisará y aprobará el Informe de TNC, dándolo por cerrado con fecha y firma.

5. ACCIONES CORRECTIVAS

Si el problema no se soluciona con las Acciones Inmediatas tomadas, se emprende un proceso de implantación de Acciones Correctivas.

Las fases del proceso para la gestión de una Acción Correctiva será el siguiente:

- a) Inicio del proceso
- b) Selección de acciones
- c) Implantación de acciones
- d) Seguimiento y revisión de la acciones implantadas

5.a INICIO DEL PROCESO

El RT o JGC, según el ámbito de responsabilidades, firmará y fechará la conformidad de inicio del proceso de tratamiento de Acciones Correctivas y designará al responsable del tratamiento de la AC, el cual con fecha y firma acepta la responsabilidad en él delegada.

5.b SELECCIÓN DE LAS ACCIONES CORRECTIVAS

La persona designada para el tratamiento de la AC se asegurará de que se identifiquen las acciones correctivas posibles y se seleccionen las acciones correctivas que más probabilidades tengan de eliminar el problema y evitar que se repita. Las acciones correctivas deben ser apropiadas a la magnitud y riesgo del problema.

5.c IMPLANTACIÓN DE LAS ACCIONES CORRECTIVAS

La persona designada para el tratamiento de la AC designará a los responsables de la implantación de las acciones correctivas y los plazos de implantación.

Cualquier cambio que se haga necesario como resultado de las investigaciones relacionadas con la acción correctiva debe ser llevado a cabo y documentado.

El RT/JGC (el mismo responsable del Inicio del proceso) revisará y dará el VºBº a estas decisiones.

En el caso de discrepancias entre los intervinientes o cuando la acción correctiva seleccionada exceda las competencias de éstos (por ejemplo, si supone un desembolso económico considerable), su aprobación deberá contar también con el VºBº del DC.

5.d SEGUIMIENTO Y REVISIÓN DE LAS ACCIONES IMPLANTADAS

La persona designada para el tratamiento de la AC coordinará el seguimiento y revisión de las acciones a implantar.

El responsable de la implantación de cada acción registrará la fecha en la que se considera implantada.

La persona designada para el tratamiento llevará a cabo la revisión de las acciones implantadas, firmando y fechando la revisión como máximo a la finalización del plazo de implantación previsto, pudiendo realizar seguimientos intermedios o parciales.

En caso de incumplimiento de plazos de implantación, la persona designada para el tratamiento de la AC y el RT/JGC (según el ámbito de responsabilidad correspondiente), examinarán si el incumplimiento está justificado, anotarán las causas, posibles modificaciones a las acciones correctivas y nuevos plazos en el apartado de Seguimiento.

6. CIERRE DEL TNC (si proceden Acciones Correctivas)

Finalizada la implantación y el seguimiento/revisión de la Acción Correctiva, el RT con el JGC o el JGC, según el ámbito de responsabilidades, llevará a cabo su cierre con un VºBº, que supone su evaluación global y conformidad.

Previamente, el RT realizará un análisis de la extensión del problema detectado, con objeto de comprobar las unidades de su ámbito de responsabilidad afectadas por la desviación. El JGC realizará un análisis de la extensión del problema detectado, con objeto de comprobar si resulta afectado por la desviación el ámbito de responsabilidad de otros RT.

La eficacia de la Acción Correctiva llevada a cabo se pondrá de manifiesto si no se vuelve a producir el problema que la originó. En caso contrario, se tendrán en cuenta todos los antecedentes para establecer una nueva acción correctiva.

En la Revisión del Sistema anual, se evaluará la eficacia de las Acciones Correctivas implantadas.

7. ARCHIVO DEL INFORME DE TNC

El archivo de los TNC se efectuará en el archivador correspondiente.

Responsables del Archivo: Los originales de los Informes de TNC serán custodiados por los respectivos RT/JGC, que deberán remitir copia de cada Informe de TNC a la UGC al término del proceso, para control y evaluación global de la actividad.

8.8.2 Acciones correctivas

Una Acción Correctiva es un proceso de análisis de causas y consecuencias de los Trabajos No Conformes y problemas que pueden surgir en los diversos aspectos del Sistema de Calidad con el fin de acometer las operaciones necesarias para evitar su repetición o de solventar todas las dudas que puedan surgir sobre el cumplimiento de los requisitos especificados.

La AC se empezará con una investigación rigurosa de todas las causas potenciales del problema, ya que, con frecuencia, la verdadera causa no resulta obvia. Esta es la parte esencial y a veces la más difícil del proceso.

Entre las posibles causas pueden incluirse los requisitos del cliente, las muestras y sus especificaciones, métodos y procedimientos, aptitudes y formación del personal, equipos y su calibración, etc.

Por otra parte, se asegurará de que se analicen las posibles consecuencias del problema detectado, y las acciones a tomar en cada caso. Entre estas acciones estará la notificación al cliente, inmediatamente y por escrito, de cualquier circunstancia que pudiera poner en duda la validez de los resultados de los ensayos recogidos en un informe emitido.

En caso necesario, esencialmente si se identifica un problema grave, se realizarán Auditorías adicionales sobre las áreas de actividad correspondiente para asegurar el cumplimiento de requisitos.

8.8.3 Acciones preventivas

Las Acciones Preventivas, como oportunidades de mejora, están orientadas por una parte a evitar desviaciones en las actividades sujetas al Sistema de Calidad, de ahí el elevado grado de exigencia que han de implicar en cuanto a su implantación; por otro lado estas oportunidades de mejora, u optimización del Sistema de Calidad implantado, han de contemplarse desde la política y recursos de la propia organización y como medio de conocimiento de las necesidades y carencias de la misma.

La sistemática para identificar oportunidades de optimización puede ejercerse en multitud de procesos dentro del Sistema de la Calidad, como por ejemplo:

- Revisión y análisis de los Documentos del Sistema de la Calidad orientado a la optimización de los procesos (MDC, POG, PNT, etc.)
- Análisis de datos y de tendencias de los mismos (resultados de laboratorio, controles de calidad, gráficos de control, etc.)
- Análisis de los resultados de los Ensayos de Intercomparación.
- Análisis de riesgos.
- Otros.

Las medidas preventivas se gestionan elaborando Planes de Acción que deben implantarse y supervisarse mediante la aplicación de controles para comprobar su eficacia.

La identificación de Acciones Preventivas podrá ser realizada por cualquier persona relacionada con las actividades dependientes del centro.

El proceso para el tratamiento de una posible AP (ANEXO 18) será el siguiente:

- 1) Identificación y Propuesta
- 2) Designación del Responsable del Análisis
- 3) Análisis de la propuesta y Plan de Acciones
- 4) Seguimiento y Revisión
- 5) Cierre de la AP
- 6) Archivo del Informe de AP

El proceso se registrará en el “Informe de Acción Preventiva”.

Es responsabilidad del JGC la codificación del “Informe de Acción Preventiva (AP)” generado en la gestión del proceso. Por tanto, se ha de solicitar a la UGC dicho código antes de cumplimentar el informe.

El JGC asignará un código que identifique de forma inequívoca al informe.

1) IDENTIFICACIÓN Y PROPUESTA

La persona que propone una AP es responsable de informar a su RT, a través de su superior jerárquico, y de cumplimentar, fechar y firmar el apartado IDENTIFICACIÓN Y PROPUESTA del Informe de Acción Preventiva.

En este apartado indicará:

- la fuente a través de la cual ha detectado la posible AP
- el objetivo de ésta (mejora o evitación de NC)
- una descripción breve de la propuesta de AP (no de las acciones a implantar para conseguirlo)

El RT firmará y fechará el enterado.

Si la AP es detectada en el ámbito de responsabilidad de la UGC, la gestión de la misma la realizará el JGC.

2) DESIGNACIÓN DEL RESPONSABLE DEL ANÁLISIS

La designación del responsable del análisis de la AP será llevada a cabo por el RT o JGC, dentro del ámbito de sus responsabilidades.

Si el RT considera que la AP puede afectar a unidades del ámbito de varios RT (p.e., equipos o instalaciones comunes, servicios generales, requisitos de los procedimientos o MDC, etc), lo señalará en la casilla correspondiente y remitirá el informe de AP al JGC. El JGC firmará el enterado y reseñará las unidades que estime implicadas y designará al responsable del análisis.

3) ANÁLISIS DE LA PROPUESTA DE AP Y PLAN DE ACCIONES

El responsable del análisis designado cumplimentará, fechará y firmará este apartado.

Examinará y reseñará la repercusión y viabilidad de la propuesta y decidirá si es aceptada o no.

En caso de rechazo de la propuesta de AP, el responsable del análisis dará una explicación razonada.

Si acepta la propuesta, describirá la AP que definitivamente se propone con las modificaciones que considere necesarias (si no cree necesario cambiar la redacción de la AP, reseñará la misma) y expondrá un Plan de Acciones para llevarla a cabo.

Así mismo, definirá las acciones a implantar, y designará a los responsables de llevarlas a cabo y los plazos de implantación.

El RT/JGC (la misma persona que designó al responsable del análisis) revisará y dará el VºBº, en su caso, a estas decisiones. En el caso de discrepancias entre los intervinientes o cuando la acción preventiva exceda las competencias de éstos (por ejemplo, si supone un desembolso económico considerable), su aprobación deberá contar también con el VºBº del DC.

4) SEGUIMIENTO Y REVISIÓN

El responsable del análisis de AP coordinará el seguimiento e implantación de las acciones a implantar.

El responsable de la implantación de cada acción describirá la acción implantada y la fecha en que la considera implantada.

El responsable del análisis de AP llevará a cabo la revisión de las acciones implantadas, firmando y fechando la revisión como máximo a la finalización del plazo de implantación previsto, pudiendo realizar seguimientos intermedios o parciales.

En caso de incumplimiento de plazos de implantación, el responsable del análisis de AP y el RT/JGC (según el ámbito de responsabilidad correspondiente), examinarán si el incumplimiento está justificado, anotarán las causas, posibles modificaciones a las acciones a implantar y nuevos plazos en el apartado de Seguimiento.

5) CIERRE DE LA AP

Finalizada la implantación y Seguimiento/Revisión de la Acción Preventiva, el responsable de la misma (RT/JGC, según el ámbito de Responsabilidad), llevará a cabo su cierre con un Vº Bº, que supone su evaluación global y conformidad.

La eficacia de la Acción Preventiva llevada a cabo se pondrá de manifiesto si no se produce la posible no conformidad que previno o si se produjo la mejora del proceso, consiguiendo los objetivos previstos para la Acción Preventiva.

6) ARCHIVO DEL INFORME DE AP

El archivo de las AP se efectuará en el archivador correspondiente.

Responsables del Archivo: Los originales de los Informes de AP serán custodiados por los respectivos RT/JGC, que deberán remitir copia de cada Informe de AP al JGC al término del proceso, para control y evaluación global de la actividad.

8.9 REGISTROS DE LA CALIDAD

Para la evidencia objetiva del cumplimiento de requisitos de la calidad y de la eficiencia del Sistema, es necesaria la trazabilidad tanto de las actividades del Sistema de Gestión de la Calidad como de los trabajos técnicos. Para ello es preciso contar con procedimientos sistemáticos que aseguren que se obtiene y conserva toda la información relacionada directa o indirectamente con las actividades de ensayo.

Los registros para la Toma de muestras seguirán los formatos definidos en “Hojas de medición / Toma de muestras matriz aire” (ANEXO 19) y “Hojas de toma de muestras. Otras matrices ambientales (ANEXO 20)”, en función de la matriz afectada.

8.10 AUDITORÍAS INTERNAS

Las instituciones realizarán periódicamente, según un calendario y un procedimiento predeterminados, auditorías internas de sus actividades para comprobar que siguen cumpliendo los requisitos del sistema de gestión de la calidad y de la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005.

El JGC, planificará y organizará las auditorías. Las auditorías se llevarán a cabo, al menos, una vez al año y éstas abarcarán a las Unidades del Centro Nacional y tanto a los aspectos técnicos como de gestión de calidad del Sistema de Gestión de la Calidad definido, pudiendo realizarse auditorías parciales.

Son objetivos a cubrir de una auditoría:

- Verificar la implantación del Sistema de la Calidad.
- Controlar periódicamente su funcionamiento.
- Evaluar la eficiencia del Sistema.
- Detectar las No Conformidades.
- Controlar el seguimiento y cierre de las No Conformidades.

Cuando los resultados de la auditoría pongan en duda la eficacia de las operaciones o la fiabilidad o validez de los resultados de los ensayos o calibraciones del laboratorio, se adoptarán inmediatamente las acciones correctivas oportunas y se informará a los clientes por escrito siempre que las investigaciones demuestren que los resultados del laboratorio pueden haberse visto afectados

Definiciones

Auditoría

Examen metódico e independiente que se realiza para determinar si las actividades y los resultados relativos a la calidad cumplen las disposiciones previamente establecidas y si estas disposiciones están implantadas de forma efectiva y son adecuadas para alcanzar los objetivos.

Las auditorías internas comprenderán tanto auditorías horizontales como auditorías verticales.

Auditoría horizontal

Esta auditoría implica un examen detallado de uno o varios elementos del Sistema de la Calidad, tales como formación de personal, equipos de medida y ensayo, actividades de evaluación de la calidad de los ensayos/calibraciones procedimientos de ensayo o calibraciones, etc.

Auditoría vertical

En esta auditoría se seleccionarán al azar un número representativo de ensayos o calibraciones que hayan sido recientemente realizados por el laboratorio. Cada aspecto de las actividades asociadas con los ensayos o calibraciones seleccionados se verificará incluyendo al menos:

- a) identificación y manejo de muestras
- b) personal involucrado, adecuadamente cualificado
- c) calibración y mantenimiento de equipos
- d) métodos de ensayo/validación y procedimientos utilizados
- e) validación de métodos
- f) condiciones ambientales durante el ensayo/calibración
- g) informes y registros
- h) control y archivo de la documentación
- i) evaluación de la Calidad de los ensayos/calibraciones (plan, implantación, resultados obtenidos, conclusiones y acciones posteriores)

Para llevar a cabo una auditoría del Sistema de Gestión de la Calidad es necesario considerar los siguientes aspectos:

- Planificación
- Preparación
- Realización
- Informe
- Seguimiento
- Registros

8.10.1 Planificación

A propuesta del JGC se establece un plan anual de auditorías con arreglo a un calendario.

A propuesta del JGC se establece el calendario y alcance de la auditoría, de acuerdo con el DC y el RT correspondiente.

8.10.2 Preparación

El JGC definirá el equipo auditor y lo propondrá al DC y RT, que lo aprobará y comunicará a los diferentes RT implicados y a las personas designadas.

El equipo auditor estará formado por personas debidamente cualificadas acerca del Sistema de la Calidad que se va a auditar: deben acreditar formación suficiente en la norma 17025 y experiencia en la realización de auditorías; y no han de tener responsabilidades directas en los aspectos del sistema que se van a auditar.

Recopilación y estudio de la documentación aplicable (incluidas auditorías anteriores si existen y aplican).

Preparación del cuestionario de auditoría:

- El equipo auditor preparará previamente un cuestionario de auditoría adaptado al alcance de la misma.
- Este cuestionario incluirá las preguntas o verificaciones concretas a realizar, así como referencias al documento que establece el requisito (cuando se crea necesario) y espacio para anotar las observaciones y los registros consultados que presenten la evidencia que da respuesta a la pregunta.
- No obstante la auditoría no se debe limitar al cuestionario, sino que, además, el auditor se debe extender a aquellas áreas que a su juicio merecen atención en función del desarrollo de las comprobaciones.

