

Control de calidad de los medios de cultivo utilizados en el monitoreo ambiental de las áreas clasificadas de producción

Quality control of the culture media used in environmental monitoring of the classified production areas

MSc. Nancy Burguet Lago, Téc. Lourdes Castillo Abraham

Laboratorios Liorad. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: los medios de cultivo constituyen la herramienta fundamental en los laboratorios de Microbiología, por lo que realizar pruebas de control de calidad a los medios preparados es vital, con el fin de comprobar si estos cumplen con sus especificaciones y si la metodología empleada en su preparación es satisfactoria.

Objetivo: exponer los resultados de la verificación de la calidad de los medios de cultivo utilizados en el monitoreo ambiental.

Métodos: la evaluación fue ejecutada con el empleo de cepas patrones de referencia. El método empleado aparece descrito en farmacopea. Del total de medios de cultivos preparados, a 637 lotes se les realizó el control de la calidad al 99,21 % de las muestras.

Resultados: De las muestras analizadas, el 99,37 % fue aprobado como listo para su uso y solo el 0,62 % resultó no conforme por deficiencias en su preparación. Se comprobó la calidad de los medios de cultivo elaborados en el laboratorio de control microbiológico.

Conclusiones: la verificación de la calidad de los medios de cultivo garantiza la validez de los ensayos donde estos son empleados.

Palabras clave: medios de cultivo, verificación de la calidad, monitoreo ambiental.

ABSTRACT

Background: culture media are the main tools in Microbiology laboratories; so, testing quality control to the prepared media is vital in order to check whether they comply with their specificities or not and if the methodology used in their preparation is satisfactory.

Objective: to show the results of the quality control of the culture media used in environmental monitoring.

Methods: the evaluation was done using benchmark strains. The method used is described in the pharmacopoeia. Of all the culture media prepared, the 99, 21 % of the samples in 637 lots were subjected to quality control.

Results: in the analyzed samples, the 99, 37 % was approved as ready to use and only the 0, 62 % was not ready due to deficiencies in its preparation. Quality of culture media prepared in the laboratory of microbiology control was tested.

Conclusions: quality control of culture media guarantees the validity of trials in which they are employed.

Key words: culture media, quality control, environmental monitoring.

INTRODUCCIÓN

Los medios de cultivo constituyen la herramienta fundamental en los laboratorios de Microbiología. Desde la época de *Koch* hasta hoy en día se ha incrementado enormemente el arsenal de medios de cultivo con que cuentan los microbiólogos. La responsable directa de tal incremento de los medios de cultivo es la expansión de la microbiología desde la medicina hacia la agricultura, la alimentación y la industria farmacéutica.^{1,2}

Teniendo en cuenta que los medios de cultivo seguirán jugando un papel importante en las investigaciones microbiológicas durante el presente siglo, es necesario tomar todas las medidas que garanticen su correcta preparación y esterilización.^{3,4} Se debe controlar su calidad con el fin de comprobar si estos cumplen con sus especificaciones y si la metodología empleada en su preparación es satisfactoria.^{5,6}

Laboratorios Liorad es un conjunto de instalaciones tecnológicas y de facilidades auxiliares, destinadas a la producción de parenterales líquidos y liofilizados. Dispone de un departamento de control de la calidad en el que se encuentra ubicado el laboratorio de microbiología que utiliza diferentes medios de cultivo para realizar el monitoreo ambiental de las áreas clasificadas donde se realiza la producción de los parenterales.⁷ Los medios de cultivo, una vez preparados, deben someterse a un programa mínimo de análisis que asegure su aceptación, lo que garantiza la validez de los resultados de los ensayos.^{8,9} Teniendo en cuenta lo anterior, se realizó este trabajo con el objetivo de exponer los resultados de la verificación de la calidad de los medios de cultivo utilizados en el monitoreo ambiental.

MÉTODOS

En el período de enero de 2005 a diciembre de 2010 se produjeron 637 lotes de medios de cultivo en el laboratorio de control microbiológico, siguiendo las especificaciones de los fabricantes.¹⁰⁻¹² Se tuvo en cuenta además el procedimiento de elaboración establecido en esta área para los medios de cultivo deshidratados.¹³ Del total de medios de cultivo elaborados se realizó el control de la calidad al 99,21 % de las muestras, lo que representa un total de 632 lotes de medios de cultivo para su evaluación.

