


<b>aoxlab</b>	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

## **Determinación de *Staphylococcus aureus* por el método recuento en placa según AOAC**

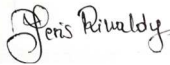
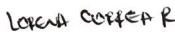
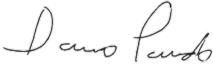
**AOXLAB S.A.S**


	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

## DOCUMENTO CONTROLADO

### PROC-TC-022 Determinación de *Staphylococcus aureus* por el método recuento en placa según AOAC


Copia controlada No. : 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
<b>Elaboró:</b>	Yeris Mercedes Rinaldy Mojica	Analista de microbiología		2023-05-29
<b>Revisó:</b>	Lorena Correa Restrepo	Líder de Laboratorio		2023-06-02
<b>Aprobó:</b>	Dario Pardo Pardo	Director técnico		2023-06-02
<b>Localización del documento:</b>	<a href="http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig">http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig</a>			

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>


### Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2020-07-13	1	Ninguno (versión original).	YLCR/YMRM	DPP	YELP
Obsoleto	2021-10-01	2	Se realiza cambio de logo, se indican condiciones de manejo petrifilm, se cambia listado de matrices por alimentos	YLCR	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 4.1.3	YMRM	DPP	YELP
Vigente	2023-06-02	4	Se actualiza la referencia bibliográfica de los documentos normativos	YMRM	APPP	YMRM

	<p align="center"> <b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b> </p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

## Contenido

<b>1. OBJETIVO Y ALCANCE.</b>	<b>5</b>
1.1 Objetivo.	5
1.2 Alcance	5
<b>2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.</b>	<b>5</b>
2.1 Definiciones.	5
2.2 Notaciones.	6
<b>3. REFERENCIAS.</b>	<b>7</b>
<b>4. DESARROLLO.</b>	<b>8</b>
4.1 Actividades previas.	8
4.1.1 Inspección de la muestra.	8
4.1.2 Estabilización.	8
4.1.3 Verificación de equipos y áreas de ensayo	9
4.1.4 Manejo de la muestra.	9
4.1.6 Medidas de seguridad.	9
4.2 Patrones y equipos de medición.	10
4.3 Materiales y consumibles	10
4.4 Reactivos y/o soluciones:	10
<b>5. Instrucciones de ensayo</b>	<b>11</b>
5.1 Preparación de soluciones de trabajo	11
5.2 Preparación de la suspensión inicial (dilución 10 <sup>-1</sup> )	11
5.3 Preparación de las diluciones seriadas para recuento en placa	11
5.4 Siembra en placa petrifilm	12
5.5 Interpretación de Resultados y cálculos	12
<b>6. Aseguramiento de la calidad</b>	<b>13</b>
<b>7. RESPONSABILIDADES.</b>	<b>14</b>
7.1 Director técnico.	14
7.2 Director de Calidad.	14
7.3 Líder de Laboratorio.	14
7.4 Analista.	14
<b>8. FORMATOS RELACIONADOS.</b>	<b>15</b>
<b>9. ANEXOS.</b>	<b>15</b>

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE.

### 1.1 Objetivo.

Describir la metodología para la enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de recuento en placa empleando las placas petrifilm® STX

### 1.2 Alcance

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Recuento en placa de <i>Staphylococcus aureus</i>	AOAC 2003.07 (2023) [6]	Petrifilm


