

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA “ALBERTO
CAZORLA TALLERI”



**EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIGENCIA
DEL AGAR P PARA PSEUDOMONA (PSP) Y
DEL AGAR F PARA PSEUDOMONA (PSF)
ALMACENADOS EN FRASCOS**

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA
OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Autor: DIEGO EDUARDO SÁNCHEZ MUÑOZ

LIMA- PERU

2022

Revisores:

Msc. MAURTUA TORRES, DORA JESUS

Dra. HURTADO CUSTODIO, JASMIN ELENA

ASESORA:

MSc. María Salas Arruz

Profesora Principal en la Universidad Peruana Cayetano

Heredia

Gerente General de Hypatia S.A.

DEDICATORIA:

Este trabajo está dedicado a Dios quien ha sido mi guía, fortaleza y su mano de fidelidad y amor han estado conmigo hasta el día de hoy.

A mis padres y a mis abuelos quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi hermana, a mis compañeros del trabajo y enamorada por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente quiero dedicar este trabajo mis dos hijitos perrunos Marco y Cody que siempre estarán en mi corazón y piel, los amo por haber llenado de alegría y amor mi joven vida.

AGRADECIMIENTOS:

Muy agradecido con la MSc. María Salas Arruz por su tiempo, dedicación y recomendaciones que permitieron el desarrollo de este trabajo. También quiero agradecer al equipo del Laboratorio de Microbiología, sobre todo a María de los Ángeles Rodríguez Torres, por sus consejos, apoyo y enseñanzas durante mi formación en el área de control de Calidad. Quiero dar un agradecimiento especial a la Dra. Verónica Cárdenas, Gerente de garantía de calidad, por su paciencia. A mi enamorada, mejor amiga y confidente Alicia Sancca por estar conmigo en los momentos difíciles. Gracias totales a la familia Sánchez Muñoz, en especial a Julián Sánchez de la Cruz por siempre apoyarme y por confiar en todo momento en lo que hago.

Por último, quiero agradecer a mi madre Elizabeth Marlene Sánchez Muñoz por su apoyo incondicional, quien dedico este trabajo. Ella es el motor por lo que me aventure en este proyecto, y es a quien quiero que me vea cumpliendo más metas, verla orgullosa siempre de todo lo que su hijo ha logrado y logrará.

INDICE

I. INTRODUCCION:	1
A. Antecedentes:	4
1. Definiciones:	4
2. Requerimientos para un medio de cultivo:	5
3. Tipos de Medios de cultivo:	10
4. Agar pseudomona para detección de piocianina (PSP):	12
5. Agar Pseudomona para detección de fluoresceína (PSF):	12
6. Preparación de un medio de Cultivo:	13
7. Rotulados de Medios de cultivo preparados:	14
8. Esterilización:	15
9. Almacenamiento de los medios de cultivo comerciales y preparados: 15	
10. Deterioro de un medio de cultivo:	16
11. Parámetros a evaluar de un medio de cultivo para establecer su fecha de vigencia:	16
II. OBJETIVO:	21
A. Objetivo general:	21
B. Objetivos específicos:	21
III. METODOLOGIA:	22
A. OPERACIONES PRELIMINARES:	22
B. DISEÑO DEL ESTUDIO:	24
C. MATERIALES Y EQUIPOS	26
D. SELECCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR:	28
E. PROCEDIMIENTO:	29

F. PARAMETROS A EVALUAR:	32
IV. RESULTADOS:	36
A. TABLA DE RESULTADOS DE EVALUACION DE VIGENCIA DEL AGAR PSP POR LOTE:	37
B. TABLA DE RESULTADOS DE EVALUACION DE VIGENCIA DEL AGAR PSF POR LOTE:	40
V. DISCUSIÓN:	43
VI. CONCLUSIONES:	47
VII. RECOMENDACIONES:	48
VIII. BIBLIOGRAFIA:	49
VIII. ANEXO:	52
A. FORMATOS DE REGISTRO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:	52
B. CERTIFICADOS DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVOS DESHIDRATADOS	54
C. FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES	56
D. TABLAS:	62

Resumen:

En la industria farmacéutica, resulta mandatorio según las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), asegurar la calidad de los medios de cultivo preparados, los cuales se emplean para el control de calidad microbiológico de medicamentos. Si bien los frascos comerciales de los medios deshidratados vienen con su certificado de calidad, en su preparación intervienen varios factores que podrían hacer perder a los medios de cultivo sus propiedades, como por ejemplo el autoclavado y las condiciones de almacenamiento, motivo por el cual las BPL y obras oficiales denominadas farmacopeas, indican que se debe determinar la vigencia de los medios preparados, sin embargo, las farmacopeas describen como evaluar la calidad de los medios mas no detallan como determinar su vigencia. En el presente trabajo se evaluó el tiempo de vigencia de 2 medios solidos diferenciales, agar P para pseudomona (PSP) y agar F para pseudomona (PSF), en un periodo de 30 días; teniendo en cuenta para el procedimiento propuesto los parámetros de calidad definidos en la farmacopea de Estados Unidos vigente, realizando 3 repeticiones en base a lo descrito en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para procesos de validación. Se obtuvo como resultados que el agar PSF mantiene sus características hasta los 30 días, mientras que el agar PSP hasta 15 días de observación. En las 3 repeticiones para ambos medios se mantuvieron las características de aspecto, pH, esterilidad y porcentaje de recuperación entre 50 a 200%. Por otro lado, la propiedad indicadora del medio PSP (Piocianina) se observó de muy baja intensidad a los 30 días, mientras que la propiedad indicadora del medio PSF (Fluoresceína) se mantuvo hasta los 30 días de observación, en las condiciones de almacenamiento evaluadas (medios almacenados en frascos a temperatura de 13 a 15 °C).

Palabras claves: Medios de cultivo, validación, vigencia, fluoresceína y piocianina.

ABSTRACT:

In the pharmaceutical industry, according to Good Laboratory Practices (GLP), it is mandatory to ensure the quality of prepared culture media, which are used for the microbiological quality control of drugs. Although the commercial bottles of dehydrated media come with their quality certificate, several factors intervene in their preparation that could make the culture media lose their properties, such as autoclaving and storage conditions, which is why the GLP and official works called pharmacopoeias indicate that the validity of the prepared media must be determined, however, the pharmacopoeias describe how to evaluate the quality of the media but do not detail how to determine its validity. In the present work, the validity time of 2 differential solid media was evaluated, P agar for pseudomonas (PSP) and F agar for pseudomonas (PSF), in a period of 30 days; taking into account for the proposed procedure the quality parameters defined in the current United States Pharmacopeia, carrying out 3 repetitions based on what is described in the Good Manufacturing Practices (GMP) for validation processes. The results were that the PSF agar maintains its characteristics up to 30 days, while the PSP agar up to 15 days of observation. In the 3 repetitions for both media, the characteristics of appearance, pH, sterility and percentage of recovery between 50 to 200% were maintained. On the other hand, the indicator property of the PSP medium (Pyocyanin) was observed of very low intensity at 30 days, while the indicator property of the PSF medium (Fluorescein) was maintained until 30 days of observation, in the storage conditions evaluated. (media stored in bottles at 13-15 ° C).

Keywords: Growth medium, validation, validity, fluorescein and pyocyanin.

I. INTRODUCCION:

Los medios de cultivo juegan un papel importante en los laboratorios de microbiología; son una mezcla de nutrientes que, en condiciones físicas óptimas, así como en concentraciones adecuadas, va permitir el correcto crecimiento de los microorganismos; por ello es necesario tener un control en su fabricación, conservación, preparación y uso, con el fin de asegurar su exactitud y confiabilidad de los resultados obtenidos (1). Además, que es también punto clave que requiere gran atención durante las inspecciones y auditorías, ya que se pueden poner en duda los resultados del laboratorio, si los medios no están apropiadamente preparados y controlados, Asegurar la calidad de su preparación y de su tiempo de vida útil (vigencia) es indispensable con el fin de evitar falsos positivos y/o falsos negativos (1,2).

Actualmente el tiempo de vigencia que se les viene dando a los medios de cultivos preparado va en base a la experiencia de los laboratoristas, como de las condiciones de guardado con las que cuentan cada laboratorio (3–5). Existen en guías y manuales referencias donde emplean a los medios de cultivos preparados una vigencia que va entre 2 semanas a 2 meses dependiendo del uso (6,7). Sin embargo, es necesario validar el tiempo de vigencia mediante la ejecución de ensayos, donde se pueda evidenciar que las características del medio se mantienen optimas durante todo ese tiempo.

Las buenas prácticas de laboratorio (BPL), las buenas prácticas de manufactura (BPM) y otros manuales de las industrias farmacéutica (Manual de Microbiología Aplicada) (1,4,8–10) mencionan que los medios de cultivos preparados deberían tener su fecha de vigencia establecida, y que, si el fabricante no establece el período

de vigencia de sus medios, éste debe ser establecido en el laboratorio según las condiciones de guardado o almacenamiento que posean (1,10–12).

Otro punto a observar es que si bien es responsabilidad del fabricante asegurar la calidad de los medios de cultivo deshidratados; es un hecho que cuando un medio de cultivo se apertura, va tomando las condiciones de humedad del ambiente, y este se va deteriorando de acuerdo a la frecuencia de uso y la apertura del envase, otra razón por la cual se hace necesario establecer un tiempo de vigencia. Además, los medios de cultivo que son preparados, esterilizados y almacenados bien sean en frascos o placas Petri, pueden deshidratarse al estar en refrigeración por un largo periodo de tiempo o al estar expuestos a temperaturas mayores de 25°C a largo plazo (9,11,13).

Por estas razones definir el tiempo de vigencia de los medios de cultivo cobra relevancia en los laboratorios de producción, laboratorios de control de calidad y servicios de ensayos; dado que es necesario tener en almacenamiento una cantidad de medios de cultivo que prevea la cantidad de ensayos que se pueden requerir por lo menos en una semana. El tiempo de vigencia o vida útil de un medio de cultivo va a estar dado por el periodo de tiempo en el que sus características fisicoquímicas y microbiológicas permanezcan como al inicio de su preparación (1,10).

Teniendo en cuenta todo lo anterior, el objetivo de dicho trabajo es realizar la evaluación del tiempo de vigencia de los medios de cultivo solidos diferenciales usando como ejemplo el agar P para *Pseudomonas* (PSP) y el agar F para *Pseudomonas* (PSF), ya que *P. aeruginosa* está asociada con contaminación de agua y soluciones acuosas farmacéuticas. Además, que para caracterizar las bacterias del

género *Pseudomonas* no solo basta usar las pruebas bioquímicas, sino medios de cultivo que indiquen la producción de toxinas dañinas (fluoresceína y piocianina).

La importancia de contar con medios de cultivo óptimos para investigar, aislar e identificar la presencia de *P. aeruginosa* en productos farmacéuticos va desde las enfermedades que pueden llegar a causar, úlceras de córnea en los ojos debido al lavado de soluciones de lentes de contacto contaminadas, así como también pueden llegar a producir endocarditis por causa de administración endovenosa de medicamentos contaminados por *P. aeruginosa* (1,14,15).

Además, se ha visto que la *Pseudomona aeruginosa* junto a otras bacterias Gram logran formar biofilms y colonizar los sistemas de purificación de agua, las cuales son estructuras muy difíciles de remover incluso con el uso de agentes sanitizantes (1,16).

A. Antecedentes:

1. Definiciones:

- Validación:

Consiste en demostrar que un procedimiento, proceso, actividad o sistema puede conducir de forma real y de forma consistente hacia los resultados esperados, de acuerdo con los principios de las guías y regulaciones de buenas prácticas de calidad (BPx, o GxP por sus siglas en inglés) (4).

- Medio de cultivo:

Mezcla equilibrada de nutrientes el cual presenta concentraciones adecuadas de agua, condiciones físicas óptimas y pH óptimo, las cuales va permitir el crecimiento correcto de microorganismos in vitro (1,17,18).

