

Procedimiento para la determinación de *Listeria*

AOXLAB S.A.S

CONFIDENCIAL

DOCUMENTO CONTROLADO

PROC-TC-029 Procedimiento para la determinación de *Listeria*

Copia controlada No. :1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Yeris M. Rinaldy Mojica	Analista de microbiología		2023-02-14
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Directora de calidad		2023-02-14
Aprobó:	Dario Pardo Pardo	Director técnico		2023-02-14
Localización del documento:		http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/		

Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2018-01-19	1	Ninguno (versión original).	LVLS	NBR	YELP
Vigente	2023-02-14	2	Se cambia estilo según manual identidad	YMRM	APPP	DPP

ÍNDICE

Sección	Página
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. PATRONES DE MEDIDA.	5
5. INSPECCIÓN VISUAL	5
5.1 Revisión general.	5
5.2 Estabilización.	5
5.3 Verificación de patrones y otros equipos.	5
5.4 Manejo del ítem.	6
5.5 Medidas de seguridad.	6
6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.	6
6.1 Preparación de soluciones	6
6.2 Recuento en Placa utilizando la metodología de Compact Dry	6
6.3 Método de uso del Compact Dry	7
6.4 Interpretación de Resultados con el Compact Dry	7
7. INFORME.	8
8. RESPONSABILIDADES.	8
8.1 Líder de Calidad.	8
8.2 Líder de Laboratorio.	8
8.3 Analistas.	8
9. FORMATOS RELACIONADOS.	8
10. ANEXOS.	8

1. OBJETIVO Y ALCANCE

1.1 OBJETIVO: Determinar la presencia o ausencia de *Listeria* en alimentos el uso de compact dry

1.2 ALCANCE: Aplica para el personal técnico del Laboratorio.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Listeria [1]: Es una bacteria que se encuentra en el suelo y el agua y en algunos animales, incluyendo las aves de corral y el ganado. Puede estar presente en la leche cruda y los alimentos elaborados de leche cruda. También puede vivir en las plantas de procesamiento de alimentos y contaminar una gran variedad de carnes procesadas.

Análisis microbiológico [2]: Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

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 [3]: 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

3.REFERENCIAS

[1] AssociationofOfficialAnalyticalCommunities. OfficialMethodsofAnalysis. AOAC, Washington, D.C.

[2] UNE-ISO 18593:2013Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Métodos horizontales para las técnicas de toma de muestras a partir de superficies utilizando placas de contacto e hisopos

[3] Vocabulario internacional de metrología: conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM). 1er edición en español, 2008

	Procedimiento para la determinación de <i>listeria</i> AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-029
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2023-02-14

4. PATRONES DE MEDIDA.

Tubos de ensayo
 Cajas Petri con medio de cultivo
 Campanas de Durham
 Pipetas de 1 y 10 ml
 Gradillas
 Stomacher

Incubadora
 Cámara o cabina de Siembra
 Autoclave
 Asa y/o rastrillo microbiológico
 Material de vidrio necesario

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

5. INSPECCIÓN VISUAL.

5.1 Revisión general.

Al recibirse el ítem en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se recibe en condiciones normales de operación y presentación física; y detectar cualquier anomalía en su recepción. Esta revisión es realizada conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-009 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio

5.2 Estabilización.

Una vez revisado el ítem, se aplican las siguientes instrucciones:


Los patrones de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo y el ítem se mantienen en el lugar de ensayo, y encendidos (si es el caso), por lo menos una hora antes de realizar las mediciones, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica. Se registra la hora de inicio y fin de esta estabilización.

Verificar y registrar en los formatos SOFT-TC-001 "Formato carta de control para humedad" y SOFT-TC-002 "Formato carta de control para temperatura ambiente" que las condiciones ambientales de afectación en el servicio se cumplan durante el ensayo del ítem:

Condición ambiental	Mínima	Máxima	Observación
Temperatura ambiente	19,00	27,00	
Humedad relativa	35,00	65,00	

Estas condiciones ambientales fueron identificadas con un efecto en el servicio realizado y sus límites permisibles fueron definidos en base a de los propios patrones del laboratorio, recomendaciones de normas aplicables y servicios realizados.

5.3 Verificación de patrones y otros equipos.

	Procedimiento para la determinación de <i>Listeria</i> AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-029
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2023-02-14

- Stock de los reactivos y medios de cultivo a utilizar en el proceso, fichas de bioseguridad y matriz de compatibilidad.
- Fecha de vencimiento de los reactivos y medios de cultivo.
- Cantidad necesaria a utilizar o preparar de reactivo o medio de cultivo dependiendo del número de muestras.
- Bitácora de uso de equipos y gasto de medios de cultivo.

