	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 1 de 11

1. PROPÓSITO

Controlar la preparación, conservación y el uso de los medios de cultivo del Laboratorio de Microbiología, pues constituyen la base de la mayoría de las pruebas que en él se realizan. De ésta manera se asegura la exactitud, confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos en el Laboratorio de Microbiología.

2. ALCANCE

Este procedimiento aplica sobre los medios de cultivo deshidratados que se preparan en el Laboratorio de Microbiología.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

CÓDIGO	NOMBRE DEL DOCUMENTO
PEO-AC-082	Prueba de recuento microbiano y microorganismos específicos
PEO-AC-081	Control microbiológico de agua del sistema de tratamiento
PEO-AC-077	Prueba de esterilidad
PEO-AC-083	Muestreo de ambientes, guantes, manos y superficies en áreas de producción
PEO-AC-078	Control microbiológico del agua del sistema de tratamiento
PEO-AC-088	Prueba de promoción de crecimiento

4. DEFINICIONES

Medios de cultivo: mezclas de nutrientes que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, que permiten el crecimiento de los microorganismos.

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

RESPONSABILIDAD

Auxiliares de Microbiología: Son los responsables de llevar a cabo lo descrito en éste procedimiento.

Jefe de Microbiología: Tiene la responsabilidad de velar por el cumplimiento de éste procedimiento.

AUTORIDAD

Jefe de Microbiología: Tiene la autoridad de realizar cualquier cambio requerido en éste procedimiento.


6. CONTENIDO

6.1 Materiales

6.1.1 Medios de cultivo deshidratados marca Merck (ver **Tabla 1** de **Anexos**)

6.1.2 Agua purificada

Elaborado por: Jefe de Microbiología	Firma:	Fecha: 02/05/2024
Revisado por: Asistente de Documentación	Firma:	Fecha: 02/05/2024
Controlado por: Gerente de Control de Calidad	Firma:	Fecha: 02/05/2024

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11 Versión: 11 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 2 de 11
--	--	---

- 6.1.3 Beakers plásticos, de vidrio o pichales plásticos ó de acero inoxidable de diferente capacidad
- 6.1.4 Tubos de vidrio de 20cm x 20mm y 10 cm x 10 mm
- 6.1.5 Tubos de vidrio con capacidad de 70 ml y tapón de rosca
- 6.1.6 Frascos con tapón de rosca de 100, 250, 500 y 1000 ml de capacidad
- 6.1.7 Cajas de Petri estériles desechables de 5 y 8.5 cm de diámetro.
- 6.1.8 Pipetas serológicas de 5 y 10 ml
- 6.1.9 Jeringas desechables de 5 y 10 ml
- 6.1.10 Gradillas
- 6.1.11 Cucharas o espátulas de acero inoxidable
- 6.1.12 Cinta testigo
- 6.1.13 Marcador permanente
- 6.1.14 Guantes, mascarilla y lentes de seguridad
- 6.1.15 Guantes de protección contra calor


6.2 Equipo

- 6.2.1 Estufa o plancha con agitador
- 6.2.2 Balanza semianalítica
- 6.2.3 Autoclave
- 6.2.4 Microondas
- 6.2.5 Cabina de bioseguridad / Flujo laminar

6.3 Tipos de medios de cultivo

La diversidad metabólica de los microorganismos es enorme, por ello existe una gran variedad de medios de cultivo. De acuerdo a su estado físico se clasifican en sólidos, semisólidos y líquidos. De acuerdo a su uso se clasifican en:

- 6.3.1 Medios generales: permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismos (por ejemplo: agar sangre y agar tripticosa soya).
- 6.3.2 Medios de enriquecimiento: son medios líquidos que favorecen el crecimiento de un tipo de microorganismos en particular. Permiten aumentar el número de microorganismos de este tipo (por ejemplo, caldo tioglicolato y caldo lactosa).
- 6.3.3 Selectivos: se diferencian de los de enriquecimiento en que son sólidos y están diseñados para el aislamiento de microorganismos específicos. Contienen sustancias que inhiben el crecimiento de ciertos tipos o especies de bacterias y/o promueven el crecimiento de otras especies deseadas (por ejemplo, agar MacConkey: permite el crecimiento de Gramnegativos e inhibe el de Grampositivos).
- 6.3.4 Diferenciales: son aquellos en los que se ponen de relieve propiedades que un determinado tipo de microorganismo posee. Permiten revelar características fisiológicas de los

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11 Versión: 11 Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027 Página 3 de 11
--	--	---

microorganismos (por ejemplo, el agar MacConkey: permite diferenciar entre microorganismos lactosa positivo y lactosa negativa).