- Esterilización:

Proceso mediante el cual se logra obtener uno o varios productos libres de microorganismos incluyendo virus y/o esporas. Dicho proceso (esterilización) debe ser diseñado y validado (17–19).

- Prueba de promoción de crecimiento de un medio de cultivo:

Técnica que permite verificar la susceptibilidad y aptitud de los medios de cultivo preparados. (USP<87>).

- Potenciómetro:

Instrumento eléctrico usado para medir la acidez, así como la alcalinidad de una solución también llamado pH (20).

2. Requerimientos para un medio de cultivo:

2.1. Requerimientos nutricionales:

Los microorganismos requieren de una serie de sustancias las cuales les permitan realizar sus actividades metabólicas como cualquier ser vivo; básicamente lo que necesitan son: fuentes de agua, energía, carbono, nitrógeno y oxígeno (en el caso de los microorganismos aerobios y organismos aerobios) (17,18).

Actualmente, existe y se dispone de una gran variedad de medios de cultivos comerciales en el mercado, las cuales brindan las sustancias necesarias a los microorganismos, en términos generales, los medios de cultivo poseen y están compuestos por:

- Una base mineral, en la que se encuentran los nutrientes inorgánicos que el microorganismo pueda necesitar:
 - Macronutrientes:

Suelen ir incluidos en la composición (C, H, O, N, P, S, K, Mg).
 - Micronutrientes:

No se suelen incluir porque aparecen como impurezas o elementos traza (Mn, Co, Cu, Mo o Zn).
 - Fosforo:

Administrado en forma de sales inorgánicas y sirve como regulador del pH.

- Una suplementación de la base mineral:
 - Fuente de carbono:
Azúcares sencillos como la glucosa, lactosa, etc.
 - Fuente de nitrógeno:
Proteínas parcialmente hidrolizadas, se suelen usar como por ejemplo las peptonas.
 - Fuente de azufre.
 - Factores de crecimiento.

Habitualmente existen una serie de constituyentes que son empleados en los medios de cultivos (8,21,22). Dichos constituyentes son:

- Un agente gelificante: Se utiliza para dar solides al medio.
 - AGAR-AGAR: Obtenido a partir de algas marinas.
 - Gelatina: Obtenido a partir del colágeno animal, de naturaleza proteica.
- Extractos: Pueden obtenerse de animales, vegetales o levaduras, las cuales se van a emplear como fuente de alimento rica en carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales.
- Carbohidratos: Principalmente carbono y son usados como fuente energía.
- Sangre, suero o plasma: Van aportar factores de crecimiento, las cuales se van a emplear para la detección de reacciones hemolíticas y de la actividad coagulasa. La sangre no puede ser esterilizada, por lo que deberá extraerse en condiciones aseptia de un animal sano.

- Peptonas: Provenientes del producto de la digestión acida de proteínas, provocando que su composición sea variable, pero a la vez ricas en aminoácidos y péptidos, haciéndolo una buena fuente de nitrógeno.
- Amortiguadores e indicadores de pH: Utilizados para permitir el correcto crecimiento del microorganismo de interés y a la vez detectar variaciones de pH en el medio.

Otros constituyentes que se suelen encontrarse a menudo son:

- Bilis y sales biliares: Utilizado para inhibir el crecimiento de bacterias gran positivos.
- Agentes reductores: Utilizados para el correcto crecimiento de microorganismos microaerófilos o anaerobios.
- Colorantes: Se emplean como inhibidor de crecimiento de un determinado grupo de microorganismos.

2.2. Requerimientos Ambientales:

Para el adecuado crecimiento de los microorganismos el medio ambiente en donde crezcan (Frascos, Placas Petri, tubos) va influir en su adecuado desarrollo.

La temperatura y pH del medio van a ser son los parámetros ambientales más importantes en tener en cuenta al utilizar un microorganismo industrialmente (17,18).

2.2.1. PH del medio de cultivo:

El pH correcto, adecuado y estable es otro requisito importante para un crecimiento microbiano óptimo. La mayoría de las bacterias crecen a un pH de 6.5 a 7.0 (1,10,13).

a) Medición del pH:

Al utilizar agua purificada o destilada, es decir agua neutra, para la preparación de los medios de cultivo; se recomienda comprobar el valor de pH antes de su esterilización, y si este no se encuentra en el rango establecido por el fabricante, ajustarlo añadiendo cantidad suficiente de NaOH al 0,1 N o HCl al 0,1 N; o lo que indique en la etiqueta del envase del medio de cultivo deshidratado. Para la medición del pH se recomienda usar un equipo pHmetro dependiendo el tipo del medio a evaluar si es líquido o sólido usar un electrodo de inmersión o plano respectivamente (1,23).

b) Como afecta el pH en el crecimiento bacteriano:

Cada microorganismo crece y posee un rango definido de pH. En general, un aumento o disminución del pH ocasionaría en los microorganismos una disminución de su velocidad de crecimiento. Estas variaciones, ocasionarían la ionización de los nutrientes presentes en el medio y a la vez afectaría a los microorganismos al reducir su asimilación de los nutrientes presentes (24–26).

Sin embargo, a pesar de las amplias variaciones de pH del medio en donde crecen los microorganismos, el pH interno de los microorganismos se mantiene próximo a la neutralidad, diferentes

mecanismos pueden explicarlo, tales como: intercambio de iones sodio, impermeabilidad de la membrana por protones, etc. Por otro lado, se ha visto que las variaciones drásticas de pH ocasionan la inactividad de las enzimas y proteínas transportadoras de membrana. Además, se ha demostrado que, si el pH interno de las células disminuye mucho, los microorganismos mueren (20,22).

2.2.2. Temperatura:

2.2.2.1. Temperatura de medios de cultivo vs crecimiento de bacterias:

La velocidad de crecimiento de los microorganismos también se va ver afecta por la temperatura la cual van a ser incubados. Del mismo modo que para los nutrientes, es necesario hallar la temperatura optima que va posibilitar una mayor velocidad de crecimiento de los microorganismos, en otras palabras, si los microorganismos se incuban por debajo de su temperatura optima, estos van a crecer con una velocidad mucho menor. Esta temperatura puede encontrarse en las indicaciones del fabricante como de la cepa a utilizar.

Este principio es el fundamento para lograr que la vida útil de un producto conservado a temperaturas de refrigeración puede ser alargado (1,11,24). Además, se ha observado que la velocidad de crecimiento de un microorganismo tiende a disminuir cuando su temperatura está por encima de la temperatura óptima, ya que se ha visto que este aumento de temperatura produce la desnaturalización de las proteínas presentes en el medio de cultivo. Por esta razón, se puede decir también que la temperatura máxima está mucho

más cerca de la óptima de lo que lo estaría la temperatura mínima. Si bien se ha demostrado que los microorganismos son capaces de multiplicarse a diferentes rangos de temperatura, esto no quita el hecho de que todas las especies de microorganismos tienen la misma temperatura óptima ni el mismo rango de temperaturas compatibles con el crecimiento. (1,22).

3. Tipos de Medios de cultivo:

3.1. Por su consistencia física:

3.1.1. Caldos (Broth) o medios líquidos:

En su preparación no poseen ningún agente gelificante, ocasionando que los microorganismos crezcan por todo el medio. El crecimiento en este tipo de medios (Caldos) permite que los microorganismos puedan acceder de una forma fácil y rápida a los nutrientes (1,17).

3.1.2. Medios sólidos (Agares):

Su preparación es la misma que las de los medios líquidos, pero a estos se les añade un agente gelificante, con el fin que el crecimiento del microorganismo sea sobre la superficie del medio. Estos medios pueden depositarse en placas Petri o en tubos de ensayo (1,17).

3.1.3. Medios semisólidos:

Poseen una consistencia intermedia entre los caldos y los medios sólidos, se utilizan para apreciar la movilidad de los microorganismos y para pruebas bioquímicas (1,17).

3.2. Por su consistencia Química:

3.2.1. Medios definidos o sintéticos:

Se conoce su composición exacta de los elementos que van a estar presentes en el medio y su proporción. Se utilizan para obtener resultados reproducibles (1,17,18).

3.2.2. Medios complejos:

No se conoce su composición exacta, ni los porcentajes de cada nutriente presente en el medio, ya que es una mezcla compleja de extractos (17,18).

3.2.3. Medios semisintéticos o enriquecidos:

Medios a los que se les han añadido elementos nutritivos complementarios como sangre o albumina (1).

3.3. Por su Función:

3.3.1. Medios nutritivos o generales:

Por ser muy generales van a permitir el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos. Como ejemplo de este tipo de medios están el agua de peptona, agar Plate Count, agar TSA, etc. (1,17).

3.3.2. Medios de enriquecimiento:

Favorecen el crecimiento de un estrecho grupo de microorganismo, pero sin la necesidad de inhibir completamente el crecimiento de otros microorganismos que puedan estar presentes en el medio de cultivo. Poseen componentes que van permitir el crecimiento del microorganismo de interés, aumentando así su proporción.

3.3.3. Medios diferenciales o indicadores:

Estos medios contienen sustancias que permiten poner en manifiesto alguna característica de la especie o grupo de microorganismo (1,27). Como ejemplo de este tipo de medios está los agares PSP y PSF, para detección de *pseudomonas*.

3.3.4. Medios selectivos:

Medios que cuentan con ingredientes inhibidores de crecimiento e indicadores, los cuales colorean a las colonias. Como ejemplo de este Medio está el agar MacConkey, el cual contiene cristal violeta, que inhibe el crecimiento de bacterias grampositivas y hongos, pero a su vez facilita el desarrollo de bacterias gramnegativas (1,17,27).

4. Agar pseudomona para detección de piocianina (PSP):

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento, la detección y la diferenciación de especies de *Pseudomonas* en base a la producción de piocianina. (pigmento no fluorescente de color azul-verdoso producido por la mayoría de cepas *P. aeruginosa*) (28,29).

5. Agar Pseudomona para detección de fluoresceína (PSF):

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento, la detección y la diferenciación de especies de *Pseudomonas* en base a la producción de fluoresceína. (pigmento fluorescente de color amarillo-verdoso producido por la mayoría de cepas *P. aeruginosa*) (28,29).

6. Preparación de un medio de Cultivo:

Para su preparación se sigue las instrucciones dadas por el fabricante, las cuales podemos encontrar en el envase. La cual indica en disolver el medio en polvo (deshidratado) en agua purificada, dicho proceso se le conoce y denomina como reconstitución. La cantidad necesaria de agua para agregar al medio deshidratado será según indique el fabricante. Una vez reconstituido el medio de cultivo, el siguiente paso es esterilizarlo para asegurar así de que no haya ningún microorganismo o partícula contaminante, puesto que el objetivo de un medio de cultivo óptimo es hallar o determinar el crecimiento de microorganismos que puedan estar presentes en muestras para analizar (1,9,12,13,17).

A continuación, se menciona algunas precauciones que deben tenerse en cuenta durante la preparación de los medios de cultivo:

- La balanza debe estar calibrada antes de utilizarse en la pesada del medio deshidratado o de sus ingredientes.
- Las espátulas y cucharas utilizados deben estar limpios para la elaboración del medio.
- Utilizar agua purificada o destilada para la disolución de los medios.
- Los recipientes a utilizar en la preparación de los medios deben estar limpios, ya que se ha visto que se puede encontrar residuos de detergentes o restos de otras sustancias por un lavado deficiente, pudiendo causar efecto inhibitorio en la capacidad de crecimiento de los microorganismos.

