

ARTÍCULO ORIGINAL**Recuperación de medios de cultivo vencidos en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Guantánamo****Recovery of expired means of culture at the Provincial Center of Hygiene, Epidemiology and Microbiology Guantánamo**

Lic. Lourdes M. Expósito Boué¹, Lic. Marlene Drullet Pérez², Tec. Exilda del Valle Arnaud³, Lic. Yamilé Betancourt Arguello⁴, Dra. Isolivia Daudinot Guerra⁵

¹ Licenciada en Ciencias Biológicas. Máster en Enfermedades Infecciosas. Asistente. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba

² Licenciada en Microbiología. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba

³ Licenciada en Microbiología. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba

⁴ Licenciada en Ciencias Biológicas. Máster en Enfermedades Infecciosas. Asistente. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba

⁵ Especialista de I Grado en Microbiología. Instructor. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba

RESUMEN

Se realiza un estudio en el Laboratorio de Microbiología del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Guantánamo en el período de tiempo 1998 - 2012, con el objetivo de recuperar medios de cultivos vencidos para su utilización en el diagnóstico microbiológico. El universo de estudio está conformado por 256 medios de cultivo vencidos que fueron confeccionados de acuerdo a las normas establecidas y se les realiza el control de la calidad. Los resultados obtenidos evidenciaron que mantenían sus propiedades físico-químicas y

la recuperación de los microorganismos fue satisfactoria. Se concluye que es imposible predecir cuánto tiempo de durabilidad posee el medio después de vencido, por lo que se recomienda realizar el control de calidad cada vez que sean confeccionados. El ahorro económico ha sido de \$13 938.83 MN

Palabras clave: recuperación, medio de cultivo vencido, control de calidad

ABSTRACT

A study was performed at the Laboratory of Microbiology of the Provincial Center of Hygiene, Epidemiology and Microbiology Guantanamo during 1998 - 2012, with the aim of recovering overdue means of culture for using in microbiological diagnosis. The study group consisted of 256 overdue means of culture that were prepared according to established standards and undergoing quality control. The results showed that kept its physicochemical properties and the recovery of microorganisms was satisfactory. As a conclusion, it is impossible to predict how long or durability of the expired means, so it is recommended that quality control must be done systematically. The saving cost was \$ 13 938.83 MN.

Keywords: recovery, expired means of culture, quality control.

INTRODUCCIÓN

Los medios de cultivo deshidratados (MCD) presentan dificultades en su suministro, por lo que en reiteradas ocasiones llegan a su destino final cuando faltan pocos meses para arribar a su fecha caducidad.

Estos medios proceden de Inglaterra, Alemania, Italia y otros son de producción nacional, lo que constituye un problema económico y para el diagnóstico microbiológico, ya que una vez vencidos deben ser desechados.

Los medios de cultivo (MC) son preparaciones sólidas, semisólidas y líquidas que constituyen el micromundo de los microorganismos en condiciones de laboratorio, intentando satisfacer sus más vitales necesidades como ser vivo.

Actualmente están muy difundidos los MCD por las ventajas que ofrecen para el diagnóstico, lo que no quita que en muchas ocasiones se elaboren a partir de sus componentes que de seguir fielmente las instrucciones, se obtienen muy buenos resultados.

Por la importancia de los mismos en el diagnóstico microbiológico, antes de ser usados deben ser sometidos a control de calidad, con cepas de referencia.¹⁻⁷

Existen diferentes tipos de medios de cultivos de acuerdo a las especificidades que cada uno tenga, sin embargo, cada tipo debe de poseer factores nutricionales tales como: fuente de energía, carbono, nitrógeno, azufre, fosfatos, vitaminas y agua.

Para el desarrollo de los microorganismos en los medios de cultivo se requieren de factores físicos adecuados, tales como pH, temperatura, concertación de oxígeno, humedad, presión hidrostática y presión osmótica.¹

El control de calidad (CC) de los medios de cultivo está orientado hacia la minimización y detección de todos los factores que puedan influir negativamente en la calidad de los mismos y en el diagnóstico.⁸⁻¹⁰

Partiendo de esta situación problema, se considera conveniente desarrollar esta investigación, con el objetivo de recuperar medios de cultivo deshidratados vencidos, para su utilización en el diagnóstico microbiológico de diferentes muestras clínicas.

MÉTODO

Se realiza un estudio descriptivo-retrospectivo en el Laboratorio de Microbiología del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Guantánamo (CPHEM) en el período comprendido desde 1998 hasta el año 2012.

En el año 1998, se identificó que en el almacén del CPHEM existían algunos MCD vencidos, los cuales debían ser desechados.

Por la situación económica que atravesaba el país, por el alto costo de estos medios, por lo necesario que eran para el diagnóstico y porque empíricamente se tenía la información que podían ser utilizados hasta seis meses luego de vencidos, se decidió realizar CC, para verificar su rendimiento y determinar si podían ser usados en el diagnóstico.

El control de calidad de los medios de cultivo se realizó para comprobar si las características del medio estaban dentro de las especificaciones establecidas y si la metodología de preparación ha resultado satisfactoria.¹¹⁻¹⁵

Aspectos que se controlaron a los MCD vencidos al realizarle CC:

1. *Almacenamiento*: Se chequeó el cumplimiento de las normas de almacenamiento del producto, una vez que llega a la unidad.
2. *Preparación*: Se chequeó el cumplimiento de las normas de preparación para cada medio.
3. *Almacenamiento del medio de cultivo ya preparado*: Se chequeó el cumplimiento de las normas de preparación para cada medio una vez confeccionado.
4. *Prueba de esterilidad*: Se incubó el 5 % de los medios confeccionados a 37 °C, durante 24 horas, además se controló la esterilización mediante el uso de indicadores biológicos (semanalmente) y químicos (diariamente)
5. *Control físico-químico*: aspecto y solubilidad del MCD, color, PH y consistencia del MC una vez preparado.
6. *Control bacteriológico*: A cada MCD confeccionado, se le realizó control biológico con microorganismos normados por el método de Misra y Miles. Esto se realizó cada vez que se confeccionaban los medios de cultivo.
7. *Estabilidad*: Los medios fueron conservados en refrigeración y se les repitió el control biológico durante el tiempo de almacenaje ya preparado, para verificar si conservaban sus propiedades diagnósticas.

RESULTADOS

En la Tabla 1, se muestra que de 1998 hasta el 2012, se han recuperado 256 MCD diferentes, para un valor de \$ 13 938.83 en MN.

Tabla 1. Medios de cultivo deshidratados vencidos recuperados en el período de 1998/2012

Medio de Cultivo	Precio frasco	Recuperados	Ahorrado (\$)
Agar Acetato	59.67	1	59.67
Agar Baird Parker	49.55	5	247.75
Agar Base Urea	49.23	2	98.46
Agar Base Gc	46.63	10	466.30
Agar Base Columbia	52.79	12	633.48
Agar Base Sangre	57.15	13	742.95
Agar Base Sangre No. 2	57.16	9	514.44
Agar Citrato de Simmons	37.13	3	111.39
Agar Dextrosa Saboraud	49.66	8	397.28
Agar Desoxicolato	54.06	5	270.30
Agar Desoxicolato Citrato	13.10	6	78.60
Agar Extracto de Levadura	15.70	9	141.30
Agar Fenilalanina	99.66	2	199.32
Agar Hierro Kligler	55.48	15	832.20
Agar Lisina Hierro	79.72	9	717.48
Agar MacConkey	58.40	9	525.60
Agar Mueller Hinton	60.71	13	789.23
Agar Manitol Salado	41.47	7	290.29
Agar Nutriente	51.17	11	562.87
Agar para conteo en placa	61.44	16	983.04
Agar SS	53.57	7	374.99
Agar Triptona Soya	49.94	9	449.46
Agar TCBS	43.92	6	263.52
Agar Verde Brillante	54.65	6	327.90
Agar Violeta Rojo Bilis	53.19	9	478.71

Agua de Triptona	43.21	10	432.10
Caldo Bilis Verde Brillante	65.79	12	789.48
Caldo Corazón	90.78	14	1270.92
Caldo Cerebro Corazón	60.31	5	301.55
Caldo Lactosado	45.25	13	588.25
Total	-	256	13 938.83

DISCUSIÓN

Una vez concluida la parte experimental se arriba a los siguientes resultados:

La experiencia se realizó por vez primera en el año 1998, pero por los resultados obtenidos se continuó con su aplicación hasta el presente logrando la recuperación de numerosos medios de cultivo y un ahorro económico considerable.

En el control realizado a los MCD vencidos se obtuvo:

1. Almacenamiento

Se cumplió con las normas de almacenaje de los MCD, lo cual hizo posible que el producto mantuviera sus propiedades organolépticas de ser un polvo fino, de color amarillo claro, olor característico y no absorbiera humedad.

Eran conservados en su envase original, herméticamente tapados, en lugar seco y protegidos de la luz, cada frasco estaba rotulado con la fecha de entrada al almacén de la unidad.

2. Preparación

En cada caso, se siguió fielmente las indicaciones establecidas para la confección de los MCD, no introduciéndose errores durante las pesadas, disolución, ajuste del pH y autoclavado, ya que estas actividades se realizaban en equipos aptos para el uso y controlados diariamente en cuanto a su funcionamiento.

3. Almacenamiento del medio de cultivo ya preparado

Se guardaron en bolsas plásticas selladas y los que presentaban colorantes en su composición fueron protegidos de la luz.

Las condiciones fueron adecuadas, no introduciéndose errores durante este proceso.

4. Prueba de esterilidad

No se detectaron contaminaciones, por el riguroso control de la esterilización y las normas de asepsia en la dispensarización de los medios.

5. Control físico-químico

El aspecto, solubilidad, color, consistencia y pH de los medios de cultivo controlados fue el adecuado.

6. Control bacteriológico

El control biológico en todos los casos demostró que la recuperación de los microorganismos fue satisfactoria y el medio ofrecía buen rendimiento, ya que los microorganismos mostraron las reacciones esperadas.

En el caso del Agar Lisina Hierro, no pudo recuperarse uno de los frascos completamente porque el cambio de color una vez inoculado con el microorganismo control, no ocurría con la intensidad debida.

Pudo ser utilizado durante 4 meses después de vencido.

En el caso del Agar Base Urea se tuvo que en uno de los frascos el producto mostró signos de hidratación, polvo apelmazado y color más oscuro, no obstante, las reacciones del control biológico fueron correctas.

Se debe destacar que al Agar Acetato (Merck 64014348), vencido desde marzo de 1993, se utiliza en poca cantidad, por lo que el frasco que contiene 500 g de medio, aún no se ha agotado y el producto mantiene condiciones adecuadas para el diagnóstico.

7. Estabilidad

Los controles biológicos intermedios, realizados durante el almacenaje en refrigeración del medio ya preparado, arrojaron que los medios mantenían sus propiedades diagnósticas.

Las cepas utilizadas para determinar la productividad de estos medios de cultivo, fueron conservadas y confirmadas en el laboratorio de control de la calidad para verificar su pureza.¹⁵

En la literatura revisada no se reportan trabajos semejantes.

CONCLUSIONES

Se logró la recuperación de MCD vencidos, realizando riguroso control de todos los factores que pueden interferir en su calidad, encontrando que el control biológico es determinante en la liberación de un medio para el diagnóstico, más aún si este está vencido.

No se puede predecir cuanto tiempo después de vencido puede ser utilizado un MCD, por este motivo, el CC debe realizarse cada vez que se confeccione, aunque el CC anterior halla resultado satisfactorio.

RECOMENDACIONES

Se recomienda no desechar los MCD vencidos, porque es posible su recuperación siempre que el producto esté avalado por un control de calidad previo a su uso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Microbiologiavip. blogspot [Internet] Medios de cultivo en microbiología. 2012. [actualizado 16 2012; citado 23 jul 2013] Disponible en: <http://microbiologiavip.blogspot.com/2012/02/medios-de-cultivo.html>
2. [En página Web] Flores M. Medios de Cultivo en el laboratorio de microbiología. 11, 2011. [citado 23 jul 2013] Disponible en: <http://www.buenastareas.com/ensayos/Medios-De-Cultivo-En-El-Laboratorio/3177065.html>
3. Jawetz E, Melnick J. L, Adelberg Edward A. Manual de Microbiología Médica. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.

4. Apao Díaz J, Luna Marcell N, Macola Olano S, Rodríguez González DP, Toledo Curbelo GJ. Introducción a la salud pública. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
5. BioCen [Internet]. Investigación. [actualizado marzo 2008; citado 23 jul 2013] Disponible en: <http://www.biocen.cu/estruct/investig.htm>.
6. BioCen. [Internet]. Catálogo de Medios de cultivo. [actualizado 2008; citado 23 jul 2013] Disponible en: <http://www.biocen.cu/producto/indicemc/descrom.htm#agn>.
7. Emagister.com [Internet] Análisis microbiológicos. Medios de cultivo: tipos. [citado 23 julio 2013] Disponible en: <http://www.emagister.com/curso-analisis-clinicos/analisis-microbiologicos-medios-cultivo-tipos>
8. Especificación técnica NC iso/ts 11133-1: 2012. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal—guías para la preparación y producción de medios de cultivo—parte 1: guías generales en el aseguramiento de la calidad para la preparación de medios de cultivo en el laboratorio (iso/ts 11133-1: 2009, idt)
9. Scientificainc.com [Internet] Aseguramiento de la calidad de los medios de cultivo. [actualizado 16 abril 2010; citado 23 jul 2013] Disponible en: http://www.scientificainc.com/aseguramiento_calidad_medios_cultivo.html
10. Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Diagnóstico microbiológico. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
11. PNO. Control de calidad de medios de cultivo. La Habana: INHEM; 2003 Jun.
12. PNO. Procedimientos para el control y conservación de reactivos químicos y medios de cultivo. La Habana: INHEM. 2003 Ago.
13. Cultimed. Manual básico de microbiología. [Citado 23 jul 2013] Disponible en: http://www.slideshare.net/jota_de77/microbiologia-1-15231977
14. Pérez Reytor DC, Domínguez Vázquez I, Olano Ruiz E, Sosa Espinosa AE. Estrategia de verificación de calidad de las cepas de Escherichia coli conservadas en la Colección del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Vaccimonitor [Internet]. 2010 ene.-abr [citado 6 ago 2013] 19(1) [aprox 7p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-028X2010000100002&lng=es&nrm=iso
15. PNO. Procedimiento para la recepción, manipulación y conservación de cepas. La Habana: INHEM; 2004 ago.

Recibido: 13 de diciembre de 2013

Aprobado: 18 de enero de 2014

Lic. Lourdes M. Expósito Boué. Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba. **Email:** lourdes@infosol.gtm.sld.cu