



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**“ZARAGOZA”**

**Manual electrónico de control de calidad en medios  
de cultivo y cepas de referencia**

**T E S I S**

**Para obtener el título de:**

**Química Farmacéutico Bióloga**

**PRESENTA:**

**Castillo Carranza Karla Eugenia**

**Director: M. en C. María José Marques Dos Santos**

**Asesor: Q. F. B. José Oscar González Moreno**

**México, D.F.**

**Septiembre 2013**

**PAPIME PE200210**

# CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	4
1.1 Libro electrónico.....	4
<b>Contenido manual electrónico</b> .....	6
2.1 Calidad.....	6
2.2 Etapas para obtener productos de buena calidad.....	6
2.2.1 La calidad de diseño.....	6
2.2.2 Calidad de conformidad.....	7
2.3 Las 7 herramientas básicas del control de calidad.....	7
3.1 Medios de cultivo. Definición.....	8
3.2 Tipos químicos y físicos de medios de cultivo.....	8
3.3 Tipos funcionales de medios de cultivo.....	10
3.4 Control de calidad de medios de cultivo.....	10
3.5 Almacenamiento de medios de cultivo.....	11
4.1 Efectos ambientales sobre el crecimiento microbiano.....	12
4.1.1 Efecto de la temperatura sobre el crecimiento.....	12
4.1.2 pH y crecimiento microbiano.....	13
4.1.3 Efectos osmóticos sobre el crecimiento microbiano.....	13
4.1.4 Oxígeno y crecimiento microbiano.....	13
5.1 Crecimiento microbiano.....	14
5.2 Promoción de crecimiento.....	14
5.3 Métodos de conteo en medios de cultivo.....	17
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	18
<b>OBJETIVOS</b> .....	19
<b>MÉTODO</b> .....	20
<b>DIAGRAMA</b> .....	21
<b>RESULTADOS</b> .....	22
<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	26
<b>CONCLUSIONES</b> .....	27
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	28
<b>REFERENCIAS</b> .....	29
<b>REFERENCIAS DE FIGURAS</b> .....	31

# INTRODUCCIÓN

Los componentes educacionales electrónicos son frecuentemente diseñados para la interacción y el aprendizaje de los estudiantes con los elementos que se presentan en la pantalla; además, los textos electrónicos representan una alternativa como fuente de búsqueda de información en el proceso investigativo; por lo tanto, favorecen el aprendizaje. Es necesario, entonces, que los docentes incorporen las nuevas tecnologías, en especial las fuentes de información electrónica, a la práctica pedagógica en el salón de clases, a los proyectos pedagógicos y de investigación.

Por esta razón, debido a que la duración del semestre es corta, se pretende dar a conocer mediante un manual electrónico sobre el tema de control de calidad en medios de cultivo empleados en análisis microbiológicos en las materias de Microbiología General I y II de la carrera de Q.F.B. en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; a pesar de que en dichas asignaturas se preparan medios de cultivo, no se lleva a cabo un control de calidad, por esta razón se pretende dar a conocer de manera teórica la información y la importancia de realizar un control de calidad a medios de cultivo empleados en algunos análisis mediante un manual electrónico.

Las nuevas tecnologías no son el único recurso que en estos tiempos se debe utilizar para lograr el éxito en el proceso del aprendizaje, se trata, simplemente, de una nueva fuente de información con grandes ventajas que debe ser aprovechada al máximo, sin descartar, por supuesto, todos los demás recursos que se encuentran disponibles, con el fin de crear contextos significativos y funcionales de aprendizaje que desarrollen todo el potencial de los aprendices: la creatividad, las competencias como lectores y como productores de textos, los procesos superiores del pensamiento. Lo esencial es formar a los estudiantes para la vida futura, para ser exitosos como profesionales, lo cual implica la capacidad de incorporarse activamente a todos los avances tecnológicos que surjan.

# MARCO TEÓRICO

## 1.1 Libro electrónico

La lectura, a lo largo de los últimos treinta años, ha sido el centro de interés de muchos investigadores, diversos estudios han demostrado que se ha logrado una importante evolución en la conceptualización de la lectura, su proceso y su aprendizaje. Esta evolución puede observarse al analizar las distintas posturas asumidas, desde considerar la lectura como un acto de decodificación, es decir, llevar signos gráficos a signos orales, hasta las concepciones, fundamentadas en la psicolingüística, que sostienen que es un proceso de construcción de significados<sup>1</sup>.

“Un componente esencial de los modernos libros electrónicos es el hipertexto, definido por varios autores como un texto modular y no lineal, con enlaces que facilitan una navegación rápida a través de un conjunto de nodos y unidades de información. Los enlaces –activados electrónicamente a través de un clic al ratón– son la clave para un recorrido no secuencial del material y es precisamente esa ruptura de linealidad la que le concede el mayor potencial al hipertexto. Cada lector recorre la parte del laberinto que mejor satisface sus requerimientos”<sup>1</sup>.

Actualmente se ha ampliado el ámbito del hipertexto hasta incluir enlaces de textos, imágenes, videos y sonido, por lo cual también se le denomina hipermedia. Los enlaces de los hipertextos, por su parte, se denominan hipervínculos o hiperenlaces<sup>1</sup>.

Los libros electrónicos o **libros-e** representan una fuente de información más versátil al lector. Gracias a los múltiples enlaces (*links*), el lector puede navegar en una red de textos trazando su propia ruta, o ir construyendo su propio texto, el cual puede estar formado por pedazos de múltiples textos. A continuación se presentan algunas definiciones de diversos autores sobre el libro electrónico (*libros-e*):

Canals Cabiró (1995: 427-428) define los libros electrónicos como conjuntos de textos de distintos tipos y de naturaleza heterogénea y multimedia, que constituyen una unidad lógica desde el punto de vista pragmático, y están organizados según una estructura de consulta no secuencial, por navegación y otros medios. Además, son susceptibles de diversas manipulaciones, dependiendo de la naturaleza de la información y del uso al que se destinen<sup>1</sup>.

Están provistos del *software* aplicativo para su consulta, manipulación y uso, y están encapsulados en soportes electrónicos susceptibles de reproducción masiva o bien de distribución en línea<sup>1</sup>.

Para Barker (1996: 14), un libro electrónico es esencialmente una colección de páginas de información electrónica que está organizada, conceptualmente, como las páginas de un libro convencional<sup>1</sup>.

Díaz y otros (1996: 104), por su parte, indican que los libros electrónicos pueden definirse como sistemas de información capaces de poner a disposición de sus usuarios una serie de páginas conceptualmente organizadas del mismo modo que las de un libro de papel, con las que además puede interactuar. Sin embargo, esto no indica que los *libros-e* sean la mera simulación de los libros impresos, sino que, como éstos últimos han servido como base, incluyen propiedades y herramientas que aumentan sus funciones. Todas estas se ven mejoradas gracias a la potencia suministrada por el soporte electrónico<sup>1</sup>.

Además de los enlaces de hipertexto, los *libros-e* disponen generalmente de un sistema de búsqueda que se adecua a la cantidad de información que manejan. Presentan un índice de contenidos, índice alfabético y búsqueda por palabras, ésta última permite buscar en los *libros-e* los temas relacionados con la palabra seleccionada; es posible, además, combinar palabras para que la búsqueda sea más efectiva<sup>2</sup>.

En síntesis, se define el libro electrónico como un programa de hipermedios, generalmente producido en CD-ROM, pero que no se limita a este formato, que organiza la información basándose en la metáfora del libro. Sin la limitación que impone la impresión y la encuadernación, los libros electrónicos ofrecen enlaces de hipertexto, ejecutan búsqueda de palabras claves, proporcionan notas marginales y amplían la noción del conocimiento y el aprendizaje de muchas otras formas. Estos libros aumentan enormemente las posibilidades del texto al integrar en éste presentaciones multimediáticas: video, fotografía, sonido, animación y gráficos<sup>2</sup>.



