


aoxlab	Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas según NTC 11737-1:2019

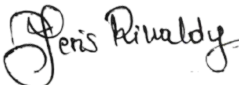


AOXLAB S.A.S

	Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-019 Determinación de Limpieza microbiana en mascarillas

Copia controlada No. :1

	Nombre	Puesto función	Firma	Fecha
Elaboró:	Yeris M. Rinaldy Mojica	Analista de microbiología		2022-11-21
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Director de calidad		2022-11-21
Aprobó:	Dario Pardo Pardo	Director Técnico		2022-11-21
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	2020-04-22	1	Ninguno (versión original).	YLCR/YMRM	DPP	YELP
Vigente	2022-11-21	2	Se cambia estilo según manual identidad	YLCR/YMRM	APPP	DPP

	<p>Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

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.....	5
3. REFERENCIAS.....	5
4. DESARROLLO.....	5
4.1 Actividades previas.....	5
4.1.1 Inspección de la muestra.....	5
4.1.2 Estabilización.....	6
4.1.3 Manejo de la muestra.....	6
4.2 Patrones y equipos de medición.....	7
4.4 Reactivos y/o soluciones:.....	8
• Agua peptonada 0.1%.....	8
• Agar tripticosa de soya o en su defecto Agar plate count (PCA).....	8
• Agar sabouraud o en su defecto agar YGC.....	8
5. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....	8
5.1 Preparación de soluciones.....	8
5.2 Preparación de la muestra:.....	8
5.3 Siembra por superficie o extensión (Ver gráfico 2).....	9
5.4 Método de filtración por membrana.....	9
5.5 Interpretación de Resultados.....	9
6. Aseguramiento de la calidad.....	10
7. RESPONSABILIDADES.....	10
7.1 Director técnico.....	10
7.2 Líder de Calidad.....	10
7.3 Líder de Laboratorio.....	10
7.4 Analista.....	11
8. FORMATOS RELACIONADOS.....	11
9. ANEXOS.....	11

	<p>Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-203</p>
		<p>Revisión: 2</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2022-11-21</p>

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Determinar la carga biológica presente en materiales textiles para uso biosanitario

1.2 Alcance

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Limpieza microbiana en mascarillas	NTC 11737-1:2019	Recuento en placa de UFC y/o método de filtración por membrana

Este método se aplica a las siguientes matrices

- Materiales (mascarillas, textiles)

2. Definiciones y Notaciones


2.1 Definiciones:

Limpieza microbiana[1]: Exento de una población de microorganismos viables sobre un producto y/o envase

Microorganismos aerobios mesófilos[3]: Se refieren a un organismo cuya temperatura de crecimiento óptima está entre los 15 y los 35 °C, analizar el contenido de estos en un alimento, permiten: Verificar efectividad de los procedimientos de limpieza y desinfección, determinar si las temperaturas aplicadas en los procesos fueron las adecuadas, determinar el origen de la contaminación durante los procesos de elaboración de los alimentos, verificar condiciones óptimas de almacenamiento y transporte, obtener información acerca de la vida útil de los alimentos, indicar alteración incipiente en ciertos alimentos.

Recuento de mohos y levaduras viables:[4] Es la determinación del número de colonias típicas de levaduras y mohos que se desarrollan a partir de un gramo o centímetro cúbico de muestra, en un medio adecuado e incubado entre 22°C y 25°C.

Mascarilla quirúrgica[1]: Producto sanitario que cubre la boca y la nariz, proporciona una barrera para minimizar la transmisión directa de agentes infecciosos entre individuos

	Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

Análisis microbiológico [2]: 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.

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] NTC 1733:2020 Mascarillas quirúrgicas, requisitos y métodos de ensayo

[2] NTC 4092:2009 Microbiología de alimentos y productos para alimentación animal. Requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos

[3] NTC 4519: Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30 °C.

[4] NTC 5698: Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para la enumeración de mohos y levaduras. Parte 2: técnica de recuento de colonias en productos con actividad acuosa (aw) inferior a 0,95

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. Se debe contar con al menos 5 unidades 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.

	Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

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 soluciones usadas para el ensayo se deben sacar 1 hora antes de refrigeración para que tomen temperatura ambiente.

Condición ambiental	Mínima	Máxima	Observación
Temperatura ambiente	18,00	25,00	Condiciones establecidas por el laboratorio
Humedad relativa	20,00	50,00	Condiciones establecidas por el laboratorio

Las condiciones ambientales fueron establecidas con el fin de garantizar que no se afecte la confiabilidad de los resultados de los ensayos para reducir al mínimo toda alteración en la cantidad de microorganismos presentes en el ambiente, además de la preservación de muestras y medios de cultivo que deben permanecer a temperatura ambiente.

Estas condiciones son monitoreadas y registradas automáticamente por el software 3sense del laboratorio.


4.1.1 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, se debe garantizar la desinfección de la cabina y que haya permanecido al menos 30 minutos con luz-UV encendida, se debe garantizar que antes de cada ensayo se realice una adecuada limpieza y desinfección de mesones e implementos a utilizar, además haber realizado una aspersion en los ambientes de acuerdo al PROC-TC-031

4.1.3 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.