- 6.3.5 Algunos medios de cultivo pueden ser de varios tipos a la vez, por ejemplo, el agar manitol sal es un agar selectivo y diferencial: este contiene una alta concentración de sal (que toleran los estafilococos) que inhibe a la mayoría de las otras bacterias; tiene manitol como fuente de azúcar fermentativo y rojo de fenol como indicador de pH. Sirve para determinar la presencia de *S. aureus*; este microorganismo fermenta el manitol, produciendo ácidos que viran hacia amarillo el medio. Otros estafilococos no fermentadores del manitol, como *S. epidermidis* utilizan otros sustratos del medio para su crecimiento, no virando de color el medio.

6.4 Asignación de número de lote

- 6.4.1 Los datos de la preparación de cada medio de cultivo se anotan en el **FO-AC-183 Bitácora de Preparación de Medios de Cultivo y Diluyentes**

- 6.4.2 El lote de un medio de cultivo se asigna de la siguiente manera:


- 6.4.2.1 Colocar la abreviatura del nombre del medio de cultivo (ver **Tabla 1**) seguida de la fecha de su preparación, separando el día del mes con un guión y de igual forma el mes del año. Solo se colocan las dos últimas cifras del año. Ejemplos:

C 7-7-15: el número de lote anterior pertenece al medio de cultivo agar tripticasa soya preparado el siete de Julio del año 2015.

TIO 1-9-14: el número de lote anterior pertenece al medio de cultivo caldo tioglicolato preparado el uno de septiembre del año 2014.

6.5 Preparación de medios de cultivo líquidos

- 6.5.1 Preparar el material necesario para preparar el medio de cultivo, verificar que la cristalería se encuentre en la cantidad necesaria y limpia.
- 6.5.2 Cada medio de cultivo tiene una fórmula de preparación en su etiqueta. En base a esta fórmula, realizar el cálculo de la cantidad de gramos necesarios a pesar del medio deshidratado y los mililitros de agua para disolverlo.
- 6.5.3 Anotar en el **FO-AC-183 Bitácora de Preparación de Medios de Cultivo y Diluyentes** los datos correspondientes a la preparación.
- 6.5.4 Identificar los recipientes en los que se esterilizará el medio de cultivo; cortar un pedazo de cinta testigo y anotar sobre él el No. de lote asignado al medio de cultivo.
- 6.5.5 Con la ayuda de una balanza semianalítica, pesar los gramos calculados de medio deshidratado en un recipiente adecuado (de boca ancha) previamente tarado.

	<p>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</p> <p>PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO</p> <p>ASEGURAMIENTO DE CALIDAD</p>	<p>Código: PEO-AC-085-11</p> <p>Versión: 11</p> <p>Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027</p> <p>Página 4 de 11</p>
--	---	--

6.5.6 Medir con la ayuda de una probeta el volumen de agua purificada a utilizar.

6.5.7 Agregar al medio deshidratado la mitad del volumen de agua y disolverlo con una espátula ó cuchara.

6.5.8 Disuelto el medio, agregar la cantidad restante de agua, y agitar.

6.5.9 Verter los caldos de cultivo en los recipientes en los que se esterilizarán previamente identificados:

6.5.9.1 Para la prueba de esterilidad:

- Preparar caldo tripticasa soya y tioglicolato en porciones de 50 ml; preparar un tubo adicional de cada caldo que se utilizará como control de esterilidad. El caldo tioglicolato requiere calentamiento para disolverlo.
- Preparar caldo cloruro sódico-peptona tamponado (o alternativamente agua peptonada buferada) en porciones de 300 ml en frascos de tapón de rosca; preparar un frasco adicional por lote para utilizarlo como control de esterilidad.

