|  |  |
| --- | --- |
| **Objetivo** | Estandarizar el proceso para la toma de muestras microbiológicas de ambientes y superficies |
| **Alcance** | Aplica para los laboratorios de docencia e investigación, laboratorio de simulación clínico, servicio médico, Área de Residuos.  Una vez establecido el procedimiento de limpieza y desinfección es necesario validarlo. Con tal objetivo se tomarán muestras de puntos críticos antes y después de la limpieza y desinfección para establecer si el procedimiento es eficaz.  Si los resultados muestran que no es eficaz, se deben aplicar ajustes a los protocolos de limpieza o cambiar los productos utilizados. |
| **Frecuencia** | Realizar un muestreo por laboratorio durante el semestre |
| **Procedimiento** | |
| 1- Preparar los medios de cultivo para el muestreo de pre-desinfección:   * Caja con Agar Saboreaud/PDA/Rosa de Bengala (Para hongos y levaduras) * Caja con Agar Plate count (Para mesófilos) * Tubos con Agar Plate count para derretir. (18 ml) * Tubos con Agar Saboreaud para derretir. (18ml) * Cajas de Petri estériles. * Tubo con Caldo LMX (Para Coliformes totales y fecales); solo aplica para superficies, utensilios y equipos. * Tubo con 5 ml de agua peptonada al 0.1% * Hisopos Estériles. Preparados o comerciales listos para usar (acuclean) * Reactivo de Kovacs | |
| 2- De acuerdo con el cronograma de desinfección a realizar se selecciona el laboratorio de docencia y/o investigación o servicio médico para toma de muestra microbiológica de ambientes y superficies | |
| 3- Utilizar una caja de cada medio para mesófilos, otra caja para recuento de mohos y levaduras y un tubo con agua peptonada para la toma de muestra de cada superficie a controlar, antes de la desinfección | |
| 4- Dejar las cajas de medios de cultivo abiertas durante 15 minutos en algún lugar del laboratorio. | |
| 5- Tapar e incubar durante 24 h a 37°C, para mesófilos. Incubar durante 5 a 7 días a temperatura ambiente para mohos y levaduras. | |
| 6- Con un escobillón estéril humedecido en el agua peptonada, se realiza frotis en un área de 10 x 10 cm² en cualquier superficie. Se recomienda usar un delimitador de superficie, por ejemplo, elaborado en cartón. | |
| 7- Introducir en el caldo peptona realizando el enjuague de este. | |
| 8- Se repite el proceso después de la desinfección (pasos 3,4,5,6,7,8) | |
| 9- Con una pipeta, tomar 1 ml del caldo peptona ya inoculado para depositar en las cajas de Petri estériles.  Tomar 1m de agua peptonada ya inoculada y depositar en el tubo con caldo LMX.  Previamente derretir el medio de cultivo contenido en los tubos en un baño María.  En cuanto a las cajas se vierte el medio de cultivo derretido a una temperatura promedio de 56°C, que sea tolerable, cuidando de no afectar la carga microbiana presente en la muestra por efecto de la temperatura y mediante movimientos circulares homogeniza la mezcla (la muestra y medio) y se deja reposar hasta que solidifique.  Incubar los tubos con el caldo LMX y las cajas durante 24 h | |
| 10- Incubar a 37ºC los medios para identificación de mesófilos y a temperatura ambiente (25ºC) los medios para identificación de hongos y levaduras | |
| 11-Cumplido el tiempo (48 horas mesófilos y 5 días hongos y levaduras) se realiza recuento de colonias y se diligencia el formato para control de ambientes y superficies | |
| 12- En los tubos con caldo LMX ya inoculados, se observa si hubo cambio de color, se debe observar en lugar oscuro y con lampara de luz ultravioleta la presencia o no fluorescencia. El desarrollo de fluorescencia es indicativo presencia de Coliformes Totales. A los tubos que cumplan con esta condición, se les adiciona reactivo de Kovacs para evidenciar la producción de indol, (mediante aparición de anillo color rosa) con el fin de detectar la presencia de coliformes fecales. | |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Elaboró** | **Revisó** | **Aprobó** | **Fecha de vigencia** |
| Líder del proceso o colaborador responsable | Dirección de Aseguramiento de la Calidad  Líder SIG | Consejo de Rectoría | Febrero de 2025 |

**CONTROL DE CAMBIOS**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **FECHA** | **VERSIÓN** | **ÍTEM** | **MODIFICACIÓN** |
| Junio 2024 | 2 | Alcance | Se adiciona el siguiente enunciado:  Una vez establecido el procedimiento de limpieza y desinfección es necesario validarlo. Con tal objetivo se tomarán muestras de puntos críticos antes y después de la limpieza y desinfección para establecer si el procedimiento es eficaz.  Si los resultados muestran que no es eficaz, se deben aplicar ajustes a los protocolos de limpieza o cambiar los productos utilizados. |
| Junio 2024 | 2 | Ítem 1 | Se adicionan los siguientes enunciados:   * Tubos con Agar Plate count para derretir. (18 ml) * Tubos con Agar Saboreaud para derretir. (18ml) * Cajas de Petri estériles. * Tubo con 5 ml de agua peptonada al 0.1% * Hisopos Estériles. Preparados o comerciales listos para usar (acuclean) * Reactivo de Kovacs |
|  | 2 | Ítem 9 | 9- Con una pipeta, tomar 1 ml del caldo peptona ya inoculado para depositar en las cajas de Petri estériles.  Tomar 1m de agua peptonada ya inoculada y depositar en el tubo con caldo LMX.  Previamente derretir el medio de cultivo contenido en los tubos en un baño María.  En cuanto a las cajas se vierte el medio de cultivo derretido a una temperatura promedio de 56°C, que sea tolerable, cuidando de no afectar la carga microbiana presente en la muestra por efecto de la temperatura y mediante movimientos circulares homogeniza la mezcla (la muestra y medio) y se deja reposar hasta que solidifique.  Incubar los tubos con el caldo LMX y las cajas durante 24 h |
|  | 2 | Ítem 12 y 13 | Se elimina el ítem 13 y se fusiona con el ítem 12, se modifica la redacción:  En los tubos con caldo LMX ya inoculados, se observa si hubo cambio de color, se debe observar en lugar oscuro y con lampara de luz ultravioleta la presencia o no fluorescencia. El desarrollo de fluorescencia es indicativo presencia de Coliformes Totales. A los tubos que cumplan con esta condición, se les adiciona reactivo de Kovacs para evidenciar la producción de indol, (mediante aparición de anillo color rosa) con el fin de detectar la presencia de coliformes fecales. |
| Junio 2024 | 2 | Todo el documento | Se revisó y ajustó por la Coordinación administrativa de laboratorios, equipos y reactivos.  Se aplican los cambios a la fuente, encabezado y control de cambios de acuerdo con las directrices institucionales.  Se modifica de GRE-PR- a GRE-PRT  Se actualiza la versión 1 a versión 2 |