Para la comprobación de la calidad se emplearon cepas de referencia, procedentes de las colecciones de cultivo americanas, *American Type Culture Collection* (ATCC, siglas en inglés).¹⁴ El método empleado aparece descrito en *United States Pharmacopeia* USP30.¹⁵ Los medios procedían de las casas comerciales Merck, Biocen, Biolife, Liofilchem y Oxoid.¹⁰⁻¹² Se verificaron las características físicas (pH, aspecto, color, precipitados), la esterilidad y su capacidad de promoción de crecimiento.¹⁶

RESULTADOS

La tabla 1 muestra los datos generales de producción por años de los medios de cultivo utilizados en los ensayos microbiológicos del monitoreo ambiental de las áreas clasificadas. Del total de medios producidos (637), el 60,59 % corresponde a lotes de medios de Agar Triptona Soya (ATS). Es evidente una disminución en la preparación de los lotes de medios de cultivo de Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) a partir del año 2007, que se mantuvo hasta el 2009; sin embargo, se aprecia un aumento significativo de la preparación de este medio en el último año, que forma parte de este trabajo.

Tabla 1. Datos generales sobre la producción de medios de cultivo en el laboratorio de control microbiológico Liorad, 2005-2010

Años	Medios de cultivo				
	Total	Agar Triptona Soya	%	Sabouraud Dextrosa Agar	%
2005	147	75	51,02	72	48,97
2006	137	69	50,36	68	49,63
2007	90	65	72,22	25	27,77
2008	83	60	72,28	23	27,71
2009	89	69	77,52	20	22,47
2010	91	48	52,74	43	47,25

La disminución en los lotes de medios de cultivo preparados de SDA a partir del 2007 responde a que en ese año se actualizó el Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) donde se efectuaron cambios en la frecuencia del monitoreo que se realizaba a diario, y a partir de ese momento se estableció una frecuencia trimestral. En el 2010 se apreció un aumento en la preparación de lotes de este medio, lo cual responde a resultados fuera de especificaciones en el monitoreo de las áreas clasificadas (presencia de un hongo filamentoso), lo que conllevó la declaración de las áreas no aptas para su uso y la creación de un programa de limpieza y desinfección para eliminar la presencia de este microorganismo contaminante. Se realizó monitoreo diario con SDA medio de cultivo específico para el crecimiento de este tipo de microorganismo.

La información obtenida del control de la calidad efectuado a los medios de cultivo evaluados a través de la tabla 2 nos permite plantear que se aprecia que el 99,37 %

fue aprobado como listo para su uso. Solo el 0,62 % resultó no conforme para su uso. Este se realizó según el procedimiento de operación vigente. Una vez concluido el esquema de certificación de calidad los lotes que resultaron conformes, fueron liberados para ser empleados en el monitoreo ambiental.

Tabla 2. Resultados de la verificación de los medios de cultivo producidos en el laboratorio de control microbiológico Liorad, 2005-2010

Años	Medios de cultivo					
	Total	Agar Triptona Soya	Sabouraud Dextrosa Agar	Aprobados	Desaprobados	Aprobación (%)
2005	147	75	72	147	0	100
2006	137	69	68	136	1	99,27
2007	90	65	25	87	3	96,66
2008	83	60	23	83	0	100
2009	89	69	20	89	0	100
2010	91	48	43	91	0	100

DISCUSIÓN

La preparación de los medios de cultivo es un aspecto vital en el laboratorio de Microbiología, ya que su calidad constituye una garantía para la obtención de resultados confiables en los ensayos realizados.^{1,4}

En ninguno de los lotes de medios de cultivo estudiados se detectaron cambios en los rangos de pH, lo que cumplió con el límite especificado por el fabricante, y esto permite plantear que este parámetro no fue una razón atribuible a fallos del control de calidad de los medios de cultivo.^{2,3}

En el control de calidad realizado a los medios de cultivo preparados en el laboratorio de control microbiológico se aprecia un valor de 99,37 % de lotes aprobados como conforme. Este resultado se corresponde con lo planteado por otros autores quienes reportan cifras de 94,84 %, es decir, en ambos casos se obtienen valores por encima de un 90 % de cumplimiento. Este resultado es fundamental, ya que corrobora los estándares de calidad de los medios que se emplean en los distintos esquemas de certificaciones de calidad en cualquier técnica de cultivo microbiano donde estos son empleados.⁷

La cifra de 99,21 % de verificación de medios de cultivo nos permite plantear que se cumplió con las buenas prácticas de laboratorio al realizarle control de calidad a la mayoría de los lotes preparados en el laboratorio de control microbiológico. Se debe señalar que a varios lotes no se les realizó la promoción de crecimiento, por presentar rotura del espectrofotómetro que se emplea para el ajuste de los microorganismos. Estos lotes se liberaron para su uso bajo una No conformidad, donde se tuvo en cuenta el comportamiento histórico de los resultados de este ensayo.¹⁵⁻¹⁷