Notificación a los responsables del área a auditar, por escrito y con al menos 1 semana:

- Alcance de la auditoría.
- Día y hora.
- Duración.
- Programa o agenda.
- Requisitos necesarios (presencia responsable del área auditada, etc.).
- Equipo auditor.

8.10.3 Realización

La realización de la auditoría consiste en verificar, mediante el examen y estimación de pruebas objetivas, que se observan y cumplen de forma eficaz los requisitos del Sistema de la Calidad.

8.10.3.1 Reunión previa

Dependiendo de la estructura del área auditada, puede ser necesario realizar una reunión previa entre el equipo auditor y el responsable del área a auditar, teniendo en cuenta como objetivo:

- presentación equipo auditor
- comentario a la agenda, si procede
- coordinar la forma de actuación

8.10.3.2 Comprobaciones

Se seguirán los cuestionarios de auditoría y se profundizará en aquellos aspectos que se crea necesario. Se anotarán todas las observaciones y No Conformidades detectadas, indicando los registros en los que se basan.

Para verificar el cumplimiento del Sistema de la Calidad o de un procedimiento concreto, se utilizará una conjunción de auditoría vertical y horizontal. Por ejemplo, para una auditoría horizontal se puede seleccionar uno o varios registros y comprobar que se han cumplido todos los aspectos del sistema relacionados con el mismo. Y para una auditoría vertical se puede elegir un informe y seguir documentalmente todos los pasos hasta, por ejemplo, el registro de entrada del equipo, comprobando los certificados de calibración correspondientes a los equipos de medida utilizados, registros de almacén, el marcado del equipo, si aún se encuentra allí, etc.

Siempre que se detecte durante la auditoría una No Conformidad que pueda poner en peligro los resultados de los ensayos, la actividad deberá suspenderse hasta que se hayan llevado a cabo las acciones correctivas correspondientes.

8.10.4 Informe

Una vez terminada la fase de comprobación, se debe generar un informe sobre los resultados de la auditoría. Este tiene la finalidad principal de aportar un conocimiento detallado y útil al responsable del área auditada. Será elaborado por el Responsable de la auditoría en colaboración con el resto de su equipo. Este informe contendrá como mínimo los siguientes datos:

- Identificación inequívoca del informe de auditoría.
- Breve declaración del alcance y finalidad de la auditoría.
- Equipo auditor.
- Fecha de realización.
- Unidades y personas entrevistadas.
- Documentación aplicable.
- Comprobaciones realizadas (se incluirán las observaciones y No Conformidades detectadas).
- Conclusiones.
- Firma del responsable de la auditoría
- Se adjuntarán como anexo, los Informes de No Conformidad.

El JGC enviará una copia del informe al RT correspondiente del laboratorio auditado y al DC.

8.10.5 Seguimiento

Se investigarán las causas y los efectos de las No Conformidades detectadas durante la auditoría y se propondrán, por el RT o JGC, según proceda, las acciones correctivas a tomar.

8.10.6 Registros

La auditoría es una actuación fundamentalmente documental, por tanto deben obtenerse y conservarse registros escritos de todas las acciones realizadas durante la misma, incluidas listas de comprobación, referencias de la documentación solicitada en apoyo de las verificaciones, observaciones, No Conformidades, acciones correctivas, etc.

Deberán existir y estarán controlados, al menos, los siguientes documentos:

- Plan y Programa de auditorías.
- Comunicaciones de auditoría.
- Cuestionarios de auditoría.
- Informes de No Conformidad.
- Informes de Auditoría.

El archivo de estos registros es responsabilidad del JGC.

8.11 REVISIONES POR LA DIRECCIÓN

Se realizará, al menos una vez al año, una revisión del Sistema de la Calidad, con el fin de asegurar su eficiencia permanente y, en caso necesario, iniciar las acciones correctivas correspondientes para la mejora.

La fecha de la reunión será propuesta por el JGC al DC. A la reunión asistirán, al menos, el DC, el JGC, y los RT, así como todas las personas que se consideren necesarias para esta revisión.

En el orden del día se incluirán al menos los siguientes puntos:

- Asuntos pendientes de revisiones anteriores
- Informes del personal directivo y supervisor.
- Resultados de auditorías internas recientes.
- Acciones correctivas y preventivas.
- Auditorías realizadas por organismos externos
- Resultados de comparaciones interlaboratorios o de ensayos de aptitud.
- Cambios en el volumen o en el tipo de trabajo
- Retorno de información de los clientes
- Reclamaciones.
- Otros factores relevantes, como actividades de control de calidad, recursos y formación de personal
- Idoneidad de los recursos humanos y equipamiento existentes
- Idoneidad de las políticas y procedimientos.

Además, en cada una de las Revisiones del Sistema se abordará la necesidad de modificar los documentos que definen el Sistema de la Calidad. Cada reunión de Revisión del Sistema tiene capacidad de decisión sobre cualquier modificación de dichos documentos.

De cada reunión se levantará un acta en la que se reflejen los asistentes, asuntos tratados y acuerdos adoptados y citando específicamente, o adjuntando como anexos, los documentos analizados. Así mismo las acciones correspondientes se llevarán a cabo en un plazo de tiempo adecuado y acordado en las propias reuniones.

La Dirección debe asegurar que esas acciones se llevan a cabo en el plazo de tiempo adecuado acordado.

Los resultados de la Revisión por la Dirección deben introducirse en el sistema de planificación del centro incluyendo las metas, los objetivos y los planes de acción para el año siguiente.

8.12 PERSONAL

PROCESO DE CUALIFICACIÓN, RECUALIFICACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Se entiende por *cualificación* del personal el reconocimiento formal de su capacidad para realizar tareas (actividades, operaciones, etc.) específicas dentro del Sistema de Calidad, basado en una formación teórica y práctica adecuada, en la experiencia o en unas aptitudes demostradas, según sea necesario y bien de forma curricular o impartida.

Se entiende por *recualificación* el mantenimiento de la cualificación adquirida por una persona para desarrollar una tarea dentro del Sistema de Calidad.

El personal que realice tareas específicas debe poseer la debida cualificación. Todo el personal implicado en las actividades amparadas por este Plan de Calidad debe ser cualificado y recualificado de acuerdo con la sistemática que se desarrolla en este punto del procedimiento.

El RT es el responsable de la adecuada cualificación y recualificación del personal a su cargo, para las tareas específicas de su área de influencia.

El JGC es el responsable de la adecuada cualificación y recualificación del personal a su cargo, para las tareas específicas de su área de influencia.

EL DC debe autorizar al personal para la realización de tareas específicas reconociendo formalmente su competencia técnica mediante los Registros de Autorización.

• Programa de Cualificación

La cualificación necesaria para realizar tareas dentro del Sistema de Calidad se realizará tras superar un Programa de Cualificación personalizado para el individuo a cualificar (en función de sus conocimientos, aptitudes, experiencia, etc.), teniendo en cuenta el periodo mínimo y el número de ensayos mínimos a realizar determinados previamente por el responsable. El Programa de Cualificación se recoge en el “Registro de programa de Cualificación/Recualificación” (ANEXO 21). El modelo de tabla a cumplimentar, “Tabla para establecer el periodo mínimo y el nº de ensayos mínimos necesarios para cualificar al personal”, se recoge en el ANEXO 22.

El Programa de Cualificación puede quedar definido por actividades diversas -desde la simple difusión del Procedimiento de Trabajo donde se recoge la sistemática de la tarea a cualificar hasta ser necesaria la realización de pruebas de aptitud- con plazos previstos de ejecución y la adecuada supervisión durante la cualificación.

En líneas generales, un Programa de Cualificación personalizado recogerá, conforme proceda en cada caso:

- a) La formación teórica (curriculum vitae, difusión específica de la metodología)
- b) La formación práctica (participación/ realización supervisada en/de la tarea a cualificar), sustentada en los respectivos registros documentales.

El proceso de elaboración del Registro de Programa de Cualificación / Recualificación (ANEXO 21) será el siguiente:

- Se identificará con precisión la tarea a cualificar, haciendo referencia al procedimiento de ensayo u otro procedimiento a seguir.
- El RT designa al Responsable de elaborar el programa de cualificación de la persona a cualificar. Dicho responsable cumplimentará las casillas del Registro de Programa de Cualificación/Recualificación donde se relacionen las “Actividades a realizar” y los plazos “previstos” para ello. Por último, el responsable del programa fechará y firmará en la casilla del mismo habilitada al respecto.
- Seguidamente, la persona que se va a cualificar firma en enterado y conforme, aceptando el programa de cualificación establecido por el responsable del programa.
- El siguiente paso es la realización de las actividades del programa de cualificación por la persona a cualificar. Una vez realizadas las actividades de cualificación, la persona Responsable / Supervisor de cada actividad anota la fecha de realización de la misma y firma el CONFORME a la realización y *buen hacer* de las actividades. De ellas se dejarán registros pues la cualificación/recualificación debe ser trazable hasta los registros primarios en los que se base.
- Una vez realizadas todas las actividades previstas, el RT/DC como responsable último del Registro lo fechará y firmará, quedando desde ese momento cualificada y autorizada la persona para desarrollar las tareas para las que ha sido cualificada dentro del ámbito de responsabilidad técnica del RT que firmó el Registro.
- El RT remitirá el original del Registro de Programa de Cualificación / Recualificación al JGC para su control y archivo, conservando copia del mismo.
- El JGC será el responsable de la cualificación del personal de la Unidad de Gestión de Calidad.

• Tipos de Tareas a Cualificar

Las tareas a cualificar podrán ser:

- a) Procedimientos de Ensayo completos: Identificados con nombre y código
- b) Etapas de Procedimientos de Ensayo, que implican la cualificación para distintas operaciones y la utilización de diferentes equipos para los cuales, en su caso, tendrán que tener la correspondiente cualificación independiente (ver c y d).
- c) Procedimientos Normalizados de Trabajo de Utilización de Equipos, para aquellos equipos que, por su complejidad, el RT estime necesaria la cualificación.
- d) Actividades/Operaciones concretas de cada Sección/Unidad.

8.12.1 Proceso de recualificación

La recualificación del personal para mantener la cualificación alcanzada se podrá llevar a cabo mediante dos sistemáticas:

1. Definiendo un Programa de Recualificación, de forma análoga a como se genera un Programa de Cualificación, adaptándolo a las características particulares de la persona que se va a recualificar y recogiendo el proceso en el ANEXO 21 “Registro de Programa de Cualificación/Recualificación”.
2. Utilizando los Registros de Actividad generados por la persona cualificada y recogiendo el proceso en el ANEXO 23 “Registro de Recualificación por Registros de Actividad Supervisados”.

Se entiende por Registros de Actividad:

- a) Los registros generados por un individuo durante el desempeño de dicha actividad, incluidos los generados en los procesos de aseguramiento de la calidad. Los registros de actividad que van a utilizarse para la recualificación del individuo, deberán ser supervisados y evaluados. La supervisión de la actividad y la evaluación de los registros generados (existentes en los Libros de Trabajo o en los archivos del laboratorio) se constatarán mediante la correspondiente firma y conforme del supervisor de la actividad junto al registro primario, y la firma del RT en la casilla habilitada al respecto en el ANEXO 23, como registro de la evaluación global efectuada.

En las casillas del Registro de Recualificación correspondiente a la tarea a recualificar, se señalará “r” (recualificación por registro) y la indicación que permita la trazabilidad de la supervisión/evaluación efectuadas (por ejemplo: fecha del registro de actividad, página del Libro de Trabajo donde se conserva dicho registro, etc.).

- b) Los registros generados durante Jornadas de actualización de criterios, como por ejemplo las utilizadas para difusión específica y puesta en común de normativa, procedimientos, etc., que se exigen en el mantenimiento de cualificaciones específicas en el Sistema de Calidad. Las Actas o resúmenes de los puntos tratados en estas jornadas conformarán los registros de actividad que evidencien esta recualificación.

La recualificación deberá llevarse a cabo durante el año siguiente al de la recualificación precedente. El RT remitirá el original de los registros de recualificación al JGC para su control y archivo, conservando copia del mismo.

8.12.2 Proceso de autorización

Los RT son responsables de asegurar la cualificación específica del personal a su cargo para realizar tareas en su ámbito de responsabilidad técnica. En este sentido, se asimila la cualificación con la autorización para realizar la tarea cualificada en su ámbito de responsabilidad, por lo que el registro de cualificación, que pone de manifiesto el reconocimiento formal de capacidad para realizar tareas específicas dentro del Sistema de Calidad es, también, el registro de autorización respectivo.

En los siguientes supuestos, el registro de autorización tendrá el mismo valor de reconocimiento formal de capacidad para realizar tareas específicas dentro del Sistema de Calidad que el registro de cualificación respectivo:

a) NOMBRAMIENTO PARA EJERCER ACTIVIDADES DE RESPONSABLES TÉCNICOS (RT), y JEFE DE GARANTÍA DE CALIDAD (JGC)

El DC es responsable de las autorizaciones pertinentes para ejercer actividades de RT en las actividades así determinadas, y JGC. El DC autoriza a ciertas personas a ejercer esas funciones por su formación y experiencia.

El DC comunica por escrito estas autorizaciones al interesado y al JGC, para su anotación en el correspondiente “Registro de Autorizaciones”. En el registro, se señala la actividad para la que está autorizado, la persona que autoriza y la fecha de entrada en vigor de dicha autorización. El registro lo firma el titular de la autorización manifestando con ello su enterado/conforme. El registro lo archiva el JGC.

Los formatos de los registros a cumplimentar son, “Registro de Autorización para ejercer tareas de RT” (ANEXO 24), y “Registro de Autorización para ejercer tareas de JGC” (ANEXO 25).

b) AUTORIZACIONES EXPRESAS, POR DELEGACIÓN DE FUNCIONES

Pueden existir autorizaciones expresas para ejercer funciones por delegación, basadas en la formación y experiencia de la persona que recibe la delegación. Es el DC el responsable de estas autorizaciones.

La delegación de funciones sólo se producirá en casos de ausencia o necesidad, se realizará por escrito especificando funciones y plazo durante el cual se van a realizar y se comunicará al interesado, con copia a la Unidad de Garantía de Calidad para su anotación en el correspondiente “Registro de Autorizaciones” (ANEXO 26).

El DC comunica por escrito estas autorizaciones al interesado y al JGC, para su anotación en el correspondiente “Registro de Autorizaciones”. En el registro, se señala la tarea para la que está autorizado, la persona que autoriza y la fecha de la autorización. El registro lo firma el titular de la autorización manifestando con ello su enterado/ conforme. El registro lo archiva el JGC.

