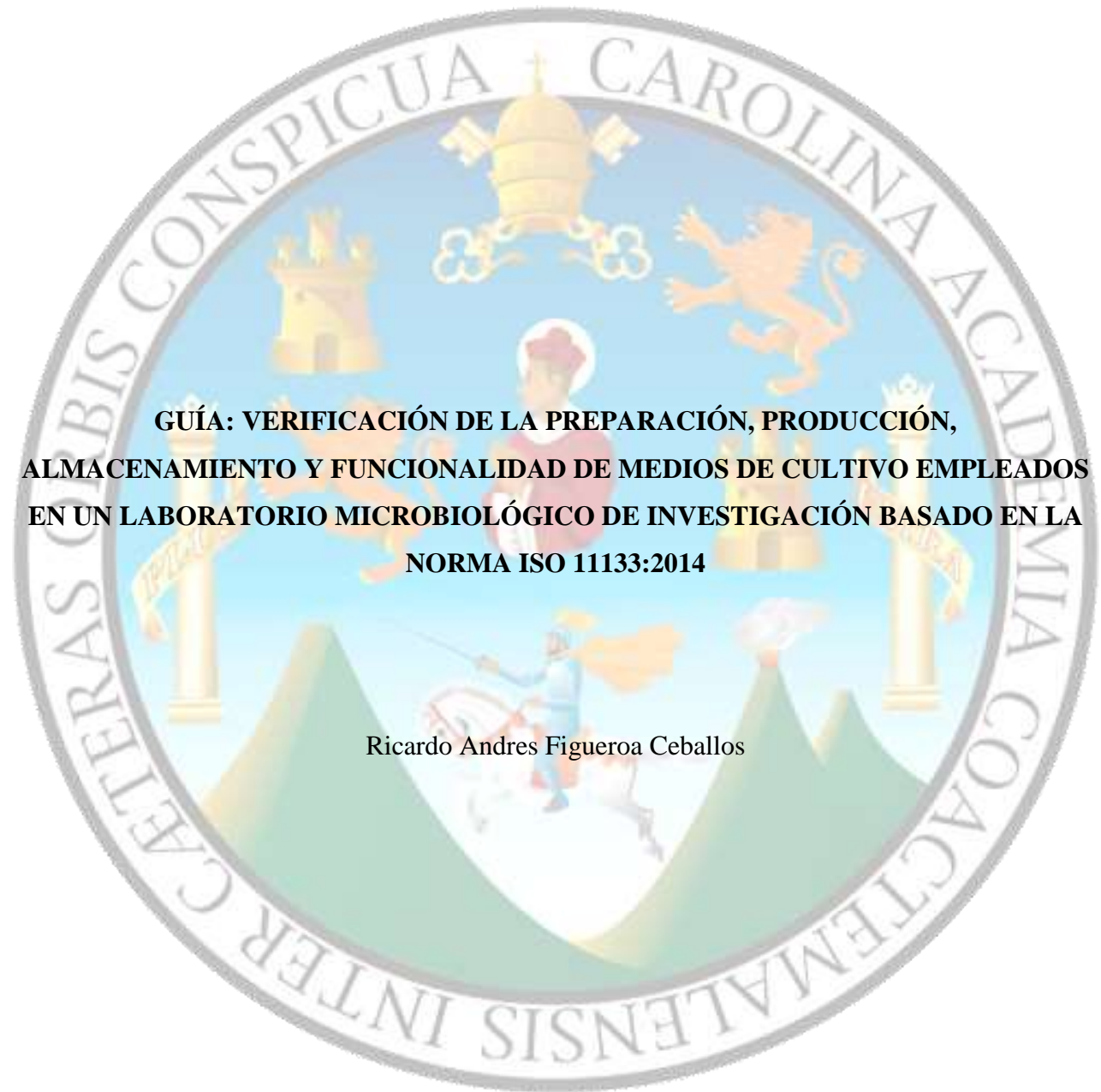


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**GUÍA: VERIFICACIÓN DE LA PREPARACIÓN, PRODUCCIÓN,
ALMACENAMIENTO Y FUNCIONALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS
EN UN LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DE INVESTIGACIÓN BASADO EN LA
NORMA ISO 11133:2014**

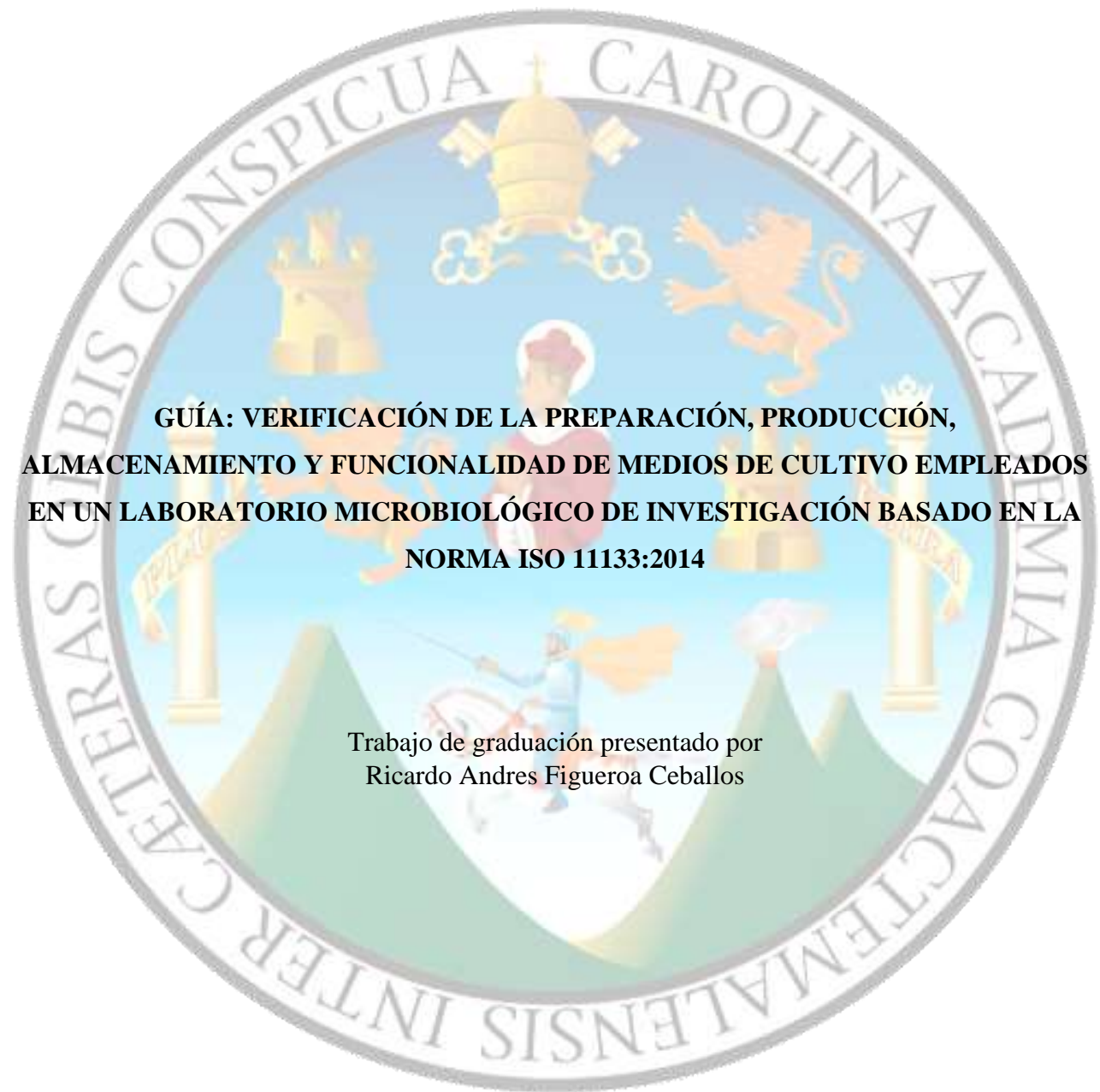
Ricardo Andres Figueroa Ceballos

Maestría en Gestión de la Calidad con Especialización en Inocuidad de Alimentos

Guatemala, enero de 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Trabajo de graduación presentado por
Ricardo Andres Figueroa Ceballos

Para optar al grado de Maestro en Artes

Maestría en Gestión de la Calidad con Especialización en Inocuidad de Alimentos

Guatemala, enero de 2019

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	DECANO
M.A. Elsa Julieta Salazar de Ariza	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
Br. Byron Enrique Pérez Díaz	VOCAL IV
Br. Pamela Carolina Ortega Jiménez	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D.
María Ernestina Ardón Quezada, MSc.
Jorge Mario Gómez Castillo, MA.
Clara Aurora García González, MA.
Silvia María Morales, MSc.

RESUMEN EJECUTIVO

Los laboratorios de microbiología son áreas donde se lleva a cabo la identificación y caracterización de microorganismos. Una de las principales herramientas para llevar a cabo dichas actividades son los medios de cultivo, los cuales deben aportar los nutrientes y el soporte necesario para permitir el desarrollo de estos.

En el presente trabajo se planteó como objetivo general elaborar una guía para la verificación de la preparación, producción, almacenamiento y funcionalidad de medios de cultivo a través de la norma ISO 11133:2014 “Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo”, para un laboratorio microbiológico de investigación. La guía fue propuesta luego de determinar por observación directa y revisión documental, si los procedimientos para la preparación, producción, almacenamiento y comprobación de la funcionalidad cumplían con las recomendaciones de la norma. Asimismo, en esta investigación se evaluaron todas las áreas y procedimientos del laboratorio relacionados con la elaboración de medios de cultivo y su almacenamiento.

La evaluación respecto a las recomendaciones de la norma antes mencionada mostró un cumplimiento del 6.3% en los procedimientos evaluados; además, se elaboró una guía para la preparación, producción, almacenamiento y evaluación de la funcionalidad de medios de cultivo. La guía propuesta será de utilidad para mantener buenas prácticas de acuerdo con la norma ISO 11133:2014 en la preparación, producción y almacenamiento, así como para evaluar la funcionalidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio.

