


<b>aoxlab</b>	Procedimiento para el manejo de cepas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-055
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2024-09-27

# Procedimiento para el manejo de cepas

AOXLAB S.A.S

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>


DOCUMENTO CONTROLADO  
**PROC-TC-055 Procedimiento para el manejo de cepas**

Copia controlada No. :1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
<b>Elaboró:</b>	Lorena Correa Restrepo	Líder de laboratorio		2024-09-26
<b>Revisó:</b>	Angela P. Patiño Pérez	Director de calidad		2024-09-26
<b>Aprobó:</b>	Jonatan Zárate Álvarez	Director técnico		2024-09-27
<b>Localización del documento:</b>		Plataforma SGC		


**Control de Cambios**

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2017/08/12	1	Ninguno (versión original).	LVLS	MEAC	YELP
Obsoleto	2021-12-10	2	Se actualiza procedimiento y se ajusta al estilo establecido en el manual de identidad	YMRM	DPP	YELP
Obsoleto	2022-11-04	3	Se modifica el tiempo de exposición de las placas inoculadas con la cepa <i>Aspergillus brasiliensis</i> , indicado en el numeral 2.2 y el tiempo requerido en la desinfección de la cabina en el numeral 4.1.4	YMRM	APPP	DPP
Vigente	2024-09-27	4	Se cambia frecuencia de pases de la cepa de trabajo quincenal a mensual, se deja ítem de período de vencimiento de cepas de trabajo y las indicaciones y frecuencia de las pruebas bioquímicas usando kit comercial	YLCR	APPP	JOZA

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

## Tabla de Contenido

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.....	4
1.1.	OBJETIVO:.....	4
1.2.	Alcance .....	4
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	4
2.1.	Definiciones .....	4
2.2.	Notaciones.....	4
3.	REFERENCIAS.....	5
4.	DESARROLLO.....	5
4.1.	Actividades previas.....	5
4.1.1.	Inspección del material de referencia.....	5
4.1.2.	Medidas de bioseguridad.....	5
4.1.3.	Estabilidad.....	6
4.1.4.	Verificación de equipos y áreas de ensayo.....	6
4.1.5.	Medidas de contingencia en caso de derrames.....	6
4.2.	Patrones y equipos de medición.....	6
4.3.	Materiales y consumibles .....	6
4.4.	Reactivos y/o soluciones: .....	7
5.	INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....	8
5.1.1	Instrucciones de reconstitución de cepas cualitativas .....	8
5.1.2	Instrucciones de reconstitución de cepas Epower™ cuantitativas o concentración conocida:.....	11
5.3	Instrucciones para obtener las cepas de trabajo .....	13
5	CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO.....	14
6	RESPONSABILIDADES.....	14
a.	Director técnico.....	14
b.	Líder de Calidad.....	15
c.	Líder de Laboratorio.....	15
d.	Analista.....	15
7	FORMATOS RELACIONADOS.....	16
9.	ANEXOS.....	16

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE

### 1.1.OBJETIVO:

Establecer a través del siguiente instructivo, el procedimiento adecuado para la conservación de cepas microbianas a partir de cepa pura nativa o de colección y su correcto manejo y registro.

### 1.2. Alcance

Este procedimiento aplica para las cepas de referencias, reserva y trabajo que se utilizan para la realización de algunos de los procedimientos de ensayo y control de calidad, así como cepas de clientes que son sometidas a identificación bioquímica. Este procedimiento debe ser aplicado por todas las personas que realicen actividades de apoyo en el Laboratorio de Microbiología.

## 2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

### 2.1. Definiciones

**Cepa de referencia [1]:** Microorganismo obtenido directamente de una colección de cultivos de referencia, por ejemplo una colección de cultivos miembro de la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (WFCC; World Federation of Culture Collections) o de la Organización Europea de Colecciones de Cultivos (ECCO; European Culture Collections' Organization) y definido como mínimo a nivel de género y especie, catalogado y descrito conforme a sus características y preferiblemente procedente de productos alimenticios para consumo humano o animal, de un entorno de producción de alimentos para consumo humano o animal, o de agua, según corresponda.