Existirá una sistemática para que en caso de ausencia de alguno de los RT o del JGC éstos sean sustituidos de forma automática, ejerciéndose la asunción de funciones de RT, y JGC por parte de la persona indicada en el diagrama de sustitución siguiente. Los formatos utilizados para este tipo de autorización son, formato “Registro de Autorización para ejercer funciones de RT” (ANEXO 24), “Registro de Autorización para ejercer funciones de JGC” (ANEXO 25).

c) REGISTRO DE AUTORIZACIÓN PARA EJERCER TAREAS CUALIFICADAS POR UN RT DISTINTO AL QUE EXTIENDE LA AUTORIZACIÓN

Cualquier RT podrá, tras evaluar el Registro de Cualificación/Recualificación de una persona, otorgado por otro RT, autorizar a dicha persona para ejercer todas o parte de las tareas cualificadas en su ámbito de responsabilidad técnica. El RT comunica por escrito estas autorizaciones al interesado y a la Unidad de Garantía de Calidad, para su anotación en el correspondiente Registro de Autorizaciones (ANEXO 26). En el registro, se señala: el tipo de tarea para la que está autorizado, la persona que autoriza y la fecha de la autorización. El registro lo firma el titular de la autorización manifestando con ello su enterado/conforme. El registro lo archiva la UGC.

8.13 LOCALES Y CONDICIONES AMBIENTALES

8.13.1 Áreas de ensayo, calibración interna

Los ensayos se llevarán a cabo, normalmente, en sus instalaciones permanentes, las cuales serán adecuadas y estarán en perfecto estado.

En el caso de actividades que se realizan en otras instalaciones o “in situ”, se comprobará que las condiciones son adecuadas, registrando éstas.

Además los locales serán lo suficientemente espaciosos para limitar los riesgos de daño o peligro y para permitir al personal del laboratorio facilidad y precisión en sus movimientos. Se deberán establecer áreas de ensayo separadas, o dispositivos equivalentes, para aquellas medidas que pudieran producir contaminación o afectar a otros equipos de ensayo.

Se deberá mantener un estado adecuado de orden y limpieza de los equipos e instalaciones.

8.13.2 Condiciones Ambientales

Cuando se realicen ensayos y medidas en el laboratorio, las condiciones ambientales serán tales que se asegure el correcto funcionamiento de los equipos intervinientes, y que no se sobrepasen los límites de temperatura, humedad, etc., permitidos en las normas y procedimientos para los ensayos, calibraciones y/o medidas particulares.

Al respecto:

- I) Las distintas áreas de ensayo estarán acondicionadas (temperatura, humedad, renovación, etc.), en función del tipo de actividad que en ellas se realiza y de los requisitos aplicables. Si fuese necesario cada área/zona especificará las condiciones ambientales que le son aplicables, lo cual quedará registrado en los documentos correspondientes. Las condiciones ambientales críticas se registrarán, si fuera necesario, de forma continua.
- II) El centro dispondrá, si procede, de los equipos de medida (p. ej.: temperatura y humedad) que permitan comprobar y controlar el mantenimiento de las condiciones necesarias. En las hojas de toma de datos se registrarán las condiciones ambientales cuando así esté previsto en el procedimiento correspondiente.
- III) Si al comenzar un ensayo, las condiciones o parámetros ambientales no estuvieran dentro de los límites establecidos para los ensayos, calibraciones internas o medidas a realizar, se situarán dichos parámetros dentro de los límites por medio de los acondicionadores disponibles o alternatively se pospondrá el trabajo hasta que las condiciones sean las adecuadas.
- IV) En el caso de no poder cumplir lo antedicho y que durante la realización del trabajo las condiciones ambientales no se ajusten a los límites establecidos, el RT estudiará su repercusión en los resultados obtenidos.
- V) En el resto de los locales las condiciones ambientales serán las normales de un local cerrado para uso público.

En cualquier caso, los procedimientos específicos de calibración harán mención a las condiciones ambientales requeridas, y se verificará su cumplimiento en el laboratorio y en los ensayos in situ.

8.13.3 Seguridad Personal

Se seguirán las normas establecidas en las Leyes de Prevención de Riesgos Laborales aplicables.

Se tomarán las medidas necesarias para garantizar la seguridad del personal en aquellas actividades y ensayos que comporten un riesgo especial. En cualquier caso, el personal técnico velará por que se cumplan las condiciones de seguridad establecidas en los procedimientos aplicables. Estas medidas serán obligatorias.

8.13.4 Acceso a áreas de ensayo

El acceso a las distintas áreas de ensayo estará limitado y controlado según los siguientes criterios:

- I) Áreas de ensayo, archivo, despachos, etc.: el acceso estará limitado al personal que esté debidamente autorizado. Este personal deberá haber firmado la “Declaración de salvaguardia” (ANEXO 2). Se prestará especial atención al mantenimiento de las condiciones ambientales y a las restricciones originadas por motivos de seguridad o contaminación (explosivo, radioactivos, carcinógenos, análisis de trazas, etc.).

Cuando existan restricciones por motivos de seguridad y/o contaminación el personal debe conocer:

- El uso preestablecido de una determinada área/zona.
- Las restricciones impuestas en relación al trabajo desarrollado en dichas áreas/zonas.
- Las razones para imponer dichas restricciones.
- La indumentaria necesaria para evitar posibles contaminaciones (batas, zapatos especiales, guantes, máscaras, etc.).
- La necesidad de mantener las más estrictas condiciones de higiene personal (fumar, comer, mascar chicle, etc.).

- II) No se permitirá la estancia a personal ajeno al centro si no es acompañado por una persona autorizada.

- III) Las distintas dependencias, archivos, sistemas informáticos, etc. dispondrán de los correspondientes sistemas de seguridad que permitan garantizar un acceso restringido a los mismos.

8.14 EQUIPOS

Esta descripción considerará las actividades a realizar por el centro en la gestión de sus equipos - tras su recepción- y los registros generados como consecuencia de las mismas.

Actividades a realizar

- Recepción de equipos
- Codificación e Identificación de equipos
- Listado de equipos
- Ficha de equipos

- Utilización de equipos
- Equipos propios
- Equipos ajenos
- Control de equipos
- Mantenimiento
- Verificación
- Calibración
- Anomalías y reparaciones
- Etiquetado de la situación del equipo
- Entradas y salidas de equipos
- Baja de equipos
- Archivo de documentación

Como consecuencia de las actividades realizadas, el centro generará los registros correspondientes.

8.14.1 Recepción de equipos

A la recepción del equipo, el centro:

- Comprueba: que se adecua lo recibido a las condiciones del pedido, su integridad física, la documentación que le acompaña y su funcionamiento. Deja registros de la actividad realizada
- Le adjudica un código que permita diferenciarle en todo momento
- Lo incluye en el listado de equipos del laboratorio
- Realiza la ficha de equipo, en la que incluye los datos pertinentes
- Realiza los procedimientos aplicables en el uso, la calibración/verificación y el mantenimiento (PNU, PNC y PNM)
- Lo incluye en el Plan/Programa de Calibración/Verificación/Mantenimiento
- Le abre un Historial de Mantenimiento y un Historial de Calibración/Verificación
- Cuando proceda, realiza la calibración/verificación del equipo previa al uso, para comprobar que cumple con los requisitos especificados por el laboratorio y las especificaciones contenidas en las normas aplicables. Deja registros de la actividad realizada
- Lo pone en uso si las comprobaciones realizadas lo permiten
- Dispone toda la documentación relacionada con el equipo de manera conjunta
- Procede a la instalación definitiva o almacenamiento (si se trata de reactivos, o sustancias materiales de referencia)

8.14.2 Codificación e identificación de equipos

Codificación

El RT será el responsable de la asignación de un código a cada equipo.

Para los MR y RR se podrá mantener el número de código salvo que varíe el fabricante, la composición tipo o la calidad del producto. Asimismo, se podrá dar un solo código para cada tipo de material volumétrico (p.e. pipetas 10 ml clase A), material de vidrio no volumétrico u otros materiales o equipos auxiliares (vasos, calentadores, etc.).

Identificación

Todos los equipos se identificarán mediante una etiqueta con su código, situado de forma indeleble sobre él. Cuando no sea posible o conveniente identificarlo de esta manera (p.e. por su tamaño, por su utilización, por su mantenimiento o calibración, etc), se procederá a su identificación de forma inequívoca (p.e. situando la etiqueta con el código sobre el envase que lo contiene, en el lugar del almacenamiento, etc). Es recomendable que la identificación del equipo incluya, además del código, la descripción/nombre del mismo. Las descripciones deberán ser uniformes y acordes con las de las fichas, cuando sea posible, con denominaciones normalizadas.

En el caso de RR y MR químicos o biológicos preparados internamente se identificarán con una etiqueta con el siguiente contenido mínimo:

- Producto
- Concentración, si procede
- Disolvente, si procede
- Conservación
- Fecha de preparación
- Fecha de caducidad
- Preparado por:

Para aquellos materiales en los que el código no es necesario o no es posible que vaya sobre ellos y sea necesario diferenciarlos de otros del mismo tipo (p.e. material de vidrio en función de trazas) se tomarán medidas para evitar, cuando sea necesario su uso, el que puedan utilizarse equívocamente (p.e. localizaciones diferentes, marcas, etc). En la localización definida de los mismos se colocará la etiqueta de identificación correspondiente.

La identificación de los equipos es responsabilidad del RT correspondiente.

8.14.2.1 Listado de equipos

Se establecerá un sistema que permita disponer de un listado de todos los equipos, y se mantendrá actualizado.

Es responsabilidad del RT el mantenimiento actualizado de los listados y el que todos los equipos hayan sido incluidos en el inventario administrativo del Instituto.

El *Listado de Equipos (AA)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 27.

El *Listado de Materiales de Referencia (MR)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 28. El *Listado de Reactivos (RR) y Medios de Cultivo (MC)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 29. El *Listado de Material Volumétrico y Fungible (MV)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 30.

8.14.2.2 Ficha de equipos

Cada uno de los equipos dispondrá de su Ficha de Equipo, que recogerá uno u otros datos en función del tipo de equipo.

El software utilizado para realizar ensayos y calibraciones que influyan en los resultados debe tener, en la medida de lo posible, la consideración de equipo a todos los efectos, identificarse como AA y recibir una codificación única. Si forma parte de un equipo, se codificará como un accesorio del mismo.

La *Ficha de Aparatos e Instrumentos de medida (AA)*, contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 10.

La *Ficha de Materiales de Referencia (MR)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 11.

La *Ficha de Reactivos (RR) y Medios de Cultivo (MC)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 13.

La *Ficha de Material Volumétrico y Fungible (MV)* contendrá los datos recogidos en el formato correspondiente del ANEXO 14.

8.14.2.3 Utilización de equipos

Equipos propios

Los equipos se utilizarán correctamente de acuerdo con la experiencia y con las instrucciones del fabricante. En el caso de aparatos e instrumentos (AA) se dispondrá en el centro bien de copia de las instrucciones del fabricante (manual del usuario) o bien de un PNT para utilización del equipo, accesibles al personal del centro para su consulta siempre que sea necesario.

En general, los materiales de referencia (patrones físicos, etc.) no podrán utilizarse para fines distintos a los de calibración, salvo cuando pueda demostrarse que su uso alternativo no los invalida como material de referencia. Se encontrarán en un lugar adecuado, identificados convenientemente y de forma que se garantice su uso restringido.

En los procedimientos de calibración se incluirán, si procede, las instrucciones de uso.

Equipos Ajenos

En el caso de ser necesaria la utilización de equipos ajenos, el centro debe asegurar que dicho equipo cumple con los requisitos establecidos en la norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 que les sea aplicable, cuando esta aplique. Como mínimo se verificará:

- Adecuación del equipo a los requisitos de la norma de ensayo.
- Cumplimiento de la norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 y de los requisitos aplicables el Sistema de la Calidad.

- Existencia de instrucciones de uso, si procede.
- Existencia de certificado de Calibración en vigor, si procede.

De estas comprobaciones se dejarán registros que se archivarán junto a los resultados del ensayo, si la utilización es circunstancial, o en el expediente del equipo, si se considere más conveniente.

8.14.2.4 Control de equipos

Comprende las actividades y registros relacionados con:

- Mantenimiento
- Calibración / Verificación
- Etiquetado de la situación de los equipos
- Entrada y salida de equipos
- Anomalías

8.14.3 Mantenimiento de equipos

Mantenimiento Preventivo

El RT decidirá si un equipo debe someterse a mantenimiento preventivo interno (realizado por el personal del centro), externo (realizado por personal ajeno al centro) o no procede. Esta decisión se indicará en la Ficha del Equipo.

Cada Unidad elaborará anualmente un *Plan/Programa de Mantenimiento* periódico de los equipos, que recoja:

- Código del equipo
- Descripción/Nombre del equipo
- El tipo de mantenimiento a realizar: Externo (E) o Interno (I)
- Periodicidad del mantenimiento
- Fecha prevista de mantenimiento
- Fecha de realización del mantenimiento

El RT será responsable de asegurar la existencia del Plan/Programa de Mantenimiento periódico.

El Plan/Programa de Mantenimiento se recoge en el Formato correspondiente (ANEXO 31) “Plan/Programa de Mantenimiento/Verificación/Calibración de equipos”.

Las actividades de mantenimiento interno se llevarán a cabo de acuerdo con instrucciones escritas en un PNT (*PNM*) o, alternativamente, con las descritas en el Manual del Usuario (instrucciones del fabricante).

Si las actividades se realizan por una empresa externa, en su oferta o en el contrato que se firme, se deberán especificar las actividades a realizar y de cada intervención deberán facilitar un documento que indique las actividades realizadas, fecha y firma.

Cada equipo tendrá un *Historial de Mantenimiento* donde se anotarán las actividades de mantenimiento realizadas, indicando:

- El n° de registro de la actividad
- La actividad realizada
- La periodicidad planificada
- La fecha de realización
- La persona o empresa que la realizó

El Formato correspondiente (ANEXO 32) “Historial de Mantenimiento” recoge los datos a cumplimentar de las actividades de mantenimiento realizadas.

Las actividades de mantenimiento pueden, si así se prefiere, registrarse en el Formato correspondiente “Historial de Operaciones”, (ANEXO 33) donde se pueden anotar todo tipo de operaciones realizadas sobre el equipo (mantenimientos correctivos y preventivos, calibraciones, verificaciones, etc.).

Mantenimiento Correctivo (Reparaciones)

Se realizará un mantenimiento correctivo de los equipos cuando se detecte o sospeche que un equipo no está dentro de los límites del buen funcionamiento.

Se indicará convenientemente que el equipo no puede ser utilizado.

Se seguirá una política de Mantenimiento Correctivo (reparaciones) para todos aquellos equipos cuya reparación sea posible y conveniente, y así lo decida el RT.

Todas las reparaciones del equipo se indicarán en el Historial de Mantenimiento del equipo, Formato “Historial de Mantenimiento (ANEXO 32)”, o en el Formato “Historial de operaciones” (ANEXO 33), indicando que es una reparación. Si la reparación la realiza una empresa externa, se anotará el número del informe que realiza la empresa y si la reparación es interna, se señala.

Tanto los informes de reparación externa como los de reparación interna recogerán las operaciones realizadas.

Si la reparación comporta la salida del equipo, se registrará la salida y entrada del equipo en el Registro de Entrada/Salida de equipos (ANEXO 34).

Una vez realizada la reparación del equipo, este será sometido a inspección, chequeo funcional y calibración/verificación, si procede, para comprobar su estado, dejando registro del mismo.

8.14.4 Calibración / Verificación de equipos

El RT decidirá si un equipo debe someterse a calibración/verificación interna (realizado por el personal del centro), externa (realizada por personal ajeno al laboratorio) o no procede. Esta decisión se indicará en la Ficha del Equipo.