- Tener en cuenta que los recipientes que van a ser usados para la preparación de los medios de cultivo deben ser lo suficientemente grandes ya que durante la esterilización por autoclave estos puedan derramarse.
- Cuando el envase de medio de cultivo se abre por primera vez deberá anotarse la fecha de apertura (día, mes y año).
- Verificar antes de usar un medio de cultivo que este no se encuentre vencido. En caso esto suceda, descartar el envase y utilizar otro.
- Pesar la cantidad deseada según el volumen total a preparar, teniendo en cuenta las indicaciones descriptas en la etiqueta del envase.
- Para evitar la absorción de humedad, oxidación y/o contaminación se debe cerrar herméticamente el envase del medio de cultivo y guardarlo en su correspondiente lugar de almacenamiento.
- Medir el pH antes de su esterilización y ajustarlo en caso de ser necesario.
- Etiquetar cada recipiente con el nombre del medio de cultivo, lote de preparación de medio y fecha de vencimiento de su preparación.

7. Rotulados de Medios de cultivo preparados:

El recipiente de cada medio de cultivo elaborado y/o preparado en el laboratorio debe etiquetarse con los siguientes datos:

- Nombre del medio o abreviatura del medio de cultivo.
- Identificación del batch de medio o preparado.
- Fecha de vencimiento de la preparación.

8. Esterilización:

Tras su preparación, los medios de cultivo deben ser esterilizados, para poder tener la certeza y confiabilidad de que el resultado y/o crecimiento obtenido sea el de la muestra sembrada y no de contaminaciones (30). La esterilización de los medios de cultivos deberá realizarse tal como indique el fabricante (temperatura y tiempo), normalmente se usa a 121 °C durante 15 minutos y 15 lb de presión, utilizando una autoclave calificada y ciclos validados. Sin embargo, se ha visto que algunos fabricantes indican que algunos medios puedan requerir una esterilización por vapor fluente o temperaturas menores a 121°C, como 115°C como en el caso del caldo Rappaport, para evitar el deterioro de componentes lábiles al calor (1,5,17).

9. Almacenamiento de los medios de cultivo comerciales y preparados:

Al momento de almacenar los medios de cultivo comerciales (deshidratados), hay que tener en cuenta las condiciones que señala el fabricante, usualmente indica que los medios deben almacenarse en un lugar fresco entre 15°C y 25°C, con poca humedad y protegidos de la luz solar directa, mencionan también que estos no deben ser almacenados cerca de autoclaves, hornos u otra fuente de calor, ya que esto podría ocasionar el deterioro en los medios deshidratados por el aumento de la temperatura. Cuando el envase del medio de cultivo deshidratado es abierto por primera vez para su uso, este va ir adquiriendo las condiciones de humedad del ambiente en donde se encuentra, por ello hay que cerrarlos tan pronto como sea posible una vez terminados de usar para prevenir la entrada de humedad, ya que el medio puede absorber agua del ambiente y producir cambios de pH, formación de grumos, decoloraciones del polvo, etc. lo

cual indicaría que deben ser descartados porque pueden haber sufrido cambios químicos.

Por otro lado, los medios de cultivo preparados pueden almacenarse por un periodo máximo de 2 mes protegido de la luz, según en donde se guarde, o por periodos mayores si estos se guardan bajo refrigeración a una temperatura entre 2°C a 8°C, nunca por debajo de 0°C porque se destruye la estructura del gel (1,9,13,17).

10. Deterioro de un medio de cultivo:

Si bien es responsabilidad del fabricante asegurar la calidad de sus preparaciones deshidratadas, y del laboratorista en tener los cuidados necesarios para su preparación, es un hecho que con el pasar del tiempo el medio pierde su valor y se va deteriorando, debido a la deshidratación por largos periodos de almacenamiento (5). Por ello es necesario tener en cuenta que cada lote preparado de medio de cultivo debe pasar por su proceso de control de calidad, con el fin de determinan sus propiedades fisicoquímicas (apariencia y pH) y microbiológicas (esterilidad y promoción de crecimiento) verificando así que cumplan con los requisitos de calidad establecidos y demostrando a la vez que son aptos para su uso (1,7,8,17).

11. Parámetros a evaluar de un medio de cultivo para establecer su fecha de vigencia:

11.1. Evaluación del Aspecto:

El primer punto que se considerara en la evaluación de calidad de un medio de cultivo preparado va ser su aspecto, ya que ciertas características del medio una vez preparadas y esterilizadas pueden dar indicios de algunos errores técnicos,

de la calidad inadecuada de los medios, o de la preparación incorrecta de los recipientes que lo contengan (1,9,11).

Para los medios de cultivo líquidos, hay que considerar en éstos que no debe presentarse turbidez ni precipitaciones; ya que su presencia de estos puede indicar una mala calidad del agua empleada para su preparación, como también puede indicar el uso de recipientes sucios, o el sobrecalentamiento durante su preparación y ajuste de pH incorrecto. Si se evidencia que un medio de cultivo presenta un color distinto al habitual o distinto a como indica el fabricante, puede ser indicio de un sobrecalentamiento durante su esterilización, pudiendo ocasionar la caramelización de azúcares o la destrucción o deterioro de colorantes; además, hay posibilidad de envasar el medio en recipientes sucios o mal lavados, siendo el origen del cambio de color. Por lo que respecta al punto de solidificación y a la estabilidad del gel, éstos pueden verse afectados por varios factores.

Los medios de cultivo que contienen agar-agar se espera que permanezcan con una consistencia firme o solida entre los 33°C a 39°C, además si un medio de cultivo presenta un punto de solidificación muy alto indicaría que se ha pesado demasiado medio de cultivo deshidratado, que la calidad del agar es inadecuada o que se agregó mayor cantidad de agar que la requerida según la formula e indicación del fabricante. Por el contrario, si un medio de cultivo presenta una estabilidad del gel muy baja, es decir que no solidifica satisfactoriamente, puede ser motivo a que se empleó menos medio del requerido, como también puede ser que el medio no se disolvió completamente, o a que el agar es de calidad pobre (8,9).

11.2. Esterilidad:

El segundo punto a evaluar para el control calidad de un medio de cultivo preparado es la esterilidad de un lote de medio, este puede llevarse mediante la observación, con el fin de evidenciar la ausencia de crecimiento de microorganismos en el medio preparado. No obstante, esta prueba solo es indicativa por eso se recomienda incubar una cantidad del lote preparado de los medios de cultivo durante un tiempo prolongado (entre 3 y 5 días) y a temperatura que favorezca el desarrollo de bacterias como de hongos (32.5 y 22.5 °C, respectivamente) (1,9). Además, esta prueba da resultados extemporáneos al trabajo correcto y adecuado, por eso es primordial contar con un sistema adecuado de validación de los procesos de esterilización, donde se pueda incluir el uso de indicadores no solo químicos sino también biológicos, como el Sterikon R pluse.

Cabe resaltar que la cinta de autoclave la cual se coloca en cada frasco de preparación, no indica el tiempo de exposición a ciertas temperaturas, y se ha demostrado que su cambio de color puede ocurrir a temperaturas inferiores a la de esterilización.

Se ha visto que la presencia de contaminación en un lote de medio de cultivo preparado, puede ser debido a una esterilización deficiente, como también puede ser atribuido a una contaminación post-esterilización, como durante el envasado, o bien al empleo de ensayos microbiológicos, dando falsos positivos (1,2).

11.3. Evaluación de pH:

Aparte de la composición nutricional completa de un medio de cultivo preparado, el pH correcto, adecuado y estable es otro requisito importante para un crecimiento microbiano óptimo. La mayoría de las bacterias crecen a un pH de 6.5 a 7.0. Además, ciertos microorganismos como las bacterias tienden a liberar productos ácidos, acidificando el medio de cultivo, pudiendo interferir con su crecimiento (23,26).

Si el pH del medio de cultivo preparado y esterilizado está fuera del rango recomendado, no solo se inhibe el crecimiento de los microorganismos en el medio de cultivo, sino que también pueden ocurrir cambios físicos como la precipitación de componentes o gelificación blanda del agar (1,9,11).

11.4. Promoción de crecimiento:

Los medios de cultivo preparados deben someterse a una prueba de promoción de crecimiento, donde se pondrá en evidencia la capacidad de los medios para cumplir con todas las exigencias nutricionales que pueda demandar el desarrollo de los microorganismos. Cada lote de medio de cultivo preparado debe pasar y ser analizado mediante esta prueba, para promover el crecimiento de microorganismos presentes en el producto. Cada medio debe ser inoculado, por duplicado con una cantidad no mayor de 100 UFC, e incubados a las condiciones específicas según el fabricante. (1,5,8,18).

- ❖ Para medios solidos generales (Medios de enriquecimiento): El crecimiento obtenido no debe diferir en un factor mayor de 2 partir del valor calculado para un inculo estandarizado.
- ❖ Para medios líquidos: Son adecuados si se produce y evidencia crecimiento claro de microorganismo, y a la vez comparable a un lote anteriormente analizado y aprobado previamente.
- ❖ Para medios Selectivos (inhibitorias): No se produce crecimiento del microorganismo de prueba, las colonias desarrolladas deben mostrar inhibición de otras colonias que no sea la deseada según el medio.
- ❖ Para medios diferenciales (indicadoras): Las colonias desarrolladas son comprables en apariencia y reacciones indicadoras a aquellas anteriormente obtenidas con una partida de medio analizada y aprobada previamente.

II. OBJETIVO:

A. Objetivo general:

Evaluar la vigencia de dos medios de cultivos preparados y almacenados en frascos:

Agar P para Pseudomona (PSP) y agar F para pseudomona (PSF).

B. Objetivos específicos:

- Evaluar el tiempo de vigencia en que el agar P para Pseudomona (PSP) y el agar F para Pseudomona (PSF) conservan sus características de pH, esterilidad y aspecto en las condiciones de almacenamiento establecidas.
- Evaluar si durante el tiempo de vigencia establecido los medios de cultivo son aptos para el crecimiento de bacterias, de tal manera que se pueda obtener una recuperación bacteriana que se encuentre entre el 50 al 200% mediante la prueba de promoción de crecimiento como indica la USP.
- Establecer el procedimiento para determinar el tiempo de vigencia de manera que sirva como guía para la evaluación de otros medios preparados.

III. METODOLOGIA:

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Hypatia S.A, laboratorio de Control de Calidad, Lima - Perú

A. OPERACIONES PRELIMINARES:

Antes de evaluar la vigencia de los medios de cultivos se estableció o predefinió los siguientes datos:

- a.) Características físicas del medio de cultivo, que debe tener antes y después de su preparación.
- b.) El tiempo de vigencia que se deseaba evaluar según su uso.
- c.) La forma de almacenamiento (si se va almacenar en frascos antes de repartir o en placas Petri). En nuestro caso se evaluó en frascos.
- d.) Condiciones de almacenamiento (temperatura y forma de almacenamiento).
- e.) Criterios de aceptación para su uso y para su tiempo de vigencia.
- f.) Cepas con los cuales se evaluará la promoción de crecimiento de los medios.

Datos pre-establecidos de los medios PSP y PSF:

Forma de almacenamiento: En frascos antes de plaquear.

- **Características del agar Pseudomonas para detección de piocianina:**
 - Medio comercial: Polvo homogéneo de color beige, libre de contaminantes y de deslizamiento.
 - Medio preparado: Medio semisólido de color ámbar claro.

- Características del medio preparado: Medio solido de color ámbar claro con pH 7.2 ± 2 .
 - Condiciones de almacenamiento luego del preparado: Frascos de 250mL conteniendo 150 mL del medio.
 - Forma de almacenamiento luego del preparado: En refrigeración de 13 a 15°C.
 - Cantidad a preparada para el estudio: Se preparo 3 lotes del medio, cada lote fue de 600mL alicuotados en 4 frascos con un volumen de 150mL, a cada frasco se le denomino sub-lote. La cantidad debe ser suficiente para repetir el estudio 3 veces.
- **Características del agar Pseudomonas para detección de fluoresceína:**
 - Medio comercial: Polvo homogéneo de color beige, libre de contaminantes y de deslizamiento.
 - Medio preparado: Medio semisólido de color ámbar claro.
 - Características del medio preparado: Medio solido de color ámbar claro con pH 7.2 ± 2 .
 - Condiciones de almacenamiento luego del preparado: Frascos de 250mL conteniendo 150 mL del medio.
 - Forma de almacenamiento luego del preparado: En refrigeración de 13 a 15°C.
 - Cantidad preparada para el estudio: Se preparo 3 lotes del medio, cada lote fue de 600mL alicuotados en 4 frascos con un volumen de 150mL, a cada frasco se le denomino sub-lote. La cantidad debe ser suficiente para repetir el estudio 3 veces.