6.5.9.2 Para el recuento microbiológico de agua (Método del número más probable):

- Preparar juegos de nueve tubos de caldo lactosa: 6 tubos de concentración simple con 10 ml de caldo cada uno y tres tubos de concentración doble con 10 ml de caldo cada uno, agregarles una campana de Durham a cada uno antes de esterilizarlo. Identificar en la cinta testigo los que tienen concentración doble.
- Preparar tubos con caldo bilis verde brillante (BRILA) con 10 ml de caldo cada uno y con campana de Durham.


6.5.9.3 Para la prueba de recuento microbiano:

- Preparar el caldo cloruro sódico- peptona en porciones de 90 ml y 80 ml en frascos con tapón de rosca de 100 ml, con la adición de 4% de Tween 20.
- Preparar el caldo Tripticasa soya (CASO) en porciones de 100 ml en frascos con tapón de rosca de 100 ml.
- Preparar el caldo Sabouraud dextrosa en porciones de 100 ml en frascos con tapón de rosca de 100 ml.
- Preparar el caldo MacConkey en porciones de 100 ml en frascos con tapón de rosca de 100 ml.
- Preparar frascos con 10 ml de Tween 20 para el análisis de óvulos y supositorios.
- Preparar tubos con 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis

6.5.9.4 Para el muestreo de superficies en áreas limpias:

Preparar tubos con tapón de rosca con 2 ml de solución salina (0.9%).

6.5.10 Esterilizar los caldos de cultivo en autoclave en el ciclo designado para líquidos.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 5 de 11

6.5.11 Colocar los controles negativos de los medios líquidos a incubar; los medios que se utilizan para la prueba de esterilidad deben incubarse por 14 días, el caldo tripticasa soya a 25° C y el caldo tioglicolato a 35-37° C. El resto de medios líquidos se incuban por 48 horas a 35-37° C.

6.5.12 Los medios ya esterilizados deben ser almacenados en refrigeración a una temperatura entre 2°C a 8°C, esta temperatura se registra en el **FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipos de Aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo y Microbiología.**

6.6 Preparación y plaqueo de medios de cultivo sólidos

6.6.1 Para la preparación de medios de cultivo sólidos seguir las instrucciones de los incisos 6.5.1 al 6.5.8.

6.6.2 Trasladar el recipiente hacia la estufa o plancha caliente. El calentamiento debe realizarse con agitación constante (mediante el uso de espátula, cuchara ó un agitador magnético); el medio está completamente disuelto cuando se vuelve más claro y líquido.

6.6.3 Retirar del calentamiento el medio de cultivo justo antes de que empiece a hervir, para evitar su proyección.

NOTA: al agar Cetrimida debe agregarse glicerina (en la cantidad indicada en la etiqueta del granulado) después de disuelto.


6.6.4 Verter el medio de cultivo en el recipiente previamente identificado en el que se esterilizará (frascos con tapón de rosca de 250, 500 ó 1000 ml de capacidad) en porciones de cómo máximo

6.6.5 Esterilizar los medios de cultivo en autoclave en el ciclo indicado para líquidos.

NOTA: el agar Chomocult y el agar XLD no requieren esterilización por autoclave; éstos se plaquean después de disolverlos por calentamiento.

6.6.6 Los agares tripticasa soya y agar Sabouraud 4% dextrosa para la prueba recuento microbiano (se preparan en porciones de 200-400 ml) y se almacenan en refrigeración para licuarlos cuando sea necesario mediante el uso de microondas. El agar para recuento en placa se prepara en porciones de 200 ml para almacenarlo; éste se utiliza para los recuentos en placa de muestras de agua del sistema de tratamiento, también se licúa con microondas cuando sea necesario.

6.6.7 Los agares selectivos y no selectivos deben ser plaqueados después de esterilizarlos en el flujo laminar; para ello, dejar que se enfríen a 44-47°C, pues plaquearlos a temperaturas mayores, produce la condensación de agua en las tapaderas de las cajas de Petri, lo que puede favorecer su contaminación.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 6 de 11

6.6.8 El plaqueo de los medios de cultivo se realiza en la cabina de bioseguridad ubicada en la sala 702 Prueba de esterilidad. Previo al plaqueo realizar las siguientes actividades:

6.6.8.1 Encender el sistema de aire del área estéril y desinfectar la cabina de bioseguridad / flujo laminar: para ello ingresar al área de siembra con bata, cofia, mascarilla y cambiarse el calzado. Para ingresar a la sala 702 Prueba de esterilidad, cambiarse la indumentaria y colocarse un traje blanco; activar el sistema de aire oprimiendo el botón derecho del control derecho “cool” y el botón derecho “on” de éste mismo. Desinfectar la cabina de bioseguridad / flujo laminar con papel y alcohol al 70% filtrado dejarla cerrada y con la luz ultravioleta encendida. Dejar que el aire circule por media hora antes del plaqueo.