Cada Unidad elaborará anualmente un *Plan/Programa de Calibración/Verificación* periódico de los equipos, que recoja:

- Código del equipo
- Descripción/Nombre del equipo

- El tipo de calibración/verificación a realizar: Externo (E) o Interno (I)
- Periodicidad de la calibración/verificación
- Fecha prevista de la calibración/verificación
- Fecha de realización de la calibración/verificación

Los Patrones, Materiales de Referencia y Material Volumétrico del laboratorio, seguirán el mismo proceso que los aparatos e instrumentos de medida.

El RT será responsable de asegurar la existencia del Plan/Programa de Calibración/Verificación periódico.

El Plan/Programa de Calibración/Verificación se recoge en el Formato correspondiente (ANEXO 31) “Plan/Programa de Mantenimiento/Verificación/Calibración de equipos”.

Cada equipo tendrá un *Historial de Calibraciones/Verificaciones* (ANEXO 35) donde se anotarán las actividades de calibración/Verificación realizadas, indicando:

- El nº de registro/Certificado de la actividad
- La periodicidad planificada
- La fecha de realización
- La persona o empresa que la realizó
- La evaluación del resultado

El Formato correspondiente “Historial de Calibraciones/Verificaciones” (ANEXO 35) recoge los datos a cumplimentar.

Las actividades de calibración pueden, si así se prefiere, indicarse en el Formato “Historial de operaciones”, donde se pueden anotar todo tipo de operaciones realizadas sobre el equipo (mantenimientos correctivos y preventivos, calibraciones, verificaciones, etc.).

El centro establecerá, a priori, *criterios de aceptación/rechazo de los resultados de las calibraciones*, basados en la corrección o incertidumbre de calibración, o en ambas. El formato correspondiente del ANEXO 36 “Criterios de aceptación/rechazo de los resultados de las calibraciones” recoge los datos a cumplimentar. El RT evaluará los registros de calibración interna o los certificados de calibración externa con el fin de comprobar que el equipo cumple con los criterios establecidos y determinar así su idoneidad para el uso previsto. Dispondrá también de *criterios de aceptación/rechazo de los resultados de las verificaciones*.

Verificaciones

Las verificaciones internas se llevarán a cabo de acuerdo con instrucciones escritas en un PNT o, alternativamente, con las descritas en el Manual del Usuario (instrucciones del fabricante).

De estas actividades de verificación interna se dejará un registro codificado y se anotarán en el Historial de Calibraciones/Verificaciones o en el Historial de Operaciones; si son actividades que se realizan diariamente o a cada uso no precisan codificación y pueden ser registradas en la libreta de trabajo.

Si las actividades las realizan una empresa externa, en su oferta o en el contrato que se firme, se deberán especificar las actividades a realizar y de cada intervención deberán facilitar un documento que indique las actividades realizadas, fecha y firma. Estas actividades de verificación serán registradas en el “Historial de Calibraciones/Verificaciones” o en el “Historial de operaciones”.

Calibraciones internas

Las actividades de calibración interna se efectuarán de acuerdo con instrucciones escritas en un PNT.

En las calibraciones internas se utilizarán *Patrones y Materiales de Referencia Certificados*, de la máxima calidad metrológica disponible. Deberán ser calibrados y certificados por entidades que garanticen la trazabilidad de las calibraciones a patrones nacionales e internacionales, con expresión de los valores certificados y su incertidumbre; en la documentación que lo acompañe figurará, adicionalmente, como mínimo, los resultados de las medidas o valor medio y desviación típica, siendo muy recomendable que incluyan además los métodos analíticos utilizados y los laboratorios participantes.

Cuando no se disponga de un Material de Referencia Certificado se puede emplear un Material de Referencia que haya sido sometido a ejercicios de intercomparación con otros laboratorios o analizado por otros métodos.

Si no es aplicable lo anterior pueden adquirirse materiales de referencia sin certificar a proveedores cuyos procesos de fabricación estén registrados de acuerdo con los criterios establecidos en las normas de la Serie UNE-EN-ISO 9000.

En caso de que no fuese posible garantizar la trazabilidad de alguna de las formas anteriores, se comparará el equipo con otro u otros (de laboratorios que realicen el mismo tipo de medidas, laboratorios externos, etc.) emitiendo un documento, que se conservará junto a los resultados obtenidos, en el que se explique el proceso seguido.

El RT verificará los certificados de los Materiales de Referencia y Patrones dejando un registro. El formato correspondiente “Verificación de Patrones y Materiales de Referencia”, recoge los datos a cumplimentar (ANEXO 12).

Cada vez que se lleve a cabo una calibración interna se elaborará un *Registro de Calibración*, cuyo contenido mínimo será:

Nº de Registro de Calibración: Estará compuesto por el código del equipo separado por guion bajo y por “Cal” y un número correlativo de dos dígitos (01, 02, ...). En el caso de verificaciones no será exigible el Nº de registro del certificado de verificación, debido al elevado número de verificaciones de algunos equipos como las balanzas. Así mismo, y con carácter excepcional, no será exigible identificar mediante un código a los registros de calibración de aquellos equipos que presentan una alta frecuencia de calibraciones, como los pH-metros

- Identificación del equipo calibrado/verificado: Código y descripción/nombre
- Identificación de patrones
- Condiciones ambientales, cuando proceda
- Trazabilidad (nº de Certificado de los patrones, MR)

- Procedimiento utilizado (código o breve descripción)
- Resultados incluyendo, cuando se hayan repetido medidas, la media y la desviación típica de la media.
- Corrección para cada punto calibrado
- Incertidumbre expandida asociada a la calibración (indicando el factor k utilizado), calculada o estimada según el procedimiento correspondiente
- Indicación de si el equipo CUMPLE / NO CUMPLE con los criterios de aceptación/rechazo de los resultados de las calibraciones establecidos – que se indicarán en el registro –, tras la evaluación de los mismos
- Limitaciones de uso, si procede
- Indicación de fuera de uso, si procede
- Fecha de próxima calibración/verificación
- Fecha y Firmas (Ejecutor de la calibración/verificación y del RT)

El estado del equipo tras la calibración (calibrado, limitación de uso, fuera de uso) se indicará adecuadamente con la etiqueta correspondiente.

Estas actividades de calibración serán registradas en el “Historial de Calibraciones/Verificaciones” o en el “Historial de operaciones”.

Calibraciones Externas

Las calibraciones externas serán realizadas por laboratorios acreditados por la Entidad de Acreditación o por cualquiera de los organismos de acreditación firmantes del acuerdo EA, para la magnitud y rango precisado con la incertidumbre necesaria.

Las operaciones de calibración externa deben quedar documentadas en un Certificado de Calibración. El RT revisará los certificados de calibración con el fin de comprobar que contienen los datos mínimos necesarios (codificación del registro, correcta identificación de los datos del equipo, medida en el rango y en los puntos de calibración solicitados, trazabilidad...) y de conocer el resultado de la calibración para determinar si el equipo cumple o no cumple con la tolerancia de los criterios de aceptación / rechazo de los resultados de las calibraciones. El formato correspondiente “Verificación de Certificados de Calibración Externa”, recoge los datos a cumplimentar (ANEXO 15).

El estado del equipo tras la calibración (calibrado, limitación de uso, fuera de uso) se indicará adecuadamente con la etiqueta correspondiente.

Estas actividades de calibración serán registradas en el “Historial de Calibraciones/Verificaciones” o en el “Historial de operaciones”.

Revisión de los intervalos iniciales de calibración/verificación.

El centro puede revisar el periodo de calibración/verificación de un equipo, basándose en los resultados de anteriores calibraciones/verificaciones. Para aquellos equipos que presenten mayor estabilidad y menor deriva en el tiempo, se podrán dilatar los periodos de calibración/verificación; para los equipos que presenten mayor inestabilidad y deriva en el tiempo, se podrán acortar los periodos de calibración/verificación.

8.14.5 Anomalías de equipos

Cuando se detecte, por medio de una calibración/verificación, mantenimiento u observaciones durante la utilización o preparación de un equipo que éste da resultados sospechosos o incorrectos o ha sido sometido a sobrecarga o manejo inadecuado, el responsable lo identificará de manera adecuada.

Una vez identificado el equipo en lugar claramente visible para el usuario y separado de su ubicación habitual, si es posible, se informará al RT correspondiente. El RT, o persona en quien delegue, analizará el estado del equipo a partir de los datos disponibles o de los adicionales que sea necesario tomar, para posteriormente fijar las acciones a realizar sobre el equipo: reparación, calibración/verificación, puesta en servicio, retirada, etc. Asimismo, revisará la posible incidencia de la anomalía detectada sobre los ensayos o calibraciones realizados anteriormente con el equipo y si es necesario tomar acciones al respecto, abrirá un Informe de Trabajo No Conforme.

El análisis realizado se documentará en el formato correspondiente Informe de equipo con anomalías” (ANEXO 38) que recoge los datos a cumplimentar. El informe se identificará con el código del equipo seguido por IA_TT donde:

IA: se corresponde con “Informe de anomalía del equipo”

TT: es el número correlativo de informe de anomalía de ese equipo (01, 02,...)

8.14.6 Identificación del estado de los equipos

El estado de los equipos se identificará por medio de etiquetas que se fijarán sobre el propio equipo, su funda o cualquier otro medio que cumpla la misma función.

Existirán las siguientes etiquetas:

- Etiqueta de calibración
- Etiqueta de limitación de usos
- Etiqueta de fuera de uso

La *etiqueta de calibración* se utilizará cuando no exista restricción alguna para el uso del equipo. Será de color verde y su contenido mínimo será:

- Calibración (título)
- Código del equipo
- Descripción/Nombre del equipo
- Número de Registro de Calibración
- Fecha de calibración
- Fecha de la próxima calibración

La etiqueta será sustituida por otra nueva cada vez que el equipo sea sometido a una nueva calibración.

La *etiqueta de limitación de uso* se colocará sobre el equipo, funda, etc., cuando pueda ser utilizado con alguna restricción (no usar en algún rango, exactitud o clase diferente a la especificación, calibrado sólo para unos valores o rangos concretos, corregir las lecturas de acuerdo con el certificado de calibración, calibración antes de uso, etc.).

Será de color amarillo y su contenido mínimo será:

- Limitaciones de uso (título)
- Código
- Descripción/Nombre
- Número de Registro de Calibración, si procede
- Fecha de calibración, si procede
- Próxima calibración, si procede
- Limitación de uso (descripción)

Las etiquetas serán sustituidas por otras nuevas cada vez que el equipo sea sometido a una nueva calibración.

La *etiqueta de fuera de uso* se colocará sobre el equipo, funda, etc., cuando no pueda ser utilizado por alguna razón (como consecuencia del resultado no favorable de la calibración, por avería, etc.). Será de color rojo y su contenido mínimo será:

- Fuera de uso (título)
- Código
- Descripción/Nombre
- Causa de fuera de uso
- Fecha de fuera de uso

8.14.7 Almacenamiento y control de entradas/salidas de equipos

Los equipos, cuando no se estén utilizando para los ensayos, dispondrán de una ubicación definida. Esta ubicación deberá ser adecuada para las condiciones mínimas de almacenamiento especificadas por el fabricante del mismo.

Se llevará un control de las Entradas/Salidas de los equipos de las instalaciones del laboratorio, cumplimentando para ello los datos del Formato correspondiente “Registro de Entrada/Salida de equipos” (ANEXO 34). Este registro será cumplimentado por la persona que realizó el envío o la recepción, según proceda.

Ningún equipo que no haya sido incluido en el inventario administrativo podrá salir de las instalaciones hasta que se le asigne el correspondiente código del inventario administrativo.

8.14.8 Baja de equipos

El RT puede decidir la baja de un equipo, en tal caso, se anotará en el apartado previsto de la ficha del equipo, indicándose la causa de la baja.

Puede ser necesaria la aprobación del DC para producirse oficialmente la baja.

El equipo podrá dejar de aparecer en el inventario (si no fuera así aparecerá como baja). Su documentación permanecerá en el archivo al menos hasta 5 años después de la fecha de baja, o el tiempo que establezca la reglamentación aplicable o requisitos contractuales.

8.14.9 Archivo de documentación

Cada laboratorio dispondrá de los archivos donde se recogerá la documentación de todos los equipos. Para cada equipo inventariado se dispondrá de los siguientes documentos o registros:

- Actividades de la recepción
- Manual del equipo
- Fichas del equipo
- Plan / programa de Mantenimiento / Verificación / Calibración
- Historial de mantenimiento y registro de las actividades realizadas
- Historial de calibraciones / Verificaciones
- Informes / Certificados de calibración/verificación externos o los registros de resultados de calibración/verificación interna/Verificación de certificados de calibración externa
- Verificación de Certificados de Materiales de referencia y Patrones Físicos
- Registros de entrada / salida de equipo
- Informes de anomalías de equipos

Para los RR y MR se guardarán los certificados o registros de las sucesivas partidas que se vayan incorporando.

El RT será el responsable del mantenimiento del archivo de equipos a su cargo.

8.15 TRAZABILIDAD

Según define el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM), TRAZABILIDAD es “la propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida.

La importancia del parámetro “trazabilidad” se justifica en tanto que asegura la comparabilidad entre resultados (por ejemplo, con los de otros laboratorios que muestren una trazabilidad semejante).

En el caso de medidas físicas, la verificación de la trazabilidad casi siempre puede acabar trazándose a su respectiva unidad del Sistema Internacional (SI).

En estos procesos (ensayos) de medida, el proceso de verificación de la trazabilidad suele efectuarse de forma global, considerando el proceso como un todo y sin entrar en la verificación de cada una de las diferentes etapas en las que teóricamente pudiera descomponerse dicho ensayo. En estos casos, un concepto clave para asegurar la trazabilidad es el concepto de “patrón de referencia”, que puede tener distinta “calidad metrológica”, como:

- 1º Métodos definitivos o absolutos
- 2º Materiales de Referencia Certificados (MRC).
- 3º Ejercicios Interlaboratorios.
- 4º Métodos de Referencia.
- 5º Muestras adicionadas / Patrones analíticos.

No obstante, también se establecen criterios para verificar la trazabilidad en medidas parciales que pudieran obtenerse durante un ensayo (calibración de equipos, etc.)

Todos los equipos utilizados para ensayos y/o calibraciones, incluidos los equipos para realizar mediciones secundarias (por ejemplo de las condiciones ambientales), que tengan un efecto significativo en la exactitud o validez de los resultados de ensayo, calibraciones o toma de muestra, se calibrarán antes de ponerse en funcionamiento.

En este sentido, se establecerán los oportunos planes, programas y procedimientos de calibración de los equipos. En ellos se incluirán, entre otros y según proceda, los patrones de medida, los materiales de referencia utilizados como patrones de medida y los equipos de medida y ensayo utilizados para realizar ensayos y calibraciones. En dichos planes/programas se recogerán especificaciones relativas al mantenimiento, calibración, verificación, etc. de los equipos en ellos incluidos.

8.15.1 Requisitos específicos para calibraciones

Los programas de calibración de los equipos se diseñarán y aplicarán de forma que se pueda asegurar la trazabilidad de las calibraciones y medidas efectuadas por el laboratorio con respecto a las unidades del Sistema Internacional (SI).

Un laboratorio que lleve a cabo calibraciones internas demuestra la trazabilidad de sus propios patrones de medida e instrumentos de medida con respecto al SI por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones o comparaciones que los relacionan con los correspondientes patrones primarios de las unidades de medida del SI. La relación con el SI puede conseguirse por referencia a patrones nacionales de medida. Estos patrones pueden ser primarios, que son realizaciones primarias de las unidades del SI o representaciones acordadas de unidades del SI basadas en constantes físicas fundamentales, o pueden ser secundarios, que son patrones calibrados por un instituto nacional de metrología.