Este método se aplica para alimentos de consumo humano

## 2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

### 2.1 Definiciones.

#### ***Staphylococcus aureus* [1]:**

Se trata de una bacteria perteneciente a la familia Staphylococcaceae. Son cocos anaerobios facultativos agrupados en racimos, gram-positivos, inmóviles y no esporulados. Entre sus características más distintivas encontramos la producción de factores de virulencia como coagulasas y catalasas que se utilizan para las pruebas confirmatorias tras el aislamiento. Es un microorganismo ampliamente distribuido a nivel mundial y que actúa como comensal en el epitelio humano y en las mucosas. Lo podemos encontrar con frecuencia en la boca, sangre, glándulas mamarias, intestino, tracto genitourinario y vías aéreas. Es también un patógeno oportunista, causante de infecciones agudas y piogénicas que, si no son tratadas, pueden extenderse al tejido circundante o por vía de una bacteriemia a otros órganos. Entre los tipos de infecciones causadas por este microorganismo se encuentran la neumonía, osteomielitis y endocarditis aguda entre otras. La presencia del género *Staphylococcus* y particularmente *S. aureus* en una materia prima o producto farmacéutico o cosmético, indica que la fuente de contaminación puede ser humana, es decir, los operadores. Estos microorganismos pueden ser transportados a través del polvo, la piel, la ropa y las microgotas de humedad que se generan al moverse, hablar y estornudar.

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

**Las Placas Petrifilm Staph Express [2]:** es un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio modificado cromogénico Baird-Parker en la placa es selectivo y diferencial para el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, STX). Las colonias rojo-violeta en la placa son *S. aureus*. Cuando solamente se aprecien colonias rojo-violeta, cuente las colonias y la prueba se habrá completado.

**Disco Petrifilm Staph Express [2]:**

Ha sido diseñado para la detección de las reacciones de desoxiribonucleasa (DNasa) específicas de *Staphylococcus aureus* aislado en la placa de recuento Petrifilm Staph Express; contiene azul-O toluidina que facilita la visualización de las reacciones de DNasa.

**Análisis microbiológico [3]:**

Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

**Límites microbiológicos [2]:**

Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénico-sanitaria de una superficie.

**Incubadora [2]:**

cámara aislada que permite que la temperatura se mantenga estable y uniformemente distribuida dentro del rango de error de temperatura máximo permisible especificado en el método de ensayo.

**Calibración [4]:**

Proceso de comparar los valores obtenidos por un instrumento de medición con la medida correspondiente de un patrón de referencia (o estándar).


**2.2 Notaciones.**

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.

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

### 3. REFERENCIAS.

- [1] Protocolos todos los procedimientos bajo farmacopea europea análisis microbiológicos en la industria farmacéutica.
- [2] Guía de interpretación 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *Staphylococcus aureus*
- [3] Instituto Colombiano de Normas Técnicas (2023). Microbiología de alimentos y productos para alimentación animal. Requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos (Norma Técnica Colombiana NTC 4092:2009).
- [4] Instituto Colombiano de Normas Técnicas (2023). Microbiología de alimentos y productos para alimentación animal. Requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos (Norma Técnica Colombiana NTC 4779:2007)
- [5] International Organization for Standardization. (2023). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium (ISO standard No. 6888-1:1999)
- [6] Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2023) 22<sup>nd</sup> Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 2003.07.

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

#### 4. DESARROLLO.

##### 4.1 Actividades previas.

###### 4.1.1 Inspección de la muestra.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se garantizan las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Que las muestras que requieran refrigeración se entreguen en neveras con pilas de hielo. Se debe contar con al menos 20 gramos de muestra para realizar este análisis

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

###### 4.1.2 Estabilización.


Una vez revisada la muestra, se aplican las siguientes instrucciones:

Los patrones y equipos de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo como son las balanzas se mantienen en el lugar de ensayo encendidas, antes de realizar las mediciones, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica. Las muestras que están en congelación deben retirarse del congelador y atemperarse hasta que adquieran un estado adecuado para realizar la toma de la porción analítica. Los ítems que no requieren refrigeración se mantienen en el lugar de ensayo para que tengan una estabilidad térmica. Las soluciones usadas para el ensayo deben atemperarse por 1 hora, o colocarlas entre 15 y 20 minutos en la incubadora a 37 °C.