**Fig. 1 Libro electrónico**

## Contenido libro electrónico

### 2.1 Calidad

La norma ISO 8402 define la calidad como:

Conjunto de propiedades o características de un producto o servicio que le confiere aptitud para satisfacer necesidades expresadas o implícitas<sup>3</sup>.

1. La Sociedad Americana para el Control de Calidad ( A.S.Q.C.) define la calidad como:

Conjunto de características de un producto, servicio o proceso que le confiere su aptitud para satisfacer las necesidades del usuario o cliente<sup>3</sup>.

2. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006 la define como:

Cumplimiento de especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso. La calidad de un medicamento está determinada por su identidad, pureza, contenido o potencia y cualesquiera otras propiedades químicas, físicas, biológicas o del proceso de fabricación que influyen en su aptitud para producir el efecto para el cual se destina<sup>4</sup>.

### 2.2 Etapas para obtener productos de buena calidad

Generalmente la buena calidad de un producto o proceso se logra en dos etapas<sup>4</sup>:

- ❖ Calidad de diseño o proyecto
- ❖ Calidad de conformidad

#### 2.2.1 La calidad de diseño

Se define por las características teóricas que se desean en un producto; el nivel de excelencia a alcanzar por las normas de un producto. Para alcanzar esta calidad se necesitan decisiones consientes durante toda la etapa del diseño del producto, con el fin de asegurar el cumplimiento satisfactorio de ciertos requisitos funcionales<sup>4</sup>.

En otras palabras, se deben diseñar productos cuya elaboración se puede lograr



**Fig. 2 Calidad**

con los recursos físicos y humanos disponibles o accesibles, evitando al máximo el desperdicio de información y recursos. No se puede diseñar productos ideales que sólo queden en la mente de sus diseñadores o que no estén acordes con la experiencia y prestigio de la empresa<sup>4</sup>.

Incorporar la calidad desde el diseño frecuentemente incrementa el costo de producción, sin embargo se puede ver como un costo preventivo, para evitar problemas que se pueden presentar durante el ciclo del vida del producto<sup>4</sup>.

Este tipo de calidad le concierne al departamento de investigación y desarrollo, donde se establecen las primeras especificaciones o parámetros de calidad de un producto<sup>4</sup>.

### 2.2.2 Calidad de conformidad

Es el grado de excelencia alcanzado por el producto o proceso de acuerdo a sus normas (especificaciones). La calidad de conformidad está definida por la evaluación de las características reales del producto o proceso elaborado, indica que también se cumplen las especificaciones y tolerancias establecidas en el diseño<sup>4</sup>.

Algunos de los factores que influyen en la calidad de conformidad son:

- La selección del proceso de manufactura
- El adiestramiento o supervisión de los trabajadores
- El tipo de sistema de aseguramiento de calidad<sup>4</sup>.

### 2.3 Las 7 herramientas básicas del control de calidad

Las herramientas básicas, denominadas por Deming (1989), las 7 magnificas herramientas del control de calidad, cuya utilidad para el análisis de datos se han comprobado y gracias a lo cual se les reconoce como herramientas estadísticas son<sup>5</sup>:

- ✓ Hojas de verificación.
- ✓ Diagramas de Pareto.
- ✓ Diagramas de Ishikawa.
- ✓ Histogramas.
- ✓ Estratificación.
- ✓ Gráficos de Control.
- ✓ Diagramas de Dispersión.

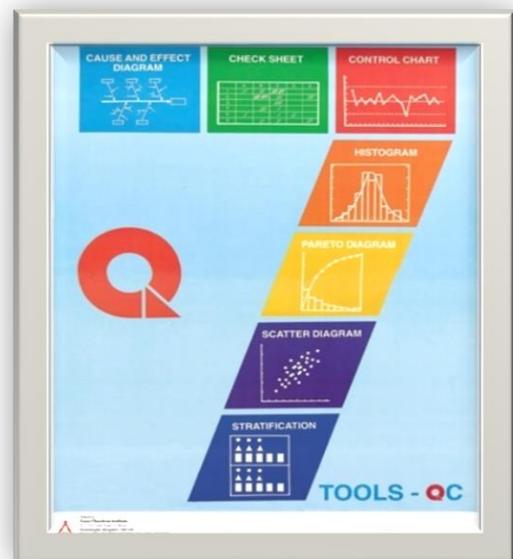


Fig. 3 Las 7 Herramientas del Control de Calidad

### 3.1 Medios de cultivo. Definición

Un medio de cultivo es una preparación sólida o líquida empleada para cultivar, transportar y almacenar microorganismos. Para ser efectivo, el medio debe contener



**Fig. 4 Medios de cultivo líquidos**

todos los nutrientes que el microorganismo necesita para multiplicarse<sup>6</sup>.

Los medios especializados son esenciales en el aislamiento y en la identificación de microorganismos, en ensayos de sensibilidad a antibióticos, análisis de alimentos y de agua, microbiología industrial, y otras actividades. Aunque todos los microorganismos necesitan fuentes de energía, carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y varios

minerales, la composición precisa de un medio satisfactorio dependerá de la especie que se desea cultivar, pues las necesidades nutricionales varían enormemente. El conocimiento del hábitat normal del microorganismo suele ser útil para seleccionar un medio de cultivo apropiado, ya que sus necesidades nutricionales son un reflejo de su entorno natural. Frecuentemente se usa un medio para seleccionar y cultivar microorganismos específicos o para ayudar en la identificación de una especie en particular, en estos casos, la función del medio también determinará su composición<sup>6</sup>.

Los medios de cultivo pueden clasificarse con base en varios parámetros: sus componentes químicos, su naturaleza física y su función<sup>6</sup>.

### 3.2 Tipos químicos y físicos de medios de cultivo

Un medio del cual conocemos todos sus componentes químicos se denomina **medio definido** o **sintético**, puede existir en forma líquida (caldo) o solidificada por la adición de un agente como el agar. Los medios definidos suelen usarse para cultivar autótrofos fotolitótrofos, como las cianobacterias y los protistas fotosintéticos<sup>7</sup>.

Estos organismos pueden ser cultivados en medios relativamente sencillos, conteniendo CO<sub>2</sub> como fuente de carbono (a menudo añadido en forma de carbonato o bicarbonato de sodio); nitrato o amoníaco como fuente de nitrógeno; sulfato, fosfato y varios minerales<sup>7</sup>.

Muchos heterótrofos quimiorganótrofos también pueden ser cultivados en medios definidos, con glucosa como fuente de carbono y una sal de amonio como fuente de nitrógeno. Los medios definidos se usan frecuentemente en la investigación, pues suele ser interesante saber qué compuestos están metabolizando los microorganismos en un experimento dado<sup>7</sup>.

Los medios que contienen algunos ingredientes de composición química desconocida son los **medios complejos**. Estos medios son muy útiles, pues un único medio complejo puede ser suficientemente rico para satisfacer completamente las necesidades nutricionales de un microorganismo, y por tanto no se puede diseñar un medio definido. Esto ocurre, por ejemplo, con muchas bacterias exigentes que presentan requerimientos inusuales de cultivo o nutricionales: pueden incluso necesitar un medio conteniendo sangre o suero<sup>8</sup>.

Los medios complejos contienen componentes no definidos como peptonas, extracto de carne y extracto de levadura. Las peptonas son hidrolizados de proteínas que se obtienen mediante digestión proteolítica parcial de carne, caseína, harina de soja, gelatina y otras fuentes de proteínas, sirven como fuentes de carbono, energía y nitrógeno, los extractos de ternera y de levadura de cerveza, respectivamente, el extracto de ternera contiene aminoácidos, péptidos, nucleótidos, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales, el extracto de levadura es una fuente excelente de vitaminas del grupo B, y de compuestos con nitrógeno y carbono; tres medios complejos de uso común son el caldo nutritivo, caldo triptico de soja y agar MacConkey<sup>8</sup>.