Índice

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	3
A. Laboratorios de Microbiología	3
1. Gestión de la calidad en los laboratorios microbiológicos.....	3
2. Alcances del sistema de gestión.....	3
3. Control de la documentación.....	4
4. Obtención y almacenamiento de las muestras.....	4
5. Procesamiento de las muestras	4
6. Control de calidad externo	5
B. Medios de cultivo.....	6
1. Componentes de los medios de cultivo	6
2. Micronutrientes	8
3. Vitaminas	8
4. Compuestos indefinidos y aminoácidos.....	8
5. Tipos de medios de cultivo.....	8
C. Control de calidad en los medios de cultivo.....	10
1. Monitoreo de la preparación	11
2. Parámetros de esterilización.....	12
3. Control de los diferentes lotes.....	12
4. Control en la selección de ingredientes.....	13
5. Medios de cultivo deshidratados	14
6. Parámetros físicos	14
7. Análisis físicos y químicos.....	14
8. Pruebas biológicas.....	15
9. Método ectométrico.....	16
10. Tasa de productividad.....	16
11. Parámetros de contaminación.....	17
D. ISO 11133:2014.....	17
1. Alcance de la norma.....	17
2. Actualizaciones de la norma	18
3. Aseguramiento de la calidad	18
III. JUSTIFICACIÓN	19

IV.	OBJETIVOS	20
A.	General.....	20
B.	Específicos	20
V.	METODOLOGÍA.....	21
A.	Determinación de la conformidad respecto a la norma ISO 11133:2014.....	21
1.	Evaluación de la preparación, producción y almacenamiento de los medios de cultivo	21
2.	Evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo	21
B.	Elaboración de la guía de buenas prácticas en la fabricación	21
C.	Elaboración de la guía de evaluación de la funcionalidad	21
VI.	RESULTADOS.....	22
VII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	34
VIII.	CONCLUSIONES	37
IX.	RECOMENDACIONES.....	38
X.	REFERENCIAS	39
XI.	ANEXOS	43

I. INTRODUCCIÓN

En los laboratorios microbiológicos se utilizan distintas técnicas para identificar y caracterizar microorganismos, parte de estas actividades comienza con el aislamiento de estos en medios de cultivo, los cuales son sistemas que aportan los nutrientes y condiciones que permiten su desarrollo. La composición de los medios de cultivo depende del tipo de microorganismo que se quiere recuperar, entre sus ingredientes puede haber inhibidores, indicadores de reacciones químicas y nutrientes. La preparación puede llevarse a cabo dentro del laboratorio o puede ser adquirida ya preparada por proveedores externos. En algunos casos su formulación resulta ser un proceso complejo y los procedimientos y registros se convierten en una parte fundamental para obtener un producto de buena calidad (Fraile & Prieto, 2003).

La existencia de procedimientos, su revisión y la disponibilidad durante la preparación y el almacenamiento de los medios de cultivo determina la calidad de estos y por lo tanto, si el microorganismo puede o no ser recuperado. Así, los laboratorios deben disponer de un plan de aseguramiento de la calidad y una guía sobre buenas prácticas en la preparación y evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo, que permita estandarizar los procedimientos y obtener medios de cultivo con las características requeridas (Tortora, Funke & Case, 2007).

Aunque algunos autores proponen metodologías para la preparación de medios de cultivo, se ha prestado poca atención al control de calidad. No obstante, la ISO 11133:2014 “Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo” fue creada específicamente para laboratorios de microbiología en industrias de alimentos. Sin embargo, aunque el objetivo de un laboratorio no sea el análisis de microorganismos en alimentos, los medios de cultivo siempre deben conservar su contenido nutricional y seguir lineamientos para su preparación, almacenamiento y para la evaluación de su funcionalidad, por lo que las recomendaciones de la ISO 11133:2014 son útiles para todo tipo de laboratorio donde se utilicen medios de cultivo (Gamazo, López-Goñi & Díaz, 2005).

En este estudio se propuso realizar una guía sobre la preparación, producción, almacenamiento y evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo empleados en un laboratorio microbiológico basado en la norma ISO 11133:2014 a través de una evaluación del cumplimiento de las recomendaciones propuestas por dicha norma.

II. MARCO TEÓRICO

A. Laboratorios de Microbiología

Los laboratorios de Microbiología desempeñan un papel importante en la identificación de microorganismos de interés para la generación de bienes y servicios para la humanidad. Así pues, el diagnóstico o identificación de los microorganismos no siempre es un proceso rápido y se basa en técnicas como tinciones, reacciones bioquímicas y la mayoría de las veces a través de la realización de cultivos. Por lo tanto, un laboratorio de Microbiología debe poner en práctica una serie de acciones que le permitan asegurar una adecuada práctica en el aislamiento, identificación y caracterización de los microorganismos. Esto significa que deben ser controlados una serie de factores y eventos, tales como el monitoreo de medios de cultivo, reactivos, instrumentos, procedimientos y se debe poner especial énfasis en la capacitación permanente del personal (Herrera & Campos, 2005).

1. Gestión de la calidad en los laboratorios microbiológicos

La tendencia actual hacia la acreditación y hacia la calidad ha llevado a los laboratorios a implantar sistemas de gestión que permitan garantizar que los ensayos, pruebas e identificaciones de microorganismos se llevan a cabo con un alto grado de calidad. Para ello los sistemas incluyen parámetros de evaluación de la calidad así como evaluaciones de la competencia técnica del laboratorio, además se presta especial atención a la cualificación y la competencia del personal, la adecuación de las instalaciones, el uso de métodos validados y equipos controlados, la gestión de la información y la participación en programas de intercomparación (Rojo, Aguiar, Cercenado, Ory & Rosa, 2010).

2. Alcances del sistema de gestión

Idealmente un sistema de gestión debe incorporar la totalidad del laboratorio de microbiología. Sin embargo, la institución puede establecer determinadas pruebas a las que aplicará dicho sistema, así pues, inicialmente se necesita incluir en el plan de implantación requisitos como el tipo de muestra, la determinación o análisis que se va realizar y el método que se va a emplear.

Posteriormente, se deben ir ampliando los procedimientos y registros para la realización de una prueba en particular (Rojo et al., 2010).

3. Control de la documentación

El laboratorio debe contar con documentos donde se describen los procesos necesarios para implantar un sistema de gestión. Entre los más importantes se encuentra el manual de calidad, procedimientos de obtención y transporte de muestra, procedimientos de gestión generales, procedimientos normalizados de trabajo, los registros y los formularios (Rojo et al., 2010).

4. Obtención y almacenamiento de las muestras

Durante la fase preanalítica debe prestarse atención a la obtención de las muestras, los laboratorios de investigación cuentan con colecciones de bacterias, virus u hongos las cuales son obtenidas de hospitales, clínicas, suelos, ambientes, agua, entre otros. Así pues, debe existir un procedimiento aceptado y documentado sobre las condiciones que deben tener las muestras para obtener los resultados deseados (MacFaddin, 1985).

5. Procesamiento de las muestras

Una de las herramientas más importantes en el laboratorio de microbiología son los medios de cultivo. Por lo tanto, Si los medios de cultivo son comerciales, deben proporcionarlos fabricantes certificados. Antes de utilizarlos hay que comprobar las características físicas (color, espesor del medio, precipitados, placas rotas, excesivo número de burbujas, etc.) y las posibles contaminaciones. Existen medios denominados exentos que no requieren que en el laboratorio se compruebe su funcionamiento antes de ponerlos en uso, siempre que el fabricante aporte las especificaciones de calidad correspondientes. En los medios no exentos y en los exentos que demuestren alguna deficiencia sí es necesario comprobar que permiten el crecimiento de microorganismos específicos y/o inhiben el crecimiento de otros y que producen una adecuada respuesta bioquímica o morfologías típicas de los microorganismos ensayados. Cuando los medios de cultivo se preparan en el propio laboratorio hay que controlar todos los componentes, el

procedimiento de elaboración, el envasado, etiquetado y almacenamiento y por último, comprobar las características físicas, la esterilidad y el funcionamiento (Jenkins & Sewell, 2004).

6. Control de calidad externo

Los laboratorios de microbiología deben participar en programas de evaluación externa, de esta manera logran contrastar los resultados con otros laboratorio. Dichos programas pueden estar organizados nacional o internacionalmente y deben estar reconocidos por los servicios de salud, las sociedades científicas u otros organismos. Es recomendable analizar las muestras del programa dentro de la rutina del laboratorio como si fueran muestras desconocidas, utilizando las mismas técnicas y realizadas por el personal que intervendría en el procesamiento de este tipo de muestras. Los resultados deben revisarse dejando constancia de las conclusiones obtenidas y si el resultado obtenido no es el adecuado hay que estudiar las causas y aplicar acciones correctivas (Anderson, Noble, Wiessfeld & Zabransky, 2005).

7. Control de equipos

El buen uso y funcionamiento de los equipos es fundamental en la calidad de los análisis microbiológicos. El laboratorio debe contar con los equipos necesarios para la correcta ejecución de los ensayos y disponer de un inventario actualizado de los equipos en uso. Cuando se recibe un equipo en el laboratorio hay que comprobar que cumple con las especificaciones previstas, además de verificar la documentación que lo acompañe y su estado. Antes de ponerlo en uso se realizará una validación inicial o confirmación a través de evidencias objetivas de que los requerimientos para el uso o aplicación propuestos se cumplen. En el caso de los instrumentos de medida, la validación puede incluir su caracterización determinando la incertidumbre y otras características, como la exactitud o la precisión. En general, en los laboratorios de microbiología no es necesario el cálculo de la incertidumbre, a no ser que el organismo acreditador o el laboratorio considere crítica una medida en un determinado equipo (Rojo et al., 2010).

B. Medios de cultivo

Los medios de cultivo son soluciones acuosas donde se desarrollan los microorganismos. El desarrollo de los microorganismos solo ocurre en presencia de los nutrientes requeridos específicos para cada grupo. Los nutrientes son las sustancias necesarias para la síntesis de material celular y la obtención de energía. Estos nutrientes son orgánicos e inorgánicos (solo los organismos litótrofos pueden crecer en soluciones exentas de nutrientes orgánicos) (Roger, 1996).