Debe verificarse que las condiciones ambientales del lugar de ensayo se encuentren en los intervalos que se muestran a continuación:

Condición ambiental	Mínima	Máxima	Observación
Temperatura ambiente	18,00	25,00	Condiciones establecidas por el laboratorio
Humedad relativa	20,00	70,00	Condiciones establecidas por el laboratorio

Estas condiciones son monitoreadas y registradas automáticamente por el software 3sense del laboratorio y en caso de que se encuentren fuera de estos rangos deben suspenderse los análisis.

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

### 4.1.3 Verificación de equipos y áreas de ensayo

A fin de confirmar que los equipos a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se inspecciona que se haya realizado la verificación diaria de la balanza gramera de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-005. Así mismo, se debe garantizar la desinfección de la cabina y encendiendo la fuente de luz UV durante por lo menos 60 minutos. Antes de cada ensayo, debe verificarse que se haya realizado la limpieza y desinfección de mesones e implementos a utilizar de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-031 y la correcta limpieza y desinfección de los materiales, siguiendo las directrices establecidas en los procedimientos PROC-TC-026 y PROC-TC-027.

### 4.1.4 Manejo de la muestra.

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, se siguen las instrucciones dadas en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Al tomar de la porción de análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente y correctamente homogeneizada.


### 4.1.5 Manejo del Petrifilm® STX

- Mantener los paquetes de Petrifilm® AC que no se hayan abierto en la nevera de almacenamiento de medios (<8°C) y usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje.
- Abrir las bolsas con unas tijeras o cúter por el lado que aparece indicado. Retirar de la bolsa únicamente las placas que vayan a utilizarse en el lote de análisis. Volver a cerrar el paquete doblando el lado abierto y asegurando el cierre con una pinza o cinta adhesiva. Alternativamente, puede introducirse el paquete dentro de una bolsa con cierre.

NOTA: Los paquetes que hayan sido abiertos y vuelto a cerrar, deben permanecer en un desecador a temperatura  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  y Humedad Relativa  $\leq 50\%$ . No refrigerar las bolsas que han sido abiertas. Usar las placas Petrifilm® AC de los paquetes que han sido abiertos antes 1 mes contado desde la fecha de su apertura.

### 4.1.6 Medidas de seguridad.

Se deben seguir las siguientes medidas de seguridad antes y durante la realización del servicio: Verificar que el sticker de calibración y mantenimiento de los equipos (Incubadoras, balanzas) se encuentren vigentes y no requiere alguna intervención. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

elaborados en el laboratorio” y Verificar que ninguno se encuentre vencido. En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

Antes de realizar los ensayos, debe tenerse en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún paso.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC- 015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo XIII.

#### 4.2 Patrones y equipos de medición.

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

- Balanza gramera con resolución de 0.01 g
- Vortex
- Transfer pipeta de 1000 µL
- Cabina de bioseguridad
- Incubadora 35 °C ± 1 °C
- Homogenizador de muestras (stomacher)
- Dilucult (Equipo de pesaje y dilución de muestras)


#### 4.3 Materiales y consumibles

- Puntas para transfer pipeta de 1000 µL
- Bolsas whirl pak estériles 18-24 onzas
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Placas Petrifilm Staph Express.
- Probeta de 100 mL
- Mechero
- Alcohol 70 %
- Cucharas, cuchillos, espátulas
- Tijeras
- Frascos schott 1000 mL
- Dispensor o esparcidor petrifilm
- Disco Petrifilm™ Staph Express de confirmación

El material reutilizable debe haber sido previamente lavado, secado y esterilizado (**Ver PROC-TC 026-027**)

#### 4.4 Reactivos y/o soluciones:

- Agua peptonada

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

- Plasma liofilizado de conejo
- **Control positivo:** Suspensión bacteriana de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- **Control negativo:** suspensión bacteriana de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Dichas suspensiones deben estar a un nivel de concentración identificar apropiadamente la presencia de microorganismos. (aproximadamente 25 UFC a 80 UFC). La preparación de esta suspensión debe realizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento para la preparación de suspensiones microbianas PROC-TC-207.