B. DISEÑO DEL ESTUDIO:

El diseño del estudio para evaluar la vigencia de los medios de cultivo se obtuvo a través del consenso de los profesionales del aérea; y el número de repeticiones (3 veces) está en concordancia con los procesos de validación que indican las buenas prácticas manufactura (BPM), así como de las recomendaciones de algunos textos (1,10,27).

El diseño del estudio consistió en preparar 3 lotes independientes, almacenarlos en las condiciones pre-establecidas y evaluar los parámetros de aspecto, pH, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedades indicadoras, en por lo menos tres periodos de tiempo (inicio, medio y final de la fecha de vigencia que se quiere evaluar). Se registraron y evaluaron los resultados considerando como tiempo de vigencia aquel en que las características de los parámetros evaluados no difieran del tiempo inicial.

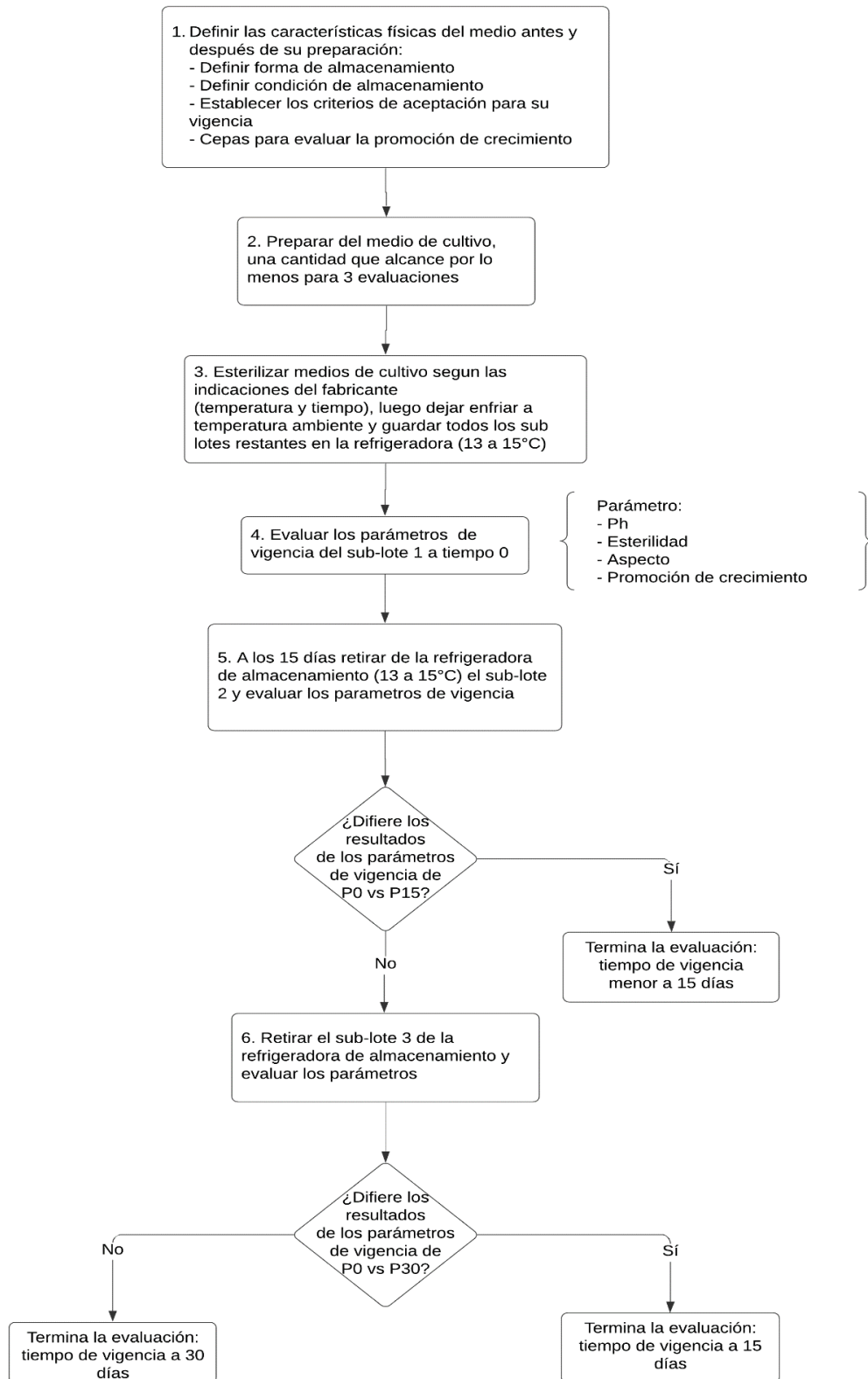
En el presente estudio para los 3 lotes de los medios de PSP y de PSF, se evaluaron durante un periodo de 30 días, como se indica a continuación:

- Periodo 0: Al inicio
- Periodo 15: Después de 15 días \pm 2 días.
- Periodo 30: Después de 30 días \pm 2 días

Una vez preparados los medios de cultivo, las pruebas de control de calidad que se realizó en cada periodo fueron:

- Prueba de pH
- Prueba de esterilidad
- Evaluación de aspecto
- Prueba de promoción de crecimiento

Flujograma de trabajo para la vigencia del agar F para Pseudomona (PSF) y del agar P para Pseudomona (PSP).



Nota: Los pasos 2 al 6 del flujograma se repitieron para cada sub lote a evaluar. El tiempo de vigencia es valido siempre y cuando los resultados sean satisfactorios **en los 3 lotes de cada medio.**

C. MATERIALES Y EQUIPOS

i. Materiales Biológicos: cepas:

Cepa	Pruebas para la que se emplea la cepa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Promoción de crecimiento del medio PSP y PSF
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	Promoción de crecimiento del medio PSP y PSF

ii. Lotes de medios de referencia empleados:

Medios de cultivo	Lote y Fecha de preparación	Prueba para la que se emplea
Agar pseudomona para detección de fluoresceína	PSP 09-21 Fecha de preparación: 14-10-2021	Promoción de crecimiento del medio PSP
Agar pseudomona para detección de piocianina	PSP 14-21 Fecha de preparación: 12-11-2021	Promoción de crecimiento del medio PSF

iv. Materiales no biológicos:

Equipo	Marca
Incubadora (36.7 ±0.75°C)	Memmert
Incubadora (32±2.5°C)	Memmert
Refrigeradora (14 ± 3°C)	TorRey
Autoclave	FRAVILL
Lampara UV	Ultra Violet
Pipeta(100uL)	Transferpette ®
Pipeta (10uL)	Transferpette ®
Balanza	3S Cientific
Cabina	BioBase
Purificador de Agua Elix 70	MilliPore
Potenciómetro	Hanna Instruments

- Frascos de 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Espátulas estériles para pesar
- Cinta de autoclave
- Glicerol
- Placas Petri estériles

D. SELECCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR:

Los medios de cultivo a evaluar fueron seleccionados en base a los requerimientos del laboratorio donde se indicó el estudio. Los medios seleccionados PSP y PSF son empleados para la detección de *Pseudomona aeruginosa* en agua pura y ultra pura empleadas para procesos de fabricación o de control de calidad. El presente estudio solo abarca la evaluación de la vigencia de los medios antes de plaquear. Los medios seleccionados corresponden a los lotes y marca comerciales que abajo indican:

MEDIO DE CULTIVO	SIGLAS	MARCA COMERCIAL	LOTE
Agar Pseudomonas para detección de fluoresceína	PSP	Merck	VM817489
Agar Pseudomonas para detección de piocianina	PSP	Merck	VM778788

E. PROCEDIMIENTO:

PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO A EVALUAR:

Se prepararon 3 lotes de cada medio de cultivo y se lotizaron según se detalla en el siguiente cuadro:

PSP (lote comercial VM778788)		PSF (lote comercial VM817489)	
Lote de preparación	Sub-lotes	Lote de preparación	Sub-lotes
Lote 1: PSP 11-21 Fecha de preparación: 09/11/2021	PSP11-21 (1) PSP11-21 (2) PSP11-21 (3)	Lote 1: PSF 11-21 Fecha de preparación: 09/11/2021	PSF11-21 (1) PSF11-21 (2) PSF11-21 (3)
Lote 2: PSP 12-21 Fecha de preparación: 11/11/2021	PSP12-21 (1) PSP12-21 (2) PSP12-21 (3)	Lote 2: PSF 12-21 Fecha de preparación: 11/11/2021	PSF12-21 (1) PSF12-21 (2) PSF12-21 (3)
Lote 3: PSP 13-21 Fecha de preparación: 12/11/2021	PSP13-21 (1) PSP13-21 (2) PSP13-21 (3)	Lote 3: PSF 13-21 Fecha de preparación: 12/11/2021	PSF13-21 (1) PSF13-21 (2) PSF13-21 (3)

Cada lote consistió en la preparación de 600 ml de cada medio a evaluar, y de esos 600 mL se pasó a dividirlo en 3 sub-lotes.

- **Preparación del medio PSP:**

Según las indicaciones del fabricante para preparar 600mL se pesó 26,4 gramos y se disolvió en 600mL de agua purificada, y se agregó 6 ml de Glicerol.

Luego de reconstituir el medio de cultivo, se mide el pH y se ajusta a 7.2 ± 0.2 mediante un potenciómetro previamente calibrado y verificado. Para nuestro caso se ajustó a 7.4. Luego se procede a esterilizarlo por 15 min efectivos a 121°C .



Foto 1: medición y ajuste del pH del agar PSP

- **Preparación del medio PSF:**

Según las indicaciones del fabricante para preparar 600mL se pesó 21 gramos y se disolvió en 600mL de agua purificada, y se agregó 6 mL de glicerol.

Luego de reconstituir el medio de cultivo, se mide el pH y se ajusta a 7.2 ± 0.2 mediante un potenciómetro previamente calibrado y verificado. Para nuestro caso se ajustó a 7.4. Luego se procede a esterilizarlo por 15 min efectivos a 121°C



Foto 2: medición y ajuste del pH del agar PSF

- **Esterilización de los medios de cultivo:**

Los agares PSP y PSF, fueron esterilizados por 15 min efectivos a una temperatura de 121°C, que para nuestro equipo los 15 min efectivo corresponde a 34 minutos según el proceso de validación de autoclavado.



Foto 3: esterilización de los medios de cultivo en la autoclave

En el proceso de esterilización, se usó un bioindicador (Sterikon R pluse), opcional, para asegurar que el proceso fue exitoso. Una vez terminado el proceso de esterilización, el Sterikon R pluse paso a ser incubado durante 48 horas, a una temperatura de 61 ± 1 °C, y los medios de cultivo se dejaron enfriar a temperatura ambiente; para posteriormente almacenarlos o realizarles sus pruebas de control de calidad.

F. PARAMETROS A EVALUAR:

Parámetros a evaluar para establecer la vigencia de los medios de cultivo PSP y PSF preparados.

Los parámetros evaluados en cada periodo de tiempo (0, 15 y 30 días) fueron aspecto, pH, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedad indicadora.

- **Prueba de pH:** Se midió el pH empleando un potenciómetro, con un electrodo de inmersión para el medio recién re suspendido (antes de esterilizar), luego de esterilizado el medio y/o cuando esta solidificado se empleo un electrodo de superficie, plana según indica la USP 43 <1117>.

El pH se midió para todos los casos antes y después de autoclavar el medio.

- Criterio de aceptación: El pH de los medios (PSP y PSF) debe estar en un intervalo de $7,2 \pm 0,2$ según la indicación del fabricante.