Aunque tanto los medios sólidos como los líquidos usados rutinariamente en los laboratorios microbiológicos, los medios sólidos pueden usarse para separar unos microorganismos de otros, con el fin de establecer cultivos puros. Tanto los medios definidos como los complejos pueden ser solidificados con la adición de agar a una

concentración entre 1% y 2%: lo más común es emplearlo al 1.5%. El **agar** es un polímero sulfatado compuesto principalmente por D-galactosa, 3,6-anhidro-L-galactosa y ácido D-glucurónico; generalmente es extraído de algas rojas<sup>9</sup>.

El agar es un buen agente solidificante por varias razones: una razón es que se funde a unos 90° C pero, una vez



**Fig. 5 Agar-Agar**

fundido, no se endurece hasta que alcanza los 45° C aproximadamente. Por eso, después de ser fundido, en agua hirviendo, puede ser enfriado hasta una temperatura tolerable para las manos humanas y para los microorganismos, además, los microorganismos pueden ser cultivados en un medio con agar en un amplio rango de temperaturas. Finalmente, el agar es un excelente agente endurecedor porque la mayoría de los microorganismos no pueden degradarlo<sup>8</sup>.

A veces se emplean otros agentes solidificantes; por ejemplo, se usa gel de sílice para cultivar bacterias autótrofas en medios sólidos en ausencia de sustancias orgánicas, y para determinar las fuentes de carbono de bacterias heterótrofas, suplementando el medio con varios compuestos orgánicos<sup>9</sup>.

### 3.3 Tipos funcionales de medios de cultivo

Algunos medios, como el caldo trípico de soja y el agar trípico de soja, son útiles para cultivar muchos microorganismos diferentes, y se les denomina **medios generales** o de mantenimiento, para facilitar el crecimiento de microbios exigentes, se puede añadir sangre y otros nutrientes especiales a un medio de uso general. Estos medios especialmente fortalecidos (p. ej, agar sangre) reciben el nombre de **medios enriquecidos**<sup>10</sup>.

Los **medios selectivos** favorecen el crecimiento de microorganismos determinados. Las sales biliares y los colorantes como la fucsina básica y el cristal violeta favorecen el crecimiento de bacterias Gram negativas, debido a que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas. El agar Endo, el agar eosina-azul de metileno, y el agar MacConkey son tres medios muy usados para la detección de *E. coli* y bacterias relacionadas, por ejemplo en muestras procedentes del suministro de agua, estos medios contienen colorantes que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas. El agar MacConkey contiene además sales biliares, las bacterias también pueden ser seleccionadas mediante la incubación con ciertos nutrientes que sólo pueda usar un grupo específico de microorganismos, aquel medio que sólo contenga celulosa como fuente de carbono y de energía es muy efectivo para el aislamiento de bacterias que digieren celulosa. Las posibilidades de selección son infinitas, y se emplean docenas de medios selectivos diferentes<sup>10</sup>.

### 3.4 Control de calidad de medios de cultivo

Una vez que se ingresa un medio de cultivo al laboratorio se debe identificar con una clave, registrar la fecha de recepción, la de apertura y la de caducidad, el almacenamiento debe realizarse según las condiciones especificadas por el fabricante<sup>11</sup>.

Los envases deben estar herméticamente cerrados, especialmente cuando se trate de medios deshidratados. No es recomendable utilizar medios deshidratados que presenten apelmazamiento o un cambio de color<sup>11</sup>.

Se debe verificar que los medios de cultivo y diluyentes preparados por el laboratorio tengan las características adecuadas con respecto a<sup>11</sup>:

- Esterilidad
- Propiedades físicas: pH, color
- Productividad o promoción de crecimiento: Recuperación o supervivencia de los microorganismos de interés.
- Selectividad: Inhibición de los microorganismos no deseados.
- Porcentaje de recuperación bacteriana. Es el rendimiento o recuperación de un microorganismo que se espera que se desarrolle en el medio de cultivo.

Para su preparación se deben tener en cuenta los siguientes aspectos<sup>12</sup>:

- ♦ Prepararlos sólo a partir de productos que provengan de fabricantes o proveedores que suministren productos de calidad<sup>12</sup>.
- ♦ Utilizar agua destilada o desmineralizada con una calidad microbiológica y fisicoquímica adecuada<sup>12</sup>.
- ♦ Utilizar materiales de vidrio bien lavado y enjuagado con agua destilada o desmineralizada<sup>12</sup>.
- ♦ Controlar el tiempo y la temperatura recomendada durante su esterilización. Nunca se deben exceder las condiciones señaladas por el fabricante<sup>12</sup>.

### **3.5 Almacenamiento de medios de cultivo**

- ♦ Los medios de cultivo deshidratados se deben almacenar en envases sellados bajo las condiciones que señale el fabricante. Generalmente se almacenan en un lugar fresco (entre 15 y 25° C), con poca humedad y protegidos de la luz solar directa. Nunca se deben almacenar cerca de autoclaves, hornos, ni otra fuente de calor o vapor<sup>13</sup>.
- ♦ Los medios de cultivo deshidratados son higroscópicos. Cuando los envases de estos medios de cultivo deshidratados son abiertos para su uso inicial, se debe tener la precaución de cerrarlos tan pronto como sea posible y mantenerlos bien cerrados para prevenir la entrada de humedad. La absorción de agua produce cambios de pH, formación de grumos, decoloraciones del

polvo, etc., lo cual indica que deben ser descartados porque pueden haber sufrido cambios químicos o estar contaminados<sup>13</sup>.

- ♦ Una vez que el medio de cultivo ha sido preparado y esterilizado, puede almacenarse a temperatura ambiente por un periodo máximo de 2 semanas protegido de la luz, o por periodos mayores a 12 -15° C. Sin embargo, almacenados bajo refrigeración entre 2 y 8° C se prolonga la vida útil de los mismos, (nunca por debajo de 0° C porque se destruye la estructura del gel). Los medios de cultivo se deben mantener en recipientes bien cerrados para evitar su deshidratación y cuando se usa tapón de algodón, se debe colocar por encima una envoltura de papel (Craft)<sup>13</sup>.
- ♦ Otro punto importante a tomar en cuenta, es que cada lote de medio de cultivo preparado debe pasar por un riguroso proceso de control de calidad, en donde se determinan sus propiedades fisicoquímicas (aparición, pH, etc.) y microbiológicas (esterilidad y promoción de crecimiento) verificando que cumplan con los requisitos de calidad establecidos y por ende demostrar que son aptos para su uso<sup>13</sup>.

## **4.1 Efectos ambientales sobre el crecimiento microbiano**

Las actividades de los microorganismos se ven muy afectadas por las condiciones químicas y físicas del medio. El conocimiento de los efectos ambientales nos permite explicar la distribución de los microorganismos en la naturaleza y hace posible diseñar métodos que controlen o potencien las actividades microbianas. A este respecto se pueden considerar muchos factores ambientales, pero hay cuatro factores que tienen una función destacada en el control del crecimiento microbiano: la temperatura, el pH, la disponibilidad de agua y el oxígeno<sup>14</sup>.

### **4.1.1 Efecto de la temperatura sobre el crecimiento**

La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos, a temperaturas muy frías o muy calientes los microorganismos no crecerán. Pero los valores absolutos de estas temperaturas mínimas o máximas varían mucho entre microorganismos diferentes y, por lo general, reflejan el rango de temperatura media de sus hábitat naturales<sup>14</sup>.

### 4.1.2 pH y crecimiento microbiano

La mayoría de los ambientes naturales tienen un valor de pH entre 5 y 9, los organismos con pH óptimos de este orden son los más comunes. Sólo unas cuantas especies pueden crecer por debajo de 2 o por encima de 10. Los organismos que crecen mejor a bajo pH constituyen un tipo de extremófilos llamados **ácidófilos**<sup>14</sup>.