Antes de cualquier uso de los equipos se debe revisar la carpeta de mantenimientos y calibraciones, verificar que el equipo se encuentra en las condiciones adecuadas para su uso y no requiere alguna intervención.

A fin de confirmar que los patrones de referencia a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se realiza una verificación intermedia de acuerdo a PROC-TC-005 "Procedimiento de verificaciones intermedias de equipo."

5.4 Manejo del ítem.

Para la configuración y operación del ítem, se siguen las instrucciones del manual del fabricante y/o la normativa vigente.

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y preparación del ítem se siguen las siguientes instrucciones del procedimiento PROC-TC-009 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

5.5 Medidas de seguridad.

Se deben seguir las medidas de seguridad durante la realización del servicio las cuales puede encontrar en el procedimiento PROC-GC-015 Procedimiento estándar de Bioseguridad.

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 elaborados en el laboratorio"

6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

6.1 Preparación de soluciones

Solución	Cantidad reactivo	Cantidad Solvente	Observaciones
Agua Peptonada estéril	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 225 ml por muestra

6.2 Recuento en Placa utilizando la metodología de Compact Dry

Compact Dry™ LS contiene medios de cultivo deshidratados, un agente gelificante, y sustratos cromogénicos que ayudan en el crecimiento de *Listeria*

El pH final 7,0 +/- 0,2 a 25 ° C

6.3 Método de uso del Compact Dry

1. Retire el conjunto de cuatro bandejas de la bolsa de aluminio y separare cada cubeta individual doblando suavemente a lo largo del borde de conexión hasta que se libere cada bandeja. Alternativamente, si la creación de una serie de dilución de la misma muestra, las bandejas se pueden dejar conectados para facilitar la lectura de muestras similares. Bandejas que no se utilizan de inmediato deberán guardarse en la bolsa de aluminio.

2. Retire la tapa de la bandeja usando dos dedos para sujetar un extremo de la tapa y el pulgar para levantar el extremo opuesto. Las tapas son más fáciles de eliminar el uso de un método de "volver pelar" en contraposición a un método de "sacar".

3. Inocular con la pipeta 1 ml de la muestra directamente en el centro de una bandeja de pozo seco, teniendo cuidado de no tocar la superficie de la matriz con la punta de la pipeta. Una vez dispensado, la muestra se difundirá de forma automática a través de la superficie por la acción capilar para formar un gel; manual de propagación del inóculo se desanima. Recuerde para tener en cuenta el inóculo muestra el cálculo de la serie de dilución.

4. Vuelva a colocar la tapa y la etiqueta de la bandeja con la información apropiada, incluyendo el factor de dilución de la muestra.

5. Invertir la bandeja e incubar, al revés con el medio en la parte superior, a 35-37°C +-1

durante 24 horas.

6. Contar las colonias de iluminación desde la parte trasera de la bandeja para el cálculo de UFC/ml.


Para colonias presuntivas realizar una confirmación montando al microscopio con tinción de gram, *listeria* se ve como bastones Gram positivos cortos delgados

Prueba catalasa: Tomar una colonia y depositar en una gota de peróxido de hidrogeno en un portaobjetos, la formación de burbujas indica que la reacción es positiva

Incubación: Debe ser registrada en el formato FOR-TC-017

6.4 Interpretación de Resultados con el Compact Dry

Las especies de *Listeria* crecen en forma de colonias azul claras /azules por el cromógeno contenido en el medio de 1- 2 mm de diámetro.

	Procedimiento para la determinación de <i>listeria</i> AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-029
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2023-02-14

7. INFORME

Registro manual en los formatos del laboratorio: todas las anotaciones derivadas del desarrollo del método incluyendo cálculos y/o procedimientos anexos a la preparación de muestras, preparación de medios de cultivo, diluciones y/u otros y los resultados en los correspondientes formatos FOR-TC-014 (Formato datos primarios de resultados de análisis Microbiológicos), FOR-TC-015 (Formato para el control de tiempos y temperaturas de incubación.)

8. RESPONSABILIDADES.

8.1 Líder de Calidad.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

8.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

8.3 Analistas.

Aplicar el presente documento.

9. FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-001 "Formato carta de control para la humedad"

SOFT-TC-002 "Formato carta de control para la temperatura ambiente"

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

FOR-TC-014 "Formato datos primarios de resultados de análisis Microbiológicos"

FOR-TC-015 "Formato para el control de tiempos y temperaturas de incubación."

10. ANEXOS.

No aplica