- **Prueba de Esterilidad:** Se incubaron los medios a una temperatura de 30°C a 35°C, durante por lo menos 48 horas. (USP 43 <71>)

- Criterio de aceptación: Los medios se considerarán estéril si no se evidencia crecimiento de microorganismo (se debe visualizar la superficie del medio).

- **Evaluación de Aspecto:** Se revisaron los medios de cultivo visualmente para detectar signos que no son propios de los medios.

- Criterio de aceptación: Para ambos medios (PSP y PSF) se debe verificar que cumpla con lo siguiente: ausencia de signos de sequedad, que no se evidencie cambio de color, y que no exista sedimentación o precipitación alguna.

El color del medio PSP y PSF deben ser de color ámbar claro.

- **Prueba de promoción de crecimiento:**

Se realizó a cada lote de medio de cultivo preparado; en los periodos establecidos (0, 15 y 30 días).

La prueba de promoción de crecimiento consistió en adicionar al medio inóculos de microorganismos específicos (no mayor a 100 UFC cada uno) a fin de evaluar si el medio es capaz de recuperar el crecimiento de microorganismos en un factor que no excede de 2 (50 a 200% de recuperación). Para obtener el porcentaje de crecimiento se compara el crecimiento obtenido en el lote a evaluar con el crecimiento obtenido en un lote de referencia (el lote de referencia es un lote preparado anteriormente).

Criterios para el lote de referencia

- a) Lote del mismo tipo de medio.
- b) Evaluado anteriormente y cuyos resultados de calidad pH, Aspecto esterilidad, promoción de crecimiento y propiedades indicadoras frente a un lote anterior hayan sido satisfactorias.
- c) Su tiempo de preparación debe ser lo más reciente posible.

En el presente estudio el lote de referencia empleado al momento de uso no tenía no mas de 2 semanas de preparación

Reacciones indicadoras:

- El medio PSP luego de incubación de *P. aeruginosa* producirá un pigmento de color azul-verdoso que corresponde a piocianina. En el caso de incubación de *E. coli* no debe virar de color.
- El medio PSF luego de incubación de *P. aeruginosa* producirá un pigmento de color amarillo-verdoso que corresponde a fluoresceína. En el caso de incubación de *E. coli* no debe virar de color.

Para la prueba de promoción de crecimiento el frasco que contenía 200 mL del medio (agar) se colocó en baño maría $43.5 \pm 2^\circ\text{C}$ a fin de que pase al estado líquido y plaquearlo.

De cada medio se empleó 5 placas Petri las cuales se dispusieron según como sigue:

- 2 placas para cada microorganismo de prueba
- 1 placas para control negativo.

Las placas fueron sembradas por duplicado por los siguientes microorganismos: *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027, luego de la incubación de las placas por un periodo de 2 días a temperatura de 36.7°C se registra los resultados según como sigue:

Periodo (Días)	Microorganismo	Recuento en medio de lote referencia (UFC) (Placas del lote anterior evaluados)			Recuento del medio en evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Placa control	Propiedad indicadora del Medio
		Placa 1	Placa 2	Prome-dio	Placa 1	Placa 2	Prome-dio			
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027									
	<i>E. coli</i> ATCC 8739									

Criterios de aceptación:

- ❖ Los medios (PSP y PSF) se considerarán aptos, si permiten el crecimiento y recuperación bacteriana que se encuentre entre el 50 al 200%, y además indiquen las propiedades indicadoras de cada medio.

El porcentaje de recuperación se obtiene de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{\text{promedio UFC del medio del cultivo en evaluación}}{\text{promedio UFC del medio de referencia}} \times 100$$

- ❖ Para el agar PSP la propiedad indicadora será la producción de piocianina, la cual se puede visual de un color azul-verdoso.
- ❖ Para el agar PSF la propiedad indicadora será la producción de fluoresceína la cual se puede visualizar de un color amarillento-verdoso.

IV. RESULTADOS:

Resultados para el medio PSP:

Las características de pH, aspecto, esterilidad y esterilidad se mantuvieron dentro de los criterios de aceptación hasta los 30 días de observación. Sin embargo, la propiedad indicadora fue baja para el periodo 30, Observando que el medio PSP almacenado en frascos en las condiciones de 13 a 15°C es más estable a los 15 días que a los 30 días.

En la tabla 1.a., tabla 1.b. y tabla 1.c; se muestra los resultados de los parámetros de pH, aspecto, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedad indicadora del medio PSP para los 3 lotes (PSP11-21, PSP 12-21 y PSP 13-21) por cada periodo de tiempo.

Resultados del medio PSF:

Las características de pH, aspecto, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedad indicadora se mantuvieron dentro de los criterios de aceptación hasta los 30 días de observación en los 3 lotes evaluados, como se muestra en la tabla. 2.a, tabla 2.b y tabla 2.c. Estableciéndose como tiempo de vigencia 30 días para el medio PSF almacenado en frascos en las condiciones de 13 a 15°.

A. TABLA DE RESULTADOS DE EVALUACION DE VIGENCIA DEL AGAR PSP POR LOTE:

PSP 11-21														
Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Placa control		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 09/11/2021	7.36 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	56	61	59	36.7	60	54	57	96.61	negativo	producción de Piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	71	76	74	36.7	75	81	78	105.4		ninguna	
Periodo 15: desde: 09/11/2021 Hasta: 24/11/2021	7.37 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	68	65	67	36.7	69	62	66	98.51	negativo	producción de Piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	80	73	77	36.7	77	74	76	98.7		ninguna	
Periodo 30: desde: 09/11/2021 Hasta: 09/12/2021	7.43 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	62	65	64	36.7	61	58	60	93.75	negativo	Baja intensidad en la producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	76	72	74	36.7	71	68	70	94.60		ninguna	

Tabla.1.a Resultados de los parámetros evaluados del agar PSP 11-21

PSP 12-21

Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Placa control		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 11/11/2021	7.35 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	62	57	60	36.7	63	61	62	103.33	negativo	producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	74	78	76	36.7	77	72	75	98.68		ninguna	
Periodo 15: desde: 11/11/2021 Hasta : 25/11/2021	7.36 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	70	65	68	36.7	64	68	66	97.06	negativo	producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	85	79	82	36.7	86	91	89	108.54		ninguna	
Periodo 30: desde: 10/11/2021 Hasta : 09/12/2021	7.22 (7.2)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	67	70	69	36.7	65	63	64	92.75	negativo	Baja intensidad en la producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	71	68	70	36.7	67	69	68	97.14		ninguna	

Tabla.1. b. Resultados de los parámetros evaluados del agar PSP 12-21

PSP 13-21

Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Placa control		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 12/11/2021	7.38 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	75	72	74	36.7	76	69	73	96.65	negativo	producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	84	78	81	36.7	79	83	81	100		ninguna	
Periodo 15: desde: 12/11/2021 Hasta: 27/11/2021	7.35 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	67	59	63	36.7	71	67	69	109.52	negativo	producción de piocianina	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	88	74	81	36.7	76	81	79	97.53		ninguna	
Periodo 30: desde: 12/11/2021 Hasta: 09/12/2021	7.36 (7.4)	Color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	65	62	64	36.7	63	67	65	101.56	negativo	Baja intensidad en la producción de piocianina a	Estéril
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	72	75	74	36.7	68	71	70	94.59		ninguna	

Tabla.1.c Resultados de los parámetros evaluados del agar PSP 13-21

B. TABLA DE RESULTADOS DE EVALUACION DE VIGENCIA DEL AGAR PSF POR LOTE:

PSF 11-21														
Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Control negativo		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 09/11/2021	7.38 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	67	61	64	36.7	72	69	71	110.94	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	81	86	84	36.7	85	79	82	97.62		ninguna	
Periodo 15: desde: 09/11/2021 Hasta: 24/11/2021	7.37 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	66	65	66	36.7	69	64	67	101.52	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	76	79	78	36.7	80	74	77	98.72		ninguna	
Periodo 30: desde: 09/11/2021 Hasta: 09/12/2021	7.34 (7.3)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	60	61	61	36.7	57	61	59	96.72	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	63	67	65	36.7	60	58	59	90.76		ninguna	

Tabla.2.a Resultados de los parámetros evaluados del agar PSF 11-21

PSF 12-21

Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Control negativo		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 11/11/2021	7.37 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	58	61	60	36.7	63	57	60	100	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	65	58	62	36.7	71	62	67	108.06		ninguna	
Periodo 15: desde: 11/11/2021 Hasta: 26/11/2021	7.37 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	70	62	66	36.7	68	65	67	101.51	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	63	67	65	36.7	58	61	60	92.31		ninguna	
Periodo 30: desde: 11/11/2021 Hasta: 09/12/2021	7.32 (7.3)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	65	59	62	36.7	63	67	65	104.84	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	65	68	67	36.7	63	60	62	92.54		ninguna	

Tabla.2. b. Resultados de los parámetros evaluados del agar PSF 12-21

PSF 13-21

Periodo (Días)	pH (7.2 ±0.2)	Aspecto	Promoción de crecimiento										Esterilidad	
			Microorganismo	Recuento en medio de lote de referencia (UFC)			Temperatura de incubación (°C)	Recuento en medio de evaluación (UFC)			Tasa de recuperación (50-200%)	Control negativo		Propiedad indicadora
				Placa 1	Placa 2	Promedio		Placa 1	Placa 2	Promedio				
Periodo 0 Desde: 12/11/2021	7.38 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	67	62	65	36.7	64	67	66	101.54	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8739	70	72	71	36.7	67	72	70	98.59		ninguna	
Periodo 15: desde: 12/11/2021 Hasta: 27/11/2021	7.37 (7.4)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	59	64	62	36.7	62	66	64	103.23	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8740	75	69	72	36.7	72	77	75	104.17		ninguna	
Periodo 30: desde: 12/11/2021 Hasta: 09/12/2021	7.25 (7.3)	color ámbar, claro	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9029	65	63	64	36.7	62	60	61	95.31	negativo	producción de fluoresceína	Esterilidad
			<i>E. coli</i> ATCC 8741	68	71	70	36.7	67	69	68	97.14		ninguna	

Tabla.2.c. Resultados de los parámetros evaluados del agar PSF 13-21

V. DISCUSIÓN:

Los medios seleccionados en el presente estudio se emplean entre otras pruebas para la determinación y caracterización de *P. aeruginosa*, siendo esta bacteria de importancia en la contaminación microbiología de los sistemas de tratamiento de aguas para hemodiálisis, producción de cosméticos, y para la producción en la industria farmacéutica en general. Por lo anterior es necesario emplear los dos medios de cultivo para la caracterización de dicha especie, además de otras pruebas bioquímicas. En los medios de cultivos se debe observar como reacción indicadora positiva a la producción de piocianina en agar PSP y reacción indicadora positiva a la producción de fluoresceína en agar PSF (1,28). En el medio de cultivo PSP la peptona de gelatina va aportar los nutrientes necesarios para el desarrollo correcto bacteriano, la glicerina va favorecer la producción de pigmentos, las sales de magnesio y potasio van a estimular la producción de piocianina e inhibir la producción de fluoresceína (14,29), razón por la cual es necesario emplear el medio PSF que va favorecer la producción de fluoresceína.

El tiempo de vigencia va depender de las características de cada tipo de medio, de la marca comercial, la forma de preparación y del tipo de almacenamiento que se disponga, siendo el tiempo que se valide propio de cada laboratorio, razón por la cual considero que no se encontró bibliografía disponible que nos permita comprar el tiempo de vigencia hallado, sin embargo, los manuales de industria farmaceuta atribuye a los medios de cultivo preparados un vigencia entre 2 semanas a 2 meses (1,10,31), dichos medios entran dentro del rango que se estima; esta vigencia se puede reflejar en la tabla de resultados donde para cada lote se evaluó los test de

pH, aspecto, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedades indicadoras durante cada periodo de evaluación y de los cuales pudimos determinar que pruebas fueron los que definieron la fecha de vigencia de los medios evaluados.