Así pues, la cantidad de sales y agua que se agregue a un medio de cultivo, se relaciona directamente con el pH, la fluidez y la presión osmótica que se le quiera brindar a los microorganismos. Si se requiere sangre u otros componentes inestables, como antibióticos y compuestos fácilmente oxidables al calor, cuando se requiera estos se esterilizarán por otro método y se agregarán al medio cuando se encuentre entre 45 a 50°C. En cuanto a los inhibidores, cabe aclarar que un compuesto puede actuar como inhibidor para algunos microorganismos y no para otros (Guirola, 1985).

La diversidad de microorganismos hace que los medios de cultivo sean muy variados. Para el cultivo de la mayor parte de microorganismos todos los medios contienen como componentes principales el agua desmineralizada, el agar, determinados extractos animales o vegetales, peptonas, fluidos corporales, reguladores del pH e inhibidores tales como los antibióticos (Tortora, Funke & Case, 2007).

1. Componentes de los medios de cultivo

Los componentes de un medio de cultivo dependen del microorganismo que se pretende cultivar y de la finalidad del cultivo. El mayoritario en todos los medios de cultivo es el agua desmineralizada. En ocasiones específicas puede utilizarse agua corriente, pero debe evitarse porque ciertos cationes (como el Ca^{2+} o el Mg^{2+}) pueden formar sales insolubles con otros componentes del medio durante la esterilización (Guirola, 1985).

Respecto al agar, es un polisacárido complejo que se extrae de las algas rojas. Para fundirlo se requiere una temperatura de 100°C, por lo que permanece sólido a lo largo de toda la escala de

temperaturas a que se cultivan las bacterias. Sin embargo, una vez fundido, permanece líquido hasta que la temperatura baja a 44°C aproximadamente, hecho que hace posible su uso para la preparación de cultivos por el método de vertido en placa. Forma un gel espeso y transparente. Cabe mencionar que es un carbohidrato complejo que es atacado por muy pocas bacterias, por lo que el problema de su fluidificación se presenta muy raras veces (Roger, 1996).

También, se pueden utilizar sustancias puras o mezclas de sustancias orgánicas como los azúcares que son adicionadas como fuente de carbono y energía para los microorganismos. Entre ellas, es más común el empleo de monosacáridos como la glucosa, disacáridos como la lactosa y polisacáridos como el almidón. Ciertas bacterias no pueden utilizar los carbohidratos como nutrientes y se emplean otras sustancias puras (aminoácidos, ácidos grasos) o mezclas de sustancias orgánicas (Tortora et al., 2007).

Cuando los requerimientos nutricionales de los microorganismos son complejos o se pretende un crecimiento rápido se utilizan mezclas de sustancias orgánicas. Las mezclas de sustancias orgánicas más comunes en la preparación de los medios de cultivo son las peptonas, el extracto de carne y el extracto de levadura. Las peptonas y los extractos de carne y de levadura se utilizan preferentemente como fuente de nitrógeno, fósforo y azufre orgánicos. Algunos de sus componentes se pueden utilizar como factores orgánicos de crecimiento o como fuente de carbono y energía (Tortora et al., 2007).

Respecto a las sustancias inorgánicas, estas cumplen funciones poco específicas, por ejemplo el NaCl puede ser utilizado para ajustar la osmolaridad del medio. Algunas sales pueden ser requeridas específicamente en el metabolismo como el K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y el Fe^{3+} . Así pues, los requerimientos minerales más obvios son los de fósforo que es fundamental para la síntesis de ácidos nucleicos y fosfolípidos, los de azufre para la síntesis de aminoácidos cisteína y metionina o nitrógeno que constituye el segundo elemento tras el carbono entre los que forman la célula. Aunque se pueden utilizar fuentes orgánicas, es común usar como fuente de fósforo un fosfato, la de azufre como un sulfato y la de nitrógeno como nitrato o una sal de amonio (Roger, 1996).

2. Micronutrientes

Los micronutrientes son componentes que necesitan los microorganismos en pequeñas cantidades y son esenciales para el funcionamiento de varias enzimas. Estos deben estar incluidos en el medio de cultivo aunque su requerimiento en muy baja cantidad determina que frecuentemente no sea necesario añadirlos expresamente ya que es suficiente su presencia como contaminantes de otros componentes. No obstante si se utilizan componentes y agua de pureza muy altas los medios de cultivo pueden ser deficientes en micronutrientes (Guirola, 1985).

3. Vitaminas

Las vitaminas más comúnmente utilizadas corresponden a las del complejo B que son indispensables en los medio de cultivo, entre ellas se encuentra la piridoxina (vitamina B₆), ácido nicotínico (vitamina B₃), pantotenato de calcio (vitamina B₅). Además, El inositol aunque es una sustancia de tipo carbohidrato, con frecuencia se le considera una vitamina. No es imprescindible pero cuando se agrega estimula el crecimiento (Berrios & Berthouly, 1987).

4. Compuestos indefinidos y aminoácidos

Existen numerosos complejos nutritivos como el hidrolizado de caseína, el agua de coco (por su alto contenido en citosinas), el extracto de malta y el extracto de levadura que se usan en los medios de cultivo. Sin embargo, han dejado de usarse por la gran variación que provocan en su efecto sobre el crecimiento (Berrios & Berthouly, 1987).

Los aminoácidos proveen a las células vegetales de nitrógeno inmediatamente disponible y su absorción puede ser mucho más rápida que la del nitrógeno inorgánico del mismo medio, pero su presencia en el medio de cultivo no sustituye a este último. Algunos aminoácidos de uso frecuente son la arginina, el ácido glutámico, el ácido aspártico y la tirosina (Berrios & Berthouly, 1987).

5. Tipos de medios de cultivo

Los medios de cultivo que se utilizan en el laboratorio dependen del microorganismo que se pretende cultivar y de la finalidad de su cultivo. Puede hacerse una descripción global de los

mismos atendiendo a su composición química, a su estado físico y la finalidad del cultivo. Como la distribución se hace atendiendo a diferentes criterios un medio de cultivo puede incluirse en más de una categoría (Prats, 2006).

i) Medios líquidos

Es una infusión que se prepara poniendo carne picada en una olla con agua, que se lleva a ebullición para solubilizar y extraer de la carne las proteínas, los factores esenciales y los oligoelementos. Este caldo se filtra para obtener en un medio límpido, se añade cloruro sódico y se esteriliza en la autoclave. También puede prepararse, disolviendo en el agua unos gramos de extracto de carne comercial y añadirse otros nutrientes, como peptonas y glucosa, así como cloruro sódico y un tampón de pH (Prats, 2006).

ii) Medios sólidos

A un medio de cultivo líquido puede añadirse una sustancia gelificante, como el agar en polvo, que se disuelve por ebullición. Al enfriarse convierte el medio líquido en sólido. Por calentamiento funde de nuevo y se puede verter en diversos recipientes, en los que al enfriarse se adquiere nuevamente la consistencia sólida (Prats, 2006).

Los medios de cultivo se reparten en tubos, placas de Petri, botellas o matraces, según las necesidades. Las placas de Petri son recipientes cilíndricos de plástico o vidrio transparente con una tapa, en las que se vierten los medios sólidos ofreciendo una gran superficie para siembra (Prats, 2006).

iii) Medios de cultivo químicamente definidos

Para favorecer el crecimiento microbiano un medio debe proporcionar una fuente de energía así como fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y cualquier otro factor de crecimiento que el organismo no pueda sintetizar. Un medio químicamente definido es uno del que se conoce la composición química exacta. En el caso de un microorganismo que utilizan

compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía, el medio químicamente definido debe contener factores de crecimiento orgánicos que actúen como fuente de carbono y energía. Así, los microorganismos con requerimientos especiales de crecimiento requieren de varios factores que se formulan en concentraciones específicas de vitaminas y micronutrientes (Tortora, Funke & Case, 2007).

iv) Según su finalidad

Cuando se cultivan microorganismos que requieren nutrientes comunes, se utilizan medios de cultivo ordinarios en los que sus nutrientes permiten el crecimiento de gran número de microorganismos, pero no de los que requieren nutrientes particulares. Las bacterias más exigentes nutricionalmente se cultivan en medios enriquecidos que contienen los nutrientes ausentes de los medios ordinarios, como por ejemplo factores orgánicos de crecimiento. Cuando se pretende que el propio cultivo de la bacteria diferencie entre distintos tipos de bacterias se utilizan medios de cultivo diferenciales que contienen componentes que proporcionan un cambio visible del cultivo si existen ciertas bacterias (Aspinall & Kilsby, 1979)

Así también, puede favorecerse la probabilidad de seleccionar determinados microorganismos específicos de una mezcla de ellos utilizando medios de cultivo selectivos o realizando enriquecimientos. Los Medios de cultivo selectivos son medios sólidos que contienen sustancias que inhiben el crecimiento de algunos microorganismos, pero que permiten el de otros. El Agar MacConkey contiene sales biliares antibacterianas pero permiten el crecimiento de las Enterobacterias cuyo hábitat natural (el intestino) contiene tales sales antibacterianas. El resultado es el crecimiento selectivo de las bacterias que resisten las sales biliares, entre ellas las enterobacterias. El efecto antibacteriano selectivo de algunos medios de cultivo permite su utilización sin aplicar la esterilización convencional (Prats, 2006).

C. Control de calidad en los medios de cultivo

El monitoreo de los medios de cultivo debe enfocarse en tres aspectos básicos, la habilidad del medio para proveer a los microorganismos de la nutrición adecuada para su crecimiento, inhibir el

crecimiento de microorganismos no deseados y producir reacciones bioquímicas bajo determinadas circunstancias. Así pues, los procedimientos para el control de calidad que tienen por objeto garantizar el buen desempeño de los medios deben incluir el monitoreo de la preparación, pruebas físicas y químicas en el producto final y pruebas biológicas en el producto final (Curtis, 1985).

1. Monitoreo de la preparación

Durante la preparación de medios de cultivo, el cuidado en la formulación y en la selección de los ingredientes es esencial para la obtención de un producto final conforme a los requerimientos del laboratorio. Por lo tanto, un sistema de gestión de calidad debe considerar la utilización de procedimientos adecuados para la producción de medios de cultivo que sean especificados por órganos reguladores, expertos en el campo o por usuarios con amplia experiencia en un determinado grupo de microorganismos. También, dicho sistema debe llevar registros para cada lote de medio de cultivo preparado, sobre los cuales deben anotarse, el número, la cantidad de medios preparados, el peso o volumen de los ingredientes utilizados, los detalles de la esterilización y la persona encargada de la preparación (Curtis, 1985).

