

	<p align="center">Instructivo de trabajo</p> <p align="center">Análisis de muestra</p>	Código: GTO-CAL-INST 008
		Versión: 001
		Vigencia: 01/08/2017
		Página 1 de 1
Gelato Natural SA		

1. Historial de cambios

Fecha	Versión	Motivo
07/08/2017	001	Version inicial

2. Objetivo

Describir procedimiento para análisis de muestra de producto

3. Alcance

Departamento de calidad

4. Referencias

CAA Capitulo XII - Artículo 1078 - (Res 2141, 5.9.83)

5. Responsabilidades

Analista de calidad

6. Definiciones y abreviaturas

BAM: Bacterias aerobias mesófilas

7. Desarrollo

Paso	Accion	Descripcion
1	Preparación de homogenato y diluciones	<p>Prender el mechero en la zona de trabajo. Rotular una bolsa estéril con los datos de la muestra. Tomar 10 gr de la muestra, pesarlo dentro de la bolsa estéril, inmediatamente agregar 90 ml de agua peptonada estéril. Cerrar la bolsa y homogeneizar con la mano. Las diluciones necesarias para los diferentes recuentos se harán en base al homogenato, con las proporciones adecuadas para análisis.</p> <p>Para BAM dilución 10^{-3}: tomar 1 ml del homogenato y diluirlo en 99 ml de agua peptonada estéril</p> <p>Para BAM dilución 10^{-4}: Tomar 1 ml de la dilución 10^{-3} y diluirlo en 9 ml de agua peptonada estéril</p>

2.1	Siembra en placa	Rotular las placas Petrifilm que se vayan a utilizar con los datos de la muestra. Tomar 1 ml del homogenato con pipeta esteril o micropipeta automática, levantar el film superior de la placa y depositar el homogenato en el centro del disco, sin que la punta toque el medio de cultivo. Sin dejar caer, cubrir el disco suavemente con el film superior. esperar unos segundos antes de esparcir el homogenato con el top plástico.	
2.2	Investigación de Salmonella spp en 50 gr	<p>I) Preparación de medio de enriquecimiento: agregar 44 gr de medio TT a 1 lt de agua destilada. Mezclar vigorosamente, llevara hervor y enfriar por debajo de los 50°C. Agregar 20 ml de solución I/IK (6 gr de cristales de Iodo + 5 gr de IK + 20 ml de agua destilada y desionizada), añadir 10 ml de solución Verde Brillante.</p> <p>II) Enriquecimiento no selectivo: Prender el mechero en la zona de trabajo. Rotular una bolsa esteril con los datos de la muestra. Tomar 50 gr de la muestra, pesarlo dentro de la bolsa esteril, inmediatamente agregar 450 ml de agua peptonada bufferada esteril (2 botellas de 225 ml). Cerrar la bolsa y homogeneizar con la mano. Incubar según se indica en paso 3</p> <p>III) Enriquecimiento selectivo: luego de incubar II), tomar 1 ml y añadirlo a tubo esteril con 10 ml de caldo tetrationato anteriormente preparado e incubar según indica paso 3</p>	
2.3	Investigación de Listeria monocytogenes	<p>Preparación de medio de enriquecimiento: A 225 ml de agua esteril a 30°C se el agregan 11,30 gr de medio de enriquecimiento RapidCheck Listeria y 0,23 gr de suplemento de medio de enriquecimiento (que se conserva en heladera). Agitar vigorosamente. Preparar el homogenato, pesando 25 gr de muestra más el medio de enriquecimiento hidratado.</p> <p>Luego de la incubación, transferir 400 µl del caldo con la pipeta del kit a tubo de ensayo (también del kit). Colocar en baño a 100°C durante 5 minutos. Remover y dejar enfriar a temperatura ambiente. Tomar una tira reactiva y sumergirla con la flecha apuntando hacia abajo. Dejar revelar durante 10 minutos. La lectura debe hacerse antes de los 20 minutos.</p>	
3	Incubación	<p>BAM: 48 hs, 35 ± 3°C</p> <p>Coliformes totales y E. coli : 24 hs, 35 ± 3°C</p> <p>S. aureus coagulasa (+): 24 hs, 35 ± 3°C</p> <p>Hongos y levaduras: Temperatura ambiente en recipiente cerrado, 5 días</p> <p>Coliformes fecales: 24 hs, 45°C ± 2°C</p> <p>Salmonella spp: Enriquecimiento no selectivo 24 hs, 35 ± 3°C //</p> <p>Enriquecimiento selectivo: 24 hs, 45°C ± 2°C</p> <p>Listeria spp: 40 hs, 30 ± 0,5°C</p>	

4	Lectura	<p>Placas: se leerán aquellas que tengan entre 15 y 150 colonias. Si $n > 150$ se realizará una dilución y resiembra para poder contabilizar bien.</p> <p>BAM, coliformes fecales, Hongos y levaduras: se cuentan todas las colonias</p> <p>Coliformes totales: Se cuentan todas las colonias rojas y azules. Las rojas corresponden a <i>E. coli</i></p> <p><i>S. aureus</i> : se cuentan las colonias rojo-violetas. Para confirmar colonias distintas, utilizar el disco Staph Express e incubar 1 a 3 hs a $35 \pm 3^\circ\text{C}$ y contar zonas rosadas aunque no haya visualización de colonia.</p> <p>RapidCheck Listeria y Salmonella: Una línea roja indica negativo. Dos líneas rojas indican presunto positivo. En tal caso, se generará un PNC según instructivo GTO-CAL-INST-006</p> <p>Análisis Organoléptico: se hará una degustación del producto, buscando sabores extraños al mismo.</p>	
5	Resultados e informe	<p>BAM: $n > 15$ se informa $n \times 1/\text{dilución UFC/g}$. Para $n < 15$ se informa < 1000 para dilución 10^{-3} o < 10000 para dilución 10^{-4}</p> <p>Coliformes totales y <i>E. coli</i>: se informa $n \times 100 \text{ UFC/g}$. Para $n < 15$ se informa $< 150 \text{ UFC/g}$</p> <p><i>S. aureus</i> coagulasa (+): se informa $n \times 100 \text{ UFC/g}$. para $n < 15$ se informa $< 150 \text{ UFC/g}$</p> <p>Hongos y levaduras: se informa $n \times 100 \text{ UFC/g}$. para $n < 15$ se informa $< 150 \text{ UFC/g}$</p> <p>Coliformes fecales: se informa ausencia/presencia en 10 g</p> <p>Salmonella spp: se informa ausencia/presencia en 50 g</p> <p>Listeria monocytogenes: se informa ausencia/presencia en 25 g</p> <p>Análisis Organoléptico: OK/No OK</p>	<p>Límites según CAA:</p> <p>BAM: $2 \times 10^5 \text{ UFC/g}$</p> <p>Coliformes totales: $1,5 \times 10^2 \text{ UFC/g}$</p> <p>Coliformes fecales: 1 UFC/g</p> <p><i>S. aureus</i> coagulasa (+): $5 \times 10^2 \text{ UFC/g}$</p> <p>Hongos y levaduras: 100 UFC/g (no es indicador inhabilitante)</p> <p>Salmonella spp : ausencia en 50 g</p> <p>Adicional</p> <p>Listeria monocytogenes : ausencia en 25 g</p> <p>Escherichia coli: recuento en placa de coliformes 37°C, sin recuento</p>
6	Registro de resultados	<p>Los resultados se volcarán en un registro donde están los datos de la muestra, la fecha de siembra, el tipo de ensayo y los resultados. GTO-CAL-REG 004 Análisis MB y organolépticos</p>	

8. Documentos relacionados

GTO-CAL-REG-004 Análisis MB y organolépticos

9. Anexos

Accion	Nombre	Iniciales	Firma
Preparo			
Reviso			
Aprobo			