**Lote de reserva de referencia [1]:** Una serie de cultivos individuales idénticos preparados en el laboratorio o por un proveedor mediante un único subcultivo a partir de una cepa de referencia.


**Cultivo de reserva [1]:** Cultivo primario procedente de un lote de reserva de referencia.

**Cultivo de trabajo [1]:** Subcultivo procedente de un lote de reserva de referencia o de un cultivo de reserva o de un material de referencia, certificado o no.

**Material de referencia [1]:** Material que contiene una cierta cantidad de microorganismos viables, suficientemente homogéneo y estable con relación a la cantidad de microorganismos viables, y del que se ha establecido que resulta adecuado para el uso al que está destinado en un proceso de medida.

**Pase [1]:** Se define como la transferencia de un cultivo viable a un medio nuevo con crecimiento de los microorganismos. Todas las formas de subcultivo se consideran una forma de transferencia/pase.

### 2.2. Notaciones.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“Laboratorio”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“Informe de resultados”: se refiere a los informes de ensayo que emite el Laboratorio.

“Servicios”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

### 3. REFERENCIAS

[1] ISO 11133:2014 Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo (ISO 11133:2014, versión corregida 2014-11-01).

### 4. DESARROLLO.

#### 4.1. Actividades previas.

##### 4.1.1. Inspección del material de referencia.


Las cepas de referencia adquiridas por el laboratorio se deben realizar su respectivo ingreso para demostrar su trazabilidad. Para ello es importante:

- Verificar la integridad del empaque y embalaje.
- Verificar que las cepas ingresen refrigeradas conservando una temperatura entre los 2 a 8° C hasta su uso.
- Verificar que las cepas de referencias ingresen con su respectivo certificado de calidad
- Verificar que las cepas de referencia no superen la fecha de caducidad.

En caso de que los medios no presenten alguna de estas condiciones, informar de inmediato al líder del laboratorio para el respectivo proceso

##### 4.1.2. Medidas de bioseguridad.

Por tratarse de organismos vivos, se debe respetar y conservar todas las medidas de seguridad pertinentes durante la manipulación de las diferentes cepas teniendo en cuenta que se debe trabajar dentro de una cabina de bioseguridad, usar todos los implementos de protección personal necesaria para tener una manipulación controlada y evitar riesgos de contaminación tanto del personal como de las áreas y equipos involucrados. La disposición final de los materiales usados en el ensayo se les debe realizar una inactivación en autoclave para disponerse en los recipientes de residuos peligrosos del laboratorio.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

#### 4.1.3. Estabilidad.

Las condiciones de funcionamiento de los equipos que intervienen en las etapas de almacenamiento y preservación de las cepas custodiadas en el laboratorio de microbiología son monitoreadas y registradas automáticamente por el software 3sense del área.

#### 4.1.4. Verificación de equipos y áreas de ensayo

Para evitar contaminaciones durante la manipulación de las cepas se debe garantizar la desinfección de la cabina, que haya permanecido al menos 60 minutos con luz-UV encendida, se debe garantizar una adecuada limpieza y desinfección de mesones e implementos a utilizar, además haber realizado una aspersión en los ambientes de acuerdo con el PROC-TC-031.

#### 4.1.5. Medidas de contingencia en caso de derrames.

En caso de que ocurra un derrame de material biológico se debe colocar sobre el área de trabajo toallas de papel secante y retirar con mucha precaución, luego se deposita sobre el área contaminada la solución de hipoclorito de sodio al 3% y dejar actuar durante 10 minutos, posteriormente se recoge el líquido desinfectante con toallas de papel secante para luego retirar y descartar los residuos generados para su disposición final según el PROC-TC-049.