En la Guía ISO 35:2006 se llama la atención sobre los problemas especialmente ligados al análisis químico, en el sentido de que la trazabilidad de la especie química es de una importancia igual o superior a la trazabilidad de la calibración de los instrumentos utilizados en el análisis.

Cuando se utilicen servicios externos de calibración, la trazabilidad de las medidas se asegurará mediante el uso de servicios de calibración de laboratorios que puedan demostrar competencia, capacidad de medida y trazabilidad. El certificado de calibración emitido por estos laboratorios (servicios externos de calibración) debe indicar los resultados de las medidas, entre ellos la incertidumbre de medida.

Los certificados de calibración externa deberán haber sido emitidos por laboratorios de calibración acreditados por la Entidad de Acreditación o por cualquier organismo de acreditación con que dicha Entidad haya firmado un acuerdo de reconocimiento (EA, ILAC,...) o por un Instituto Nacional de Metrología. Dichos certificados deberán incluir el logotipo del acreditador o referencia a su condición de acreditado, y es prueba suficiente de la trazabilidad de los datos de calibración presentados.

Por otra parte, en los casos en que algunas calibraciones no puedan expresarse en unidades del SI, la calibración proporcionará la confianza en las medidas estableciendo la trazabilidad a patrones de medida apropiados tales como:

- Uso de materiales de referencia certificados, proporcionados por un suministrador competente para conseguir una caracterización física o química fiable de un material.
- Uso de métodos específicos y/o normas consensuadas que se describan claramente y sean aceptados por todas las partes implicadas.

Siempre que sea posible, se exigirá la participación de un programa de intercomparación de laboratorios adecuado.

8.15.2 Requisitos específicos para ensayos

En el caso de los laboratorios de ensayo, los requisitos establecidos en el apartado anterior se aplicarán a los equipos de medida y ensayo que realicen funciones de medida, salvo que se haya demostrado que la contribución asociada a la calibración influye poco en la incertidumbre total del resultado del ensayo. Cuando se produzca esta situación, el laboratorio se asegurará de que el equipo utilizado puede proporcionar la incertidumbre de medida necesaria.

Cuando no sea posible o aplicable la trazabilidad de las medidas a unidades de medida del SI, se cumplirán los mismos requisitos de trazabilidad con relación a, por ejemplo, materiales de referencia certificados, métodos acordados y/o normas consensuadas, etc.

8.15.3 Patrones y materiales de referencia

Patrones de Referencia

El centro dispondrá de un programa y un procedimiento para la calibración de patrones de referencia. Estos patrones estarán calibrados por un organismo que pueda proporcionar la trazabilidad. Estos patrones de referencia mantenidos por el laboratorio se utilizarán exclusivamente para calibraciones y no para otros fines, salvo cuando pueda demostrarse que su uso para otros fines no los invalida como patrones de referencia.

Los patrones de referencia se calibrarán antes y después de realizar cualquier ajuste.

Materiales de Referencia

Siempre que sea posible, los materiales de referencia deben ser trazables a unidades de medida del SI, o a materiales de referencia certificados. Los materiales de referencia internos se controlarán hasta donde sea técnica y económicamente factible.

El centro dispondrá de la siguiente información de cada uno de los patrones de referencia que utilice:

- Valor de la propiedad.
- Incertidumbre, desviación estándar o cualquier otra información que acote el intervalo de variación del valor de la propiedad.

- Fecha de caducidad.
- Método/s de análisis utilizado/s (para establecer el valor de la propiedad).
- Cuando sea aplicable, información sobre los laboratorios que hayan participado en la intercomparación.

Controles Intermedios

Los controles (verificaciones) necesarios para mantener la confianza en el estado de calibración de los patrones de referencia, primarios, de transferencia o de trabajo, y materiales de referencia, se realizarán de acuerdo con programas y procedimientos establecidos.

Transporte y Conservación

El centro dispondrá, cuando sea necesario, de procedimientos para la manipulación segura, el transporte, la conservación y el uso de patrones y materiales de referencia, con objeto de evitar su contaminación y deterioro y para proteger su integridad.

8.16 MANIPULACIÓN

Las instituciones dispondrán de procedimientos para el transporte, la recepción, la manipulación, la protección, el almacenamiento o la destrucción de los objetos de ensayo o calibración, incluidas todas las disposiciones necesarias para proteger la integridad de dichos objetos de ensayo, así como los intereses del centro y del cliente.

Las instituciones dispondrán del correspondiente sistema para identificar los objetos de ensayo y calibración, esta identificación se mantendrá todo el tiempo que el objeto permanezca en el centro. El sistema estará diseñado y aplicado de forma que resultará imposible confundir los objetos, ni físicamente ni cuando se haga referencia a ellos en registros u otros documentos. Así mismo, el sistema incluirá, cuando proceda, una subdivisión de grupos de objetos y la transferencia de los objetos de ensayo dentro y desde el centro.

Una vez recibido el objeto para un ensayo o calibración, se registrará cualquier anomalía o desviación de las condiciones normales o especificadas en el método de ensayo o calibración. Cuando existan dudas sobre la idoneidad de un objeto para un ensayo o calibración, o cuando un objeto no se ajuste a la descripción dada o cuando no se especifique con detalle suficiente el ensayo o calibración que tiene que efectuarse, el centro consultará al cliente para recibir instrucciones adicionales antes de proseguir, registrándose la conversación mantenida.

Las instituciones dispondrán de procedimientos e instalaciones apropiadas para evitar el deterioro, la pérdida o el daño de los objetos de ensayo o calibración durante su almacenamiento, manipulación o preparación. Se seguirán las instrucciones de manipulación que se entreguen junto con el objeto. Cuando los objetos tengan que conservarse o adaptarse a determinadas condiciones ambientales, se mantendrán, controlarán y registrarán dichas condiciones. Cuando el objeto utilizado para un ensayo o calibración, o una parte del mismo, tenga que mantenerse en un lugar seguro, el centro tomará las medidas oportunas de almacenamiento y de seguridad para proteger el estado y la integridad del objeto o de las partes del mismo.

8.17 INFORME DE ENSAYO

General

Se informará de los resultados de cada ensayo y series de ensayos con exactitud y claridad, sin ambigüedades, objetivamente y de acuerdo con las instrucciones específicas contenidas en los métodos de ensayo.

Los resultados se notificarán generalmente en un informe de ensayo y contendrá toda la información solicitada por el cliente y necesaria para la interpretación de los resultados del ensayo y la información requerida por el método utilizado.

En el caso de ensayos realizados por clientes internos, o en el caso de haberse llegado a un acuerdo por escrito con el cliente, los resultados se podrán notificar de una forma simplificada, sin perjuicio de dejar constancia de la información requerida en la norma. La información no facilitada estará fácilmente disponible en los laboratorios que realizaron los ensayos.

Los informes de ensayo se denominan a veces certificados de ensayo.

Pueden emitirse en papel o mediante transferencia electrónica de datos, siempre que cumplan los requisitos de la norma.

Cuando los resultados de ensayos se transmitan por teléfono, télex, fax u otros medios electrónicos o electromagnéticos, deben cumplirse los requisitos de la norma.

Cuando el informe de ensayo contiene resultados de ensayos realizados por subcontratistas, dichos resultados se identificarán claramente como tales. El subcontratista notificará los resultados por escrito o por medios electrónicos.

Emisión de informes de resultados

La emisión y firma de los informes de ensayos será responsabilidad de los RT que intervengan.

Contenido de los informes de resultados

Los informes de ensayo incluirán, al menos, la siguiente información, salvo razones justificadas:

- a) un título (por ejemplo “Informe de ensayo”)
- b) el nombre y la dirección del laboratorio, y lugar donde se realizaron los ensayos, si es diferente a la dirección del laboratorio
- c) una identificación única del informe de ensayo (como por ejemplo el número de serie)
- d) una identificación en cada página que permita reconocerla como parte del informe de ensayo, y una indicación clara del final del informe de ensayo
- e) el nombre y la dirección del cliente
- f) la identificación del método utilizado
- g) la descripción, el estado y la identificación sin ambigüedades del objeto u objetos sometidos a ensayo
- h) la fecha de la recepción de los objetos de ensayo cuando sea crítica para la validez y aplicación de los resultados
- i) la fecha de realización de cada ensayo

- j) la referencia al plan de muestreo
- k) la referencia a los procedimientos utilizados por el laboratorio u otras entidades cuando influyan en la validez o aplicación de los resultados
- l) los resultados del ensayo, junto con las unidades de medida cuando proceda
- m) nombre(s) o cargo(s) y firma(s) o identificación equivalente de la(s) persona(s) autorizando el informe de ensayo
- n) cuando proceda, una declaración de que los resultados se refieren únicamente a los objetos sometidos a ensayo
- o) declaración en la que se hará constar que las reproducciones parciales de los mismos requieren la autorización por escrito del centro

Las copias en papel indicarán también el número de página y el número total de páginas.

Además de los requisitos indicados, los informes de ensayo incluirán, cuando así sea necesario para la interpretación de los resultados del ensayo:

- desviaciones, adiciones o exclusiones respecto al método de ensayo
- información sobre las condiciones específicas de ensayo, tales como las condiciones ambientales
- cuando proceda, una declaración de la conformidad/no conformidad con determinados requisitos y/o especificaciones
- cuando sea aplicable, la incertidumbre de medida estimada. La información relativa a la incertidumbre es necesaria en los informes de ensayo cuando esta influya en la validez o aplicación de los resultados de los ensayos, cuando así lo requieran las instrucciones del cliente, o cuando la incertidumbre afecte al cumplimiento de los límites de una especificación
- cuando sea apropiado y necesario, opiniones e interpretaciones
- información adicional requerida por métodos específicos, clientes o grupos de clientes.

Además de los requisitos citados anteriormente, los informes de ensayo que contengan resultados de muestreos incluirán lo siguiente, cuando así sea necesario para la interpretación de los resultados del ensayo:

- fecha del muestreo
- identificación, sin ambigüedades, de la sustancia, material o productos muestreados (incluyendo el nombre del fabricante, el modelo, o tipo de designación y los números de serie, según proceda)
- lugar del muestreo, adjuntando diagramas, croquis o fotografías
- referencia al plan de muestreo y a los procedimientos utilizados
- detalles de las condiciones ambientales durante el muestreo que puedan influir en la interpretación de los resultados del ensayo
- cualquier norma u otra especificación relativa al método o procedimiento de muestreo, así como desviaciones, adiciones o exclusiones respecto a la especificación en cuestión

Estructura básica del Informe de ensayo

El informe se diseñará de forma que se reduzca al mínimo la posibilidad de que se produzcan malentendidos o usos incorrectos.

Se prestará atención a la estructura de los informes de ensayo, sobre todo en lo que se refiere a la presentación de los datos de ensayos y a la facilidad de asimilación por el lector.

Los encabezamientos estarán normalizados siempre que sea posible.

En los informes de ensayo, el centro habrá de distinguir de forma clara, entre los ensayos realizados por el mismo y los subcontratados, así como los amparados por una acreditación y los que no lo están.

En el caso de informes que incluyan resultados tanto amparados como no amparados por la acreditación el centro seguirá uno de los siguientes métodos:

- Señalará las actividades No amparadas por la acreditación mediante un asterisco o similar. Así mismo, se deberá incluir con el mismo tamaño de letra que el usado en el cuerpo del documento, en un lugar visible y cercano a la marca de la Entidad Acreditadora la siguiente leyenda:

“Los ensayos marcados no están amparados por la acreditación de (Entidad Acreditadora)”

- Señalará junto a cada uno de los resultados amparados por la acreditación y con el mismo tamaño de letra la leyenda: “Amparado por la acreditación de (Entidad Acreditadora)”. Así mismo, se deberá incluir con el mismo tamaño de letra que el usado en el cuerpo del documento, en un lugar visible y cercano a la marca de la Entidad Acreditadora la siguientes leyenda:

“Solamente están amparados por la acreditación los ensayos expresamente identificados como tales”

Cuando un informe contenga el resultado de otras actividades no cubiertas por la acreditación (p.e. opiniones o interpretaciones en un informe de un laboratorio, recomendaciones, etc) se señalará lo No amparado por la acreditación mediante un asterisco o similar. Asimismo, se deberá incluir, con el mismo tamaño de letra que el usado en el cuerpo del documento y en un lugar visible y cercano a la marca de la Entidad Acreditadora la siguiente leyenda:

“Las actividades marcadas no están amparadas por la acreditación de (Entidad Acreditadora)”.

Unidades

Normalmente las unidades empleadas en los informes serán las del “Sistema Internacional” (SI), salvo que la normativa indique el uso de otras, en cuyo caso se aceptarán también estas últimas.

Modificaciones a los Informes de Ensayo

Las modificaciones de informes de ensayo después de su emisión sólo se realizarán mediante un nuevo documento, o una transferencia de datos, que incluirá la declaración:

“Suplemento del informe de ensayo, número de serie... (o según se identifique)”, o una frase equivalente.

Estas modificaciones cumplirán todos los requisitos de la norma.

Cuando sea necesario elaborar un nuevo informe de ensayo, éste debe tener una identificación única y debe contener una referencia del original al que sustituye.

La responsabilidad de evaluar y aprobar la modificación de un informe de ensayo será del RT. Una vez admitida la necesidad de modificación, el RT investigará la causa que la ha podido motivar y la registrará tomando en consecuencia las medidas necesarias.

Archivo

Los responsables del archivo de las copias de los Informes de resultados y de sus correspondientes modificaciones serán los RT.

9. ANEXOS

ANEXO 1: DECLARACIÓN DE SALVAGUARDIA PARA EL PERSONAL

	DECLARACIÓN DE SALVAGUARDIA PARA EL PERSONAL
--	---

Declaración de salvaguardia

D/Dña.

_____ que presta sus servicios en _____,

DECLARA:

- I) Que no ejerce actividades de carácter laboral, industrial, comercial, etc., con organizaciones que pudieran tener influencia sobre el resultado de su actuación.
- I) Que toda información recibida, relativa a los ensayos, independientemente del carácter que tenga (documental, verbal, del equipamiento, etc.), será tratada como confidencial.
- III) Que mantendrá el acceso a la información, como a las dependencias del laboratorio, de forma restringida al personal autorizado
- IV) Que en los casos en que sea posible el tratamiento e identificación de las muestras, se hará de forma que se desconozca su procedencia por el personal del laboratorio.
- V) Que no reproducirá total o parcialmente ninguna información, para fines distintos de los propios del ensayo, sin su autorización expresa.
- VI) Que los ensayos/estudios se realizarán conforme a los procedimientos/ documentos escritos.
- VII) Que sólo realizará aquellos ensayos cuya viabilidad o resultados previsibles no puedan poner en peligro la integridad e independencia de juicio del laboratorio.

En _____, a ____ de _____ de 20__

Fdo.: D/Dña.

ANEXO 2: REGISTRO DE DIFUSIÓN

		REGISTRO DE DIFUSIÓN INTERNA	
TÍTULO DOCUMENTO:		Código:	
		Ed.:	
		Fecha: [entrada en vigor]	
DESTINATARIOS	FECHA (*) ENTREGA	FECHA (*) RECEPCIÓN	FIRMA
RESPONSABLE DIFUSIÓN:		FECHA: (**) HORA INICIO/ FINAL	

(*) Se cumplimentarán en caso de difusión escrita.