	<p style="text-align: center;">Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas</p> <p style="text-align: center;">AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

4.1.4 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 del equipo se encuentre vigente (ubicados en el módulo 1 del laboratorio) 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 elaborados en el laboratorio". En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún parámetro.

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


4.2 Patrones y equipos de medición.

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

- Agitador Shaker
- Transfer pipeta de 100 µl
- Cabina flujo laminar
- Incubadora entre 30 - 35°C °C
- Incubadora entre 25-28°C
- Bomba de vacío
- Stomacher

4.3 Materiales y consumibles

- Puntas para transfer pipeta de 100 µL
- Bolsas whirl pak estériles con capacidad de 24 onzas
- Gradillas
- Cajas de Petri plásticas estériles
- Asa y/o rastrillo microbiológico
- Filtros de celulosa de 0.45 µm y 0.8 µm
- Pinzas metálicas
- Mechero
- Tijeras
- Recipiente de polisulfona o vidrio para filtración
- Alcohol 70 %

	Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

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

4.4 Reactivos y/o soluciones:

- Agua peptonada 0.1%
- Agar tripticasa de soya o en su defecto Agar plate count (PCA)
- Agar sabouraud o en su defecto agar YGC


5. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

5.1 Preparación de soluciones

Solución	Cantidad reactivo	Cantidad Solvente	Observaciones
Agar tripticasa de soya	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.
Agar PCA	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.
Agua Peptonada estéril 0.1%	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar frascos de 1000 ml
Agar sabouraud	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.
Agar YGC	Según especificaciones de casa comercial	Según especificaciones de casa comercial	Preparar 15 a 20 ml por cada caja de Petri.

5.2 Preparación de la muestra:

- Se toma 5 unidades de muestra de las mascarillas de un mismo lote con ayuda de una pinza estéril o previamente flameada con alcohol, se puede cortar por la mitad, asegurando que todas las unidades se incluyan en el ensayo y se dispensa en una bolsa whirl pak.
- Se adiciona 90 mL de agua peptona al 0.1 % con ayuda de una probeta, por cada 10 g de peso (Ejemplo: si las mascarillas pesan 12 g, se adiciona 108 ml de agua peptona al 0.1%)
- Para las muestras que contienen sustancias inhibitoras se debe adicionar caldo letheen en lugar del agua peptona.

	<p>Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-203</p>
		<p>Revisión: 2</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2022-11-21</p>

- Homogenizar en el shaker durante 5 minutos a 250 rpm
- Sembrar por superficie en placas que contienen agar tripticasa de Soya o PCA (para aerobios mesófilos) y agar saboraud o YGC con cloranfenicol (para mohos y levaduras). Ver gráfico 2.
- Incubar las placas invertidas de agar tripticasa de soya a 35+/-2°C durante 78 horas y las placas de agar saboraud incubarlas a 25°C durante 5 – 7 días

5.3 Siembra por superficie o extensión (Ver gráfico 2)

Inocule 0.1ml o 100 µL de la muestra sobre el medio de cultivo ya solidificado y extienda con un asa o rastrillo microbiológico uniformemente sobre la superficie del agar.




Grafica 2: Siembra por superficie

5.4 Método de filtración por membrana

- Tomar 5 unidades de muestra y depositar en una bolsa whirl pak
- Agregar 300 ml de agua peptona 0.1 %
- Agitar en el shaker durante 5 minutos a 250 rpm
- Filtrar 100 ml de muestra, usando un filtro de 0.45 µm y colocarlo en una caja que contiene agar PCA o TSA, incubar a 35°C ± 2 °C durante 72 horas
- Filtrar 100 ml más, usando un filtro de 0.8 µm y colocarlo sobre una caja que contiene agar YGC o saboraud. Incubar entre 20-25°C de 5 a 7 días.

5.5 Interpretación de Resultados

Después de la incubación, leer las cajas de Petri sobre un fondo blanco y reportar el número de colonias presentes tanto en el medio de mesófilos como el de mohos y levaduras

	<p style="text-align: center;">Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas</p> <p style="text-align: center;">AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

La carga biológica total se obtiene sumando el número de colonias presentes en agar TSA o PCA y agar Saboraud o YGC y se reporta como UFC/g si se usa siembra en superficie o UFC/100 ml cuando se hace filtración por membrana.

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

6. Aseguramiento de la calidad

Para asegurar y controlar la validez de los resultados, se debe realizar control de esterilidad de los medios de cultivo. Se debe realizar un duplicado una vez por semana.

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 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.

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.

	<p align="center"> Procedimiento para la determinación de limpieza microbiana en mascarillas </p> <p align="center"> AOXLAB S.A.S </p>	Identificación: PROC-TC-203
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-11-21

- 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.
- 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-099 "Formato de carta de control para humedad"

FOR-TC-100 "Formato de carta de control para temperatura ambiente"

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

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