### 4.2. Patrones y equipos de medición.

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

- Agitador vortex
- Transfer pipeta de 1000 µl
- Cabina de bioseguridad
- Incubadora entre 25°C ± 2°C
- Incubadora entre 35-37°C
- Nevera de cepas 0 a 4 °C
- Ultracongelador (-75 ± 5°C)
- Nevera de almacenamiento de medios y reactivos
- Autoclave automática para medios de cultivo y materiales estériles
- Autoclave para descarte de material contaminado
- Balanza analítica 0.1 mg
- Microscopio óptico

### 4.3. Materiales y consumibles

- Puntas para transfer pipeta de 1000 µL
- Crioviales de 1.5 a 2.0 mL estériles
- Gradillas o soportes para crioviales
- Cajas de Petri plásticas estériles de 90x15mm
- Asas bacteriológicas desechables calibradas de 10 µL
- Papel Parafilm o papel vinylpel
- Frascos schott de 1000mL

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

- Frascos schott de 100mL
- Guantes de nitrilo
- Toallas de papel desechables
- Candela
- Alcohol al 70%
- Solución de hipoclorito de sodio al 3%
- Mechero
- Kit de identificación bioquímica para bacterias Gram negativas, Gram positivas, anaerobios.
- Láminas de portaobjetos y cubreobjetos
- Cristal violeta de Gram
- Safranina de Gram
- Lugol de Gram
- Alcohol acetona de Gram
- Pipetas plásticas Pasteur
- Azul de lactofenol
- Sticker para marcación de los tubos eppendorf con lote y nombre de la cepa


Material debidamente lavado, secado y esterilizado (Ver PROC-TC 026-027)

#### 4.4. Reactivos y/o soluciones:

Solución	Cantidad reactivo	Cantidad Diluyente (Agua destilada)	Observaciones
Caldo Infusión cerebro corazón (BHI) con glicerol al 20 %	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar frascos de 80 mL
Caldo Trypticasa de soja (TSA)	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar frascos de 80 mL
Agar Saboraud con cloranfenicol	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Placas de 15 a 20 mL cada una
Agar Plate count (PCA)	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Placas de 15 a 20 mL cada una
Agar Extracto de levadura dextrosa con cloranfenicol	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Placas de 15 a 20 mL cada una

#### Preparación de medio crioprotector

Se prepara la cantidad del medio de cultivo que se requiera para el uso previsto, teniendo en cuenta las especificaciones de preparación de la casa comercial usando como medio crioprotector Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), suplementado con glicerol (%v/v) al 20% de acuerdo con el PROC TC-206.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>


## 5. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

### 5.1. Reconstitución de las cepas de referencia:

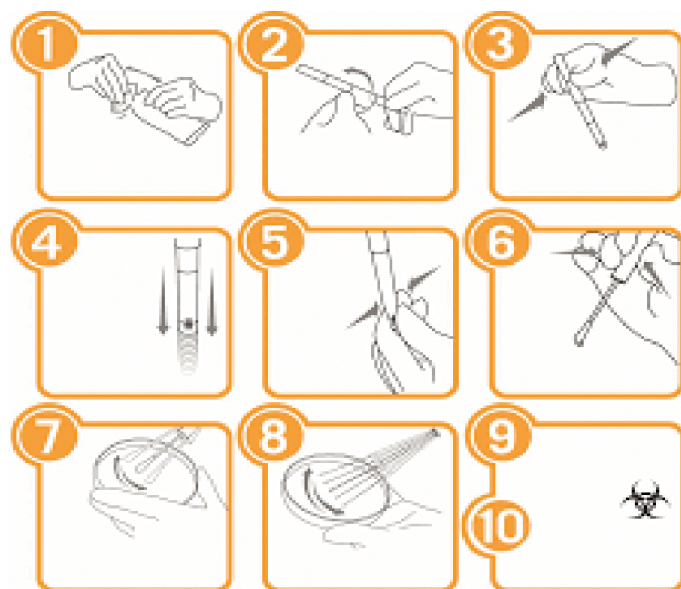
Las cepas de referencia liofilizadas adquiridas por el laboratorio de microbiología de Aoxlab pueden ser tipo cualitativas cuya concentración celular es desconocida, su presentación está constituida por una ampolla de líquido hidratante y un hisopo de inoculación contenidas en una bolsa laminada que contiene material desecante para evitar la acumulación de humedad. Las cepas de referencia cuantitativas cuya concentración celular es definida en UFC/pellet, pueden venir envasados en un frasco resellable que contienen gránulos individuales liofilizados de microorganismos o pellet y material desecante para evitar la hidratación del contenido.