Dentro de las características que se observó durante el tiempo de estudio, el pH presentó variaciones aleatorias y si bien cambiaron entre el primero y segundo decimal, estos permanecían dentro de los criterios de aceptación. Podemos atribuir que dichas variaciones son debido por las diferentes concentraciones de O₂ y de CO₂ contenido en el aire de cada uno de los frascos de cada lote (32). Sin embargo, estas variaciones de pH no afectaron la capacidad de crecimiento ni la propiedad indicadora de las cepas, lo cual nos permite plantear que este parámetro no fue una razón atribuible a la definición de la fecha de la vigencia de los medios de cultivo evaluados.

El parámetro de esterilidad a cada periodo de evaluación siempre fue correcto, en nuestro caso gracias a la hermeticidad de la tapa del frasco el cual permitió que cualquier agente extraño que pueda proceder del aire, no fuera capaz de contaminar los medios, técnica que se usó también en los laboratorios MICROKIT para evaluar la esterilidad de sus medios a un periodo de 2 meses, el cual resultado efectivo (11).

Si bien la prueba del aspecto es uno de los parámetros más relevantes para definir la vigencia de un medio según sus características físicas según los manuales de industria farmacéutica (21,22), tanto el agar PSP como para el agar PSF, no dieron indicios de haber sufrido alteraciones visuales, ya que como se pudo ver en la tabla los pHs de los medios eran muy variados, y según los manuales de desempeño de calidad, mencionan que el color de un medio de cultivo almacenado es distinto al

habitual cuando se tiene un ajuste de pH incorrecto, particularmente en el caso de medios que contengan indicadores, pero esto no fue nuestro caso ya que todos los pHs se encontraban en el rango que indicaba el fabricante (9,31).

Por otra parte, la promoción de crecimiento es, evidentemente, el parámetro que va definir con mayor seguridad la fecha de vigencia final de los medios de cultivo que se evaluaron (5). El primer criterio de la promoción de crecimiento para ambos medios lo cumplieron sin ningún problema, sin embargo, la propiedad indicadora a los 30 días de evaluación para el agar PSP se visualiza baja después de 48 horas de incubación (baja producción de piocianina), esta pérdida de la actividad indicadora puede ser debido a la refrigeración prolongada del medio (7,8,13), como las mismas limitaciones hechas por el fabricante, cosa que no pasa con el agar PSF, y esto es debido a que el agar PSF es más estable a largo plazo que a corto plazo.

Los resultados demuestran que los parámetros establecidos son adecuados para establecer la fecha de vigencia de cualquier medio de cultivo, como lo confirman estudios realizados por manuales de la industria farmacéutica quienes destacan las ventajas de usar los test de control de calidad para evaluar que tanto difieren las características físicas y microbiológicas de un medio de cultivo preparado tanto al inicio como al final de su periodo de evaluación. (5,22).

Es necesario enfatizar que luego de establecer los tiempos de vigencia del medio preparado, se debe considerar para su uso el tiempo que dura el ensayo, así por ejemplo para el medio PSF cuyo tiempo de vigencia en frasco fue de 30 días, si este se va emplear para la determinación de *pseudomona* cuyo ensayo demora 2 días, solo debe usarse hasta el día 28. Por otro lado, es necesario establecer su tiempo de vigencia en placa.

Otro punto a discutir es que al momento de esterilizar los medios de cultivo el fabricante indica que se debe esterilizar 15 min, sin embargo, es necesario enfatizar que los 15 minutos se toman luego de que la autoclave ha alcanzado los 121°C. Los autoclaves suelen tener el sensor de temperatura en las partes periféricas del equipo (tapa, parrilla o partes laterales), cuando el sensor le indica al equipo que está en 121°C empieza a contabilizar el tiempo, sin embargo en los procesos de validación donde se colocan por lo menos 5 sensores, se puede determinar en qué momento llega a los 121°C toda la cámara (el tiempo que más demora es la parte central), así mismo toda autoclave tiene un punto frío, siendo necesario determinar qué tiempo adicional necesita este punto frío para llegar a 121°C. Es decir, al final del proceso de validación se tiene en cuenta el tiempo a partir el cual se debe tomar los 15 min y sumarle el tiempo adicional para que llegue al punto frío (F_0), por eso el proceso de esterilización de 34 min corresponde a, 15 min efectivo de esterilización, sumado el tiempo adicional para llegar al punto frío.

VI. CONCLUSIONES:

- El tiempo de vigencia para el medio PSF fue de 30 días, por cuanto a los 3 lotes evaluados mantuvieron sus características de aspecto, pH, promoción de crecimiento, esterilidad y características indicadoras de los microorganismos sembrados dentro de los criterios de aceptación.
- El tiempo de vigencia para el medio PSP fue de 15 días, por cuanto a los 3 lotes evaluados mantuvieron sus características de aspecto, pH, promoción de crecimiento, esterilidad y características indicadoras de los microorganismos sembrados dentro de los criterios de aceptación. El medio PSP perdió su propiedad de producir piocianina a los 30 días de observación.

VII. RECOMENDACIONES:

Con la experiencia adquirida se recomienda lo siguiente:

- En el presente estudio se validó el tiempo de vigencia del medio almacenado en frasco siendo necesario ampliar el estudio para determinar la vigencia del medio cuando se almacena plaqueado.
- Ampliar el estudio por lo menos 1 mes más para el agar PSF para poder determinar su tiempo de vida máxima, ya que a 30 días cumple con todos los parámetros establecidos.
- Tener en cuenta los días que demora el ensayo y el tiempo de vigencia del medio, por ejemplo: para si la vigencia es de 30 días y el ensayo demora 7 días, solamente se debe usar hasta el día 23.

VIII. BIBLIOGRAFIA:

1. Cerra María H, Fernández C, Horak C, Lagomarsino M, Torno G, Zarankin E. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA APLICADA A LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y DE PRODUCTOS MÉDICOS.
2. Arias Peña JA. Proyecto final Q&CG- calidad.
3. FACULTAD DE INGENIERÍA Carrera de Ingeniería Industrial.
4. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica [Internet]. Available from: file:///C:/Users/User/Downloads/Red-PARF-No11Es.pdf
5. Herrera ML, Campos M. Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr Carlos Sáenz Herrera [Internet]. 2005 [cited 2021 Nov 2];40(1):09–15. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462005000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=es
6. Manual Básico de Microbiología Ingredientes-Medios deshidratados-Placas preparadas Frascos preparados-Tubos preparados-Laminocultivos.
7. Méndez ME, Quintos Escalante M, Herrera Benavides A. CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO.
8. Medios de Cultivo en Microbiología | Explorando el Universo de la Microbiología [Internet]. [cited 2021 Nov 1]. Available from: <http://microbiologiavip.blogspot.com/2012/02/medios-de-cultivo.html>
9. Robles JN, Sánchez Y Tepoz J, Estrada AZ, Rocío I, Cervantes G, Gutiérrez Ramírez J. Manual para la evaluación del desempeño de los medios de cultivo en el laboratorio de microbiología de alimentos. Página 2 de 35 DIRECTORIO SECRETARÍA DE SALUD COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS SANITARIOS COMISIÓN DE CONTROL ANALÍTICO Y AMPLIACIÓN DE COBERTURA.
10. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica.
11. Laboratorios MICROKIT. ESTUDIOS SOBRE LA CADUCIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PREPARADOS HERMÉTICOS. Madrid, Spain;
12. Barrero Cuevas L. Microbiología clínica [Internet]. Available from: www.sintesis.com
13. Para Q, El O, De T. ESTUDIAR PARA PREVER Y PREVER PARA ACTUAR “EVALUACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PARA VERIFICAR SU REPRODUCTIBILIDAD Y SELECTIVIDAD” OPCIÓN X MEMORIA DE RESIDENCIA PROFESIONAL. 2006;
14. Haynes A, Ruda F, Oliver J, Hamood AN, Griswold JA, Park PW, et al. Syndecan 1 Shedding Contributes to Pseudomonas aeruginosa Sepsis. Infection and

- Immunity [Internet]. 2005 Dec [cited 2021 Nov 14];73(12):7914. Available from: [/pmc/articles/PMC1307082/](#)
15. Munson EL, Pfaller MA, Doern G v. Modification of Dienes Mutual Inhibition Test for Epidemiological Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2021 Nov 14];40(11):4285. Available from: [/pmc/articles/PMC139714/](#)
 16. Sandra Mónica E-T, de Navia Á, Lilia S, Orozco L, Lorena Y, Méndez M, et al. Artículo original producto de la investigación.
 17. Nerea Porres Osante, Elena Ruiz - Microbiología Clínica-Paraninfo (2018) | PDF [Internet]. [cited 2021 Nov 1]. Available from: <https://es.scribd.com/document/533803324/Nerea-Porres-Osante-Elena-Ruiz-Ruiz-Microbiologia-clinica-Paraninfo-2018>
 18. Microbiología Industrial - Google Libros [Internet]. [cited 2021 Nov 1]. Available from: https://books.google.com.pe/books?id=KFq4oEQQjdEC&pg=PA25&dq=preparacion+de+medios+de+cultivos&hl=es&sa=X&ved=2ahUKewiU4f_F1ebzAhV8RzABHfBXDbYQ6AF6BAglEAI#v=onepage&q=preparacion%20de%20medios%20de%20cultivos&f=true
 19. Burguet Lago N, Castillo Abraham L. Revista cubana de higiene y epidemiología. [Internet]. Vol. 51, Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. Editorial Ciencias Médicas; 2013 [cited 2021 Nov 2]. 155–160. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032013000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 20. Efectos de la temperatura en la medida del pH - El blog de QuercusLab [Internet]. [cited 2021 Nov 1]. Available from: <https://quercuslab.es/blog/efectos-de-la-temperatura-en-la-medida-del-ph/>
 21. Manual Básico de Microbiología Ingredientes-Medios deshidratados-Placas preparadas Frascos preparados-Tubos preparados-Laminocultivos.
 22. Sanabria Gómez- J, Mercedes D, -Microbióloga A. Manual de Laboratorio Microbiología CURSO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL PARA: Estudiantes de Ingeniería Sanitaria y Ambiental UNIVERSIDAD DEL VALLE FACULTAD DE INGENIERIA ESCUELA DE INGENIERIA RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE AREA DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. 2001;
 23. Aldo Hernández MRAAOF y HI. Medición en línea de pH, Temperatura y Agitación de medio de cultivo en fermentación utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. [cited 2021 Nov 13]; Available from: <https://www.ecorfan.org/handbooks/Ciencias%20de%20la%20Ingenieria%20y%20Tecnologia%20T-VI/ARTICULO%2017.pdf>

24. Jiménez-Delgadillo R, Valdés-Rodríguez SE, Olalde-Portugal V, Abraham-Juárez R, García-Hernández JL, Jiménez-Delgadillo R, et al. Efecto del pH y temperatura sobre el crecimiento y actividad antagónica de *Bacillus subtilis* sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology* [Internet]. 2018 May 5 [cited 2021 Nov 14];36(2):256–75. Available from: <http://rmf.smf.org.mx/ojs/index.php/RMF/article/view/108>
25. Olivia Castrillón Quintana, / Oswaldo Bedoya Mejía, Diana Victoria Montoya Martínez. Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración.
26. Danay López, María O. López. INFLUENCIA DEL PH Y DE LOS MEDIOS DE CULTIVO EN LA EXPRESIÓN DE LOS CARACTERES DE VALORDIAGNÓSTICO DE LAS ESPECIES DEL G...NERO *FUSARIUM* EN CUBA. 2014 [cited 2021 Nov 13]; Available from: <http://www.fitosanidad.cu/index.php/fitosanidad/article/view/451/401>
27. Manual de microbiología - Carolina Serrano Berríos, Rodrigo Gutiérrez Ilabaca - Google Libros [Internet]. [cited 2021 Nov 13]. Available from: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=0OuaDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA10&dq=medios+diferenciales+microbiologia&ots=kuDVx6mcRD&sig=8WKDWI6LZcu8U4kq76ULax63E18#v=onepage&q&f=false>
28. Martínez LR. *Pseudomonas aeruginosa: APORTACIÓN AL CONOCIMIENTO DE SU ESTRUCTURA Y AL DE LOS MECANISMOS QUE CONTRIBUYEN A SU RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS* LÍDIA RUIZ MARTÍNEZ Barcelona, noviembre 2007. Barcelona;
29. Gutiérrez Cárdenas OG, Navarro Ibarra LF, Loeza Lara PD, Guadalupe Del Río Rodríguez Rafael Jiménez Mejía O, Rafael Jiménez Mejía M, Cárdenas G. Antibiotic and heavy metal resistance profiles in potentially pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* isolated from agricultural water usage. *Nova scientia* [Internet]. 2017 Aug 25 [cited 2021 Dec 11];9(19):97–112. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052017000200097&lng=es&nrm=iso&tlng=es
30. El EN, De L, de Cultivo M. VERIFICACIÓN DEL PROCESO DE DESCONTAMINACION.
31. Booksmedicosorg. Microbiología. Cuestiones y casos prácticos resueltos.
32. Ramos Vásquez E, Zúñiga Dávila D. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología Aplicada* [Internet]. 2008 [cited 2021 Dec 7];7(1–2):123–30. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162008000100015&lng=es&nrm=iso&tlng=en