(**) Se cumplimentarán en caso de difusión oral.

ANEXO 3: PORTADA DE PROCEDIMIENTO

<p>[TITULO]</p> <p>[CODIGO]</p> <p>Edición nº: Fecha de edición:</p>

<p>Elaborado:</p> <p>Fdo: Fecha:</p>	<p>Revisado:</p> <p>Fdo: Fecha:</p>	<p>Aprobado:</p> <p>Fdo: Fecha:</p>
---	--	--

ANEXO 4: HISTÓRICO DE MODIFICACIONES

	[TITULO]	[CODIGO]
		Ed..
		Página de

HISTÓRICO DE MODIFICACIONES

ED. N°	FECHA	APARTADOS	PÁGINAS	CAUSAS DE LA MODIFICACIÓN	REQUALIFICACIÓN NECESARIA SI / NO (1)

(1) ¿Las modificaciones efectuadas en la nueva edición del procedimiento exigen la recualificación del personal que lo aplique?

ANEXO 5: HOJA DE PROCEDIMIENTO

	[TITULO]	[CODIGO]
		Ed..
		Página de

ANEXO 7: HOJA DE DISTRIBUCIÓN/RECEPCIÓN DE DOCUMENTACIÓN

HOJA DE DISTRIBUCION / RECEPCION DE DOCUMENTACIÓN	
REMITENTE Y CENTRO:	FECHA ENVIO:
DESTINATARIO:	EMPRESA/CENTRO:

Muy Sr.(es) nuestro(s), se adjunta para su:

- | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Revisión | <input type="checkbox"/> Utilización | <input type="checkbox"/> Aprobación |
| <input type="checkbox"/> Corrección | <input type="checkbox"/> Comentarios | <input type="checkbox"/> Información |

la documentación que se indica a continuación:

CÓDIGO / TÍTULO	Ed. N°	Copia Controlada N°

OBSERVACIONES:

Firma del remitente

DEVOLVER ORIGINAL AL REMITENTE, COMO ACUSE DE RECIBO

Recibida la información arriba referenciada,

Nombre:

Fecha y Firma:

OBSERVACIONES:

ANEXO 8: CONTROL DE DISTRIBUCIÓN DE DOCUMENTOS

		LISTA DE CONTROL DE DISTRIBUCIÓN DE DOCUMENTOS			
TÍTULO DOCUMENTO:			Código:		
			Ed.:		
			Fecha:		
Núm. de copias	Asignada/s a	COPIA N / num. (*)	Fecha envío	Fecha acuse recibo	Observaciones

(*) Indicar: N = Copia no controlada
o el nº de copia controlada

ANEXO 9: FORMATO FICHA DE APARATOS / INSTRUMENTOS DE MEDIDA (AA)

FICHA DE APARATOS / INSTRUMENTOS DE MEDIDA (AA)
--

Área:	Servicio:	CÓDIGO:
Sección:	Unidad:	

CARACTERÍSTICAS DEL EQUIPO	
Nombre/Descripción:	Fabricante/Distribuidor:
	Marca:
	Modelo/Referencia:
	Nº serie:
	Ubicación:
Características técnicas (clase, exactitud, resolución, etc):	Software específico: No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Descripción:

INCORPORACIÓN AL LABORATORIO	
ACTIVIDADES PREVIAS A LA PUESTA EN SERVICIO	
Expediente de adquisición Nº:	
Comprobaciones:	Conforme pedido C <input type="checkbox"/> NC <input type="checkbox"/> :
Realizadas por:	Inspección visual C <input type="checkbox"/> NC <input type="checkbox"/> :
	Funcionamiento C <input type="checkbox"/> NC <input type="checkbox"/> :
Fecha de recepción: / /	
Fecha: / /	Calibración C <input type="checkbox"/> NC <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/> Certificado nº:
	Verificación C <input type="checkbox"/> NC <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/> Certificado nº:
	Código de inventario administrativo:
Documentación disponible:	Manual Instrucciones <input type="checkbox"/> Especificaciones técnicas <input type="checkbox"/> Garantía <input type="checkbox"/> hasta: / / Certificaciones <input type="checkbox"/> PNT utilización <input type="checkbox"/> código:

PUESTA EN SERVICIO
VºBº RT
Fecha de puesta en servicio: / /

ACTIVIDADES A CONTROLAR TRAS LA PUESTA EN SERVICIO		
Calibración: In <input type="checkbox"/> Ex <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/>	Verificación: In <input type="checkbox"/> Ex <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/>	Mantenimiento: In <input type="checkbox"/> Ex <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/>
Procedimiento interno. Código:	Procedimiento interno. Código:	Procedimiento interno. Código:

BAJA EN LA UNIDAD		
Causa:	VºBº RT	Fecha baja: / /
	VºBº JA/DC (si procede):	
RESPONSABLE DEL EQUIPO		
Unidad:	Nombre/Siglas y cargo:	
Ext. Telefónica:	Fecha y Firma: / /	

Observaciones:

ANEXO 10: FORMATO FICHA DE MATERIALES DE REFERENCIA (MR)

FICHA DE MATERIALES DE REFERENCIA (MR)													
Área:	Sección:	Nombre/Descripción:					CÓDIGO INVENTARIO:						
Servicio:	Unidad:	Marca:		Mod/Ref.:		N° Serie:							
Fabricante/Distribuidor:		Ubicación:											
Características técnicas (clase, resolución, etc):		Software específico No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/>											
Documentación disponible: Manual Instruc. <input type="checkbox"/> Especific. Técnicas <input type="checkbox"/> Certific. <input type="checkbox"/> Garantía <input type="checkbox"/> hasta: / / PNT utilización <input type="checkbox"/> código:													
Condiciones de almacenamiento:													
ACTIVIDADES TRAS LA PUESTA EN SERVICIO													
Calibración: In <input type="checkbox"/> Código:		Ex <input type="checkbox"/> NP <input type="checkbox"/>		Verificación: In <input type="checkbox"/> Código:		Ex <input type="checkbox"/> NP <input type="checkbox"/>		Mantenimiento: In <input type="checkbox"/> Código:		Ex <input type="checkbox"/>			
BAJA		Causa:		procede):		Fecha: / /		Firma (RT si procede):		VºBº JA/DC (si			
ACTIVIDADES PREVIAS A LA PUESTA EN SERVICIO													
Nº orden	Pedido*	Inspección visual*	Comprobación*	Fecha recepción	Lote	Fecha caducidad	Tamaño/unidad	Calibración/ Verificación*	Valor certif. ± Incertidumbre	Realizado por	Fecha puesta servicio	Fecha fin uso	OBSERVACIONES
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													

*C: Conforme/Cumple NC: No conforme/No cumple NP: No Procede

ANEXO 11: FORMATO VERIFICACIÓN DE PATRONES Y MATERIALES DE REFERENCIA

VERIFICACIÓN DE PATRONES Y MATERIALES DE REFERENCIA	
CERTIFICADO n°: CERTIFICADO POR: FECHA EMISIÓN CERTIFICADO: MATERIAL DE REFERENCIA: CÓDIGO: FABRICANTE: IDENTIFICACIÓN: VALOR: VALIDO HASTA:	
RESULTADO	
El Responsable Técnico Fdo.:	Conforme: Responsable de Unidad de Laboratorio Fdo.:

ANEXO 12: FORMATO FICHA DE REACTIVOS (RR) Y MEDIOS DE CULTIVO (MC)

FICHA DE REACTIVOS (RR) Y MEDIOS DE CULTIVO (MC)											
Área:	Sección:	Nombre/Descripción:									
Servicio:	Unidad:	CÓDIGO INVENTARIO:									
Fabricante/Distribuidor:	Marca:	Ref.:	Ubicación:								
Documentación disponible: Especif. técnicas <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/>											
Características técnicas (clase, pureza, etc):											
Condiciones de almacenamiento:											
BAJA		Causa:	Fecha: / /	Firma:	Firma RT (si procede):						
ACTIVIDADES PREVIAS A LA PUESTA EN SERVICIO											
Nº orden	Pedido*	Inspección visual**	Fecha recepción	Tamaño(unid)	Lote	Fecha caducidad	Fecha apertura	Comprobación*	Realizado por	Fecha fin uso	Observaciones
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											

*C: Conforme/Cumple NC: No conforme/No cumple NP: No Procede

ANEXO 13: FORMATO FICHA DE MATERIAL VOLUMÉTRICO Y FUNGIBLE (MV)

FICHA DE MATERIAL VOLUMÉTRICO Y FUNGIBLE (MV)											
Área:	Sección:	Nombre/Descripción:			CÓDIGO INVENTARIO:						
Servicio:	Unidad:	Fabricante/Suministrador:			Nº Referencia:						
Características técnicas (clase, resolución, etc):		Documentación disponible: Especif. técnicas <input type="checkbox"/> Certif. <input type="checkbox"/>			Ubicación:						
ACTIVIDADES TRAS LA PUESTA EN SERVICIO											
Calibración: In <input type="checkbox"/> Código:		Ex <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/>		Verificación: In <input type="checkbox"/> Código:			Ex <input type="checkbox"/> Np <input type="checkbox"/>			Firma	
ACTIVIDADES PREVIAS A LA PUESTA EN SERVICIO											
Nº ORDEN	PEDIDO*	INSPEC. VISUAL*	LOTE	TAMAÑO	Nº UNIDADES	FECHA RECEPCIÓN	REGISTRADO POR	CALIB./VERIF.*	COMPROB.*	FECHA P. SERVICIO	OBSERVACIONES
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											

*C: Conforme/Cumple NC: No conforme/No cumple Np: No procede

ANEXO 14: FORMATO VERIFICACIÓN DE CERTIFICADOS DE CALIBRACIÓN EXTERNA

VERIFICACIÓN DE CERTIFICADOS DE CALIBRACIÓN EXTERNA	
<p>CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N°:</p> <p>LABORATORIO DE CALIBRACIÓN:</p>	
<p>INSTRUMENTO:</p> <p>FABRICANTE:</p> <p>MODELO:</p> <p>N° DE SERIE:</p> <p>CÓDIGO:</p> <p>MAGNITUD A CALIBRAR:</p> <p>FECHA DE CALIBRACIÓN:</p>	
<p>RESULTADO</p>	
<p>El Responsable Técnico</p> <p>Fdo.:</p>	<p>Conforme: Responsable de Unidad de Laboratorio</p> <p>Fdo.:</p>

ANEXO 15: HOJA DE QUEJAS Y/O RECLAMACIONES

HOJA DE RECLAMACIÓN	
Nº	
<p>FORMULADA POR:</p> <p>FECHA:</p> <p>CORRESPONDIENTE A:</p> <p>BREVE DESCRIPCIÓN DEL OBJETO DE LA RECLAMACIÓN:</p> <p>ACTIVIDADES, ITEMS Y/O DOCUMENTOS AFECTADOS:</p> <p>INTERLOCUTOR QUE RECIBE LA RECLAMACIÓN (DC/RT) NOMBRE, FECHA Y FIRMA:</p>	
<p>SOLUCIÓN PROPUESTA (NOMBRE DEL DOCUMENTO GENERADO, CÓDIGO, FECHA, ED.)</p>	
<p>EL/LOS PROPONENTE/S</p> <p>Firma/s y Fecha</p>	<p>VºBº DC</p> <p>Firma y Fecha</p>
<p>OBSERVACIONES/SEGUIMIENTO: (Auditoría de partes afectadas, Informar al cliente, Informe(s) de No Conformidad abierto(s),....)</p>	

ANEXO 16: INFORME DE TRABAJO NO CONFORME (TNC) / ACCIÓN CORRECTIVA (AC)

	INFORME DE TRABAJO NO CONFORME (TNC)/ACCIÓN CORRECTIVA (AC)	TNC_ Pág 1 de 2
--	--	-------------------------------

ACTIVIDAD / ITEM (apartado de la norma UNE-EN ISO 17025 afectado):	ORIGEN <input type="checkbox"/> observación / supervisión <input type="checkbox"/> control de equipos/calibración <input type="checkbox"/> controles de calidad <input type="checkbox"/> ensayos intercomparación <input type="checkbox"/> reclamación <input type="checkbox"/> revisión por la dirección <input type="checkbox"/> auditoría interna <input type="checkbox"/> auditoría externa <input type="checkbox"/> Otros: REQUISITO AFECTADO <input type="checkbox"/> Técnico <input type="checkbox"/> Gestión
DESCRIPCIÓN / REGISTRO:	
DETECTADO POR:	
Firma y fecha:	

ANÁLISIS DE LAS CAUSAS Y CONSECUENCIAS DEL PROBLEMA

CAUSAS:
CONSECUENCIAS:
Firma y fecha

ACCIONES INMEDIATAS/RESPONSABLES

DESCRIPCIÓN	RESPONSABLE
Firma y fecha:	

CIERRE DEL TNC (si no proceden Acciones Correctivas)

Revisado y aprobado (según proceda) (fecha y firma)
<input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC

ACCIONES CORRECTIVAS Proceden

1) INICIO DEL PROCESO	
Conforme (según proceda):	<input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC
Firma y fecha:	
Persona designada para el tratamiento de la AC:	Firma y fecha:

ANEXO 16: INFORME DE TRABAJO NO CONFORME (TNC) / ACCIÓN CORRECTIVA (AC) (CONTINUACIÓN)

	INFORME DE TRABAJO NO CONFORME (TNC)/ACCIÓN CORRECTIVA (AC)	TNC_ Pág. 2 de 2
--	--	--------------------------------

2) SELECCIÓN DE LAS ACCIONES CORRECTIVAS				
ACCIONES CORRECTIVAS POSIBLES:				
ACCIONES CORRECTIVAS SELECCIONADAS:				
3) IMPLANTACIÓN, SEGUIMIENTO Y REVISIÓN DE LAS ACCIONES CORRECTIVAS				
IMPLANTACIÓN			SEGUIMIENTO	REVISIÓN
Descripción de la Acción a Implantar	Responsable	Plazo	Fecha implantación	Fecha/firma
Firma responsable implantación y fecha:				
Vº Bº (según proceda) <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC <input type="checkbox"/> DC				
Firma y fecha				
Incumplimiento de los plazos de implantación. Justificación, modificaciones a las AC y ampliación de plazos:				

CIERRE DEL TNC (si proceden Acciones Correctivas)

¿SE VEN AFECTADAS POR LA DESVIACIÓN OTRAS UNIDADES DEL RT?	
<input type="checkbox"/> NO	
<input type="checkbox"/> SI, acciones a tomar	
¿SE VEN AFECTADOS POR LA DESVIACIÓN OTROS RT?	
<input type="checkbox"/> NO	
<input type="checkbox"/> SI, acciones a tomar	
Revisado y aprobado (fecha y firma):	
Vº Bº	<input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC

ANEXO 17: INFORME DE ACCIÓN PREVENTIVA (AP)

	INFORME DE ACCIÓN PREVENTIVA	AP_
--	-------------------------------------	------------

IDENTIFICACIÓN Y PROPUESTA

FUENTE DE DETECCIÓN: <input type="checkbox"/> Revisión de procedimientos <input type="checkbox"/> Análisis de datos y tendencias <input type="checkbox"/> Análisis de riesgos <input type="checkbox"/> Evaluación de ejercicios de intercomparación <input type="checkbox"/> Otros:	
OBJETIVO: <input type="checkbox"/> Prospección de Mejora <input type="checkbox"/> Evitación De Trabajos No Conformes	
DESCRIPCIÓN:	
IDENTIFICADO POR: Fecha y firma	
Enterado (según proceda): <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC	(fecha y firma)