#### 5.1.1 Instrucciones de reconstitución de cepas cualitativas

- Dejar reposar la bolsa de KWIK-STIK a temperatura ambiente durante 30 minutos sin abrir el empaque.
- Abrir la bolsa, rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- Retirar las etiquetas adheridas al tubo de hisopo y colocarlas en el inverso de las placas de los medios de cultivo PCA o Tripticasa de soja, agar Saboraud o agar YGC, para realizar el repique. Se recomienda no desarmar el dispositivo durante la hidratación.
- Agrietar la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante.
- Mantener en posición vertical el tubo y golpee suavemente sobre la superficie de la mesa de trabajo para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
- Presionar la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- Saturar el hisopo abundantemente con el material hidratado y transferir al medio de cultivo realizando siembra por agotamiento sobre la superficie del agar.
- Para obtener colonias aisladas en una placa de agar PCA o TSA, agar Saboraud o agar YGC, inocule en un tercio de la caja de Petri y por medio de un asa estéril, haga estrías para facilitar el aislamiento de las colonias.
- Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.


	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

- Incubar las placas invertidas de cultivo principal inoculadas a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo entre 24 y 48 horas, teniendo en cuenta las necesidades de temperatura ideal de crecimiento y de condiciones de atmósferas sin oxígeno.
- Verificar la viabilidad de las cepas observando las colonias individuales aisladas del agar Tripticasa de soja o agar Plate Count, agar Saboraud o agar YGC que presenten la morfología y tamaño típicos de cada microorganismo, a partir de una colonia realizar tinción de Gram para las bacterias y tinción con azul de lactofenol para el caso de los mohos filamentosos, pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa e indol), se debe realizar una identificación bioquímica usando kit de identificación comercial según los requerimientos de cada microorganismo cada vez que se reciban las cepas de referencia y repetirse al menos cada 6 meses para verificar las características de los microorganismos
- Verificar la pureza en medios de cultivo selectivo y diferencial de las cepas, observando el crecimiento típico y reacción en agar de cada microorganismo.
- Registrar en el formato de control de cepas de trabajo FOR-TC-046 correspondiente a cada microorganismo que contiene la información pertinente para llevar la trazabilidad tanto de las cepas de reserva como de trabajo.
- Los pasos detallados anteriormente se resumen en la siguiente ilustración:



#### Prueba de indol:

Tomar 2 colonias y transferirlas a un tubo que contiene agua peptona con triptófano, adicionar entre 4-8 gotas de reactivo kovac's y observar presencia de coloración del anillo: la reacción es positiva si el anillo es de color rojo cereza y es negativa si el anillo es amarillo-marrón.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

#### Prueba de oxidasa:

Tomar una tirilla indicadora de oxidasa, poner sobre una colonia sospechosa durante 20-60 segundos y observar coloración en la tirilla, la reacción es positiva si la tirilla toma color morado o púrpura y si es negativa la coloración es amarilla.

#### Prueba de catalasa:

Tomar 2 colonias sospechosas o típicas, extender sobre una placa portaobjetos y adicionar 1-2 gotas de peróxido de hidrógeno. La reacción es positiva si hay presencia de burbujas.

#### Tinción Gram:

Debemos coger la colonia con el asa bacteriológica previamente esterilizada, encendiendo el mechero de alcohol y ponemos el asa en posición vertical encima del mechero hasta que el hilo del extremo del asa se quede totalmente incandescente.

Esperar a que se enfríe porque si tocamos con el hilo incandescente las colonias podemos matar al microorganismo. Abrimos la placa con las bacterias y con el asa tocamos en el agar para comprobar que éste está frío.

Tomar unas colonias de las bacterias y las extendemos sobre la gota de agua destilada en un portaobjeto, fijar la muestra con calor pasando el portaobjetos sobre un mechero haciendo movimientos circulares o en zigzag por encima de la llama del mechero, levantando constantemente la muestra para que no se nos queme, se pasa el tiempo suficiente para que la muestra quede totalmente seca y por lo tanto fijada.