6.6.8.2 Preparar el material necesario para el plaqueo (cajas de Petri y medios de cultivo esterilizados): colocarlo en la carretilla del área estéril.

6.6.9 Para plaquear los medios de cultivo ingresar a la sala 701 Vestidor área estéril y cambiarse la indumentaria por un traje blanco, encima de éste colocarse guantes y luego el traje estéril. Ingresar a la sala 702 Prueba de esterilidad, apagar la luz ultravioleta de la cabina de bioseguridad / flujo laminar, encender la luz y el flujo de aire. Dejar circular aire por lo menos por 10 minutos antes del plaqueo.

NOTA: el agar para recuento en placa para el recuento microbiológico del agua y para análisis de soluciones concentradas para hemodiálisis debe plaquearse en cajas de Petri de 5 cm de diámetro.


6.6.10 Colocar las cajas de Petri en la cabina de bioseguridad destaparlas y verter aproximadamente 15-20 ml en cajas de Petri de 8.5 cm de diámetro y aproximadamente 10 ml en las cajas de 5 cm de diámetro. Las cajas deben permanecer destapadas hasta que el agar solidifique.

6.6.11 Las cajas Rodac para el muestreo de superficies deben de llenarse hasta que el agar se encuentre a una temperatura aproximada de 45° C justo antes de su solidificación para conseguir el menisco convexo.

6.6.12 Ya sólidas, tapar las cajas e identificar cada una con su número de lote (en la parte inferior); colocar una caja en la incubadora como control de esterilidad a 35-37° C por 48 horas; después de este tiempo no debe existir crecimiento de microorganismos.

6.6.13 Almacenar las cajas de los medios de cultivo en refrigeración (2-8° C). Las cajas no deben almacenarse dentro de bolsas plásticas, pues esto favorece la condensación de agua.

6.6.14 Todos los medios de cultivo, líquidos o sólidos, que se esterilizan deben anotarse en el **FO-AC-116 Control de autoclave Tuttnauer, o bien en el FO-AC-014 Control de uso autoclave Raypa.**

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 7 de 11

6.7 Preparación de diluyentes

Entre los diluyentes utilizados en los ensayos microbiológicos se encuentran la solución salina fisiológica (0.9%) y buffers de diferentes pH:

- 6.7.1 Buffer pH 6: Disolver 20,0 g de fosfato dibásico de potasio y 80,0g de fosfato monobásico de potasio en 1000 ml de agua. Ajustar el pH con ácido fosfórico 18N o hidróxido de potasio 10N a 6.0 ± 0.05 . El hidróxido de potasio 10N se prepara disolviendo 5.6 g en 10 ml de agua.
- 6.7.2 Buffer pH 7: disolver 13.6g de fosfato dibásico de potasio y 4 g de fosfato monobásico de potasio en 1000 ml de agua. Ajustar el pH a 7.0 ± 0.2 con ácido fosfórico 18N o hidróxido de potasio 10N.
- 6.7.3 Buffer pH 8: Disolver 16.73g de fosfato dibásico de potasio y 0.523g de fosfato monobásico de potasio en 1000 ml de agua. Ajustar el pH con ácido fosfórico 18N o hidróxido de potasio 10N a 8.0 ± 0.1 .
- 6.7.4 Solución salina fisiológica: Pesar 9 g de cloruro de sodio (NaCl) y agregar 1000 de agua de ósmosis.
- 6.7.5 De igual forma que en la preparación de medios de cultivo, deben registrarse los datos correspondientes en el **FO-AC-183 Bitácora de Preparación de Medios de Cultivo y Diluyentes**

6.8 Duración de los medios de cultivo y diluyentes preparados

Los medios de cultivo líquidos y diluyentes tienen una duración de hasta tres meses en refrigeración (2-8°C). Los medios de cultivo sólidos tienen una duración máxima de cuatro semanas a la misma temperatura. Como referencia, la fecha de expiración de los medios de cultivo preparados se registra en el **FO-AC-183 Bitácora de Preparación de Medios de Cultivo y Diluyentes** en la casilla correspondiente.