DESIGNACIÓN DEL RESPONSABLE DEL ANÁLISIS

Responsable del análisis:	<input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC (según corresponda) firma y fecha
<input type="checkbox"/> Pueden verse afectadas unidades del ámbito de varios RT:	Enterado: JGC (firma y fecha)

ANÁLISIS DE LA PROPUESTA Y PLAN DE ACCIONES

Repercusión y viabilidad: <input type="checkbox"/> ACEPTADA <input type="checkbox"/> NO ACEPTADA (Explicación razonada):		
ACCIÓN PREVENTIVA DEFINITIVA:		
PLAN DE ACCIONES:		
	Responsable	Plazo
Descripción de la Acción a Implantar		
Responsable del análisis: (firma y fecha)	Vº Bº (según proceda) <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC <input type="checkbox"/> DC (firma y fecha)	

ANEXO 17: INFORME DE ACCIÓN PREVENTIVA (AP) (CONTINUACIÓN)

	INFORME DE ACCIÓN PREVENTIVA	AP_
--	-------------------------------------	------------

SEGUIMIENTO Y REVISIÓN

ACCIÓN IMPLANTADA		REVISIÓN		
Descripción/Referencia	Fecha	Firma	Fecha	Observaciones
Incumplimiento de los plazos de implantación. Justificación, modificaciones a las AP y ampliación de plazos:				

CIERRE DE LA AP

Vº Bº (según corresponda) <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> JGC (firma y fecha)

ANEXO 18: HOJAS DE MEDICIÓN / TOMA DE MUESTRAS MATRIZ "AIRE"

HOJAS MEDICIÓN / TOMA DE MUESTRA "MATRIZ AIRE"				Hoja 1/2
1 Realización de la medición				
<i>Parámetro</i>	<i>Método medición (PNE)</i>	<i>Desviación frente al método</i>	<i>Equipo (Código Interno)</i>	<i>Fecha de medición (Hora de inicio y fin)</i>
2 Personal involucrado				
<i>Nombre/s y Apellido/s</i>			<i>Puesto de Trabajo</i>	

ANEXO 18: HOJAS DE MEDICIÓN / TOMA DE MUESTRAS MATRIZ "AIRE" (CONTINUACIÓN)

HOJAS MEDICIÓN / TOMA DE MUESTRA "MATRIZ AIRE"			Hoja 2/2
3. Localización del punto de medición / toma de muestra (Coordenadas geográficas)			
4. Condiciones de cabina (mediciones "in situ")			
Temperatura (°C)			
5. Condiciones ambientales			
Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	Presión (atm)	Precipitación/tipo (si/no)
6. Equipos Manuales			
Volumen de aire (m ³)	Vol. Solución captadora (ml)	Tipo de soporte de muestreo	
7. Observaciones (Indicar obligatoriamente las desviaciones respecto al plan de medición)			
Elaborado		Elaborado	
Fdo:		Fdo:	
Fecha:		Fecha:	

ANEXO 18: HOJAS DE MEDICIÓN / TOMA DE MUESTRAS MATRIZ “AIRE” (CONTINUACIÓN)

Instrucciones cumplimentación formato “Hojas de medición / Toma de muestras “Matriz Aire”

Una vez en el/los sitio/s elegido/s para la medición, y colocados los equipos (toma de muestra/captación y/o medición) previstos, se procede al inicio de la actuación de acuerdo al plan de medición inicial, cumplimentándose el anexo 3.

Dónde:

1 Realización de la medición

Parámetro: El que corresponda.

Método de medición (PNE/procedimiento interno): El que corresponda.

Desviación frente al método: La que proceda indicando la desviación.

Equipos (código interno): Se indican los códigos internos de los equipos de toma de muestra/captación y/o análisis que se están utilizando para determinar los mensurandos elegidos.

Fechas de medición: Se indican las fechas de inicio y finalización (si procede) en las que se realiza la toma de muestra/captación y/o medición, con la hora de inicio y fin.

2 Personal involucrado

Personal involucrado: Se incluyen los nombres y apellidos del personal involucrado en la toma de muestras/captación y/o medición, así como el puesto de trabajo.

3 Localización de la toma de muestras: El código que corresponda

4 Condiciones de la cabina mediciones “in situ”

Temperatura (°C): La correspondiente a su valor medio en el interior de la cabina

5 Condiciones ambientales

Temperatura (°C): La correspondiente a su valor medio en el aire ambiente

Humedad relativa (%): La correspondiente a su valor medio en el aire ambiente

Presión (hPa): La correspondiente a su valor medio en el aire ambiente

Precipitación /Tipo: Tachar la que corresponda e indicar su tipo

6 Equipos manuales

Volumen de aire (m³): El correspondiente, en condiciones reales, al periodo de toma de muestras realizado

Volumen de la solución captadora (ml): El correspondiente a la solución captadora Utilizada

Tipo de soporte de muestreo: El que corresponda

7 Observaciones: Se incluye en observaciones, cualquier información adicional que se considere pertinente.

Elaborado: Este registro tiene que ser firmado por la persona que lo elabora y esté cualificada para la misma.

Aprobado: El plan de medición es aprobado por el RT autorizado.

ANEXO 19: HOJAS DE TOMA DE MUESTRAS. OTRAS MATRICES AMBIENTALES

Matriz AGUA <input type="checkbox"/> SUELO <input type="checkbox"/> SEDIMENTO <input type="checkbox"/>			
1 Equipos manuales utilizados			
<i>Volumen (l)/Peso (kg)</i>	<i>Tipo de Envase</i>	<i>Conservación de la muestra</i>	
2 Observaciones (Indicar obligatoriamente las desviaciones respecto al plan de medición)			

ANEXO 19: HOJAS DE TOMA DE MUESTRAS. OTRAS MATRICES AMBIENTALES (CONTINUACIÓN)

<i>Código de la muestra</i>	<i>Coordenadas</i>	<i>Parámetros</i>	<i>Observaciones</i>
4 Personal involucrado			
<i>Nombre/s y Apellido/s</i>		<i>Puesto de Trabajo</i>	
Elaborado		Aprobado	
Fdo:		Fdo:	
Fecha:		Fecha:	

ANEXO 19: HOJAS DE TOMA DE MUESTRAS. OTRAS MATRICES AMBIENTALES (CONTINUACIÓN)

Instrucciones cumplimentación formato

“Hojas de medición/toma de muestras. Otras matrices ambientales“

Una vez en el/los sitio/s elegido/s para la medición, y colocados los equipos (toma de muestra/captación y/o medida) previstos, se procede al inicio de la actuación de acuerdo al plan de medición inicial, cumplimentándose el anexo 4.

Matriz. Indicar la matriz

1. Equipos manuales utilizados

Volumen: El correspondiente, en condiciones reales, al periodo de toma de muestras realizado

Tipo de envase: El que corresponda

Conservación de la muestra: método empleado que permita conservar la muestra sin alteraciones como resultado de reacciones físicas, químicas o biológicas que pudieran tener lugar entre el momento de la toma de muestra y el inicio del análisis.

2 Observaciones: Se incluye en observaciones, cualquier información adicional que se considere pertinente.

3 Realización de la medición "in situ"

Código de la muestra. El código que corresponda de localización de la misma

Coordenadas

Parámetro: El que corresponda.

Observaciones

4 Personal involucrado Se incluyen los nombres y apellidos del personal involucrado en la toma de muestras/captación y/o medición, así como el puesto de trabajo.

Elaborado: Este registro tiene que ser firmado por la persona que lo elabora y esté cualificada para la misma.

Aprobado. Este registro tiene que ser firmado por el RT autorizado.

ANEXO 20: REGISTRO DE PROGRAMA DE CUALIFICACIÓN / RECUALIFICACIÓN

	REGISTRO DE PROGRAMA DE CUALIFICACIÓN/RECUALIFICACIÓN
--	--

Tarea a Cualificar/Recualificar	
Titular Cualificación/Recualificación	Nombre y Apellidos:
	Puesto:

Actividad/es a realizar	PLAZO		Fdo. El Responsable /Supervisor actividad ¹
	Previsto	Realizado	

Responsable del Programa: ²	Enterado y conforme: ³
Fecha/Firma	Fecha/Firma

<p>REGISTRO</p> <p>Quede constancia de que se ha llevado a cabo el programa de cualificación / recualificación establecido en este documento por la persona (titular) indicada, siendo apto para la realización de la/s tareas que se indica/n.</p> <p style="text-align: right;">El DC/RT/RUGC⁴</p> <p style="text-align: right;">Fdo:</p> <p style="text-align: right;">Nombre/Fecha/Firma</p>
--

¹ Responsable/supervisor de la actividad.- Persona encargada por el DC/RT/RUGC o el Responsable del Programa para supervisar la actividad concreta en cada caso .Esta casilla se cumplimentará evaluando (por ej., con un "CONFORME") cada una de las actividades previstas y **ya realizadas**, y firmando a continuación el Responsable/supervisor (firma corta o larga, iniciales de calidad, etc.)

² Responsable del programa.- Persona encargada por el DC/RT/JGC para elaborar el programa de cualificación

³ Enterado y conforme de la persona que se va a cualificar

⁴ Persona responsable de la cualificación

ANEXO 23: REGISTRO DE AUTORIZACIÓN PARA EJERCER FUNCIONES DE RESPONSABLE TÉCNICO

REGISTRO DE AUTORIZACIONES PARA EJERCER ACTIVIDADES DE RT			
TITULAR	Nombre y Apellidos:		
	Puesto Tipo:	Unidad destino:	
TAREA PARA LA QUE ESTÁ AUTORIZADO	PERSONA QUE AUTORIZA		ENTERADO/ CONFORME TITULAR AUTORIZACIÓN
	Fecha	Firma y Siglas Calidad	Firma y Siglas Calidad
Para ejercer actividades de Responsable Técnico (RT).			

ACTIVIDADES DE RESPONSABLE TÉCNICO (RT)

El Responsable Técnico (RT) es el responsable máximo de los resultados analíticos y competencia técnica de las personas que intervienen en el ensayo.

Realizará, entre otras, las siguientes funciones:

- Participar en la revisión del Sistema de la Calidad.
- Asegurar la existencia y ejecución del plan y programa de calibración, verificación y mantenimiento de equipos.
- Asegurar el cumplimiento de los requisitos que establezca el sistema de calidad para los equipos a su cargo: inventario, identificación, designación de responsables, mantenimiento, calibración, anomalías, etc.
- Asegurar la existencia y ejecución del plan de formación y programa de cualificación del personal a su cargo, cuando ésta se pueda llevar a cabo sin concurrencia externa. Proponer al Jefe de Área el plan de formación y programa de cualificación del personal a su cargo cuando se requiera concurrencia externa.
- Asegurarse de la emisión/actualización de los PNT específicamente vinculados a su cargo, así como de su aprobación final y puesta en circulación.
- Asegurarse de la revisión de la documentación externa que se vaya a incluir en el Sistema de Calidad y de su aprobación y control, que garantice que siempre se utiliza la última edición válida en el caso de que se trate de las normas de ensayo
- Asegurar la trazabilidad de las medidas con respecto a patrones nacionales o internacionales, hasta donde sea aplicable y posible.
- Evaluar las propuestas de no conformidad, y en caso de aceptación decidir, junto con el JGC, sobre las acciones correctivas a seguir.
- Asegurar la evaluación, revisión, registro y control de los Trabajos No Conformes en su ámbito de responsabilidad
- Revisar la implantación y adecuación de las acciones correctivas y preventivas que le atañan.
- Responsabilizarse de la elaboración y firma de los informes finales de ensayo.
- Responsabilizarse de la evaluación de la calidad de los ensayos
- Responsabilizarse de la validación de ensayos
- Conocer las funciones y responsabilidades del personal a su cargo, y asegurarse de su cumplimiento.
- Gestionar técnicamente la adquisición de nuevos equipos, incluyendo programas informáticos, cuyas características técnicas se ajusten a las necesidades requeridas.
- Gestionar técnicamente las reparaciones y sustituciones de los equipos a su cargo.
- Realizar las gestiones oportunas para asegurar que las condiciones ambientales que afectan tanto a los ensayos como al personal a su cargo sean las adecuadas.

ANEXO 24: REGISTRO DE AUTORIZACIÓN PARA EJERCER FUNCIONES COMO JEFE DE GARANTÍA DE CALIDAD

TAREA PARA LA QUE ESTÁ AUTORIZADO	PERSONA QUE AUTORIZA		ENTERADO/ CONFORME TITULAR AUTORIZACIÓN
	Fecha	Firma y Siglas Calidad	Firma y Siglas Calidad

REGISTRO DE AUTORIZACIÓN PARA EJERCER FUNCIONES DE JGC		
TITULAR	Nombre y Apellidos:	
	Puesto Tipo:	Unidad destino:

ACTIVIDADES DEL RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

Es el responsable de la gestión del Sistema de la Calidad de acuerdo con la norma UNE-EN ISO/IEC 17025, siendo independiente de la actividad analítica o de ensayo. Sus funciones son, básicamente aunque no en exclusiva, las siguientes:

- Actuar como interlocutor del Centro ante la Entidad de Acreditación en lo que se refiere a la acreditación según UNE-EN ISO/IEC 17025.
- Convocar las reuniones de revisión del Sistema de la Calidad y elaborar, distribuir y archivar los informes de dichas reuniones.
- Participar en la elaboración del Manual de la Calidad.
- Elaborar o actualiza los POG.
- Asegurar el mantenimiento y custodia del original de todos los documentos generales (MDC, POG) del Sistema de Calidad, tanto en vigor como históricos.
- Asegurar el mantenimiento y custodia del original de todos los documentos particulares del Centro. (PC, PNT, etc.) del Sistema de Calidad, tanto en vigor como históricos.
- Distribuir y controlar todos los documentos en vigor del Sistema de la Calidad, en su Centro.
- Elaborar y promover, en colaboración con la Unidad de Formación, los planes de formación en calidad del personal del Centro.
- Realizar y participar en la formación en Sistemas de Calidad del personal.
- Gestionar los Trabajos No Conformes, las Acciones Correctivas y las Acciones Preventivas según lo descrito en el MDC.
- Asegurar el archivo de los originales de los siguientes registros de personal: declaración de salvaguardia, curricula vitae, registros de cualificación/recualificación, registros de autorización y fichas descriptivas de puesto tipo
- Asegurar el archivo de los registros generados en la cooperación con Organismos de Acreditación y/o Certificación.
- Fijar, junto con los Responsables Técnicos y el Director de Centro, la periodicidad de las Auditorías Internas de acuerdo a la norma UNE-EN ISO/IEC 17025, programarlas, coordinarlas y dirigir las.
- Asegurar el archivo de los registros generados en las Auditorías Internas y externas de acuerdo a la norma UNE-EN ISO/IEC 17025.

ANEXO 25: REGISTRO DE AUTORIZACIONES

REGISTRO DE AUTORIZACIÓN PARA EJERCER TAREAS CUALIFICADAS POR UN RT DISTINTO AL QUE EXTIENDE LA AUTORIZACIÓN			
	TITULAR	Nombre y Apellidos:	
		Puesto Tipo:	Unidad destino:
TAREA PARA LA QUE ESTÁ AUTORIZADO	PERSONA QUE AUTORIZA		ENTERADO/ CONFORME TITULAR AUTORIZACIÓN
		Fecha	Firma y Siglas Calidad

Área/Unidad:	Fecha:
---------------------	---------------

ANEXO 33: FORMATO REGISTRO DE ENTRADA/SALIDA DE EQUIPOS

	REGISTRO DE ENTRADA / SALIDA DE EQUIPOS
--	--

<input type="checkbox"/> SALIDA <input type="checkbox"/> ENTRADA (Táchese lo que no proceda)	
Fecha de salida/entrada:	
Código de identificación (si se trata de material propio):	
Código de inventario administrativo:	
Descripción/Nombre:	
Causa razonada de la salida/entrada:	
Periodo estimado de ausencia:	
Depositario:	
Institución a la que pertenece el depositario (si procede):	
Firma y fecha del Responsable Técnico	Firma y fecha del Depositario:
Fdo.:	Fdo.:
Fecha:	Fecha:
Fecha de devolución:	
Estado a la devolución:	
Observaciones:	
Firma y fecha de la persona que recibe la devolución:	
Fdo.:	
Fecha:	

10. BIBLIOGRAFÍA

- *AFNOR FD T 90-522* Qualité de l'eau - Guide technique de prélèvement pour la recherche de Legionella dans les eaux
- *AFNOR FD T 90-523-1* Qualité de l'eau - Guide de prélèvement pour le suivi de la qualité des eaux dans l'environnement. Partie 1: Prélèvement d'eau superficielle
- *AFNOR FD T 90-523-1* Qualité de l'eau - Guide de prélèvement pour le suivi de la qualité des eaux dans l'environnement. Partie 3: Prélèvement d'eau souterraine
- *AFNOR FD X 31-100* Qualité des sols – Échantillonnage – Méthode de prélèvement d'échantillons de sol
- *AFNOR FD X 31-615* Qualité du sol – Méthodes de détection et de caractérisation des pollutions
- ASTM – Design and Protocol for Monitoring Indoor Air Quality
- ASTM – New Approaches to Monitoring Aquatic Ecosystems
- ASTM – Sampling and Calibration for Atmospheric Measurements
- *ASTM D3370-10* – Standard practices for Sampling Water from Closed Conduits
- *ASTM D4220-95* – Standard practices for Preserving and Transporting Soil Samples
- *ASTM D6169/D6169M* – Standard guide for selection of Soil and Rock Sampling Devices Used with Drill Rigs for Environmental Investigations
- *ASTM D6907-05* - Standard Practice for Sampling Soils and Contaminated Media with Hand-Operated Bucket Augers
- *ASTM D6911-03* - Standard Guide for Packaging and Shipping Environmental Samples for Laboratory Analysis
- *ASTM E2770-10* - Standard Guide for Operational Guidelines for Initial Response to a Suspected Biothreat Agent
- *Brock Biology of Microorganisms 2010 (13th Edition)*. Madigan, Martinko, Stahl & Clark, ISBN 978-0321649638
- *CEA-ENAC-01 Rev. 9*: Octubre 2012. Criterios para la utilización de la marca ENAC en referencia a la condición de acreditado
- *CEA-ENAC-LC/02 Rev. 1*: Enero 1998. Expresión de la Incertidumbre de Medida en las Calibraciones
- *CGA-ENAC-LEC Rev. 5*: Octubre 2009. Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE-EN-ISO/IEC 17025
- *Chun-Chieh Tseng, Chih-Shan Li (2005) Collection efficiencies of aerosol samplers for virus-containing aerosols*. Journal of Aerosol Science 36, 593–607
- *D 4220 – 95* Standard Practices for Preserving and Transporting Soil Samples
- *D 6907 – 05* Standard Practice for Sampling Soils and Contaminated Media with Hand-Operated Bucket Augers
- *D 6169/D6169M - 13* Standard Guide for Selection of Soil and Rock Sampling Devices Used With Drill Rigs for Environmental Investigations
- *Dart, A. and Thornburg, J. (2008) Collection efficiencies of bioaerosol impingers for virus-containing aerosols*. Atmos Environ 42, 828–832
- *Directiva 1999/45/CE* del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de mayo de 1999, sobre la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros relativas a la clasificación, el envasado y el etiquetado de preparados peligrosos
- *Directiva 2000/54/CE* del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (Séptima Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE)
- *Dominguez, A., 2002*. Vacunas 2002;3:45-7
- *EAL-G19 Rev. 1*: Junio 1996. Calibración y Mantenimiento de equipos de medida y ensayo en laboratorios de ensayo
- *FD X31-615* Qualité de sol. Méthodes de détection et de caractérisation des pollutions. Prélèvements et échantillonnage des eaux souterraines dans un forage
- *Guía ISO 35:2006* Reference materials - General and statistical principles for certification
- *ISO 13137:2013*. Workplace atmospheres – Pumps for personal sampling of chemical and biological agents – Requirements and test methods

- *Guía técnica para la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual*. 2ª edición, Diciembre 2012 (INSHT)
- *Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2013–2014* Organización Mundial de la Salud (WHO/HSE/GCR/2012.12)
- *Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos*. Mayo 2014 (INSHT)
- *Guía técnica para la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual*. 2ª edición, Diciembre 2012 (INSHT)
- *G-CSQ-02 Rev. 0*: Octubre 1996. Guía para laboratorios que realizan Validaciones de Métodos de Análisis Químicos
- *G-ENAC-09 Rev. 1*: Julio 2005. Guía para la expresión de incertidumbre de los ensayos cuantitativos
- *G-ENAC-14 Rev. 1*: Septiembre 2008. Guía sobre la participación en ensayos de intercomparación
- *G-ENAC-15 Rev. 1*: Julio 2009. Directrices para informar sobre cumplimiento con especificaciones (ILAC G8:03/2009)
- *G-ENAC-08 Rev. 2*: Noviembre 2009. Acreditación de ensayos no destructivos
- *ISO 16000-16:2008*. Indoor air – Part 16: Detection and enumeration of moulds – Sampling by filtration
- *ISO 5667-1* Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques
- *ISO 5667-4:1987* Water quality. Sampling. Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and man-made
- *ISO 5667-6:2005* Water quality. Sampling. Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams
- *ISO 5667-9:1992* Water quality. Sampling. Part 9: Guidance on sampling from marine waters
- *ISO 5667-10 1992*. Water quality. Sampling. Part 10: Guidance on sampling of waste rivers
- *ISO 5667-11:2009* Water quality. Sampling. Part 11: Guidance on sampling of groundwaters
- *ISO 5667-12 1995*. Water quality. Sampling. Part 11: Guidance on sampling of bottom sediments
- *ISO 5667-14 1998*. Water quality. Sampling. Part 14: Guidance on quality assurance and quality control of environmental water sampling and handling
- *ISO 5667-15:2009* Water quality. Sampling. Part 15: Guidance on the preservation and handling of sludge and sediment samples
- *ISO 5667-20 1995*. Water quality. Sampling. Part 20: Guidance on the use of sampling data for decision making – Compliance with thresholds and classification systems
- *ISO 5667-21 2010*. Water quality. Sampling. Part 21: Guidance on sampling of drinking water distributed by tankers or means other than distribution pipes
- *ISO 5815 1989*. Water quality – Determination of biochemical oxygen demand after 5 days (BOD5)
- *ISO 8422* Sequential sampling plans for inspection by attributes
- *ISO 16000-16:2008* Indoor air – Part 16: Detection and enumeration of moulds – Sampling by filtration
- *ISO 10381-1:2007* Calidad del suelo. Muestreo. Parte 1: Directrices para el diseño de los programas de muestreo
- *ISO 10381-2:2007* Calidad del suelo. Muestreo. Parte 2: Directrices sobre técnicas de muestreo
- *ISO 10381-6:2009* Calidad del suelo. Muestreo. Parte 6: Directrices para la toma de muestra, la manipulación y la conservación de suelos destinados a un estudio en laboratorio de procesos microbianos aerobios
- *ISO 11074-2:2005* Calidad del suelo. Vocabulario. Parte 2: Términos y definiciones relativos al muestreo
- *ISO 16000-19:2012* Indoor air – Part 19: Sampling strategy for moulds
- *ISO 18512:2007* Soil quality – Guidance on long and short term storage of soil samples
- *ISO 18512* Soil quality – Guidance on long and short term storage of soil samples
- *ISO 5667-4:1987*. Water quality. Sampling. Guidance on sampling from lakes, natural and man-made
- *ISO 5667-5:2006*. Water quality. Sampling. Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems
- *ISO 5667-6:2005*. Water quality. Sampling. Guidance on sampling of rivers and streams
- *ISO 5667-9:1992*. Water quality. Sampling. Guidance on sampling from marine waters
- *Lin, X., Willeke, K., Ulevicius, V. and Grinsbpun, S.* (1997) Effect of sampling time on the collection efficiency of all-glass impingers. *Am Ind Hyg Assoc J* 58, 480–488

- *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio 2005* (Tercera edición) Organización Mundial de la Salud (ISBN 92 4 354650 3)
- *Manual de Calidad del CNSA*, ISCIII, Subdirección General de Servicios Aplicados, Formación e Investigación. Edición 8
- *Muestreo y Descripción de Suelos*. J.M. Hodgson. Editorial Reverté, 1987
- *NTP 609:2001 (INSHT)* – Agentes biológicos: equipos de muestreo (I)
- *NTP 610:2001 (INSHT)* – Agentes biológicos: equipos de muestreo (II)
- *NTP 772:2007 (INSHT)* – Ropa de protección contra agentes biológicos
- *NT- 18 ENAC. Rev. 1:* Junio 2004. Laboratorios de Ensayo: Acreditación para Categorías de Ensayo
- *NT- 20 ENAC. Rev. 2:* Julio 2007. Alcances de acreditación: Ensayos de agua
- *NT- 43 ENAC. Rev. 1:* Septiembre 2008. Laboratorio de ensayo: acreditación de muestreo y toma de muestras
- *NT-03 Rev.5:* Septiembre 2012. Política de ENAC sobre Intercomparaciones
- *PAC-ENAC-LEC Rev. 4:* Julio 2010. Procedimiento de Acreditación de laboratorios
- *Posada, M.*, 2001. Bioterrorismo y salud pública. Gaceta Sanitaria, 15 (6), 477-480
- *Real Decreto 255/2003*, de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos
- *Real Decreto 664/1997* de 12 de mayo sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (BOE nº 124, de 24 de mayo de 1997)
- *Real Decreto 773/1997*, de 30 de mayo, sobre disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual
- *Serna, M.J.B., Flecha, I.C., Eiros-Bouzaa, J.M., Nieto, R.E., Fedele, C.G., García, I.J., Sánchez, F.P., Muñoz, J.M.R., Fariñas, M.P., Ramosa, S.V., Ortes, J.V.*, 2007. Enferm Infecc Microbiol Clin 2007, 25(3), 190-198
- *Thavaselvam, D.*, 2010. J Pharm Bioallied Sci. Jul-Sep, 2(3), 179-188. DOI: 10.4103/0975-7406.68499
- *UNE 77213:1997* Calidad del aire. Definiciones de las fracciones de los tamaños de partículas para el muestreo asociado a problemas de salud
- *UNE-CEN/TS 16115-1:2013* Calidad del aire ambiente. Medición de bioaerosoles. Parte 1: Determinación de mohos mediante sistemas de muestreo de filtros y análisis de cultivos
- *UNE-EN 12176:1998*. Caracterización de lodos. Determinación del valor del pH
- *UNE-EN 12341:2015* Aire ambiente. Método de medición gravimétrico normalizado para la determinación de la concentración másica PM10 o PM2,5 de la materia particulada en suspensión
- *UNE-EN 12879:2001*. Caracterización de lodos. Determinación de la pérdida de peso por calcinación de la materia seca
- *UNE-EN 12880:2001*. Caracterización de lodos. Determinación de la humedad y del contenido en materia seca
- *UNE-EN 13039 2001*. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación del contenido en materia orgánica y de las cenizas
- *UNE-EN 13098-1:2001*. Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la medición de microorganismos y endotoxinas en suspensión en el aire
- *UNE-EN 13137 2002*. Caracterización de residuos. Determinación de carbono orgánico total (TOC) en residuos, lodos y sedimentos
- *UNE-EN 13342:2001*. Caracterización de lodos. Determinación del nitrógeno Kjeldhal
- *UNE-EN 13346:2001*. Caracterización de lodos. Determinación de elementos traza y de fósforo. Métodos por extracción con agua regia
- *UNE-EN 14126:2004/AC: 2006*. Ropa de protección. Requisitos y métodos de ensayo para la ropa de protección contra agentes biológicos
- *UNE-EN 14671:2007*. Caracterización de lodos. Pretratamiento para la determinación del amoníaco extraíble usando 2 mol/l de cloruro potásico
- *UNE-EN 14672:2006*. Caracterización de lodos. Determinación de fósforo total

- *UNE-EN 1569 2007*. Caracterización de residuos. Determinación de las pérdidas por calcinación de residuos, lodos y sedimentos
- *UNE-EN 16179* Lodos, residuos biológicos tratados y suelos. Orientaciones para el pretratamiento de las muestras. Prueba de composición
- *UNE-EN ISO 13137:2014* Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para muestreo personal de los agentes químicos y biológicos. Requisitos y métodos de ensayo
- *UNE-EN ISO 16000-1:2006* Aire de interiores. Parte 1: Aspectos generales de la estrategia de muestreo
- *UNE-EN ISO 19458:2007* Calidad del agua. Muestreo para el análisis microbiológico
- *UNE-EN ISO 5667-1:2007* Calidad del agua. Muestreo. Parte 1: Guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo
- *UNE-EN ISO 5667-13:2011*. Calidad del agua. Muestreo. Parte 13: Guía para el muestreo de lodos Prueba de composición
- *UNE-EN ISO 5667-15:2010*. Calidad del agua. Muestreo. Parte 15: Guía para la conservación y manipulación de muestras de lodo y sedimentos
- *UNE-EN ISO 5667-16:1999*. Calidad del agua. Muestreo. Parte 16: Guía para los ensayos biológicos de muestras
- *UNE-EN ISO 5667-23:2011*. Calidad del agua. Muestreo. Parte 23: Guía para el muestreo pasivo en aguas superficiales
- *UNE-EN ISO 5667-3:2013*. Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Conservación y manipulación de las muestras de agua
- *UNE-EN ISO 9000:2005*. Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y vocabulario
- *UNE-EN ISO/IEC 17000: 2004 y ERRATUM: 2005*. Evaluación de la conformidad. Vocabulario y principios generales
- *UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 y ERRATUM: Dic. 2006*. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración
- *UNE-ISO 10381-1:2007*. Calidad del suelo. Muestreo. Parte 1: Directrices para el diseño de los programas de muestreo
- *UNE-ISO 10381-2:2007*. Calidad del suelo. Muestreo. Parte 2: Directrices sobre técnicas de muestreo
- *VDI 4252 Part 2 (2004)* Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air. Active sampling of bioaerosols. Separation of airborne moulds on gelatine/polycarbonate filters
- *VDI 4252 Part 3 (2008)* Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air. Active sampling of bioaerosols. Separation of airborne bacteria with impingers using the principle of critical nozzle
- *X 31-100* Qualité des sols. Échantillonnage. Méthode de prélèvement d'échantillons de sol