Se procede a realizar la tinción de acuerdo con el PROC-TC-078 "Procedimiento para tinción de Gram en microbiología"

Después de mirar al microscopio se observa:

- Si las bacterias son Gram positivas (color púrpura) o Gram negativas (color rosado)
- Forma que presentan -redondeadas (cocos) o en forma de bastoncillo (bacilos)

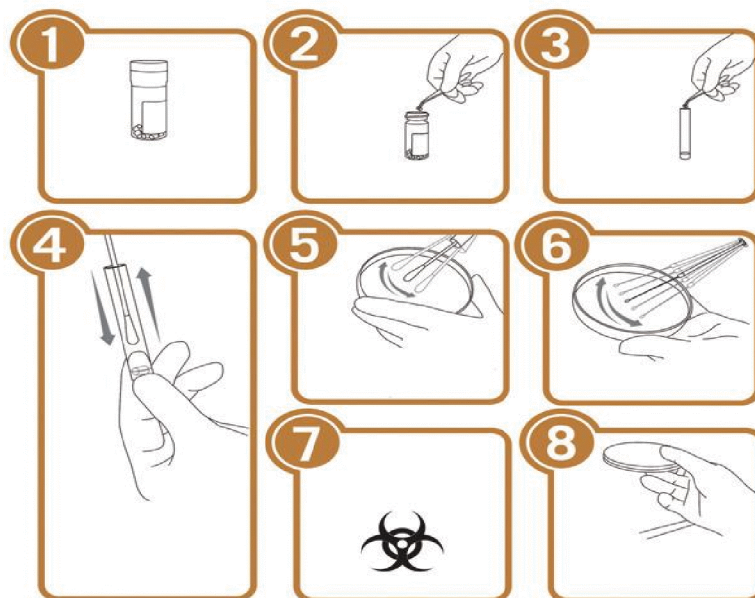
#### Identificación bioquímica con Kit comercial

La identificación bioquímica se hace siguiendo las instrucciones establecidas por el proveedor del kit comercial que se esté usando. Debe realizarse inicialmente cuando se vaya a realizar la reconstitución de cepas de referencia KWIK-STIK u otra que se maneje, adicional cada 6 meses debe realizarse esta identificación para las cepas de trabajo y confirmar que aún sigan presentando sus características bioquímicas, dejando registro de esta realización en el FOR-TC-046 "Formato de control de cepas de trabajo"


	<p>Procedimiento para el manejo de cepas AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-055</p>
		<p>Revisión: 4</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2024-09-27</p>

### 5.1.2 Instrucciones de reconstitución de cepas Epower™ cuantitativas o concentración conocida:

- Retirar el frasco de gránulos del almacenamiento refrigerado y dejar que llegue a temperatura ambiente durante 30 minutos.
- Transferir los gránulos que se requiere con ayuda de una pinza estéril de microorganismos Epower™ a tubos o frascos que contienen agua peptona previamente atemperado.
- Cerrar nuevamente el recipiente Epower™ y llevar a refrigeración de 2 °C a 8 °C.
- Colocar la suspensión de microorganismos en una incubadora a una temperatura de 34 °C a 38 °C durante 30 minutos para garantizar una completa hidratación.
- Mezclar el material hidratado hasta obtener una suspensión homogénea.
- Realizar las pruebas requeridas en el laboratorio en un plazo de 30 minutos posterior al proceso de hidratación para evitar un cambio en la concentración de la suspensión de provocación.
- Los pasos detallados anteriormente se resumen en la siguiente ilustración:



Los microorganismos Epower están disponibles en una variedad de concentraciones según el volumen del diluyente donde se reconstituye. Estas concentraciones se identifican mediante el código que es aportado (Ver imagen 1).

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

Concentración de gránulos	Ejemplos de concentración (UFC/ml) en el volumen de fluido hidratante especificado		
	1 ml	10 ml	100 ml
E2	De 100 a 999	De 10 a 99	De 1 a 9
E3	De 1000 a 9999	De 100 a 999	De 10 a 99
E4	De 10 000 a 99 999	De 1000 a 9999	De 100 a 999
E6	De 1 000 000 a 9 999 999	De 100 000 a 999 999	De 10 000 a 99 999
E7	De 10 000 000 a 99 999 999	De 1 000 000 a 9 999 999	De 100 000 a 999 999
E8	De 100 000 000 a 999 999 999	De 10 000 000 a 99 999 999	De 1 000 000 a 9 999 999

Imagen 1: Niveles de concentración de provocación, según código de catálogo.