## 5. Instrucciones de ensayo

### 5.1 Preparación de soluciones de trabajo

Solución	Cantidad reactivo	Cantidad Diluyente (Agua)	Observaciones
Agua Peptonada estéril	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar en volúmenes de 9 ml por cada tubo de ensayo. Preparar volúmenes de 1 litro en frascos
Plasma liofilizado de conejo	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	N. A

La preparación de estas soluciones se detalla en el Procedimiento para la preparación de soluciones y medios de cultivo" PROC-TC-206


El registro de la preparación de estas soluciones se diligencia en el FOR-TC 045

### 5.2 Preparación de la suspensión inicial (dilución 10<sup>-1</sup>)

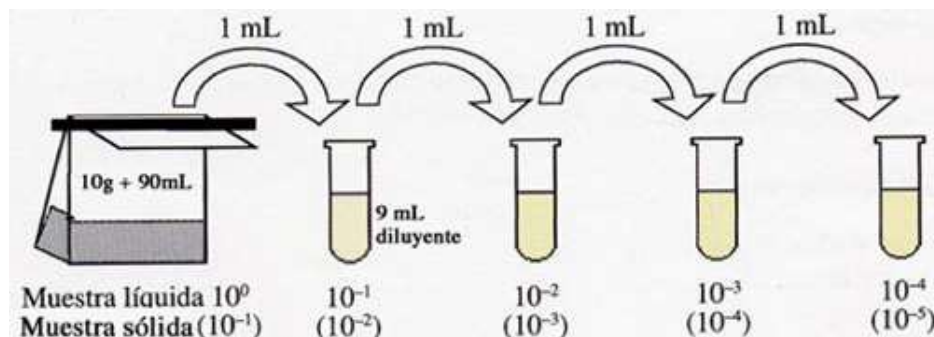
El pesaje y dilución de muestras puede realizarse empleando la balanza o el diluctor gravimétrico. Este procedimiento debe llevarse a cabo siguiendo las directrices establecidas en el procedimiento PROC-TC-199. En el caso de matrices líquidas, la suspensión inicial (10<sup>-1</sup>) se prepara tomando 10 mL ± 0.5 mL del ítem de ensayo o se puede hacer directamente depositando 1 mL de muestra en el centro de la placa (dilución 10<sup>0</sup>). Para realizar la suspensión inicial de muestras sólidas, se debe pesar 10 g ± 0.5 g. En ambos casos, la suspensión se realiza en 90 mL ± 4.5 mL de agua peptonada. Los datos primarios correspondientes a esta actividad deben registrarse en el formato FOR-TC-075

### 5.3 Preparación de las diluciones seriadas para recuento en placa

Las diluciones decimales seriadas se preparan siguiendo las instrucciones establecidas en el procedimiento PROC-TC-199, partiendo de la suspensión inicial (dilución 10<sup>-1</sup>), obtenida siguiendo

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

las directrices establecidas en el numeral 5.2. Deben prepararse tantas diluciones seriadas hasta obtener una que permita realizar un conteo entre 15 UFC y 150 UFC. En muestras que se sospeche puedan tener mucho crecimiento se recomienda hacer diluciones hasta  $10^{-3}$  o superior. Puede resultar útil revisar los resultados históricos reportados para muestras o matrices similares, con el propósito de establecer una guía para la preparación de la dilución apropiada.



Gráfica 1: Diluciones seriadas


**Nota:** Tener en cuenta el factor de dilución dependiendo de la naturaleza de la muestra (líquida o sólida).

#### 5.4 Siembra en placa petrifilm

- Coloque la placa de recuento de *Staphylococcus aureus* 3M Petrifilm en una superficie nivelada. Levante la película superior
- Coloque la pipeta de forma perpendicular a la placa y coloque 1 ml de muestra o muestra diluida en el centro de la película inferior
- Coloque la película superior sobre la muestra, evitando la formación de aire.
- Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el difusor 3M™ Petrifilm™ sobre la película superior, cubriendo el inóculo.
- Presione suavemente el difusor 3M™ Petrifilm™ para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se solidifique el gel. No gire ni deslice la paleta. Levante la paleta 3M Petrifilm. Espere por lo menos 1 minuto para que solidifique el gel.
- Incube las placas de  $24 \pm 2h$  a  $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$  o  $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$  en posición horizontal, con la película transparente hacia arriba, en pilas hasta de 20 placas.
- Realice las lecturas de las Placas Petrifilm las cuales pueden ser contadas en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificadas.