Las razones atribuibles al fallo del control de calidad de los medios de cultivo, que hizo que no fueran aprobados como aptos para el uso, responden a cambio de color (0,15 %), por un sobrecalentamiento. Esto se explica porque, una vez concluido el proceso de esterilización, se cortó el fluido eléctrico, lo que hizo imposible proceder a abrir el autoclave para sacar los medios de cultivo hasta que este se restableció. El valor de 0,47 % estuvo asociado a la contaminación, lo que está relacionado con un personal técnico de nuevo ingreso al laboratorio, por lo cual fue necesario establecer un programa de adiestramiento para su capacitación.^{4,11}

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miranda C, López L, Lloret Caballeria A, Farga Marti A. Recomendaciones sobre el aseguramiento de la calidad de medios de cultivo y reactivos. CCI-SEIMC-02. En: Gimeno Cardona C. Recomendaciones generales para el control de calidad interno en Microbiología Clínica. CCI-SEIMC-00. versión 1 [Internet]. Valencia: Grupo colaborador GEGMIC; 2004 [citado: 4 de abril de 2010]. p. 22. Disponible en: http://www.seimc.org/grupos/gegmic/fuentes/gegmic_dyc1_2004.pdf
2. Arora DR. Quality assurance in microbiology. Indian J Med Microbiol [Internet]. 2004 [cited 22 Jul 2010]; 22(2):81-6. Available from: <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=0255-0857;year=2004;volume=22;issue=2;spage=81;epage=86;aulast=Arora>
3. Snell JJS. Quality control in microbiology. In: Barrow GI, Feltham RKA, editors. Cowan & Steel's Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge: University Press, 1999. p.184-218.
4. MINSAP. Control de la calidad de los medios de cultivos utilizados en el diagnóstico bacteriológico. Norma Ramal. Ciudad de La Habana: MINSAP, 1990. p. 14.
5. Center for Diseases Control. Quality control of culture media and reagents 2002 [Internet]. Atlanta, GA: CDC; c2012 [cited: 15 Oct 2009]. p. 3. Available from: <http://www.cdc.org/ncidoc/dbmd/diseaseinfo/cholera/ch11.pdf>
6. Ortega Y. Medios de cultivo. En: Ortega Y, Quevedo F, editores. Garantía de la calidad de los laboratorios de Microbiología Alimentaria. Ciudad de México: Editorial Harla, S.A.; 1991. p. 37-50.
7. Caorsi B, Sakurada A, Ulloa MT, Pezzani M, Latorre O. Calidad microbiológica del aire de una unidad de preparados farmacéuticos estériles. Rev Chil Infect [Internet]. 2011 [citado: 15 de octubre de 2010]; 28(1):14-8. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182011000100003&lng=es
8. Weng Z, Iglesias B, Abreu M, Beltrán JR, Rodríguez MA, Rodríguez EA, et.al. Control de calidad de los medios de cultivo utilizados en el análisis microbiológico de muestras ambientales. En: Memorias V Taller sobre colecciones de cultivos microbianos, 2006 [CD-Rom]. La Habana: Ediciones Finlay; 2006.
9. Manual Liofilchem. Medios de cultivo deshidratados. Roseto DA, Italia: Liofilchem Diagnostici; 2004.

10. Manual Biolife. Milan, Italy: Biolife Italiana Srl; 2003.
11. Merck E. Microbiology Manual. Darmstadt: Merck KGaA; 2007.
12. Rodríguez C. Manual de medios de cultivo. Ciudad de La Habana: BIOCEN; 2001. p. 200.
13. Unipath Limited. Manual Oxoid. Madrid: Unipath España S.A; 1995. p. 394.
14. Sistema documental de Laboratorios Liorad. Preparación y conservación de los medios de cultivo deshidratados. Código T.02.013.025. Vigente 2010. La Habana: Laboratorios Liorad; 2010.
15. Weng Z, Díaz O, Álvarez I. Conservación de microorganismos: ¿qué debemos conocer? Rev Cubana Hig Epidemiol [Internet]. 2005 [citado: 15 de octubre de 2010];43(3).
Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032005000300006&lng=es
16. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. USP30-NF25. Rockville: Mack Printing; 2007.
17. Buenas prácticas para la fabricación de ingredientes farmacéuticos activos. Anexo No. 09. Resolución No. 03/06 y Regulación No. 16-2006. Directrices sobre Buenas prácticas de fabricación de productos farmacéuticos. Ámbito regulador: Órgano oficial regulatorio [Internet]. 2006 [citado: 15 de octubre de 2010];6(Supl. Especial): 1-16.
Disponible en: http://www.cecmec.sld.cu/Docs/Pubs/AmbReg/2006/AmbReg_SENov_06.pdf

Recibido: 12 de diciembre de 2012.

Aprobado: 20 de marzo de 2013.

MSc. *Nancy Burguet Lago*. Laboratorios Liorad. Ave 27A entre 264 y 268, San Agustín, Municipio La Lisa, La Habana, Cuba. Correo electrónico: tania@inhem.sld.cu