## 5.2 Instrucciones para obtener cepas de reserva


Las cepas de reserva se obtienen a partir preparase a partir de cultivos de reserva de referencia ultracongelados o liofilizados, Las alícuotas se deben manipular de forma que se evite la posible contaminación cruzada del cultivo de reserva de referencia y/o su deterioro

- Rotular los tubos o crioviales individuales donde se almacenan las Cepas de reserva, (previamente a la inoculación) indicando el nombre del microorganismo, ATCC
- Con el asa bacteriológica desechable estéril recoger por extensión la masa celular.
- Inocular el desarrollo microbiano obtenido en el numeral 4.7.1 asépticamente en los frascos que contiene caldo BHI o caldo TSA suplementado con glicerol y homogenizar vigorosamente.
- Servir asépticamente 1mL de la suspensión microbiana en cada criovial asegurando la homogenización periódica de la suspensión madre.
- Almacenar los crioviales en su respectiva gradilla en el ultracongelador a  $-75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 3 años, registrar la información contenida en el Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio FOR-TC-024.

### Tiempo de conservación y almacenamiento de cepas

El tiempo de conservación de las cepas después de su reconstitución será de tres años, en los cuales debe llevarse el registro de pureza, viabilidad y características bioquímicas cuando aplique registrándose los datos obtenidos en el FOR-TC-046 "Formato de control de cepas de trabajo"

**Nota:** Para los controles de calidad de laboratorio, no pueden emplearse cepas que hayan pasado su fecha de vencimiento, por lo que deberá solicitarse su compra al menos 2 meses antes.


	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

### 5.3 Instrucciones para obtener las cepas de trabajo

- Retirar y atemperar los crioviales almacenados en el ultracongelador durante 10 minutos en la incubadora de 35 a 37°C.
- Mantener un recipiente con solución preparada de hipoclorito de sodio al 3% para descartar las asas contaminadas.
- Rotular el inverso de las placas o tubos individuales de medios no selectivo y selectivos para cada microorganismo para verificar la pureza y viabilidad de las cepas de trabajo, indicando género y especie del microorganismo, número de ATCC, lote de la cepa de reserva y fecha del pase.
- Tomar un inóculo con el asa bacteriológica estéril.
- Sembrar por agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre placas de agar Trypticase de soja o agar Plate Count, agar Saboraud o agar YGC o líquido en tubos que contienen 10 mL Caldo Infusión cerebro corazón o Agua peptona.
- Incubar las placas invertidas de acuerdo con las condiciones de crecimiento de cada microorganismo de temperatura y disponibilidad de oxígeno durante 24-48 horas.
- Verificar la pureza en medios de cultivo selectivo y diferencial de las cepas, observando el crecimiento típico y reacción en agar de cada microorganismo y realizar tinción de Gram en el caso de las bacterias y tinción con azul de lactofenol para el caso de los mohos filamentosos, pruebas bioquímicas básicas (catalasa, oxidasa, indol), cada mes.
- Cubrir las placas con papel vinylpel o cinta Parafilm para evitar la deshidratación del medio de cultivo y almacenar en nevera de cepas entre 0 a 4 °C por un periodo de 30 días
- Desechar el criovial utilizado, teniendo en cuenta que no se debe volver almacenar, siguiendo las recomendaciones PROC-TC-049 Procedimiento para el manejo y disposición final de reactivos químicos y residuos peligrosos.
- Registrar en el formato de control de cepas de trabajo FOR-TC-046 correspondiente a cada microorganismo que contiene la información pertinente para llevar la trazabilidad tanto de las cepas de reserva como de trabajo.

**Nota:** Incubar en condiciones de anaerobiosis aquellas cepas que requieren una atmósfera de microaerofilia en jarras y sobres de Anaerogen 2.5 L.

### 5.3 MANEJO DE CEPAS IDENTIFICADAS DE CLIENTES, PRUEBAS INTERLABORATORIOS, Y CEPAS DE SUPERVISIÓN INDIRECTA

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

En la nevera de cepas podrán almacenarse las cepas identificadas de clientes, pruebas interlaboratorio y cepas de supervisión indirecta, teniendo la precaución de que éstas se encuentren puras y viables en medio de cultivo nutritivo o específico del microorganismo, debidamente selladas con Parafilm o papel vinylpel para evitar la deshidratación de los medios de cultivo y rotuladas con su respectivo código de identificación.