Además, es importante resaltar que los procedimientos se deben monitorear cuidadosamente, ya que muchos registros no reflejan todos los componentes de un procedimiento. Por ejemplo, los registros de los ciclos de autoclaveado reflejan únicamente las condiciones dentro de equipo pero la mayoría de veces no toman en cuenta si el calor se distribuyó de manera homogénea y logró alcanzar la temperatura requerida en el lote que se está procesando. Por lo tanto, es importante que se utilicen instrumentos adecuados para realizar las mediciones y que se procese solo un determinado número de medios de cultivo según la capacidad de los equipos (Krishner, 1999).

Así pues, la preparación de los medios de cultivo debe ser monitoreada en todas las etapas del procedimiento con el fin de identificar no conformidades en los lotes producidos. Por lo tanto, es necesario identificar cada lote y cuando sea posible, cada unidad de cada lote, para lo cual, pueden utilizarse etiquetas que proporcionen detalles del tipo de medio, la fecha de preparación y el número de lote (Basu, Pal & Desai, 2005).

2. Parámetros de esterilización

La esterilización de los medios de cultivo desempeña un papel importante en la calidad. Generalmente se realiza en una autoclave para esterilizar los medios de cultivo. Sin embargo, el tiempo de autoclaveado y la cantidad de medios esterilizados debe ser cuidadosamente monitoreado. El tratamiento térmico de medios de cultivo complejos puede dar lugar a la destrucción de sus nutrientes ya sea por degradación térmica directa o por reacciones entre los componentes. Por lo tanto, es muy importante optimizar el proceso de calentamiento para minimizar los posibles daños. El ciclo de autoclaveado sugerido para la mayoría de medios de cultivo es de 15 minutos a 121°C y a una atmósfera de presión (Bridson, 2006).

Los lotes de medio de cultivo deben ser esterilizados en volúmenes pequeños, estos no deben sobrepasar los dos litros. Además, debe realizarse un control regular del proceso de esterilización mediante indicadores como la temperatura y presión. Asimismo, los indicadores de esterilización como los indicadores biológicos y la prueba de Bowie Dick son utilizados para comprobar la eficiencia del proceso. Así, indicadores biológicos como las esporas de *Bacillus stearothermophilus* pueden utilizarse para comprobar la eficacia del ciclo de autoclaveado (Perkins, 1969).

3. Control de los diferentes lotes

Por cada nuevo lote producido, debe realizarse control comparativo con estándares previamente definidos, de esta manera se puede garantizar la máxima reproducibilidad de los productos que a su vez permitan conseguir resultados predecibles. El control permite detectar cualquier posible pequeña diferencia entre lotes de un mismo medio y asegurar así, la constancia de sus características. Todos los laboratorios microbiológicos de investigación deben asegurarse de que la calidad de los medios de cultivo sea apropiada para la realización de los ensayos. Es recomendable realizar controles adicionales con carácter aleatorio para asegurarse de que los productos siguen conformes a las especificaciones requeridas. Estos controles pueden incluirse en el programa interno de control de calidad (Koneman & Allen, 2008).

Cabe mencionar, que el almacenamiento de cada lote debe realizarse en las condiciones apropiadas. Todos los envases, especialmente los que contengan medios deshidratados, deben estar herméticamente cerrados. No deben utilizarse medios deshidratados que presenten apelmazamiento o un cambio de color. Además, el fabricante debe aportar una especificación de calidad que incluya información sobre las condiciones de almacenamiento, el control de esterilidad incluyendo criterios de aceptabilidad, controles de eficiencia incluyendo el microorganismo usado, referencia de la colección de cultivos y criterios de aceptabilidad (García, Colom & Jaramillo, 2003).

4. Control en la selección de ingredientes

La elección minuciosa de cada uno de los ingredientes es primordial para obtener la más elevada calidad en el medio de cultivo. Cada uno de los ingredientes y aditivos debe ser evaluado (agua, agares, peptonas, sales biliares, antibióticos, sangre de carnero e incluso las cajas de Petri) para conseguir resultados adecuados. La selección de dichos ingredientes puede basarse en pruebas piloto y en adquirir la materia prima de proveedores de confianza (García et al., 2003).

Para la mayoría de aditivos debe considerarse el certificado de análisis y las condiciones de esterilidad. La sangre es la más importante de ellos. Por lo tanto, su la calidad juega un papel importante en el rendimiento. La esterilidad, homogeneidad, viscosidad y color de la sangre deben ser escrupulosamente verificados antes de ser utilizados para la preparación del medio (Basu et al., 2005).

La calidad de las cajas de Petri utilizadas para el vertido de los medios es un factor importante. Normalmente las placas petri son fabricadas de óxido de etileno (EtO) esterilizado o irradiado con rayos gamma. Así pues, si la esterilización fue realizada con EtO, se debe comprobar la toxicidad residual de EtO, ya que esto puede afectar al crecimiento de los microorganismos. El límite máximo permisible para el EtO residual es de 1 µg/g y puede medirse por cromatografía de gases (Basu et al., 2005).

5. Medios de cultivo deshidratados

Usualmente, los medios de cultivo se presentan en polvo y se suministran en frascos herméticamente cerrados para evitar la rehidratación del medio en contacto con la atmósfera. Los frascos deben almacenarse a temperatura uniforme, en un lugar fresco y seco y protegidos de la luz directa, a una temperatura de entre 15-26°C. Inmediatamente después de retirar de los envases la cantidad de medio de cultivo que se necesite, deberán cerrarse estos de nuevo firmemente. Bajo condiciones óptimas de almacenamiento, los medios de cultivo deshidratados conservan sus cualidades durante al menos 5 años. Si tras periodos de almacenamiento prolongado se presenta una alteración de pH, esta puede reajustarse a su valor inicial (Dey & Engley, 1983).

6. Parámetros físicos

La apariencia física de los medios de cultivo, a grandes rasgos, da indicios sobre la calidad. Por ello, los medios preparados deben ser sometidos a un control de las características físicas, tales como la presencia de burbujas, el llenado desigual de las placas, el medio agrietado y la congelación o cristalización (Cockerill et al., 2012).

El control de calidad de los parámetros mencionados anteriormente se puede comprobar por una inspección visual. Sin embargo, respecto al llenado desigual de las cajas de Petri, existe una metodología de verificación por cuatro puntos la cual consta en la medición del espesor del medio de cultivo en cuatro puntos marcados en los extremos de los diámetros alrededor de la caja de Petri, el espesor medio debe de ser de 4.0 ± 0.2 mm (Cockerill et al., 2012).

7. Análisis físicos y químicos

En general, las pruebas físicas y químicas son utilizadas para detectar rápidamente errores en la formulación de los medios de cultivo. Así pues, si se detecta alguna no conformidad los lotes defectuosos pueden ser desechados sin la necesidad de esperar los resultados. Los parámetros que deben ser evaluados en el agua son, la presencia de iones de cobre, la conductividad y el pH. Idealmente, no deben existir iones de cobre en el agua ya que este elemento ejerce un efecto

inhibitorio en el crecimiento de los microorganismos. Además, la conductividad debe ser menor a 15 μS (microsiemens) mientras que el pH del agua debe ser ligeramente ácido, pero no menor a 5.5 (Basu, et al., 2005).

Asimismo, el valor de pH del medio es también uno de los caracteres físicos de importancia que debe ser comprobado. Este se puede medir durante la preparación del medio antes y después del autoclavado utilizando medidores de pH para medios líquidos y electrodos especiales para medios sólidos luego de la calibración adecuada con tampones estándar (Morgan, Biegeni, Herman, Gauci, White & Vesey, 2004).

8. Pruebas biológicas

La característica más importante en el control de calidad de un medio de cultivo es la funcionalidad que estos presentan para permitir el crecimiento de microorganismos de interés. Así, el comité nacional de normas para los laboratorios clínicos (NCCLS) ha establecido ciertas pautas para definir qué microorganismos control deben utilizarse, así como la cantidad de inóculo y los resultados de crecimiento esperados (Bridson, 2006).

La cantidad de inóculo para un medio de cultivo debe ser preparada a través de la disolución de los microorganismos en caldo tripticasa soya, estos deben ser incubados durante cuatro horas a manera que la cantidad disuelta alcance una turbidez de 0.5 según la escala de McFarland. Esta disolución resulta en un conteo de 10^7 - 10^8 UFC/mL (0.08 - 0.1 de absorbancia a 625 nm). Para los medios de cultivo selectivos y no selectivos, se debe utilizar una cantidad de 10 μL de inóculo en suspensiones de 1 en 10 y 1 en 100 utilizando solución salina. Asimismo, estos inóculos diluidos se usan para determinar la capacidad de soporte del crecimiento de los medios. Además, los resultados pueden ser reportados mencionando la presencia o ausencia de crecimiento (Cockerill et al, 2012).

En la práctica, las mediciones del crecimiento de las colonias requieren de tiempo y de equipo especializado. Sin embargo, el tamaño de la colonia puede ser usado para determinar el rendimiento, aún así esto resulta ser un indicador poco práctico, además las características

coloniales son subjetivas y difíciles de evaluar. Por lo tanto, para obtener resultados más certeros, debe recurrirse a métodos que comprueben tanto la funcionalidad de crecimiento como la inhibición de microorganismos no deseados tales como el método ectométrico el cual mide la productividad a través de la comparación que se realiza entre el medio por evaluar y un medio control y la selectividad que se refiere a la resistencia que genera el medio de cultivo a la colonización por microorganismos interferentes o indeseados (Bridson, 2006).

9. Método ectométrico

Es un método simple y numérico basado en la realización de rayados por extinción donde se mide el índice de crecimiento y el índice relativo de crecimiento. Este método puede usarse para comparar los resultados con lotes anteriores del mismo medio o entre medios selectivos y no selectivos (Mossel, 1980).