Unos cuantos extremófilos **presentan un pH óptimo de** crecimiento muy elevado, a veces alto como pH 10; se denominan **alcalófilos**. Los microorganismos alcalófilos se encuentran por lo general en hábitat muy básicos como lagos

sódicos y suelos muy carbonatados. Sin embargo, los procariontes alcalófilos mejor estudiados han sido bacterias aeróbicas no marinas, muchas de las cuales son especies de *Bacillus*<sup>14</sup>.

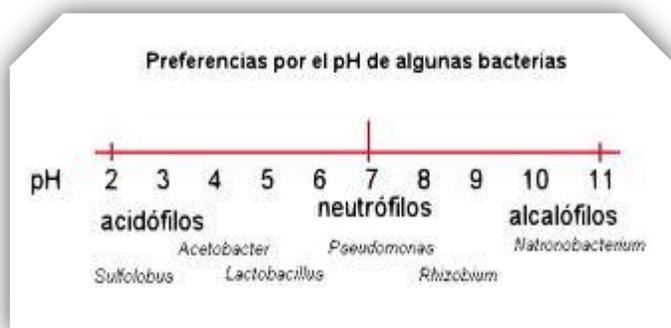


Fig. 6 pH óptimo de algunas bacterias

### 4.1.3 Efectos osmóticos sobre el crecimiento microbiano

Los microorganismos marinos generalmente tienen una dependencia específica del ion sodio además de tener un crecimiento óptimo al valor de actividad de agua propio del agua de mar, tales microorganismos se llaman **halófilos**<sup>14</sup>.

Los organismos capaces de crecer en ambientes muy salinos se llaman **halófilos extremos** y, según las especies, requieren 15-30% de NaCl para su crecimiento óptimo. Los organismos capaces de crecer en ambientes con alta concentración de azúcares se denominan **osmófilos**, y aquellos capaces de crecer en ambientes muy secos se llaman **xerófilos**<sup>14</sup>.

### 4.1.4 Oxígeno y crecimiento microbiano

Como los humanos tienen necesidad absoluta de oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) para vivir, resulta fácil suponer que todas las formas de vida requieren también O<sub>2</sub>. Sin embargo, esto no es cierto y muchos microorganismos pueden (y algunos deben) vivir en ausencia total de O<sub>2</sub>. El oxígeno es poco soluble en agua y puede consumirse rápidamente debido a las actividades respiratorias de los microorganismos en los

hábitats acuáticos y húmedos (especialmente cuando contienen abundancia de materia orgánica)<sup>14</sup>.

## **5.1 Crecimiento microbiano**

El término crecimiento en las bacterias se refiere a cambios cuantitativos en la población total de las bacterias, es decir un aumento en la masa total de células, más bien que a cambios en un organismo en forma individual, con frecuencia el inóculo contiene miles de organismos y el crecimiento sólo denota el incremento del número o de la masa por encima del inóculo original<sup>16</sup>.

El método característico de reproducción bacteriana es la fisión binaria; una célula se divide en dos, en este caso, si se parte de una sola bacteria, el incremento de la población se hace en progresión geométrica: una bacteria produce dos, dos dan cuatro, cuatro dan ocho; ocho dan dieciséis y así sucesivamente<sup>16</sup>.

El tiempo de generación se refiere al intervalo de tiempo requerido para que la célula se divida, o lo que es lo mismo, para que la población se duplique<sup>16</sup>.

Muchos estudios bacteriológicos requieren la determinación del número de bacterias presentes en una unidad de volumen. Los recuentos se pueden efectuar por diferentes métodos, ya sea contando sólo células vivas o también vivas y muertas. La cantidad y tipo de microorganismos en una muestra dependen de la composición química de la misma y de los tratamientos a que haya sido sometida<sup>16</sup>.

El método de conteo elegido depende de los recursos con los que se cuente, de esta forma se puede determinar la presencia o ausencia de microorganismos, así como su número presente en el material de estudio, un conteo total establece el grado de contaminación microbiana, conociendo el número se puede estandarizar la concentración de inóculos y seguir la dinámica poblacional de un cultivo puro y muchos otros estudios<sup>16</sup>.

## **5.2 Promoción de crecimiento**

La prueba de promoción de crecimiento es empleada en todos los medios de cultivo para verificar que éstos cumplen con la función de permitir el desarrollo microbiano, aún en concentraciones bajas de microorganismos<sup>15</sup>.

Para esta evaluación se debe utilizar al menos un microorganismo capaz de crecer, donde dicho microorganismo debe ser capaz de crecer en medios selectivos y presentar características de diferenciación y otro microorganismo para el cual su crecimiento sea inhibido<sup>15</sup>.

Las cepas de colección son microorganismos definidos por lo menos a nivel de género y especie, depositados y mantenidos en una Colección de Cultivos (CC) o Centro de Recursos Biológicos (BRC) y catalogados con el acrónimo de la colección/BRC seguido de un número identificativo. En dicho catálogo se reseña el origen de la cepa, sus condiciones de cultivo y, en muchas ocasiones, algunas de sus características, así como la equivalencia, si la hay, con otras colecciones. Es equivalente a cepas de referencia<sup>17</sup>.



**Fig. 7 Colecciones de cultivo de microorganismos**

El material de referencia se debe manipular y reconstituir siguiendo las instrucciones del proveedor. Éste adjuntará, con el material, información sobre la forma de reconstituir el cultivo (en función del tipo de presentación), así como el medio de cultivo a emplear y las condiciones de incubación, que varían de unos microorganismos a otros. El proveedor es responsable de la calidad del material suministrado (pureza, viabilidad, autenticidad), siempre que el químico analista o encargado de las cepas siga las instrucciones indicadas por dicho proveedor<sup>17</sup>.

A partir de las cepas de referencia suministradas por las CC o BRC, se obtienen las cepas de reserva (primer subcultivo), y de éstas se obtienen las cepas de trabajo (segundo subcultivo). Las CC/BRC pueden suministrar directamente cepas de reserva o de trabajo obtenidas en la propia colección /BRC a partir de la cepa de referencia; de esta forma el químico analista obtiene directamente las cepas de trabajo<sup>17</sup>.



**Fig. 8 Colecciones NCTC**



**Fig. 9 Pruebas bioquímicas**

Cuando se realizan análisis microbiológicos en los que se incluyen pruebas bioquímicas, se recomienda la utilización cepas de referencia como control positivo para comparar y valorar los resultados del análisis. Sin embargo, dada la diversidad intraespecífica propia de los microorganismos, no todas las cepas de una misma especie responden por igual a la selección de pruebas diagnóstico para la identificación de la especie. Por ello, debería especificarse en los ensayos microbiológicos la cepa de referencia que se recomienda como patrón, en cuanto a su respuesta a las pruebas bioquímicas<sup>17</sup>.

La acreditación de nuevos procedimientos de análisis microbiológico en laboratorios requiere de ensayos de validación con respecto a los procedimientos estándar, lo que incluye una valoración de su sensibilidad. Para ello se requiere de un cultivo cuantificado que puede bien ser preparado por el propio laboratorio a partir de un cultivo de referencia, bien obtenerse como material de referencia cuantificado. También a este nivel sería conveniente la estandarización de dicho material de referencia cuantificado<sup>17</sup>.

### 5.3 Métodos de conteo en medios de cultivo

Mediante cultivo de la muestra se detectan únicamente las células vivas, en todos los casos se parte de un volumen o peso de muestra conocido, de este modo, conociendo la procedencia de la muestra se puede esperar la obtención de cuentas bajas o altas o incluso ausencia de organismos. Si se esperan pocos microorganismos, las muestras se pueden centrifugar o filtrar, si se esperan cuentas altas, se puede diluir la muestra en cantidades conocidas del diluyente, utilizando solución salina, agua peptonada u otros<sup>18</sup>.