Cepas identificadas de clientes: las cepas de clientes que son sometidas a identificación bioquímica se guardará registro fotográfico de las placas que presenten colonias características y reacciones típicas en agar ya sean en medios de cultivos nutritivos o específicos de los microorganismos de interés, con el fin de conservar trazabilidad y evidencia para futuras investigaciones y detección de resultados emitidos al cliente. El tiempo de almacenamiento de las placas será de un mes una vez generado el informe final.

Pruebas interlaboratorio: Los repiques, pases y/o inóculos de ensayos interlaboratorio que se almacenan en la nevera de cepas se deberán eliminar una vez realizado el informe de resultados y se guardará registro fotográfico de ser necesario.

Las cepas de supervisión indirecta: una vez recibidos los resultados por parte del laboratorio de salud pública de la secretaria de salud deberán ser descartados las cepas, pases o inóculos de identificación, y se deberá informar al líder de laboratorio la fecha de eliminación del material contaminado.


La eliminación de los residuos biológicos se realizará siguiendo las recomendaciones del PROC-TC-049 Procedimiento para el manejo y disposición final de reactivos químicos y residuos peligrosos.

## 5 CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO


Las cepas de referencia con fecha de vencimiento superada, si no se han activado, deberán eliminarse como residuo de riesgo biológico y no podrán ser aceptadas para la realización de cepas de reserva. Cepas de reserva que presenten algún tipo de alteración a nivel de pureza, viabilidad, alteraciones fenotípicas o genotípicas no se aceptarán para la realización de cepas de trabajo y se deberán rechazar inmediatamente según PROC-TC-049 Procedimiento para el manejo y disposición final de reactivos químicos y residuos peligrosos. Las cepas de trabajo que presenten algún tipo de contaminación y/o alteración antes de 30 días no podrán emplearse en análisis y deberán ser descartadas como residuo de riesgo biológico.

## 6 RESPONSABILIDADES.

- a. Director técnico.
  - Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
  - Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
  - Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
  - Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.
- b. Líder de Calidad.
- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
  - Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
  - Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.
- c. Líder de Laboratorio.
- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
  - Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
  - Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
  - Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
  - Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
  - Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
  - Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.
- d. Analista.
- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
  - Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
  - Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
  - Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
  - Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
  - Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
  - Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
  - Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
  - Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
  - Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

	<b>Procedimiento para el manejo de cepas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-055</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2024-09-27</b>

## 7 FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-046 "Formato de control de cepas de trabajo"

FOR-TC-045 "Formato para el registro de información y asignación de lote de las soluciones preparadas para uso en los ensayos"

FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio."

## 9. ANEXOS

### CEPAS DE REFERENCIA ADQUIRIDAS EN PLAN DE TRABAJO DE LABORATORIO AOXLAB S.A.S

CEPAS CUALITATIVAS		
CODIGO	ATCC	MICROORGANISMO
C009	10231	<i>Candida albicans</i>
C024	6538	<i>Staphylococcus aureus</i>
C026	25923	<i>Staphylococcus aureus</i>
C022	14028	<i>Salmonella typhimurium</i>
C008	27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C021	15442	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C023	19115	<i>Listeria monocytogenes</i>
C016	25922	<i>Escherichia coli</i>
C027	4356	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
C018	13048	<i>Klebsiella aerogenes</i>
C017	12228	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
C020	10876	<i>Bacillus cereus</i>
C025	13124	<i>Clostridium perfringens</i>
C019	43534	<i>Oligella ureolytica</i>
CEPAS CUANTITATIVAS		
CODIGO	ATCC	MICROORGANISMO
C009	10231	<i>Candida albicans</i>
C003	29212	<i>Enterococcus faecalis</i>
C006	25923	<i>Staphylococcus aureus</i>
C016	14028	<i>Salmonella typhimurium</i>
C008	27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C015	9338	<i>Lactobacillus fermentum</i>
C010	8739	<i>Escherichia coli</i>
C014	16404	<i>Aspergillus brasiliensis</i>