En este método se inoculan en el extremo de una caja de Petri 5 mililitros de caldo infusión cerebro corazón, luego se estría por extinción en cuatro cuadrantes distintos. El procedimiento debe repetirse para la caja control. Después de la incubación se debe anotar el último punto tanto en el ensayo como en el control en los que se produce crecimiento. Las lecturas de estos puntos se utilizan para calcular el índice de crecimiento absoluto y relativo del medio. El índice de crecimiento absoluto se obtiene observando los puntos finales mientras que el índice de crecimiento relativo es una comparación del absoluto y de la placa control (Mossel, 1980).

El índice de crecimiento relativo varía según el propósito del medio. Por ejemplo, un medio de cultivo con un índice cercado al 100% resulta ser útil para el crecimiento de un microorganismo, mientras que un índice cercano a 0% resulta en la inhibición del microorganismo (Mossel, 1980).

10. Tasa de productividad

La determinación de la tasa de productividad de un medio de cultivo es otro parámetro para determinar el rendimiento en relación a un medio nutritivo como tripticasa soya (control). El

inóculo utilizado debe ser el mismo para ambos medios y la tasa de productividad se calcula contando las colonias en los medios de ensayo y de control (Nagel & Lawrence, 1973).

11. Parámetros de contaminación

Estos parámetros son cruciales en el control de calidad de los medios de cultivo. El lote debe ser escrupulosamente revisado para determinar la ausencia de contaminantes antes de ser utilizado en el laboratorio. También, se sugiere que se verifique el lote completo de medios de cultivo manteniendo las placas por lo menos durante tres días a temperatura ambiente. Alternativamente, se deben tomar dos placas del lote de ensayo y colocarlas a una temperatura de 37°C durante 24 horas. Después de la incubación, las placas se comprueban para detectar cualquier crecimiento. Si hay crecimiento, el proceso se repite, tomando de nuevo dos placas del mismo lote. Si la contaminación ocurre nuevamente, se infiere que la contaminación ha ocurrido en el lote preparado. Según las recomendaciones, más del 10% de contaminación requiere que el lote sea descartado (Arora, 2004).

D. ISO 11133:2014

Esta norma tiene como objetivo principal brindar las directrices sobre la preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo. Así, busca que los laboratorios logren resultados óptimos en la detección de microorganismos y ayuda en la obtención de resultados consistentes y reproducibles. Además, se enfoca en la aceptabilidad de los lotes y el funcionamiento de los medios de cultivo y evalúa la adaptación de estos para el adecuado crecimiento de los microorganismos de interés (International Organization for Standardization [ISO], 2014).

1. Alcance de la norma

La ISO 11133 es una norma no certificable que es aplicable a métodos cualitativos y cuantitativos, medios líquidos y sólidos, selectivos y no selectivos. Se debe señalar que los laboratorios que compran medios de cultivo listos para usar y pre-vertidas no están obligados a

realizar estos extensos ensayos de control de calidad, dado que los medios se suministran tras un programa exhaustivo de calidad por parte del fabricante (ISO, 2014)

2. Actualizaciones de la norma

La norma en su versión 2014 fue publicada en mayo del mismo año y se corrigió el primero de noviembre del 2014. Esta versión incorpora y sustituye las normas ISO 1133-1:2009 e ISO 1133-2:2003 y además incorpora la norma ISO 9998:1991 para la evaluación de los medios de ensayo de la calidad del agua. Es importante resaltar que la norma es reconocida por organismos de acreditación. La versión ISO 1133:2014 a diferencia de las versiones anteriores incorpora el análisis del rendimiento de los diluyentes y medios de transporte, la utilización de cepas de cultivo específicas y los medios de cultivo de referencia (Ilstrup, 1990).

3. Aseguramiento de la calidad

La norma ISO 1133:2014 incluye recomendaciones en cuanto al control de la documentación que deben llevar los productores de medios de cultivo así como los proveedores. Asimismo, debe monitorearse las condiciones de empaque si se adquieren los medios de cultivo deshidratados o cada uno de los ingredientes si van a ser preparados localmente. Además, la norma incluye un apartado sobre la calidad el agua que va ser empleada para la reconstitución de los medios de cultivo donde se indican los parámetros físicos y químicos que esta debe cumplir (ISO, 2014).

También, se deben tomar en cuenta aspectos sobre la seguridad, el equipo utilizado para medir masas, volúmenes y pH. Cabe mencionar que la esterilización debe ser monitoreada cuidadosamente y deben existir procedimientos y registros que demuestren su efectividad (ISO, 2014).

Además, es obligatorio que los fabricantes de medios de cultivo deshidratados y listos para usar disponibles comercialmente cumplan con la norma ISO 1133:2014. Además, deben seguir los mismos criterios y el panel de cepas de control que deben incluir es más riguroso y exhaustivo (ISO, 2014).

III. JUSTIFICACIÓN

La calidad en un laboratorio de microbiología es determinada por la exactitud, fiabilidad y puntualidad de sus resultados. Estos resultados están sujetos a una serie de procedimientos que deben realizarse de manera exacta y precisa. Así, un sistema de gestión de la calidad logra la mejora continua y la documentación de los procedimientos, tanto analíticos como administrativos, que permiten dar confiabilidad a dichos resultados.

Los procedimientos analíticos son fundamentales para el análisis de muestras, identificación y caracterización de microorganismos. La mayor parte de estos utiliza herramientas en común tales como: autoclaves, refrigeradoras e incubadoras, instrumentos como matraces, pipetas, asas y medios de cultivo. Los medios de cultivo no solo son la principal herramienta, además desempeñan un papel fundamental, ya que son ampliamente utilizados para el aislamiento, identificación y para realizar pruebas de sensibilidad a diferentes microorganismos. Asimismo, para asegurar que estos sean de buena calidad y capaces de producir resultados satisfactorios. Es esencial que el sistema de gestión de calidad asegure su buena preparación, producción, almacenamiento y la evaluación de su funcionalidad.

Esta investigación planteó la realización de una evaluación respecto a las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014 con la finalidad de establecer una guía con los lineamientos para asegurar la producción de medios de cultivo funcionales, que permitan al laboratorio obtener resultados confiables.

IV. OBJETIVOS

A. General

Desarrollar una guía para la verificación de la preparación, producción, almacenamiento y funcionalidad de medios de cultivo empleados en un laboratorio de investigación a través de la norma ISO 11133:2014 “Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo”.

B. Específicos

1. Determinar si los procedimientos de preparación, producción, almacenamiento y comprobación de la funcionalidad de los medios de cultivo empleados en el laboratorio de investigación, cumplen con las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014.
2. Elaborar una guía de buenas prácticas para la preparación, producción y almacenamiento de medios de cultivo empleados en un laboratorio de investigación basado en la norma ISO 11133:2014.
3. Establecer una guía para la evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo preparados en un laboratorio de investigación basado en la norma ISO 11133:2014.

V. METODOLOGÍA

A. Determinación de la conformidad respecto a la norma ISO 11133:2014

1. Evaluación de la preparación, producción y almacenamiento de los medios de cultivo

Se evaluó por observación directa y revisión documental de los procedimientos empleados. Para ello se utilizó una lista de cotejo basándose en la norma ISO 11133:2014 donde se anotó si cumplía o no con las recomendaciones de dicha norma.

2. Evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo

Se hizo mediante la revisión de los procedimientos y de las cepas utilizadas con este fin. Se llevó a cabo la comprobación a través de una lista de cotejo respecto al cumplimiento de las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014 de la materia prima y los métodos empleados para la comprobación de la funcionalidad de los medios de cultivo.

B. Elaboración de la guía de buenas prácticas en la fabricación

Se realizó una guía conforme a la norma internacional ISO 11133:2014 sobre la preparación, producción y almacenamiento de los medios de cultivo utilizados en el laboratorio. Esta guía tomo en consideración los procesos: preparación de medios de cultivo, almacenamiento de medios de cultivo deshidratados y medios de cultivo preparados, control de funcionalidad y esterilidad, incubación y descarte.

C. Elaboración de la guía de evaluación de la funcionalidad

Se realizó una guía con los protocolos recomendados en el anexo E de la norma ISO 11133:2014 con información sobre el medio de cultivo, condiciones de cultivo, microorganismos de ensayo y las reacciones esperadas de rendimiento de los medios de cultivo.

VI. RESULTADOS

A. Guía de buenas prácticas para la preparación, producción, almacenamiento y evaluación de la conformidad

La guía sobre preparación, producción y almacenamiento de medios de cultivo incluye recomendaciones respecto a la elaboración de documentos y registros que se deben considerar durante la realización de los medios de cultivo. Además, dicta recomendaciones sobre los aspectos que deben ser evaluados en el producto terminado y en los suplementos.

Así también, se dan directrices sobre los procedimientos que deben llevarse para el descarte adecuado de los medios de cultivo.

BUENAS PRÁCTICAS PARA LA PREPARACIÓN, PRODUCCIÓN, ALMACENAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO

Objetivo

La presente guía tiene como objetivo proponer una metodología para la elaboración de medios de cultivo que proporcionen resultados reproducibles. Se describen los requisitos que deben reunir los medios de cultivo para cumplir los criterios mínimos de rendimiento que constituyen la condición previa a todo análisis microbiológico fiable.

Alcance

El contenido de esta guía es aplicable a todos los medios de cultivo preparados en el laboratorio.

Definiciones

Medio de aislamiento selectivo: medio de aislamiento que favorece el crecimiento de microorganismos específicos, a la vez inhibe otros microorganismos.

Medio de cultivo líquido (caldos): medio de cultivo que consiste en una solución acuosa de uno o más constituyentes (por ejemplo, agua peptonada).

Medio de cultivo preparado a partir de fórmulas comerciales deshidratadas: medio de cultivo desecado que no está listo para su uso inmediato. La rehidratación producirá uno de los dos tipos de medios: medios completo listo para su empleo o medio incompleto al cual se añaden componentes lábiles justo antes de su uso.

Medio de cultivo sólido y medio de cultivo semisólido: medio de cultivo líquido que contiene materiales solidificantes (por ejemplo agar) en diferentes concentraciones.

Medio de cultivo: formulación de sustancia en forma líquida, semisólida o sólida, que contienen constituyentes naturales y/o sintéticos destinados a facilitar la multiplicación o a mantener la viabilidad de los microorganismos.

Medio diferencial: medio de cultivo que permite el estudio de una o más características fisiológicas/bioquímicas de los microorganismos para su identificación.