- ✓ Método de las diluciones y vaciado en placa
- ✓ Técnica de conteo en placa por extensión superficial
- ✓ Recuento por filtro de membrana
- ✓ Método de la gota o de Miles y Misra

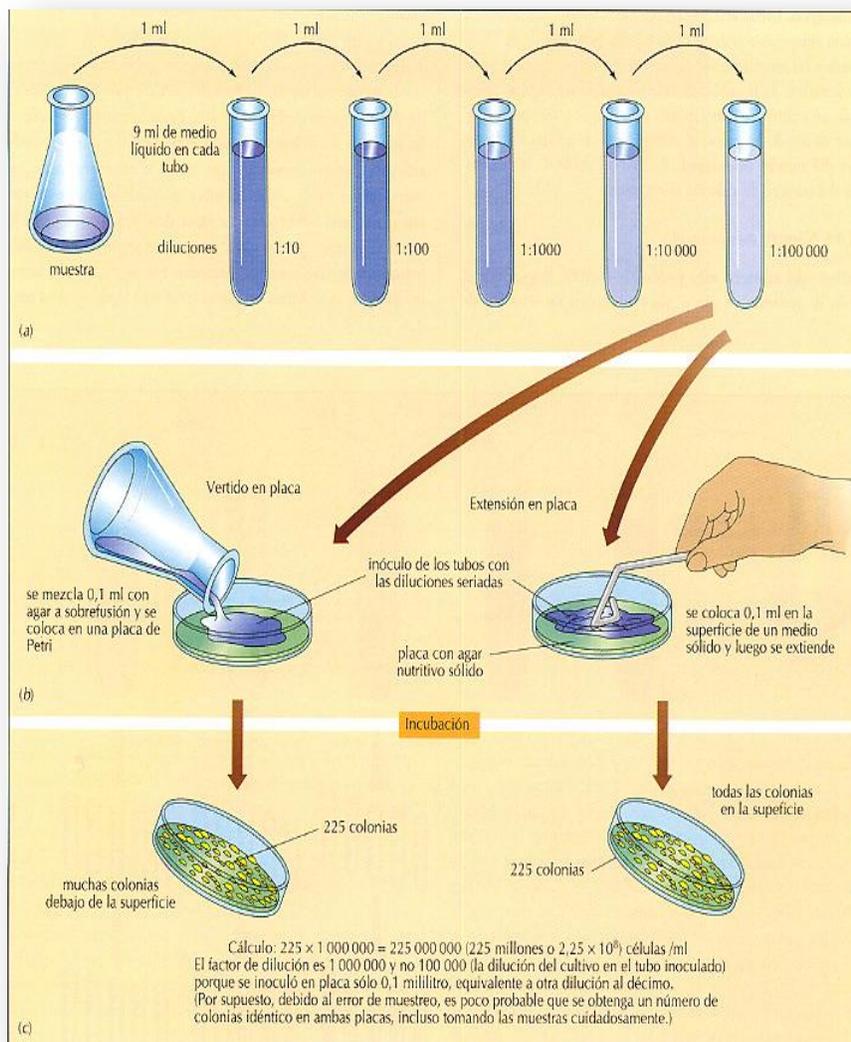


Fig. 10 Dilución en placa

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a que la duración del semestre es corta, se pretende dar a conocer mediante un manual electrónico información sobre el tema de control de calidad en medios de cultivo empleados en análisis microbiológicos en la carrera de QFB de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, en particular en las asignaturas de Microbiología General I y II; a pesar de que en estas asignaturas se preparan medios de cultivo, no se lleva a cabo un control de calidad en los mismos de manera rigurosa y formal siguiendo normas que existen al respecto, por lo que se elaboró este manual con el fin de que el alumno pueda aprender de manera ilustrativa sobre el control de calidad que se debe realizar a los medios de cultivo así como el control de calidad de las cepas que utiliza en el laboratorio de microbiología, por esta razón se pretende dar a conocer de manera teórica la información y la importancia de realizar un control de calidad a medios de cultivo empleados en algunos análisis mediante la elaboración del manual electrónico.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Elaborar y digitalizar un manual electrónico, que contenga información completa y actualizada sobre control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia.

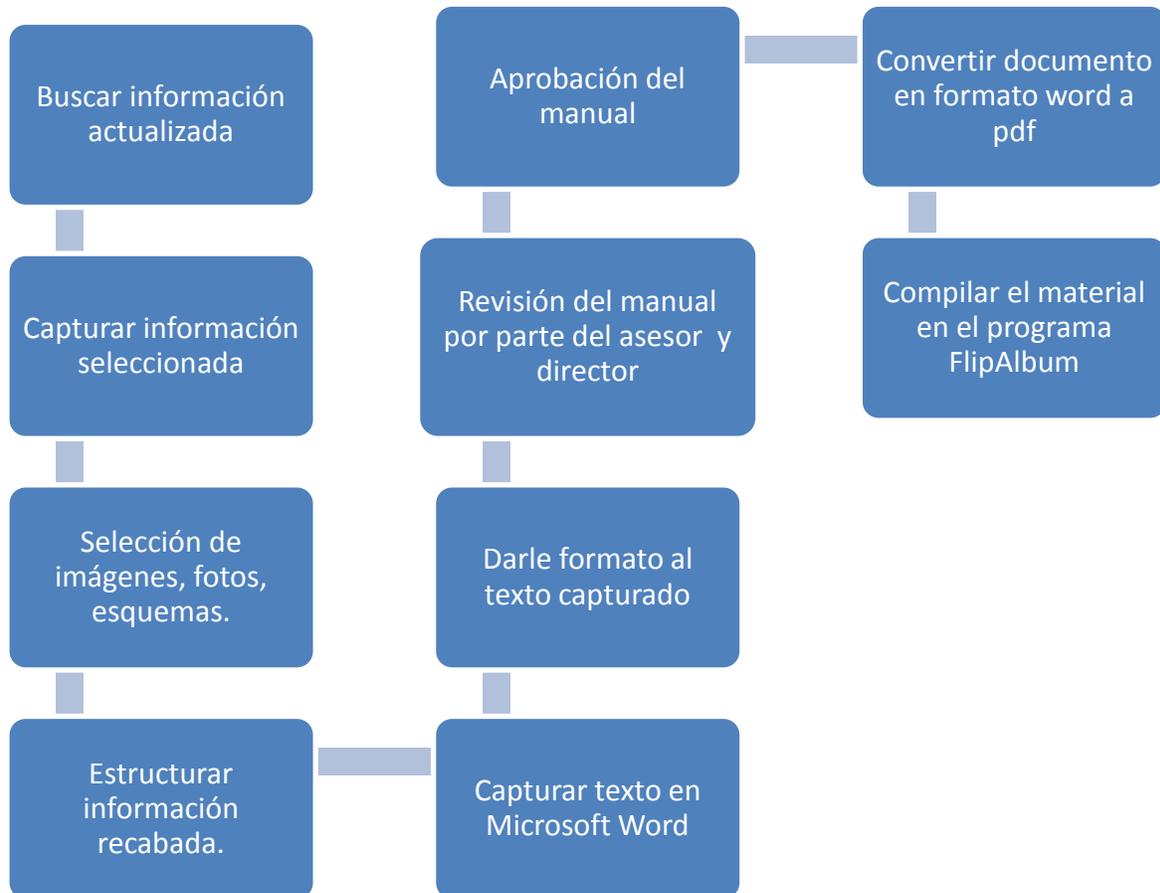
## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Recopilar información relevante y actualizada sobre control de calidad empleados en medios de cultivo y cepas de referencia.
- Seleccionar la información adecuada, relevante y actual, para poder dar un enfoque concreto y claro acerca del control de calidad empleados en medios de cultivo y cepas de referencia.
- Identificar e incorporar esquemas, imágenes y fotografías que ilustren de manera adecuada la información recopilada para la producción del manual control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia.
- Conjuntar la información recopilada así como estructurar el manual control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia.
- Elaborar el manual control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia.
- Presentar el manual en un formato digital por medio del programa FlipAlbum.

## MÉTODO

1. Buscar información actualizada referente a control de calidad en medios de cultivo en libros, revistas científicas, artículos, etc.
2. Capturar información seleccionada para la redacción y elaboración del manual electrónico de control de calidad en medios de cultivo.
3. Seleccionar imágenes mediante la búsqueda de fotos, ilustraciones, esquemas, diagramas, etc.
4. Estructurar con la información recopilada un borrador del manual electrónico y realizar las observaciones necesarias con la supervisión del asesor.
5. Capturar el manual electrónico utilizando Microsoft Word versión 2007.
6. Integrar imágenes, darle formato al documento en Microsoft Word.
7. Realizar la revisión del borrador por parte del director y asesor del proyecto.
8. Llevar a cabo la revisión final del manual electrónico y aprobación por parte del director y asesor de tesis.
9. Convertir el documento de formato Microsoft Word a un documento con extensión pdf.
10. Convertir los archivos pdf al formato FlipAlbum.

## DIAGRAMA



## RESULTADOS

Se logró la elaboración del **Manual electrónico de control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia** en formato FlipAlbum el cual contiene 4 capítulos, los cuales son:

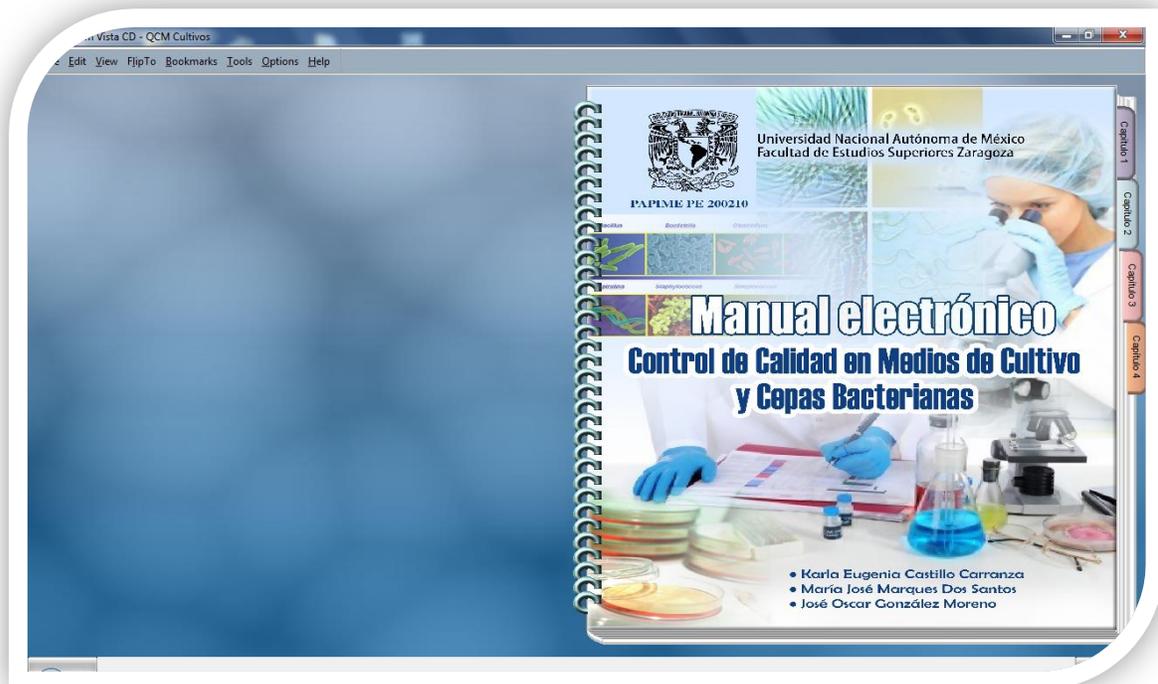
**Capítulo 1:** Herramientas del control de calidad en el laboratorio de Microbiología.

**Capítulo 2:** Medios de cultivo

**Capítulo 3:** Microorganismos

**Capítulo 4:** Promoción de crecimiento

Dentro de los cuales se da un panorama sintetizado del control de calidad que se lleva a cabo en los medios de cultivo y cepas de referencia para los distintos análisis microbiológicos, el cual también se anexa en CD.



**Fig. 11** Portada del manual electrónico

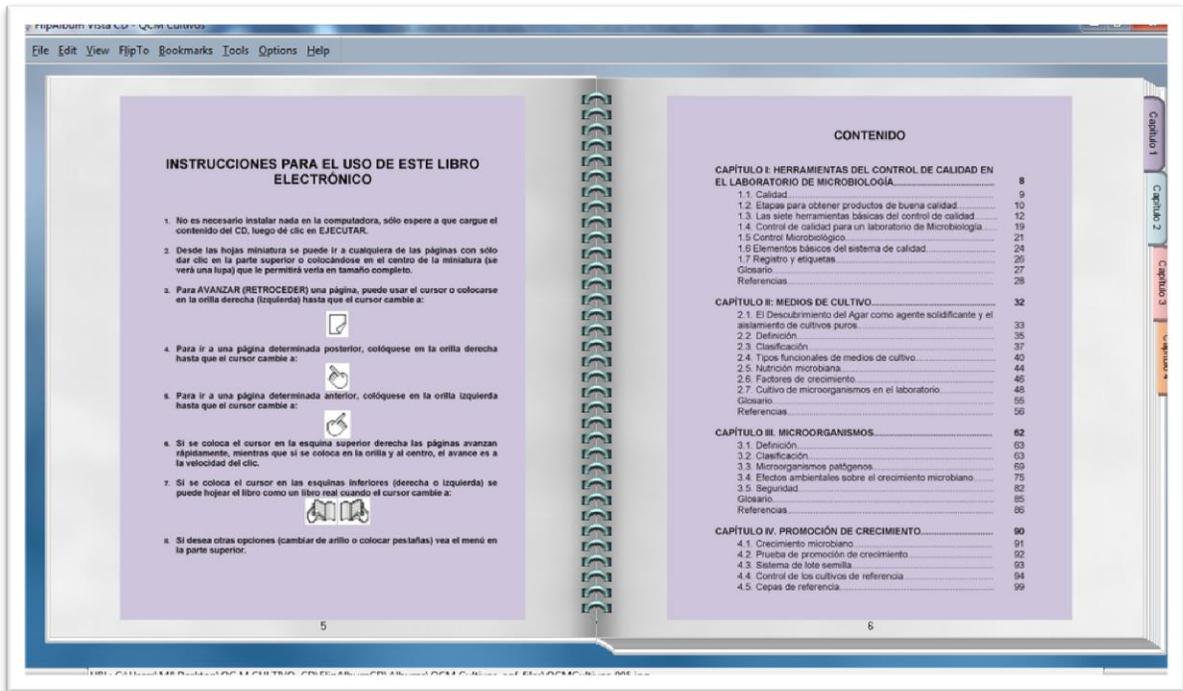


Fig. 12 Instrucciones y contenido

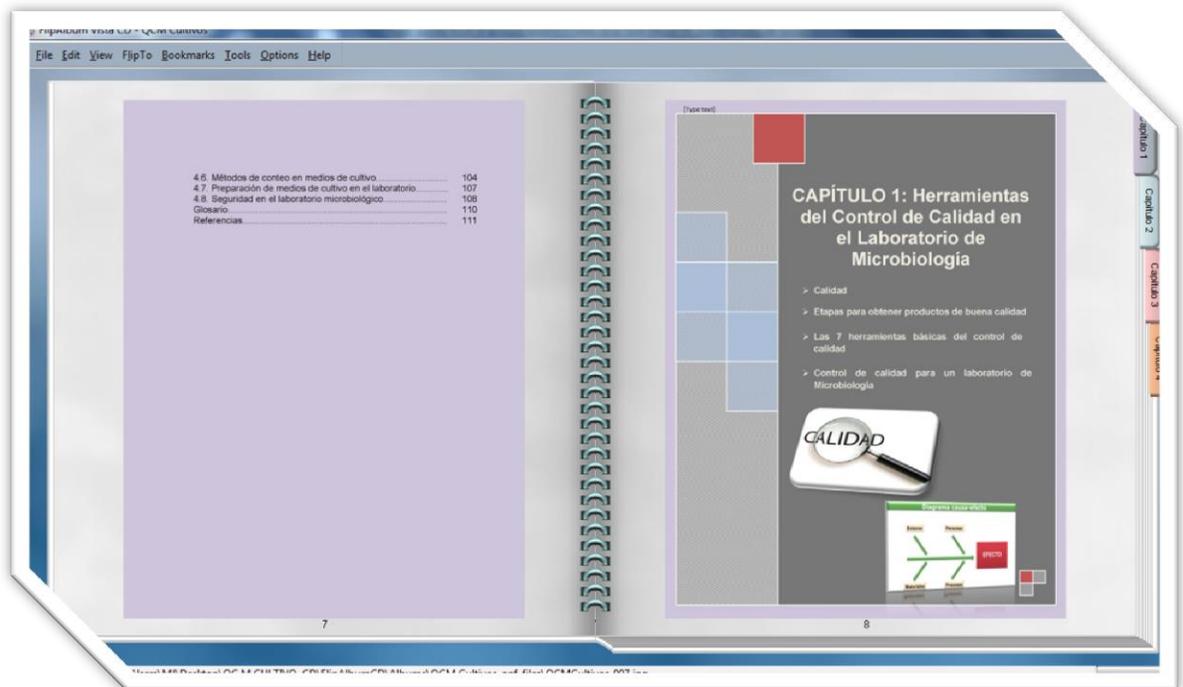


Fig. 13 Portada del capítulo 1

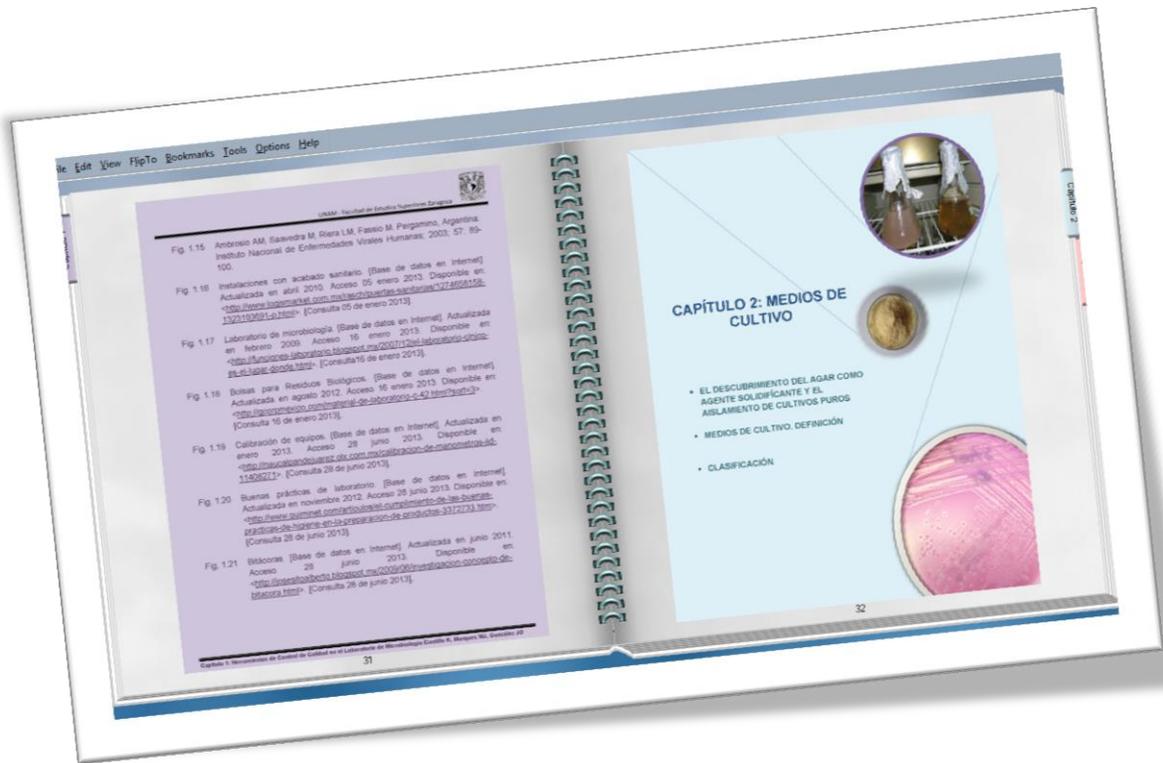


Fig. 14 Portada del capítulo 2



Fig. 15 Portada del capítulo 3

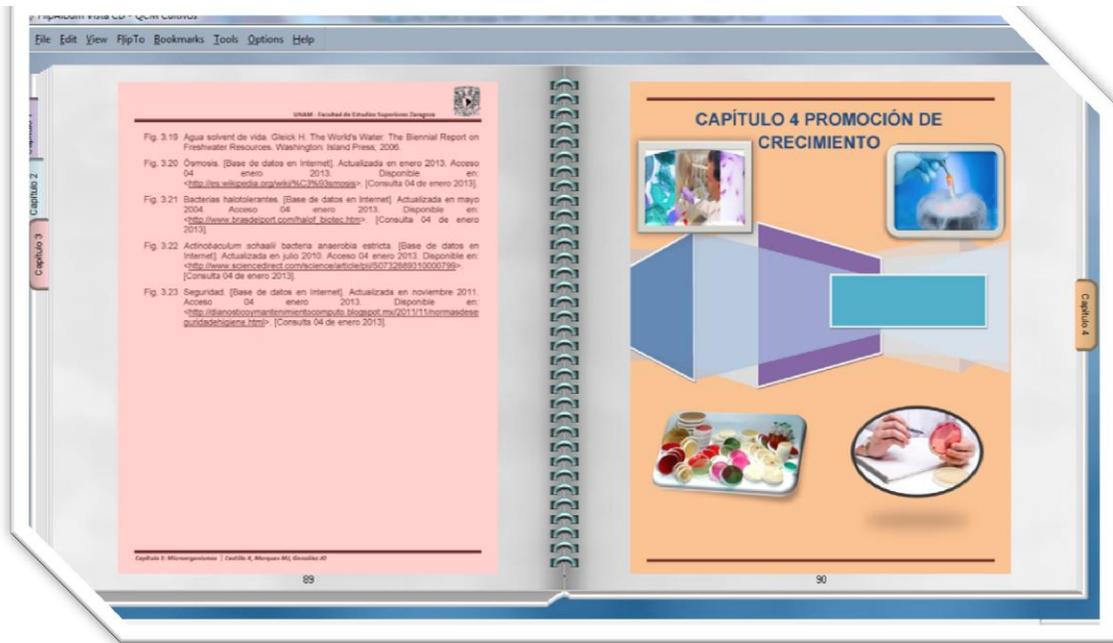


Fig. 16 Portada del capítulo 4



Fig. 17 Contraportada del manual

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS**

La elaboración del Manual electrónico control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia surge de la necesidad de dar a conocer información actual e ilustrativa a los estudiantes de la carrera de QFB de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, en particular de las asignaturas de Microbiología General I y II sobre el control de calidad en los medios de cultivo, debido a que en muchos laboratorios dedicados al control microbiológico no siempre se presta la debida atención al óptimo funcionamiento de los medios de cultivos y como consecuencia de ello, muchas veces se emiten resultados que no son confiables.

Además, la calidad de un medio de cultivo preparado no depende exclusivamente de la garantía que representa la marca o el fabricante del medio deshidratado o del proveedor de los ingredientes del mismo, sino de igual forma, o quizás en mayor grado de su correcta preparación; por esta razón se elaboró el manual en formato electrónico, cuyo objetivo es ser de gran utilidad para los alumnos que cursan materias relacionadas con el área de microbiología, haciéndoles más fácil el aprendizaje, todo esto de una forma actualizada, clara no sólo en forma de texto sino también de manera ilustrativa.

Dentro de las ventajas del manual electrónico se pueden mencionar: menor gasto de papel y tinta, mayor comodidad en la portabilidad, fácil accesibilidad, bajo costo, etc.

Por otro lado, una de las complicaciones en la realización de dicho manual fue la búsqueda de información acerca de la prueba de promoción en medios de cultivo debido a que muchos autores manejan términos de manera general sobre métodos de conteo en medios de cultivo.

## **CONCLUSIONES**

La elaboración del manual electrónico está dirigida a los alumnos de la carrera de QFB de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, para facilitar el aprendizaje con información clara y explicativa sobre el control de calidad en medios de cultivo para análisis microbiológico.

Se concluye que se logró satisfactoriamente el objetivo del libro electrónico el cual fue: Elaborar el manual electrónico, que contenga información completa y actualizada sobre el control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia, el cual será de gran ayuda en el desarrollo profesional del QFB.

## RECOMENDACIONES

- Distribuir el libro electrónico entre los alumnos que cursen las materias de microbiología con la finalidad de complementar los conocimientos adquiridos en la Carrera.
- Acceso al libro electrónico colocándolo al alcance de los alumnos dentro de la biblioteca con la finalidad de que si es de su interés puedan acudir a consultarlo en el momento que lo deseen.
- Proporcionar el libro electrónico a un grupo de alumnos de la carrera de QFB con la intención de probar el efecto en el aprendizaje con respecto al tema, así como de complementar su formación en el área de microbiología.

## REFERENCIAS

1. Norelkys OA. ¿La desaparición de lo impreso o la aparición de una nueva fuente de lectura?. Venezuela: Universidad de los Andes; 2002.
2. Mellado A. Situación actual y prospectiva del libro electrónico. [base de datos en Internet]. Francia: Actualizada en enero del 2009; acceso 10 Septiembre 2012. Disponible en: <<http://www.actualidadeditorial.com/la-dificultad-de-dar-una-definicion-de-libro-electronico-o-libro-digital/>>. [Consulta 10 de septiembre de 2012].
3. Norma ISO 9000. Sistemas de gestión de la calidad, fundamentos y vocabulario. Secretaría Central de ISO. Ginebra Suiza; 2005.
4. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006. Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos. México: Diario Oficial de la Federación 31 julio de 1998.
5. Cuevas VL. Las 7 herramientas básicas del control estadístico de calidad. [Tesis licenciatura]. México: Fes Zaragoza, UNAM; 2011.
6. Jawetz F, Melnick C, Adelberg S. Microbiología médica. 25ª ed. México: McGraw Hill; 2010.
7. Tay J. Microbiología, bacteriología y virología. México: Méndez Editores; 2010.
8. Murray R. Manual of clinical microbiology. 8ª ed. Washington, D.C: ASM Press; 2003.
9. Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
10. Norma oficial mexicana NOM-065-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo. Generalidades. México: Diario Oficial de la Federación 27 de febrero de 1995.
11. Tavera Ochoa MG. Control de calidad en medios de cultivo para análisis microbiológicos de los alimentos [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 1980.

12. Álvarez MR, Manual de introducción al control de calidad en el laboratorio de microbiología. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2001.
13. Tortora G, Funke B, Case C. Microbiology and introduction. 8<sup>a</sup> ed. San Francisco: Pearson; 2004.
14. Michael T. Madigan B. Biología de los microorganismos. 10<sup>a</sup> ed. México: Prentice Hall; 2002.
15. Procedimiento Normalizado de Operación. Promoción de crecimiento. Ed. Vigente. MSD; 2010.
16. Alarcón LR. Manual de prácticas de microbiología básica y microbiología de alimentos. Ciudad Juárez, Chihuahua: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez; 2004.
17. Stainer YR, Adelberg AE. The microbial world. 3<sup>a</sup> ed. Washington, D.C: ASM Press, 1999.
18. Romero R. Microbiología y parasitología humana. 3<sup>a</sup> ed. España: Médica Panamericana; 2007.

## REFERENCIAS DE FIGURAS

- Fig.1. Libro electrónico. [Base de datos en Internet]. Actualizada en febrero del 2012. Acceso 25 septiembre 2012. Disponible en: <<http://www.literaturapropectiva.com/?p=9243>>. [Consulta: 25 de septiembre del 2012].
- Fig.2. Calidad. [Base de datos en Internet]. Actualizada en mayo 2011. Acceso 20 noviembre 2012. Disponible en:<[http://www.liderdeproyecto.com/manual/aseguramiento de la calidad.html](http://www.liderdeproyecto.com/manual/aseguramiento%20de%20la%20calidad.html)>. [Consulta: 20 de noviembre del 2012].
- Fig.3. Las 7 Herramientas del Control de Calidad. [Base de datos en Internet]. Actualizada en marzo 2012. Acceso 20 noviembre 2012. Disponible en:<<http://iindocuments.wordpress.com/2012/03/03/las-7herramientas-basicas-de-la-calidad-7-qc-tools/>>. [Consulta: 20 de noviembre del 2012].
- Fig.4. Medios de cultivo líquidos. [Base de datos en Internet]. Actualizada en diciembre 2012. Acceso 14 diciembre 2012. Disponible en:<[http://es.wikipedia.org/wiki/Cultivo \(microbiolog%C3%ADa\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Cultivo_(microbiolog%C3%ADa))>. [Consulta: 14 de diciembre del 2012].
- Fig.5. Agar- agar. [Base de datos en Internet]. Actualizada en mayo 2011. Acceso 21 diciembre 2012. Disponible en:<<http://rodeadosdequimica.blogspot.mx/2011/05/agar-agar.html>>. [Consulta: 21 de diciembre del 2012].
- Fig.6. pH óptimo de algunas bacterias. [Base de datos en Internet]. Actualizada en febrero 2008. Acceso 25 enero 2013. Disponible en: <<http://www.biologia.edu.ar/bacterias/nutric~2.htm>>. [Consulta: 25 de enero del 2013].
- Fig.7. Colecciones de cultivo de microorganismos. [Base de datos en internet]. Actualizada en junio del 2013. Acceso 02 julio 2013. Disponible en<<http://www.microbiologiaplicada.com/microbiologics.php>>. [Consulta: 02 de julio del 2013].

- Fig.8. Colecciones NCTC. [Base de datos en internet]. Actualizada en junio del 2013. Acceso 02 julio 2013. Disponible en: <<http://www.microbiologiaplicada.com/microbiologics.php>>. [Consulta: 02 de julio del 2013].
- Fig.9. Pruebas bioquímicas. [Base de datos en internet]. Actualizada en abril del 2007. Acceso 07 julio 2013. Disponible en: <<http://www.geniebio.ac-aix-marseille.fr/biospip/spip.php?article249>>. [Consulta: 07 de julio del 2013].
- Fig.10. Dilución en placa. [Base de datos en Internet]. Actualizada en marzo del 2010. Acceso 01 abril 2013. Disponible en: <[http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/document/uni\\_02/58/texthtml/cap804.htm](http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/document/uni_02/58/texthtml/cap804.htm)>. [Consulta: 01 de abril del 2013].
- Fig.11. Portada del manual electrónico. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.
- Fig.12. Instrucciones y contenido. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.
- Fig.13. Portada capítulo 1. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.
- Fig.14. Portada capítulo 2. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.
- Fig.15. Portada capítulo 3. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.
- Fig.16. Portada capítulo 4. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.

Fig.17. Contraportada del manual. Castillo Carranza KE. Control de calidad en medios de cultivo y cepas de referencia. [Tesis licenciatura]. México: UNAM; 2013.