#### 5.5 Interpretación de Resultados y cálculos

- **Identificación:** Cuenten todas las colonias de color rojo-violeta como *Staphylococcus aureus*.
- **Interpretación:**

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

Las colonias rojo-violeta son *S. aureus*

Las colonias azul-verde no son *S. aureus*

Las colonias negras pueden ser o no *S. aureus*

- Test de Confirmación:** usar el disco Petrifilm Staph Express, retirando el empaque individual y con ayuda de una pinza agarrarlo de la lengüeta. Levantar el film superior de la placa Petrifilm y colocar el disco en el alojamiento central de la placa. Bajar el film superior. Aplicar presión sobre la zona que ocupa el disco incluidos los bordes de este. Deslizar de manera firme los dedos sobre el film superior al objeto de obtener un buen contacto del disco con el gel y eliminar posibles burbujas de aire. Si no hay colonias presentes o sólo hay colonias rojo-violeta, la prueba está terminada; no es necesario el uso de Disco. Cuente todas las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. - Si además de colonias rojo-violeta aparecen colonias de otro color, inserte el Disco y vuelva a incubar de 1 a 3 horas a  $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  ó  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ . Cuente las zonas rosas como *S. aureus*.
- Aislar las colonias para su posterior identificación. Levantar el film superior y recuperar la colonia del gel. Ensayar e identificar mediante métodos habituales.
- Cálculo:** Multiplicar por el factor de dilución y el volumen inoculado.
- Para la confirmación también se puede tomar de 1 a 3 colonias y realizar ensayo de prueba de coagulasa con plasma liofilizado de conejo siguiendo instrucciones del inserto del reactivo.

Expresar el resultado en UFC/g o ml de alimento. (NO en bacterias por gramo o mililitro)

**UFC/g o ml = N° de colonias en placa (entre 15 y 150) x inverso de la dilución x 1**


Si no hay UFC. en las cajas correspondiente a la dilución de mayor concentración, informar el recuento como menor de 1 multiplicando por el factor de dilución más concentrada.

**Ejemplo:** 10<sup>-1</sup>: Ausencia de UFC

Reporte el recuento como: menor de 10 UFC / g o mL, o menor de 1 X 10<sup>1</sup> UFC / g o mL.

## 6. Aseguramiento de la calidad

Para asegurar y controlar la validez de los resultados, se debe ensayar por cada matriz una vez a la semana, una muestra por duplicado. La diferencia positiva porcentual entre ensayos independientes (RPD%) no debe superar el 13%. Así mismo, para cada lote de placa de petrifilm usada, se debe realizar control de esterilidad de las placas de Petrifilm poniendo a incubar una placa sin inocular, realizar un blanco adicionando 1 mL de diluyente y realizar un control positivo con Suspensión de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y un control negativo usando suspensión de *Escherichia coli* ATCC 25922.

	<b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

## 7. RESPONSABILIDADES.

### 7.1 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.
- 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.

### 7.2 Director 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.

### 7.3 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.

### 7.4 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.

	<p align="center"><b>Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el método recuento en placa según AOAC</b></p> <p align="center"><b>AOXLAB S.A.S</b></p>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-022</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-06-02</b>

- 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.

## 8. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-075 "Formato para el registro de datos primarios de análisis microbiológicos"

SOFT-TC-027 "Cuadro de mando para ensayos microbiológicos por recuento"

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

## 9. ANEXOS.

No aplica