Medio listo para su empleo: medios de cultivo que se suministra en recipientes bajo la forma de producto listo para su empleo.

Medios de transporte: medio de cultivo diseñado para conservar y mantener la viabilidad de los microorganismos durante el periodo de tiempo entre el momento del muestreo y el procesamiento de la muestra en el laboratorio.

Cultivo de trabajo: subcultivo primario de una cepa de reserva de referencia.

Lote de medios de cultivo: unidad que permite una trazabilidad completa referida a una cantidad definida de producto a granel, producto semiterminado o producto final, que es coherente en tipo y calidad y ha cumplido los requisitos de producción (control durante el proceso) y de garantía de la calidad, y que ha sido producido durante un periodo de producción definido al que se ha asignado el mínimo número de lote.

1. Guía para la preparación, producción y almacenamiento de los medios de cultivo

1.1. Generalidades

La presente guía debe aplicarse a la elaboración de todos los medios de cultivo preparados en el laboratorio. Se deben establecer registros durante el proceso de elaboración y almacenamiento con la finalidad de mantener la trazabilidad de cada lote, dichos registros abarcan desde la información relativa al medio deshidratado, los aditivos utilizados, el procedimiento de elaboración, envasado, etiquetado y almacenamiento de los medios de cultivo así como el registro de todas las fases del proceso. Para ello, deben documentarse los controles realizados, las acciones correctivas y preventivas.

1.2. Medios de cultivo preparados en el laboratorio

1.2.1. Fase pre analítica

1.2.1.1. Condiciones de los medios de cultivo

Previo a la utilización de un medio de cultivo deshidratado debe verificarse que estos estén almacenados de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. Asimismo, debe verificarse la fecha de caducidad, que los recipientes se encuentren cerrados, que no existan cambios en características como el flujo de polvo, homogeneidad, apelmazamiento y color.

1.2.1.2. Condiciones de los suplementos

Los lineamientos para evaluar los suplementos corresponden, cuando aplique, a los mismos que los utilizados para evaluar los medios de cultivo.

1.2.2. Preparación

Debe llevarse un registro donde se anoten las cantidades tanto de medio de cultivo como de suplementos que van a ser empleados, es importante recalcar que se debe agregar en cada lote de producción, la cantidad de medio para un control de esterilidad y para evaluar la funcionalidad con una cepa positiva y una cepa negativa, cuando aplique. Luego de esto se pesan los gramos de medio de cultivo en papel encerado, utilizando dos decimales tanto en los cálculos como en la balanza, utilizar agua de la probeta donde ya se cuantificaron los mililitros de agua desmineralizada a utilizar para lavar el papel encerado para evitar que se desperdicie el medio de cultivo.

El agua a utilizar debe ser destilada o de calidad equivalente, debe estar libre de sustancias que puedan inhibir o influir en el crecimiento de los microorganismos y en las condiciones de análisis.

1.2.2.1. Medición del pH

El pH de los medios se ajusta en el momento de la preparación, ya que la calidad del agua utilizada para la hidratación puede modificar este parámetro por lo que es aconsejable verificarlo y reajustarlo si fuera necesario. En los casos donde se deba reajustar el pH, se puede utilizar una solución estéril de ácido clorhídrico 1N (para acidificar el medio) o hidróxido de sodio 1N (para basificar el medio), este procedimiento debe realizarse agregando gota a gota la solución de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio a la cantidad total de medio preparado, luego debe tomarse una alícuota de 25 mL a la cual debe tomarse el pH. En medios sólidos, el reajuste de pH debe ser realizado antes de la solidificación.

Para medir el pH de los medios de cultivo en estado semisólido, debe utilizarse un potenciómetro adecuado para determinar el pH de sólidos o debe realizarse un macerado del medio para posteriormente agregar 5.0 mL de agua destilada y medir el pH de la suspensión.

1.2.2.2. Esterilización

Los medios que van en tubo se pueden esterilizar directamente en los mismos recipientes, en el caso de los medios en cajas de Petri se pueden esterilizar en tubos a un volumen hasta llenar 2/3 de la placa de Petri (20 mL aproximadamente o dependiendo del tamaño de la caja de Petri) o bien matraces para varias placas. Debe autoclavarse a 121°C, durante 15 minutos o según las instrucciones del proveedor.

Los medios que se colocan en cajas de Petri, deben dispensarse a una temperatura de 45°C. Se deben colocar aproximadamente 15.0 mL en cada caja. Posteriormente, deben dejarse solidificar y enfriar con las tapas de las cajas de Petri totalmente cerradas en una superficie fresca y horizontal dentro de una campana de flujo laminar.

1.3. Medios de cultivo preparados en el laboratorio y adquiridos de proveedores externos

1.3.1. Generalidades

Los medios de cultivo preparados en el laboratorio y los adquiridos de proveedores externos, deben ser evaluados antes de su utilización. Para ello se revisan las características físicas: aspecto, color, cantidad de burbujas y precipitados, esterilidad, funcionalidad para la cual ha sido preparado respecto a sus propiedades bioquímicas y, la recuperación o inhibición de microorganismos. Estos resultados deben ser anotados en un registro.

1.3.2. Posterior a la preparación

1.3.2.1. Identificación

Debe colocarse en la base de las placas de Petri, el número de lote del medio de cultivo y el nombre del medio de cultivo preparado.

Si los medios de cultivo son adquiridos de un proveedor externo, se debe solicitar evidencia de los controles realizados a los medios.

1.3.2.2. Almacenamiento

Los medios se conservan en condiciones que eviten modificaciones a sus características físicas y químicas. Para ello, pueden almacenarse en bolsas estériles, en refrigerador entre 0°C - 8°C. Los medios deben mantenerse en refrigeración como máximo tres meses (medios sin suplementos) si contienen suplementos los medios de cultivo deberán ser almacenados un tiempo máximo de 15 días.

1.3.2.3. Evaluación de características físicas

Debe evaluarse el aspecto: color, cantidad de burbujas, precipitados, claridad, presencia de defectos ópticos, estabilidad del gel y consistencia. La evaluación debe registrarse en el formato pertinente.

1.3.2.4. Esterilidad

Debe evaluarse una muestra de cada lote del medio de cultivo preparado. Estos deben ser incubados por 48 horas a la temperatura a la que serán utilizados.

1.4. Selección de proveedores

Los proveedores deben ser seleccionados según la calidad de los medios de cultivo que distribuyan. Idealmente los proveedores deben contar con certificaciones de calidad que aseguren la funcionalidad y esterilidad de los medios de cultivo. Adicionalmente, si los proveedores no poseen certificados de calidad, la funcionalidad de los medios de cultivo debe ser evaluada en el laboratorio.

1.5. Eliminación de los medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados y los no utilizados se descartan en recipientes identificados como “material bioinfeccioso”. Estos deben ser colocados en bolsas rojas de material resistente y deben ser removidos de las instalaciones según las regulaciones nacionales. El servicio de eliminación puede ser subcontratado a proveedores especializados en el tratamiento de material bioinfeccioso.

2. Guía para evaluar la funcionalidad de los medios de cultivo

2.1.1. Funcionamiento bioquímico

Deben utilizarse cepas aprobadas por la American Type Culture Collection (ATCC) de los microorganismos indicados para cada medio de cultivo. Para evaluar su funcionamiento bioquímico, deberá tomarse un medio de cultivo de cada lote e inocular el microorganismo control; posteriormente, este deberá ser incubado según las indicaciones del medio de cultivo. Los resultados son evaluados conforme a las indicaciones del proveedor o a los resultados esperados de acuerdo a la literatura, las pruebas deben cumplir con los cambios de coloración o producción de metabolitos primarios o secundarios. Los resultados deberán ser anotados en un registro.

2.1.2. Recuperación de microorganismos

Consiste en comprobar la capacidad del medio de cultivo para recuperar un bajo número de los microorganismos o la capacidad de inhibir un alto número de ellos. Para esta comprobación deben utilizarse cepas ATCC.

2.1.2.1. Método cualitativo

Debe tomarse una unidad del lote, ya sea una caja de Petri, un tubo de ensayo o un matraz. A dicha unidad debe inocularse por estriado o por suspensión la cantidad establecida, según el medio de cultivo de microorganismo control.

Posteriormente, debe incubarse según las condiciones y tiempos establecidos para el desarrollo de los microorganismos según el medio de cultivo. Los resultados deben registrarse según la cantidad de crecimiento del microorganismo, estos pueden ser nulos, crecimiento débil o crecimiento abundante.

B. Evaluación de la conformidad respecto a la norma ISO 11133:2014

El porcentaje de cumplimiento de las recomendaciones, según la norma ISO 11133:2014, de acuerdo a la garantía de la calidad, los organismos control, el control de calidad y las pruebas de funcionalidad fue de 6.3%. El detalle por parámetro se presenta a continuación:

Tabla 1

Porcentajes de cumplimiento respecto a las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014

Parámetro	Porcentaje de cumplimiento	Porcentaje total
Garantía de calidad de los medios de cultivo		18.9%
• Documentación	40%	
• Almacenamiento	28.5%	
• Preparación de los medios en el laboratorio	36.8%	
• Almacenamiento y duración de los medios de cultivo	0%	
• Preparación para el uso	27.2%	
• Incubación	0%	
• Eliminación de los medios de cultivo	0%	
Organismos control para pruebas de funcionalidad		0%
Control de calidad y pruebas para evaluar funcionalidad		0%
Total		6.3%

En la Tabla 2 y 3 se muestran los resultados de la evaluación de las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014 en las áreas y procedimientos utilizados por el laboratorio para la preparación, almacenamiento y evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo.