7. REVISIÓN DE ESTE DOCUMENTO


El presente documento debe revisarse antes del 02/05/2027 o antes de su vencimiento si fuere necesario.

8. BIBLIOGRAFÍA

Farmacopea de los Estados Unidos de América 2012 (USP 40). <61> Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de recuento microbiano; <62> Examen microbiológico de productos no estériles: Prueba de microorganismos específicos.<71> Pruebas de esterilidad.

Microbiology Manual 12th Edition. Merck.

Norma ISO 11133:2014

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 8 de 11

9. ARCHIVO


El presente documento original será archivado en Gestión de Calidad bajo condiciones de seguridad adecuadas, además, se emiten dos copias controlada siendo los responsables Asistente de Documentación y Jefe de Microbiología.

10. ANEXOS

CÓDIGO	NOMBRE
N.A.	

Tabla 1 – Medios de cultivo Merck® para ensayos microbiológicos


Medio de cultivo	Abreviatura	No. de catálogo	Método de análisis en el que se utiliza
Agar tripticasa soya (CASO)	C	1.05458.0500 ó 1.05458.5000	Recuento microbiano Muestreo de superficies, guantes y manos
Agar tripticasa soya (CASO) con polisorbato y lecitina	CPL	1.07324.0500	Muestreo de superficies en áreas limpias (cajas RODAC)
Agar Sabouraud 4% Dextrosa	S	1.05438.0500 ó 1.05438.5000	Recuento microbiano Muestreo de ambientes
Agar para recuento en placa	PC	1.05463.0500	Recuento microbiológico de agua Recuento microbiológico de soluciones para hemodiálisis Recuento microbiológico de producto en proceso
Agar MacConkey	MK	1.05465.0500	Recuento microbiano/ microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Agar Manitol sal	MS	1.05404.0500	Recuento microbiano Marcha de identificación microbiana
Agar Cetrimida	CET	1.05284.0500	Recuento microbiano/microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	XLD	1.05287.0500	Recuento microbiano/microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Agar antibiótico No. 11	AB11	1.05269.0500	Valoración microbiológica de Azitromicina
Agar Chromocult	CHR	1.10426.0500	Recuento microbiológico de agua/ detección de coliformes en agua potable
Agar Eosina Azul de metileno (EMB)	EMB	1.01347.0500	Recuento microbiológico de agua (NMP) Muestreo de manos de personal
Caldo tripticasa soya (CASO)	TS	1.05459.0500 ó 1.05459.5000	Prueba de esterilidad Recuento microbiano
Caldo tioglicolato	TIO	1.08191.0500	Prueba de esterilidad
Caldo lactosa	L	1.07661.0500	Recuento microbiano Recuento microbiológico de agua (NMP)

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 9 de 11

Caldo bilis verde brillante	BVB	1.05454.0500	Recuento microbiológico de agua (NMP)
Caldo cloruro sódico-peptona (tamponado) /Agua peptonada buferada	AP	1.10582.0500/ 1.07228.0500	Prueba de esterilidad /Recuento microbiano
Caldo Macconkey	CMK	1.05396.0500	Recuento microbiano/microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Caldo Sabouraud Dextrosa 2%	CS	1.08339.0500	Recuento microbiano/microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Caldo Rappaport Vassiliadis	R	1.07666.0500	Recuento microbiano/microorganismos específicos Marcha de identificación microbiana
Tween 20	T20	8.22184.1000	Límite microbiano (aditivo) para AP


11. CONTROL DE REGISTROS

CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
FO-AC-183 Bitácora de preparación de medios de cultivo y diluyentes	Jefe de Microbiología	NA	Personal del laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipos de Aseguramiento de calidad, Investigación y Desarrollo y Microbiología	Jefe de Microbiología	En leitz por fecha	Personal del laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-116 Control de autoclave Tuttnauer	Jefe de Microbiología	En leitz por fecha	Personal del laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-014 Control de uso autoclave Raypa	Jefe de Microbiología	En leitz por fecha	Personal del laboratorio de Microbiología	3 años

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 10 de 11

12. CAMBIOS EN EL DOCUMENTO

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	Esta versión cambia al nuevo formato y su contenido se adecúa a la nueva instalación del Laboratorio de Análisis Microbiológico, en la nueva planta de producción de Laboratorios Bonin.
2	Se cambia el nombre del registro R01.MA.MB.15 Cuaderno de preparación de medios de cultivo y diluyentes por el de Bitácora de preparación de medios de cultivo y diluyentes que incluye el registro de fecha de vencimiento del medio de cultivo preparado, el No. de lote de fabricante y fecha de vencimiento del fabricante. Además se agregó el numeral 6.5 Duración de los medios de cultivo y diluyentes preparados.
3	Se cambia el código y el formato del documento según lo indicado en el PEO-SGC-001-11 Elaboración, Aprobación, Revisión y Control de documentos, con ello cambia la numeración de la versión anterior. Se incluye 1 numeral 6.4 Asignación de número de lote en donde se indica el nuevo formato adoptado. En el numeral 6.6.8 se especifica la forma de desinfectar y activar el sistema de aire previo al plaqueo de los medios de cultivo sólidos, así como el procedimiento para ingreso y cambio de indumentaria. En el numeral 6.8 Duración de los medios de cultivo y diluyentes preparados, se cambia el tiempo de duración de los medios de cultivo líquidos y diluyentes de dos semanas a cuatro semanas. Se modifica la Tabla 1: se agrega una columna de abreviaturas, útil para la asignación de los lotes a los medios de cultivo.
4	Se cambia el tiempo de duración de los medios de cultivo de cuatro a ocho semanas en refrigeración.
5	Se cambia el código de R01.MA.MB.15 Bitácora de preparación de medios de cultivo y diluyentes a FO-AC-183 Bitácora de preparación de medios de cultivo y diluyentes.
6	Se agregan los caldos Sabouraud, MacConkey y Rappaport Vassiliadis para la metodología de Recuento microbiano. Se cambia el término campana de flujo laminar por el de cabina de bioseguridad en todo el texto del documento. Se eliminan las condiciones del ciclo de esterilización de 15 minutos y 121°C y se sustituye por el texto “ciclo designado para líquidos”. En el numeral 6.9 Preparación de medios de cultivo sólidos se agrega la palabra plaqueo: Preparación y plaqueo de medios de cultivo sólidos; en éste numeral también se agrega el uso del traje blanco para la operación del plaqueo en la sala 702. Se cambia la fecha de expiración de los medios de cultivo líquidos y diluyentes por un máximo de 6 meses y el de los medios sólidos por un máximo de cuatro semanas tomando como referencia lo descrito en la norma ISO 11133:2014 que se incluye en Bibliografía.
7	En el numeral 3 Documentos relacionados se agrega el PEO-AC-081 Control microbiológico del agua del sistema de tratamiento. Se agrega en el numeral 6.8.1.1 el inciso f) referente a la preparación de tubos de caldo Rappaport Vassiliadis Se agrega en la tabla 1 el medio Agar tripticosa soya con polisorbato y lecitina que se utiliza en la preparación de las cajas RODAC para el muestreo de superficies en áreas limpias.
8	Se agrega el equipo Flujo laminar

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-085-11
		Versión: 11
		Vigencia: 02/05/2024 Vencimiento: 02/05/2027
		Página 11 de 11

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
9	Se cambian las proporciones de la preparación de los medios de cultivo en el inciso 6.6.6. Se elimina la cabina de seguridad en el inciso 6.6.7. Se eliminó la NOTA: en el caso del agar sangre, la sangre de carnero debe agregarse cuando el agar ya esterilizado se Encuentra a 44-47°C. La sangre debe estar a temperatura ambiente al momento de agregarla para evitar que el medio se enfríe al adicionarla, lo que puede producir grumos. Al agregar la sangre debe homogenizarse completamente con un movimiento circular suave para evitar la formación de burbujas. Se cambia el tiempo de duración de los medios de cultivo líquidos de 6 meses a 3 meses. Se elimina el agar sangre base de la tabla de los medios de cultivo que se utilizan en el Laboratorio.
10	Se elimina de tabla 1 Agar nutritivo.