VIII. ANEXO:

A. FORMATOS DE REGISTRO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:

HYPATIA S.A.
Capacitación, Asesoría, Consultoría y Laboratorio de Control de Calidad

FMT-030-17-2.4

FORMATO DE REGISTRO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Nombre del medio de cultivo: Agar P. para Pseudomonas Marca: Merck Lote: VM778788
 Fecha de vencimiento lote comercial: 03.02.2022 Fecha de apertura: 25.09.2017 Fecha de vencimiento interna: 03.02.2022 Especificación de pH: 7,2 ± 0,2
 Código del Equipo: Balanza: L-388 Potenciómetro: L-271 Tipo de electrodo al momento de la lectura: (1) Inmersión (2) Plano

Fecha de preparación	Lote de la preparación	Fecha de expira	Cantidad pesada (g)	Volumen preparado (mL)	Numero de envases preparados	Lectura de pH		Aditivos agregados		Control de esterilidad		Ensayo	Iniciales y firma	Observaciones	
						Antes	Después	Nombre	Volumen o peso	Nº de días	Resultado				
						Tipo de electrodo	pH	Tipo de electrodo	pH						
14.10.2021	PSP 09-21	13.11.2021	4,4	100	01 frasco x 100ml	(1)	7,39	(2)	7,13	Glicerol	1ml	02	Esteril	Identif de Cepas DSM	-
22.10.2021	PSP 10-21	21.11.2021	11 14,8 DSM 22.10.21	250 250 DSM 22.10.21	01 frasco x 200ml 01 frasco x 50ml	(1)	7,35	(2)	7,19	Glicerol	3,5ml	02	Esteril	Agua DSM	-
09.11.2021	PSP 11-21	09.12.2021	26,4	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,39	(2)	7,36	Glicerol	6ml	02	Esteril	Vigilancia de Medios DSM	tesis Diego
11.11.2021	PSP 12-21	11.12.2021	26,4	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,40	(2)	7,35	Glicerol	6ml	02	Esteril	Vigilancia de Medios DSM	tesis Diego
12.11.2021	PSP 13-21	12.12.2021	26,4	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,40	(2)	7,38	Glicerol	6ml	02	Esteril	Vigilancia de Medios DSM	tesis Diego
12.11.2021	PSP 14-21	12.12.2021	13,2	300	01 frasco x 300ml	(1)	7,39	(2)	7,29	Glicerol	3ml	02	Esteril	Identif de Cepas DSM	-

REVISADO POR: Biga. Judith Salas Vigo
Jefe del Área de Microbiología
 APROBADO POR: O.F. Verónica Cárdenas Talavera
Gerente de Garantía de la Calidad
 Firma y fecha: [Firma] 26.05.2020
 Firma y fecha: [Firma] 26.05.2020
 VIGENCIA: Desde **02 JUN 2020** Hasta **02 JUN 2023**




FORMATO DE REGISTRO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Nombre del medio de cultivo: Agar F. para Pseudomona Marca: Merck Lote: VM817489
 Fecha de vencimiento lote comercial: 03.11.2022 Fecha de apertura: 24.09.2018 Fecha de vencimiento interna: 24.09.2021 Especificación de pH: 7.2 ± 0.2
 Código del Equipo: Balanza: L-388 Potenciómetro: L-271 Tipo de electrodo al momento de la lectura: (1) Inmersión (2) Plano

Fecha de preparación	Lote de la preparación	Fecha de expira	Cantidad pesada (g)	Volumen preparado (mL)	Numero de envases preparados	Lectura de pH				Aditivos agregados		Control de esterilidad		Ensayo	Iniciales y firma	Observaciones
						Antes		Después		Nombre	Volumen o peso	Nº de días	Resultado			
						Tipo de electrodo	pH	Tipo de electrodo	pH							
14.10.2021	PSF 09-21	13.11.2021	3,5	100	01 fco x 100ml	(1)	7,39	(2)	7,24	Glicerol	1ml	02	Estéril	Identifi de Copas	DSM DJS	-
22.10.2021	PSF 10-21	21.11.2021	8,8	250	01 fco x 200 01 fco x 50ml	(1)	7,40	(2)	7,31	Glicerol	2,5ml	02	Estéril	Agua	DSM DJS	-
09.11.2021	PSF 11-21	09.12.2021	21	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,37	(2)	7,38	Glicerol	6ml	02	Estéril	Vigencia de Medios	DSM DJS	tesis Diego
11.11.2021	PSF 12-21	11.12.2021	21	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,40	(2)	7,37	Glicerol	6ml	02	Estéril	Vigencia de Medios	DSM DJS	tesis Diego
12.11.2021	PSF 13-21	12.12.2021	21	600	04 frascos x 150ml	(1)	7,39	(2)	7,38	Glicerol	6ml	02	Estéril	Vigencia de Medios	DSM DJS	tesis Diego
12.11.2021	PSF 14-21	12.12.2021	19,5	300	01 frasco x 300ml	(1)	7,38	(2)	7,29	Glicerol	3ml	02	Estéril	Identifi de Copas	DSM DJS	-

REVISADO POR:	Elga. Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	<u>[Firma]</u> 26.05.2020
VIGENCIA:	Desde	02 JUN 2020	Hasta
			02 JUN 2023

B. CERTIFICADOS DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVOS DESHIDRATADOS



Certificate of Analysis

1.10988.0500 Pseudomonas agar P (base) for microbiology
 Batch VM778788

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (colour)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.0 - 7.4	7.4

	Spec. Values	Batch Values
Growth (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (WDCM 00025))	good to very good	very good
Growth (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 (WDCM 00026))	good to very good	very good
Growth (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25668 (WDCM 00114))	good to very good	very good
Growth (<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525 (WDCM 00115))	good to very good	good
Growth (<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966 (WDCM 00063))	good to very good	very good
Growth (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013))	good to very good	very good
Growth (<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047 (WDCM 00083))	good to very good	very good
Blue-green pigment (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (WDCM 00025))	(+)	+
Blue-green pigment (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 (WDCM 00026))	+	+
Blue-green pigment (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25668 (WDCM 00114))	+	+
Blue-green pigment (<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525 (WDCM 00115))	-	-
Blue-green pigment (<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966 (WDCM 00063))	-	-
Blue-green pigment (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013))	-	-
Blue-green pigment (<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047 (WDCM 00083))	-	-

Incubation: 24 - 48 hrs.; 35 °C; aerobic.

Date of release (DD.MM.YYYY) 03.03.2017
 Expiry date (DD.MM.YYYY) 03.02.2022



Certificate of Analysis

1.10989.0500 Pseudomonas agar F (base) for microbiology
Batch VM817489

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear to turbid	slightly turbid
Appearance (color)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.0 - 7.4	7.2

	Spec. Values	Batch Values
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	good to very good	very good
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	good to very good	very good
Growth (Pseudomonas fluorescens ATCC 17397)	good to very good	very good
Growth (Aeromonas hydrophila ATCC 7966 (WDCM 00063))	good to very good	very good
Growth (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	good to very good	very good
Growth (Enterobacter cloacae ATCC 13047 (WDCM 00083))	good to very good	very good
Yellow-green pigment (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	+	+
Yellow-green pigment (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	+	+
Yellow-green pigment (Pseudomonas fluorescens ATCC 17397)	+/-	+/-
Yellow-green pigment (Aeromonas hydrophila ATCC 7966 (WDCM 00063))	-	-
Yellow-green pigment (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	-	-
Yellow-green pigment (Enterobacter cloacae ATCC 13047 (WDCM 00083))	-	-
Fluorescence (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	+	+
Fluorescence (Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (WDCM 00026))	+	+
Fluorescence (Pseudomonas fluorescens ATCC 17397)	+/-	+/-
Fluorescence (Aeromonas hydrophila ATCC 7966 (WDCM 00063))	-	-
Fluorescence (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	-	-
Fluorescence (Enterobacter cloacae ATCC 13047 (WDCM 00083))	-	-

Incubation: 24 hrs. (Pseudomonas fluorescens ATCC 17397 48 hrs.); 35 °C; aerobic.

C. FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES



FMT-064-20-1.5

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 11-11-2021 (11:20)
 Fecha y hora de término de incubación : 13-11-2021 (11:20)
 Medio de cultivo a evaluar: Agar F. Medio de cultivo del inóculo: Agar F.
 Para Pseudomonas Para Pseudomonas
 Marca: Merck Marca: Merck
 Lote comercial: VM 817489 Lote comercial: VM 817489
 Lote de preparación: PSF 12-21 Lote de preparación: PSF - 09-21
 Fecha de vencimiento de la preparación: 11/12/2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13/11/2021

Código de equipos/Instrumentos: incubadora: L-065
 Otros: Cámara L-310

Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 Inóculo de fecha 10-11-2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color amarillo - Verdoso	Producción de Fluorescencia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 Inóculo de fecha 10-11-2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color ambar. claro	No hay Producción de Fluorescencia
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			

Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio estimula la producción de fluorescencia e inhibe la producción de pirocianina, dando un color amarillo - verdoso

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones: Bajo luz ultra violeta ambos medios con Pseudomonas fluorescen. Mientras que los medios con E. coli no presentan fluorescencia

[Firma]
13-11-2021
Realizado por

[Firma]
Revisado por 15-11-2021

REVISADO POR:	Biga, Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	<i>[Firma]</i> 26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	<i>[Firma]</i> 26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta	18 JUN 2023

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 12-11-2021 (12:00)
 Fecha y hora de término de incubación : 15-11-2021 (7:40)
 Medio de cultivo a evaluar: Agar F para *Pseudomona* Medio de cultivo del inóculo: Agar F para *Pseudomona*
 Marca: Merck Marca: Merck
 Lote comercial: VM 817489 Lote comercial: VM 817489
 Lote de preparación: PSF 13-21 Lote de preparación: PSF 09-21
 Fecha de vencimiento de la preparación: 12 / 12 / 2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13 / 11 / 2021

Código de equipos/instrumentos: incubadora: 2-065
 Otros: Cámara 2-340

Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 Inóculo de fecha 11.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color amarillo-verdoso	Producción de Fluorescencia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 Inóculo de fecha 11.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color ambar - claro	No hay Producción de Fluorescencia
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			

Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio estimula la producción de fluorescencia e inhibe la producción de pirruvina, dando un color amarillo-verdoso.

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones: Bajo luz ultra violeta ambos medios con *Pseudomona* fluorescen, mientras que los medios con *E. coli* no presentan fluorescencia.