Tabla 2

Evaluación de las áreas de: bodega, preparación y almacenamiento de medios de cultivo

Área	Hallazgo
Preparación de medios de cultivo	<p>En la verificación de la documentación relacionada a los medios de cultivo no se encontraron fichas técnicas, registros sobre control de calidad y fichas de seguridad.</p> <p>Además, no se encontraron registros sobre la verificación del nombre de los medios de cultivo, números de lote, fecha de recepción de medios de cultivo y las condiciones e integridad del embalaje.</p>
Bodega, almacenamiento de medios de cultivo deshidratados y medios de cultivo preparados.	<p>No se dispone de las especificaciones del fabricante para el almacenamiento de ningún medio de cultivo. Asimismo, no se verifican las condiciones de los medios de cultivo deshidratados antes de su utilización ni se verifican los lotes de medio de cultivo preparados en cuanto a color, deshidratación o crecimiento microbiano.</p> <p>No se dispone de las especificaciones de los fabricantes para la preparación de medios de cultivo, los procedimientos utilizados no están actualizados ni disponibles en todo momento y no se llevan registros de pH, fecha de preparación y condiciones de esterilización de los medios de cultivo.</p> <p>Respecto al equipo utilizado para pesar los suplementos y los medios deshidratados, así como el equipo para medir el pH, este no se encuentra calibrado ni es el adecuado (la sensibilidad para preparar medios de cultivo debe ser 0.01, las balanzas utilizadas no llegan a dicha sensibilidad) para preparar medios de cultivo.</p> <p>En cuanto a la esterilización, no se verifica si las autoclaves llegan a la temperatura y presión adecuadas. Además, no existe un procedimiento para la verificación del producto terminado ni para evaluar las condiciones de los suplementos: fecha de caducidad, toxicidad, recomendaciones de almacenamiento.</p>

Tabla 3

Evaluación de los procedimientos de preparación de medios de cultivo, almacenamiento, incubación y descarte y microorganismos control.

Procedimiento	Hallazgo
Almacenamiento y duración de los medios de cultivo	No se tienen indicaciones de los proveedores sobre la forma correcta de almacenar los medios de cultivo deshidratados ni preparados. Además, no se identifican los medios de cultivo ya preparados ni se verifican las condiciones de refrigeración cuando es necesario.
Preparación para la utilización de los medios de cultivo	No se utiliza equipo calibrado que asegure que se llega a la temperatura adecuada para servir los medios de cultivo y para adicionar los suplementos. Además, cuando los medios de cultivo son fundidos, no se evalúa el tiempo recomendado por el fabricante para mantener íntegros los componentes. Al verter los medios de cultivo, no se considera el espesor que estos alcanzan y, por lo tanto, existen diferencias entre placas del mismo lote y entre lotes distintos. Cabe mencionar que los medios de cultivo son almacenados por tiempo indefinido y no controlado. Finalmente, cuando se incuban los medios de cultivo son apilados en hileras de más de seis placas, además los lotes no poseen identificación ni fecha de preparación.
Incubación y descarte de los medios de cultivo	La humedad no es controlada dentro de las incubadoras y no existen procedimientos para el descarte adecuado que cumplan con normativos nacionales o internacionales.
Organismos de control y control de calidad para evaluar la funcionalidad	El laboratorio no cuenta con cepas ATCC para evaluar el funcionamiento de los medios de cultivo preparados, no existe ninguna verificación sobre la calidad de los medios de cultivo listos para su utilización: inspección física, esterilidad, certificados de calidad.

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La evaluación respecto a la norma ISO 11133:2014 durante la preparación de los medios de cultivo mostró un cumplimiento de solamente 6.3% por parte del laboratorio. Cabe mencionar que existe una deficiencia en la documentación, principalmente en procedimientos y registros. Dicha deficiencia resulta en la falta de instrucciones para el personal del laboratorio y puede ser la causa de malas prácticas durante la preparación de medios de cultivo; además, dificulta la detección de errores y aplicación de acciones correctivas (García, Fernández & Paredes, 1994). Asimismo, la falta de documentación no permite llevar una trazabilidad que asegure que un lote cumple las especificaciones de funcionalidad y cantidad de medios de cultivo almacenados.

La adecuada preparación y almacenamiento puede ser comprobada inoculando los microorganismos objeto del medio de cultivo, si se cumplen con todos los requisitos nutricionales se producirá un desarrollo adecuado y se logrará inhibir a los microorganismos interferentes (García et al., 1994). A su vez, el control de calidad en la fase de preparación debe realizarse por medio de verificaciones de la materia prima con la que va a ser preparado el lote del medio de cultivo, por lo que deben elaborarse registros donde se documenten fechas de vencimiento, condiciones de almacenamiento; así como aspecto físico de los insumos que van a ser utilizados para la formulación.

Cabe resaltar que durante la fase de preparación, el control debe realizarse respecto a parámetros físicos que evalúen la integridad de los componentes del medio de cultivo y la esterilización. Asimismo, el potencial de iones hidrógeno o pH influye en el desarrollo e inhibición de los microorganismos. Las bacterias pueden crecer en rangos variables de pH mientras que los hongos son capaces de tolerar rangos más bajos, en consecuencia, mantener el pH en el rango adecuado permitirá el desarrollo de algunos microorganismos, mientras que inhibe el crecimiento de otros (Washington, 2012). El control de calidad durante esta fase debe realizarse verificando con equipo adecuado y calibrado. También, la esterilización juega un rol de suma importancia y debe ser controlada para asegurar la ausencia de desarrollo de microorganismos ajenos al proceso.

Respecto al almacenamiento de los medios de cultivo, este se lleva a cabo sin identificar la fecha de preparación, el tipo y el lote, no obstante las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014. La forma de almacenamiento que utiliza el laboratorio resulta en pérdidas de materiales y en una falta de control que permita descartar los medios de cultivo ya vencidos. Así también, el almacenamiento adecuado permitiría mantener un correcto movimiento de los inventarios, en donde se utilicen primero los medios de cultivo con fechas de vencimiento más próximas (Forbes, 2009).

Después de preparar los medios de cultivo, durante la fase de almacenamiento, la guía recomienda la conservación en lugares adecuados que prevengan el deterioro o la contaminación de los lotes de medios de cultivo. Así, Burnett (1998) menciona que las condiciones de refrigeración entre 0°C - 8°C prolongan el tiempo de vida de la mayoría de nutrientes. Cabe mencionar que algunos constituyentes como suplementos o vitaminas se degradan rápidamente, por lo que deben utilizarse el mismo día en el que se preparan para evitar su deterioro. Para llevar un adecuado control durante la fase de almacenamiento, debe mantenerse controlada la temperatura de las refrigeradoras por medio un registro de uso diario.

Por otra parte, el control de esterilidad debe realizarse por medio de la verificación de los equipos. Estos deben llegar a las temperaturas establecidas en los procedimientos y su efectividad puede comprobarse y registrarse en tiempos establecidos que aseguren la producción de lotes de medios de cultivo estéril y con los nutrientes disponibles para los microorganismos de interés.

Dado que la evaluación respecto a la norma ISO 11133:2014 mostró puntos relevantes que deben ser mejorados, la propuesta de las guías para la preparación y evaluación de la funcionalidad dan las directrices para implementar un sistema que permita reducir las pérdidas de material; así como brindar confianza en los lotes ya preparados, de manera que el personal pueda seguir procedimientos estandarizados y llegar a resultados homogéneos y satisfactorios. La fase preanalítica propuesta en la guía considera qué condiciones deben tener los medios de cultivo y los suplementos antes de ser utilizados. Una adecuada fase preanalítica es el punto de partida para que el producto final reúna las características nutricionales requeridas por los microorganismos, el incorrecto control durante esta fase puede ser difícil de detectar, ya que las características

macroscópicas y fisicoquímicas del producto terminado pueden parecer adecuadas (Washington, 2012).

Finalmente, las materias primas o insumos necesarios para preparar los medios de cultivo son de suma importancia y van a determinar la calidad del producto final; por lo tanto, es fundamental que exista control en la forma en la que se van a adquirir los medios de cultivo. Los proveedores deben ser evaluados y cumplir con estándares de calidad. Además, deben demostrar la manera en que llevan sus controles, por medio de certificados de calidad (Burnett, 1998).

VIII. CONCLUSIONES

- El nivel de cumplimiento respecto a las recomendaciones de la norma ISO 11133:2014: verificación de la documentación, elaboración de medios de cultivo, información provista por el fabricante, utilización del equipo para medir los parámetros de calidad y evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo fue de 6.3%.
- Se elaboró la guía de buenas prácticas para la preparación, producción y almacenamiento de medios de cultivo basada en la norma ISO 11133:2014 con la finalidad de orientar al laboratorio a cumplir con las recomendaciones de dicha norma.
- Se estableció el procedimiento para la evaluación de la funcionalidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio, basado en la norma ISO 11133:2014, el cual permite asegurar la obtención de resultados confiables y reproducibles.

IX. RECOMENDACIONES

- Evaluar de acuerdo a la norma ISO 17025 los métodos y procedimientos para los ensayos llevados a cabo en el laboratorio; así como la manipulación de microorganismos, transporte y almacenamiento de muestras.
- Establecer procedimientos para la capacitación del personal sobre elaboración de medios de cultivo.
- Implementar la documentación que incluya procedimientos y registros, tanto para la preparación de medios de cultivo como para los ensayos que realiza el laboratorio, con la finalidad de mantener la trazabilidad y homogeneidad.
- Establecer parámetros de evaluación para los proveedores, a fin de asegurar la adquisición de insumos que permitan mantener estándares de calidad en las pruebas que se llevan a cabo y en los medios de cultivo que se realizan en el laboratorio.

X. REFERENCIAS

- Anderson, N., Noble, M., Weissfeld, A., & Zabransky, R. (2005). *Quality systems in the clinical microbiology laboratory*. Washington: ASM Press.
- Arora, D. (2004). Quality assurance in microbiology. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 22(2), 81-86.
- Aspinall, L., & Kilsby, D. (1979). A microbiological quality control procedure based on tube counts. *Journal of Applied Bacteriology*, 46, 325-329.
- Basu, S., Pal, A., & Desai, P. (2005). Quality control of culture media in a microbiology laboratory. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 23(3), 159-163.
- Berrios, A. & Berthouly, M. (1987). Tecnología del cultivo de tejidos de café (*Coffea arabica*). Costa Rica: Orton IICA/CATIE.
- Bridson, E. (2006). *The oxoid manual*. (9th. ed.). London: Limited Hampshire.
- Burnett, D. (1998). *Acreditación del laboratorio clínico*. Barcelona: Reverte
- Cockerill, F., Wikler, M., Alder, J., Dudley, M., Eliopolus, G., Ferraro, M. ... & Zimmer, B. (2012). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard*. (11th. ed.). Illinois: Clinical and laboratory standards institute.
- Curtis, G. (1985). A review of methods for quality control of culture media. *International Journal of Food Microbiology*, 2, 13-20.
- Dey, B., & Engley, B. (1983). Methodology for recovery of chemically treated *Staphylococcus aureus* with neutralizing medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(5), 1533-1537.