[Firma]
15-11-2021
Realizado por

[Firma]
15-11-2021
Revisado por

REVISADO POR:	Blga. Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	<i>[Firma]</i> 26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	<i>[Firma]</i> 26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta	18 JUN 2023

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 09-11-2021 (12:30)
 Fecha y hora de término de incubación : 11-11-2021 (12:30)
 Medio de cultivo a evaluar: Agar F. Medio de cultivo del inóculo: Agar F.
 Para Pseudomonas Para Pseudomonas
 Marca: Merck Marca: Merck
 Lote comercial: VM 817489 Lote comercial: VM 817489
 Lote de preparación: PSF 11-21 Lote de preparación: PSF - 09-21
 Fecha de vencimiento de la preparación: 09 / 12 / 2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13 / 11 / 2021


Código de equipos/instrumentos: incubadora: 2-065
 Otros: Cámara L-310

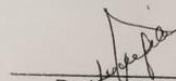
Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
Staphylococcus aureus ATCC 6538 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 Inóculo de fecha 08.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color amarillo-verdoso	Producción de Fluorescencia
Escherichia coli ATCC 8739 Inóculo de fecha 08.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color ambar-claro	No hay Producción de Fluorescencia
Salmonella typhimurium ATCC 14028 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			



Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio estimula la producción de fluorescencia e inhibe la producción de pirianina, dando un color amarillo-verdoso.

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones: Bajo luz ultra violeta ambos medios con Pseudomonas fluorescen, mientras que los medios con E. coli no presentan fluorescencia.


11-11-2021
Realizado por


Revisado por 12-11-2021

REVISADO POR:	Biga. Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:  26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:  26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta 18 JUN 2023

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 12-11-2021 (12:00)
Fecha y hora de término de incubación : 15-11-2021 (07:40)

Medio de cultivo a evaluar: Agar P. Para Pseudomona
Medio de cultivo del inóculo: Agar P. Para Pseudomona
Marca: Merck Marca: Merck
Lote comercial: VM778788 Lote comercial: VM778788

Lote de preparación: BSP 13-21 Lote de preparación: PSP 09-21
Fecha de vencimiento de la preparación: 12/12/2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13/11/2021

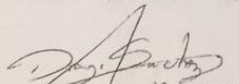
Código de equipos/Instrumentos: incubadora: L-965
Otros: Cámara 2-340, Vert. tx 2-015, Micro.pipeta LF-11488

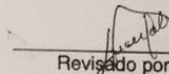
Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 Inóculo de fecha 11-11-2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color azul-verdoso	Producción de Píocianina
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 Inóculo de fecha 11.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color Ambar	Ausencia de Píocianina
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 Inóculo de fecha _____, criovial N° _____			



Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio a evaluar favorece la Producción de Píocianina e inhibe la producción de fluorescencias a temperatura de color azul-verdoso.

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones:


Realizado por 15-11-2021


Revisado por 15-11-2021

REVISADO POR:	Biga. Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	 26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	 26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta	18 JUN 2023

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 11.11.2021 (11:20)
Fecha y hora de término de incubación : 13.11.2021 (11:20)

Medio de cultivo a evaluar: Agar P. Medio de cultivo del inóculo: Agar P.
Para Pseudomona Para Pseudomona
Marca: Merck Marca: Merck
Lote comercial: VM778788 Lote comercial: VM778788

Lote de preparación: PSP 12-21 Lote de preparación: PSP 09-21
Fecha de vencimiento de la preparación: 11/12/2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13/11/2021


Código de equipos/Instrumentos: incubadora: L-065
Otros: Cámara L-340, Vortex L-015

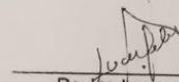
Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Inóculo de fecha 10-11-2021, criovial N° -			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 Inóculo de fecha 10-11-2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color aguj- verdoso	Producción de Piocianina
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 Inóculo de fecha 10-11-2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color ambar (no vira)	Ausencia de Piocianina
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 Inóculo de fecha - , criovial N° -			



Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio a evaluar parece la Producción de piocianina e inhibe la producción de fluorescencia, dando un color aguj- verdoso.

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones: El medio de referencia no presenta producción de piocianina.


13-11-2021
Realizado por


Revisado por 15-11-2021

REVISADO POR:	Biga, Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	 26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	 26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta	18 JUN 2023

FORMATO DE REGISTRO DE LA PRUEBA DE LAS PROPIEDADES INDICADORAS DE MEDIOS DIFERENCIALES

Fecha y hora de inicio de incubación : 09.11.2021 (12:30)
 Fecha y hora de término de incubación : 11.11.2021 (12:30)
 Medio de cultivo a evaluar: Agar P. Medio de cultivo del inóculo: Agar P.
 Para Pseudomona Para Pseudomona
 Marca: Merck Marca: Merck
 Lote comercial: VM 778788 Lote comercial: VM 778788
 Lote de preparación: PSP 11-21 Lote de preparación: PSP 09-21
 Fecha de vencimiento de la preparación: 09 / 12 / 2021 Fecha de vencimiento de la preparación: 13 / 11 / 2021

Código de equipos/instrumentos: incubadora:
 Otros:

Microorganismos	Temperatura de incubación (°C)	Lectura	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 Inóculo de fecha ____, criovial N° __			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 Inóculo de fecha 08.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color azul verdoso	Producción de Píocianina
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 Inóculo de fecha 08.11.2021, criovial N° 127	36,7	Medio de Color Ambar	Ausencia de Píocianina
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 Inóculo de fecha ____, criovial N° __			

Propiedades indicadoras del medio Diferencial: El medio a evaluar favorece la producción de Píocianina e inhibe la producción de Ambar, dando un color azul-verdoso.

CONCLUSION: Cumple No cumple

Observaciones:

11.11.2021
Realizado por

Revisado por 12.11.2021

REVISADO POR:	Biga. Judith Salas Vigo Jefe del Área de Microbiología	Firma y fecha:	26.05.2020
APROBADO POR:	Q.F. Verónica Cárdenas Talavera Gerente de Garantía de la Calidad	Firma y fecha:	26.05.2020
VIGENCIA:	Desde 18 JUN 2020	Hasta	18 JUN 2023

D. TABLAS:

Cronograma del Estudio:

Tabla 1 de anexo. Cronograma de estudio

Actividades / meses asignados	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Consultar expertos	X	X		
Búsqueda bibliográfica	X	X		
Redacción de introducción, material y métodos		X	X	
Evaluación experimental			X	X
Redacción de resultados y conclusiones				X

Cronograma de la parte Experimental:

Tabla de actividades del Periodo 0:

Lote 1: el sub-lote 1 corresponde a uno de los 4 frascos preparados de los agares de PSP 11-21 y PSF 11-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

		Noviembre			
Actividades/ Semana asignada		8/11/2021	9/11/2021	10/11/2021	11/11/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa		X			
Preparación de medio de cultivo, ajustar pH, alícuotar (4 partes) y esterilizar.			X		
Evaluar parámetros de vigencia					
1	Prueba de pH		X (sub-lote 1 del lote 1)		
2	Evaluación de aspecto		X (sub-lote 1 del lote 1)		
3	Prueba de esterilidad		X (sub-lote 1 del lote 1)	X (sub-lote 1 del lote 1)	X (sub-lote 1 del lote 1)
4	Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 1 del lote 1)		
Evaluación de resultados					X

Lote 2: el sub-lote 1 del lote 2 corresponde a uno de los 4 frascos de los agares de PSP 12-21 y PSF 12-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

		Noviembre			
Actividades/ Semana asignada		10/11/2021	11/11/2021	12/11/2021	13/11/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa		X			
Preparación de medio de cultivo, ajustar pH, alícuotar (4 partes) y esterilizar.			X		
Evaluar parámetros de vigencia					
1	Prueba de pH		X (sub-lote 1 del lote 2)		
2	Evaluación de aspecto		X (sub-lote 1 del lote 2)		
3	Prueba de esterilidad		X (sub-lote 1 del lote 2)	X (sub-lote 1 del lote 2)	X (sub-lote 1 del lote 2)
4	Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 1 del lote 2)		
Evaluación de resultados					X

Lote 3: el sub-lote 1 del lote 3 corresponde a uno de los 4 frascos preparados de los agares de PSP 13-21 y PSF 13-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

		Noviembre			
Actividades/ Semana asignada		10/11/2021	12/11/2021	13/11/2021	15/11/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa		X			
Preparación de medio de cultivo, ajustar pH, alícuotar (4 partes) y esterilizar.			X		
Evaluar parámetros de vigencia					
1	Prueba de pH		X (sub-lote 1 del lote 3)		
2	Evaluación de aspecto		X (sub-lote 1 del lote 3)		
3	Prueba de esterilidad		X (sub-lote 1 del lote 3)	X (sub-lote 1 del lote 3)	X (sub-lote 1 del lote 3)
4	Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 1 del lote 3)		
Evaluación de resultados					X

Tabla de actividades del Periodo 15:

Lote 1: el sub-lote 2 del lote 1 corresponde a uno de los 3 frascos de agares restantes que se preparó de PSP 11-21 y PSF 11-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

Actividades/semana asignada	Noviembre			
	22/11/2021	24/11/2021	25/12/2021	26/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. aeuriginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 2 del lote 1)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 2 del lote 1)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 2 del lote 1)	X (sub-lote 2 del lote 1)	X (sub-lote 2 del lote 1)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 2 del lote 1)		
Evaluación de resultados				X

Lote 2: el sub-lote 2 del lote 2 corresponde a uno de los 3 frascos de agares que se preparó de PSP 12-21 y PSF 12-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

Actividades/semana asignada	Noviembre			
	24/11/2021	26/11/2021	27/12/2021	29/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. aeuriginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 2 del lote 2)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 2 del lote 2)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 2 del lote 2)	X (sub-lote 2 del lote 2)	X (sub-lote 2 del lote 2)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 2 del lote 2)		
Evaluación de resultados				X

Lote 3: el sub-lote 2 del lote 3 corresponde a uno de los 3 frascos restantes de agares que se preparó de PSP 13-21 y PSF 13-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

	Noviembre			
Actividades/semana asignada	26/11/2021	27/11/2021	28/12/2021	29/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. aeruginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 2 del lote 3)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 2 del lote 3)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 2 del lote 3)	X (sub-lote 2 del lote 3)	X (sub-lote 2 del lote 3)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 2 del lote 3)		
Evaluación de resultados				X

Tabla de actividades del Periodo 30:

Lote 1: el sub-lote 3 del lote 1 corresponde a uno de los 2 frascos de agares restantes que se preparó de PSP 11-21 y PSF 11-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

Actividades/semana asignada	Diciembre			
	7/12/2021	9/12/2021	10/12/2021	11/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 3 del lote 1)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 3 del lote 1)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 3 del lote 1)	X (sub-lote 3 del lote 1)	X (sub-lote 3 del lote 1)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 3 del lote 1)		
Evaluación de resultados				X

Lote 2: el sub-lote 3 del lote 2 corresponde a uno de los 2 frascos de agares que se preparó de PSP 12-21 y PSF 12-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

Actividades/semana asignada	Diciembre			
	10/12/2021	11/12/2021	12/12/2021	13/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 3 del lote 2)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 3 del lote 2)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 3 del lote 2)	X (sub-lote 3 del lote 2)	X (sub-lote 3 del lote 2)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 3 del lote 2)		
Evaluación de resultados				X

Lote 3: el sub-lote 3 del lote 3 corresponde a uno de los 2 frascos restantes de agares que se preparó de PSP 13-21 y PSF 13-21, ambos se desarrollan en la misma fecha.

Actividades/semana asignada	Diciembre			
	10/12/2021	11/12/2021	12/12/2021	13/12/2021
Preparación de los inóculos de E. coli y P. auriginosa	X			
Evaluar parámetros de vigencia				
Prueba de pH		X (sub-lote 3 del lote 3)		
Evaluación de aspecto		X (sub-lote 3 del lote 3)		
Prueba de esterilidad		X (sub-lote 3 del lote 3)	X (sub-lote 3 del lote 3)	X (sub-lote 3 del lote 3)
Prueba de promoción de crecimiento.		X (sub-lote 3 del lote 3)		
Evaluación de resultados				X