- Fraile, M., & Prieto, J. (2003). *Microbiología en ciencias de la salud: conceptos y aplicaciones*. Madrid: Elsevier
- Forbes, B. (2009). *Diagnóstico microbiológico*. (12^a. ed). Buenos aires: Médica panamericana
- Gamazo, C., López-Goñi, I., & Díaz, R. (2005). *Manual práctico de microbiología*. (3^a. ed.). Madrid: Elsevier
- Garcia, P., Fernandez, M., & Paredes, F. (1994). *Microbiología clínica práctica*. (2^a. ed.). Madrid: Repeto.
- García, J., Colom, F., & Jaramillo, J. (2003). *Manual del auxiliar de laboratorio, temario general*. Sevilla: editorial MAD, S.L.
- Guirola, H. (1985). *Manual de medios de cultivo*. La Habana: Científico-Técnica
- Herrera, M., & Campos, M. (2005). Control de calidad para un laboratorio de microbiología. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños*, 40(1), 9-15.
- Istrup, D. (1990). Statistical methods in microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(3), 219-226.
- International Organization for Standardization. (2014). *Microbiology of food, animal feed and water -- Preparation, production, storage and performance testing of culture media (ISO Standard No. 11133)*. Recuperado de fecha 05 de octubre de 2017 de <https://www.iso.org/standard/53610.html>
- Jenkins, S. & Sewell, D. (2004). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. (2^a. ed.). Washington: ASM Press.

- Koneman, E., & Allen, S. (2008). *Koneman. Diagnostico Microbiologico: Texto Y Atlas En Color*. (5^a. ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Krishner, K. (1999). The quality control of microbiological media revisited: is it time for a change?. *Clinical Microbiology Newsletter*, 21(20), 161-162.
- McFaddin, J. (1985). *Media for isolation-cultivación-identificación-maintenance of medical bacteria*. (3^a ed.). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Morgan, C., Bigeni, P., Herman, N., Gauci, M., White, P., & Vesey, G. (2004). Production of Precise Microbiology Standards Using Flow Cytometry and Freeze Drying. *Cytometry Part A*, 62, 162-168.
- Mossel, D. (1980). Quality Control of solid culture media: a comparison of the classic and the so-called ecometric technique. *Journal of Applied Bacteriology*, 49, 439-454.
- Nagel, J., & Lawrence, K. (1973). Needless retesting of quality-assured, commercially prepared culture media. *Applied Microbiology*, 26(1), 31-37.
- Perkins, J. (1969). *Principles and methos of sterilization in health sciences*. Illinois: Thomas Publishers.
- Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica*. Buenos Aires: Médica Panamericana
- Rojo, M., Aguilar, J., Cercenado, E., Ory, F., & Rosa, M. (2010). Recomendaciones para la implantación de la normativa de calidad UNE-EN-ISO 15189 en el laboratorio de microbiología clínica: bacteriología y serología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 629-637.
- Roger, S. (1996). *Microbiología*. Barcelona: Reverte

Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. México: Médica Panamericana.

Washington, J. (2012). *Laboratory procedures in clinical microbiology*. (2^a. ed.). New York: Springer.

XI. ANEXOS

Anexo 1. Lista de verificación basada en la norma ISO 11133:2014

Lista de verificación basada en la norma ISO 11133:2014		
Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua. Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo en un laboratorio de microbiología		
4. Garantía de la calidad de los medios de cultivo	Cumplimiento (sí/no/no aplica)	Observaciones
4.1 Documentación		
El fabricante provee la siguiente información:		
Nombre del medio		
Constituyentes individuales, suplementos		
Número de lote		
pH del medio antes de su uso		
Condiciones de almacenamiento y fecha de caducidad		
Ficha técnica		
Certificado de control de la calidad		
Ficha de datos de seguridad		
El laboratorio comprueba los siguientes datos al recibir un medio de cultivo		
Nombre del medio y número de lote		
Fecha de recepción		
Fecha de caducidad		
Condiciones e integridad del embalaje		
4.2 Almacenamiento		
¿Se siguen las especificaciones del fabricante?		
Medios deshidratados y suplementos		
Se realizan las siguientes verificaciones suplementarias:		
Verificación del sellado		

Registro de fecha de la primera vez de apertura		
Evaluación visual del contenido de los recipientes abiertos		
Medios comerciales listos para su uso		
¿Se siguen las instrucciones del fabricante?		
Medios preparados a partir de fórmulas deshidratadas disponibles comercialmente y a partir de componentes individuales básicos		
¿Los medios adicionados con componentes lábiles se utilizan el mismo día de su preparación?		
¿Se verifican cambios de color, deshidratación o crecimiento microbiano antes de utilizar un lote de medio de cultivo?		
Antes de utilizar un medio de cultivo ¿se equilibra su temperatura con la temperatura ambiente?		
4.3 Preparación de los medios en el laboratorio		
¿Se cumplen con las buenas prácticas de laboratorio al preparar medios de cultivo?		
¿Se siguen las indicaciones del fabricante al preparar medios de cultivo?		
¿Se siguen las instrucciones del fabricante para preparar los medios de cultivo?		
¿Se documentan los datos importantes como el peso/volumen, pH, fecha de preparación y condiciones de esterilización del medio de cultivo?		
Para medios preparados a partir de componentes		

individuales ¿se sigue el procedimiento y se registran los detalles importantes?		
Agua		
¿El agua utilizada para preparar medios de cultivo es destilada o de calidad equivalente?		
Si el agua esta clorada ¿el cloro es neutralizado previo a su utilización?		
El agua destilada ¿es almacenada en recipientes de materiales inertes?		
Pesada y rehidratación		
¿Se pesa la cantidad adecuada de medio de cultivo con una balanza calibrada?		
¿Se evita la formación de grumos al rehidratar el medio de cultivo?		
Disolución y dispersión		
El procedimiento ¿permite una adecuada disolución de los medios de cultivo?		
Ajuste de pH		
¿Se mide el pH utilizando un potenciómetro calibrado y se ajusta si es necesario?		
Dispensación		
¿Se dispensa el medio en recipientes adecuados que tenga volumen de 1, 2 o 3 veces el del medio?		
Esterilización		
¿Se siguen las indicaciones del proveedor?		
Si se esteriliza más de un litro de medio de cultivo, ¿se ajusta la temperatura y presión?		
¿Se utiliza un diámetro adecuado de filtro para la esterilización? (0.22 µm)		

Monitoreo		
Luego de la esterilización los medios de cultivo son evaluados respecto a: pH, color, esterilidad y consistencia		
Preparación de suplementos		
¿Se toman las medidas de bioseguridad apropiadas para manipular los suplementos comerciales tóxicos?		
¿Se siguen las indicaciones del fabricante durante la preparación de disoluciones?		
¿Se toma en cuenta la fecha de caducidad de los suplementos?		
4.4 Almacenamiento y duración de los medios de cultivo		
¿Se siguen las indicaciones del proveedor?		
¿Se identifican todos los medios de cultivo?		
¿Se almacenan los medios en refrigeración o a la temperatura establecida por el fabricante durante tiempos establecidos?		
¿Se realizan verificaciones respecto a la efectividad del almacenamiento?		
4.5 Preparación para el uso		
Fusión de los medios de cultivo con agar		
¿Se utiliza un baño de agua hirviendo calibrada u otro método que dé resultados idénticos?		
Los medios de cultivo ¿se recalientan durante un tiempo establecido para mantener su calidad?		
¿Los medios de cultivo fundidos son enfriados a $47 \pm 2^{\circ}\text{C}$ antes de ser utilizados?		

¿Los medios de cultivo refundidos no son almacenados durante más de cuatro horas?		
Adición de suplementos		
¿Los suplementos se agregan cuando el medio está a $47 \pm 2^{\circ}\text{C}$?		
Preparación y almacenamiento de los medios de cultivo en cajas de Petri		
¿Se alcanza un espesor de 2mm al verter el medio de cultivo?		
¿Se deja solidificar y enfriar con las tapas en su lugar?		
¿Se deja solidificar los medios en una superficie horizontal?		
Las placas de Petri ¿son almacenadas en refrigeración entre $4-12^{\circ}\text{C}$ en bolsas plásticas selladas por un tiempo máximo de una semana o lo recomendado por el proveedor?		
¿Se etiquetan las placas en la base con fecha de preparación y/o caducidad y la identificación del medio?		
Incubación		
¿Las placas se apilan en hileras de no más de seis placas?		
4.6 Incubación		
¿Se controla la humedad en las incubadoras?		
4.7 Eliminación de los medios de cultivo		
¿Se siguen los reglamentos locales o internacionales para eliminar medios contaminados o no utilizados?		

¿Existen cepas ATCC para verificar los medios de cultivo?		
5. Organismos control para pruebas de funcionalidad		
¿Se prueban microorganismos para determinar si el medio de cultivo funciona adecuadamente?		
6. Control de calidad y pruebas para evaluar la funcionalidad		
¿Se realiza inspección de aspectos físicos del producto terminado?		
¿Se realizan evaluaciones para determinar la esterilidad de los medios de cultivo?		
¿Se verifican los medios de cultivo ya listos para su uso?		
¿Se verifica la ausencia de contaminación del lote de medio de cultivo?		
¿Los fabricantes acompañan los medios de cultivo con un certificado de calidad?		



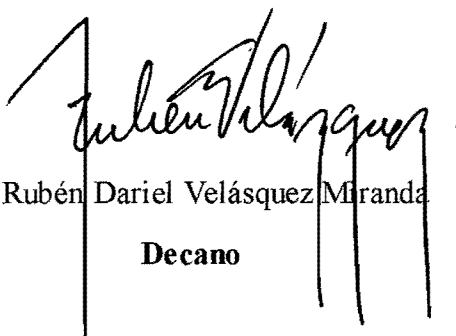
Ricardo Andres Figueroa Ceballos

Autor



MSc. María Ernestina Ardón Quezada

Directora



Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano