



Evaluación y Validación del Modelo de Control de Calidad para la Preparación de Medios de Cultivo y Área de Cepario en el Laboratorio Central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C
OCTUBRE 2025



Evaluación y Validación del Modelo de Control de Calidad para la Preparación de Medios de Cultivo y Área de Cepario en el Laboratorio Central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Estudiantes:

Alison Dayhanna Ruiz Mora

Laura Ximena Ibarra Quigua

Asesoras:

Laura Susana Silva Mejía

Patricia Cifuentes Prieto.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C
OCTUBRE 2025



Evaluación y Validación del Modelo de Control de Calidad para la Preparación de Medios de Cultivo y Área de Cepario en el Laboratorio Central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

APROBADA

JURADOS

ASESORES

Asesora Externa: Laura Susana Silva Mejía

Asesora Interna: Patricia Cifuentes Prieto

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA.
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C
OCTUBRE 2025**

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedicamos, en primer lugar, a nuestros padres, quienes han sido un pilar fundamental en nuestro proceso de formación. Su amor incondicional, apoyo constante y confianza en nuestras capacidades nos han motivado a superar cada desafío y alcanzar esta meta.

A nuestros docentes, por su guía, compromiso y dedicación; por acompañarnos con paciencia, comprensión y sabiduría a lo largo de este camino académico, contribuyendo no solo a nuestra formación profesional, sino también personal.

Finalmente, a todas aquellas personas que, de una u otra manera, hicieron parte de este proceso y nos inspiraron a continuar con perseverancia y gratitud hasta lograr este importante objetivo.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestras directoras y guías en este proceso investigativo las docentes Laura Susana Silva y Patricia Cifuentes Prieto, por su dedicación, paciencia, compromiso y valiosa orientación a lo largo de este proceso, su apoyo fue un pilar importante y esencial.

Hacemos extensiva nuestra gratitud a la docente María José Jimenez Arias, por sus observaciones oportunas, sus comentarios constructivos y su disposición permanente para contribuir al fortalecimiento y consolidación de esta investigación.

Agradecemos igualmente a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por brindarnos el apoyo institucional, el espacio académico necesario y los recursos para la realización de este proyecto.

A cada una de las personas que, de manera directa o indirecta, aportaron su conocimiento, tiempo y esfuerzo, expresamos nuestros más profundos agradecimientos por su invaluable contribución.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
1. ANTECEDENTES	10
2. OBJETIVOS	13
3. MARCO TEÓRICO	14
3.1 Control de calidad	14
3.2 Control de Calidad en Laboratorios Microbiológicos	14
3.2.1 Repetibilidad	15
3.2.2 Reproducibilidad	15
3.3 Evaluación de la calidad	15
3.3.1 ISO 17025:2017 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.	16
3.3.2 ISO 11133:2014, Microbiología de alimentos, piensos y agua: Preparación, producción, almacenamiento y análisis de rendimiento de medios de cultivo	16
3.3.3 ISO 15189:2022 Laboratorios clínicos. Requisitos para la calidad y la competencia	16
3.4 Medio de cultivo	16
3.4.1 Clasificación de los medios de cultivo	17
3.4.1.1 Medios de cultivo según su consistencia	17
3.4.1.2 Medios de cultivo según su función	17
3.5 Área de Cepario	18
3.5.1 Ingreso de la cepa al laboratorio central	19
3.5.2 Mantenimiento y conservación de la cepa en el laboratorio central	19
3.5.3 Reproducción de cepas en el laboratorio central	20
3.5.4 Alistamiento de material académico	20
3.5.5 Recuperación de cepas en el laboratorio central	20
3.5.6 Estandarización de procesos en el área de cepario	20
3.5.7 Control de calidad de procedimientos en el área de cepario del laboratorio central	21
3.5.7.1 Productividad (o crecimiento)	21
3.5.7.2. Selectividad	21
3.5.7.3 Viabilidad	21
3.5.7.4 Identificación	22
4. DISEÑO METODOLÓGICO	23
4.1. Control de calidad de las cepas.	23
4.1.1 Técnica de control de calidad de las cepas.	23
4.2. Técnica estandarizada para la preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas.	25
Infografía de la técnica de preparación de medios en el anexo 4.	26
4.2.1 Lista de verificación	26
4.2.2 Muestra	28

4.2.3 Inspección visual	29
4.2.4 Selección de cepas	29
4.2.5 Prueba de selectividad y crecimiento óptimo	30
4.2.6 Prueba de esterilidad	31
4.2.7 Lectura y registro de resultados	31
4.2.8 Registro digital de datos y análisis de resultados	31
5. RESULTADOS	32
5.1 Resultados de las cepas evaluadas	32
5.2 Resultados de medios evaluados	34
5.2.1. Medios para mohos y levaduras	35
5.2.2 Medios Selectivos y diferenciales	36
5.2.3. Medios Nutritivos	36
5.2.4. Pruebas bioquímicas	37
5.3. Efectividad	38
5.3.1 Puntaje de calidad promedio para medios de cultivo de mohos y levaduras: 0.90	39
5.3.2 Puntaje de calidad promedio para los medios selectivos y diferenciales: 0.89	39
5.3.3. Puntaje de calidad promedio para los medios nutritivos: 0.98	40
5.3.4. Puntaje de calidad promedio para pruebas bioquímicas: 1.00	40
5.4 Desviación estándar	41
5.4.1. Medios para mohos y levaduras	42
5.4.2. Medios selectivos y diferenciales	42
5.4.3. Medios Nutritivos	43
5.4.4. Pruebas bioquímicas	43
5.5. Reproducibilidad	43
5.6. Recomendaciones y Oportunidades de mejora	43
ANEXOS	50
Anexo 1: Análisis de Métricas de Calidad y Reproducibilidad de Medios de Cultivo	50
1. Cálculo de la media de calidad	50
2. Aplicación del coeficiente de variación (CV)	50
3. Criterios de interpretación del CV	50
Anexo 2: Algoritmo de puntos críticos de control en la técnica de preparación de medios de cultivo	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Selección de microorganismos para control de calidad de los medios	16
Tabla 2: Formato hoja de vida de cepa.	27
Tabla 3: Lista de verificación de medios de cultivo.	30
Tabla 4: Tabla de resultados de las cepas evaluadas	38
Tabla 5: Tabla de días y cantidad de medios evaluados	47



RESUMEN

La presente investigación tiene como propósito evaluar los modelos previamente estandarizados aplicados a la preparación de medios de cultivo, el control de calidad de los medios de cultivo y el control de calidad de las cepas del Laboratorio Central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Se valida este modelo mediante la aplicación sistemática de pruebas de productividad, selectividad, recuperación, viabilidad, pureza e identificación, esterilidad, selectividad y crecimiento óptimo, con el fin de garantizar la precisión y reproducibilidad de los resultados. Para el análisis estadístico, los resultados se codificaron de manera que el resultado obtenido como Satisfactorio es igual a 1; No cumple o Inhibido como 0 y se establecieron puntajes de calidad promedio ideal de 1.00 el cual corresponde a un desempeño perfecto o completamente satisfactorio. Los resultados evidenciaron una alta reproducibilidad, con coeficientes de variación inferiores al 10 % en la mayoría de los grupos, y puntajes de calidad entre 0.89 y 1.00 lo que confirma la efectividad del modelo. Las cepas empleadas demostraron estabilidad y pureza, validando los procedimientos de conservación y control de calidad implementados.

Finalmente, se desarrolló una herramienta digital de tipo OVA (Objeto Virtual de Aprendizaje), en la plataforma de Moodle, donde se consolidó las técnicas validadas brindando un soporte educativo novedoso para la capacitación académica y la gestión de calidad en el laboratorio.

Palabras clave: Control de calidad, medio de cultivo, cepario, estandarización, reproducibilidad, microbiología.

INTRODUCCIÓN

La presente investigación corresponde a la fase de validación del modelo previamente estandarizado en la monografía titulada "Estandarización del modelo de control de calidad para la preparación de medios de cultivo de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca" aplicada en el laboratorio central, en este trabajo se evalúa su aplicabilidad, reproducibilidad y calidad en condiciones del laboratorio académico, teniendo en cuenta que la calidad de los medios de cultivo y el adecuado manejo de las cepas son fundamentales para garantizar resultados microbiológicos confiables. En el contexto formativo, resulta fundamental trabajar con medios de cultivo que cumplan con los parámetros de calidad necesarios, ya que de ellos depende la observación adecuada de las características microbiológicas que sustentan el aprendizaje. Para que un medio selectivo cumpla su función, debe inhibir el crecimiento de microorganismos no deseados y favorecer únicamente el desarrollo de la especie objetivo; mientras que un medio diferencial debe permitir distinguir microorganismos según su metabolismo, evidenciando reacciones bioquímicas como fermentación, producción de pigmentos o formación de compuestos específicos. Del mismo modo, el manejo adecuado de las cepas (manteniendo su pureza, viabilidad y estabilidad) es esencial para garantizar que las respuestas observadas en los medios correspondan realmente a las características propias del microorganismo y no a contaminaciones o alteraciones. Esto asegura que las prácticas de microbiología sean confiables, reproducibles y formativas, favoreciendo la adquisición de competencias técnicas y la correcta interpretación de los resultados. En respuesta a la necesidad de llevar esta técnica estandarizada, se realizó su verificación mediante un control de calidad a los medios de cultivo, pruebas bioquímicas y cepas microbianas bajo lineamientos de normas internacionales como ISO 11133, ISO 17025 e ISO 15189, y estándares internacionales como lo es la OMS (Organización Mundial de la Salud), FDA (Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la técnica previamente estandarizada verificando su adaptabilidad y confiabilidad a las condiciones del laboratorio central, ya que, dicho modelo no ha sido evaluado ni validado bajo criterios técnicos que garanticen que funciona y sea adaptable a las condiciones reales del laboratorio. Asimismo, se requiere fortalecer el componente pedagógico mediante la implementación de una herramienta digital que permita consolidar los protocolos estandarizados y facilitar su apropiación académica. Por ello, se hace necesario evaluar y validar el modelo propuesto, con el fin de asegurar la calidad técnica y formativa de las prácticas microbiológicas en la institución. Finalmente, la aplicación de

controles microbiológicos en la evaluación de la técnica y el análisis estadístico de los resultados ayudaron a desarrollar una herramienta digital tipo OVA (Objeto Virtual de Aprendizaje) como apoyo académico, con el fin de fortalecer la calidad educativa y técnica de los estudiantes del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. La validación del modelo propuesto no solo contribuye a mejorar la gestión de calidad institucional, sino que también promueve la formación de profesionales competentes, capaces de obtener resultados microbiológicos confiables y de desarrollar habilidades analíticas y críticas fundamentales para su ejercicio profesional.

1. ANTECEDENTES

El presente trabajo está basado en la monografía titulada *"Estandarización del modelo de control de calidad para la preparación de medios de cultivo de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca"* en la cual se consolida la técnica de preparación de medios de cultivo y los procedimientos de control de calidad en el Laboratorio Central. A partir de esta base, la investigación actual tiene como propósito comprobar la eficacia, aplicabilidad y confiabilidad del modelo estandarizado bajo condiciones reales del laboratorio central, asegurando que los medios de cultivo y cepas empleados en prácticas académicas cumplan con los criterios de calidad necesarios y permitan obtener resultados microbiológicos consistentes y reproducibles.

El trabajo cubre áreas clave como el control de calidad aplicado al manejo de cepas, pruebas de viabilidad y pureza, y en cuanto a la preparación de medios de cultivo, se establece la estandarización del proceso, identificando los puntos críticos, las condiciones de almacenamiento y las pruebas de control de calidad asociadas, tales como la prueba de esterilidad y la prueba de selectividad, para garantizar que los medios cumplan con los parámetros necesarios. Además, se subraya la importancia de documentar todos los procedimientos estándar de operación para mantener la coherencia y reducir errores en el laboratorio. [1]

Actualmente, existe un interés creciente en la estandarización de procesos en el laboratorio, debido a que previamente no se contaba con un modelo definido para la preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas, ni para el control de calidad asociado a estos y al manejo de cepas. La falta de procedimientos unificados generaba variabilidad en los resultados y limitaba la reproducibilidad de las prácticas académicas, lo que evidenció la necesidad de establecer y validar procesos estandarizados dentro de la universidad. La aceptación y credibilidad de sus resultados depende de la identificación de las fuentes de variabilidad, de su control y de la documentación que así lo demuestre. En diciembre de 1999, se publicó la primera versión de norma internacional ISO, y en 2017 la última versión de la ISO 17025, que establece los requisitos administrativos y técnicos que debe cumplir un laboratorio de pruebas, calibración tal y como lo describe la norma para obtener reconocimiento internacional, dentro del contexto de la Organización Mundial del Comercio. [2]

La norma ISO/IEC 17025:2017 propone una serie de instrucciones para el seguimiento de dicha garantía de la validez de los resultados analíticos. Así, este estándar requiere que los laboratorios pongan en marcha procedimientos que permitan seguir y registrar de forma tal

que las tendencias obtenidas sean identificables y se pueda aplicar algún tratamiento estadístico para su correspondiente análisis. Esto es con el objeto de que se garantice que los resultados cumplan, por lo menos, con una serie de criterios y se pueda asegurar que el proceso analítico se ha mantenido íntegro.[3]

Aun así, la norma ISO/IEC 17025:2017 como norma internacional obtiene relevancia propiamente dicha cuando destaca la necesidad de llevar a cabo chequeos funcionales y verificaciones intermedias en el equipo de ensayo a fin de mantener la confianza en el estado de calibración y de la condición funcional de los instrumentos utilizados; a la par que propone el uso de materiales de referencia en el uso de los mismos y de los duplicados o réplicas para valorar la precisión y la consistencia del método analítico. A partir de cierto punto de la norma ISO/IEC 17025:2017, hace referencia a la participación en ensayos de aptitud y en comparar los resultados entre laboratorios, lo que permitirá identificar desviaciones como resultado de las comparaciones incitadas a nivel de resultados, así como de las mejoras que se producirán en el flujo de competencias técnicas con el resto de laboratorios.[3]

De igual manera la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), indica que la preparación de medios de cultivo debe realizarse bajo condiciones estandarizadas, siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante en cuanto a composición, ajuste de pH, esterilización y almacenamiento. La USP establece la obligación de aplicar el Ensayo de Promoción de Crecimiento (Growth Promotion Test, GPT) para cada lote de medio preparado, con el fin de verificar su capacidad para permitir el crecimiento de microorganismos objetivo y, en el caso de medios selectivos, asegurar la inhibición de especies no deseadas. De igual manera, se requiere la realización de pruebas de esterilidad para confirmar la ausencia de contaminación. Estas directrices refuerzan la importancia de contar con modelos estandarizados y validados en la preparación de medios y en el manejo de cepas dentro del laboratorio, garantizando la reproducibilidad, confiabilidad y calidad de los resultados obtenidos, especialmente en contextos académicos donde la formación técnica depende de prácticas rigurosas y controladas. [3]

La formación y educación de los futuros bacteriólogos que desempeñarán sus funciones en laboratorios de microbiología. Resulta esencial promover el desarrollo de competencias específicas, alineadas con los resultados de aprendizaje de los componentes formativos pertinentes, para garantizar una preparación adecuada y efectiva en el ejercicio profesional. De no ser así, las consecuencias se pueden volver muy significativas, entre ellas, la realización de procedimientos innecesarios al paciente, los retrasos en la obtención de un

resultado correcto y la ejecución de pruebas diagnósticas adicionales que se podrían evitar. Estas consecuencias incrementan los gastos, tanto en términos económicos como en tiempo y esfuerzos del personal. La mayoría de las técnicas analíticas implican diversos procedimientos que están sujetos a cierto grado de imprecisión y posibilidad de error. Por tal razón, es importante la realización de un control de calidad interno que asegure que los productos finales o valores analíticos, que son producidos por un laboratorio, sean fiables y adecuados para la finalidad que persiguen. De esta manera, un laboratorio microbiológico debe evaluar y documentar el desempeño de todos los aspectos de sus procedimientos, que incluye la calidad de la muestra, la eficiencia de los reactivos y antisueros, las coloraciones, los medios de cultivo, el funcionamiento de instrumentos o equipos, las cepas de referencia y la verificación o validación de los resultados obtenidos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar y validar el modelo de control de calidad aplicado a la preparación de medios de cultivo y al área de cepario, garantizando precisión, confiabilidad y adaptabilidad en el laboratorio central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

2.2. Objetivos específicos

- 1.** Aplicar pruebas de control de calidad en la preparación de medios de cultivo y el área de cepario, para determinar la precisión y confiabilidad del modelo estandarizado en el Laboratorio de central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
- 2.** Analizar la adaptabilidad del modelo de control de calidad a las condiciones y recursos del laboratorio central, con el fin de validar su implementación como herramienta académica y técnica.
- 3.** Diseñar una herramienta académica digital tipo OVA que consolide los procedimientos estandarizados, como apoyo pedagógico para el aprendizaje y la aplicación del modelo de control de calidad en microbiología.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Control de calidad

El control de calidad en el laboratorio es un mecanismo diseñado para detectar, reducir, y corregir posibles deficiencias analíticas, antes de emitir un resultado. Tiene por finalidad aumentar la calidad y confiabilidad de los resultados informados. El control interno de la calidad es el procedimiento que monitoriza la calidad de los resultados y permite aceptar o rechazar las series analíticas. El control externo de la calidad es la determinación del desempeño de cada laboratorio mediante la comparación con otros laboratorios. Ambos controles se utilizan a menudo en un laboratorio para asegurar la calidad de los resultados.

[4]

3.2 Control de Calidad en Laboratorios Microbiológicos

Según el artículo Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología de Marco Luis Herrera y Marlen Campos Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera se socializa que un laboratorio microbiológico, debe evaluar y documentar el desempeño de todos los aspectos de sus procedimientos. Esto incluye la calidad de la muestra, la eficiencia de los reactivos, los medios de cultivo, el funcionamiento de los diversos instrumentos o equipos y la verificación o validación de los resultados obtenidos.

En el control de calidad en laboratorios microbiológicos se debe:

- Mantener un registro de cada frasco de medio de cultivo, con el nombre del producto, nombre de la casa proveedora, fecha de recibo, fecha de expiración, número de lote y fecha en que se abrió el frasco.
- Cada lote preparado de medio de cultivo se debe probar antes de su uso rutinario, mediante la inoculación de microorganismos cuyo comportamiento se conoce, tanto para reacciones positivas, como negativas. Para esto pueden utilizarse cepas bacterianas control de la ATCC (American Type Culture Collection). Se debe guardar un registro de los resultados obtenidos.
- Las pruebas básicas de control de calidad de los medios preparados deben incluir: medición del pH, pruebas de esterilidad, capacidad de crecimiento y reacción, aspecto, dureza y profundidad del agar. [5]

Medio de cultivo	Microorganismo control	Reacción esperada
A. Sangre	<i>S. pyogenes</i>	β -hemólisis
	<i>S. pneumoniae</i>	α - hemólisis

A. Macconkey	<i>E. coli</i>	Crecimiento satisfactorio
	<i>E. faecalis</i>	Inhibición
A.BHI	<i>E. coli</i>	Crecimiento satisfactorio
	<i>S.aureus</i>	Crecimiento satisfactorio
Agar SS	<i>Salmonella sp</i>	Colonia incolora con H ₂ S
	<i>E. coli</i>	Colonia rosada
A. Chocolate	<i>H. influenzae</i>	Crecimiento satisfactorio

Tabla 1. Selección de microorganismos para control de calidad de los medios

Fuente: Elaboración propia

3.2.1 Repetibilidad

Se define, de acuerdo con el VIM (Vocabulario Internacional de Metrología), como la proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición, donde:

1. Estas condiciones son llamadas condiciones de repetibilidad.
2. Las condiciones de repetibilidad incluyen: el mismo procedimiento de medición, el mismo observador, el mismo instrumento de medición, utilizado bajo las mismas condiciones, el mismo lugar, repetición en un período corto de tiempo [6,9].

3.2.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando bajo condiciones de medición que cambian. Donde:

1. Una declaración válida de reproducibilidad requiere que se especifique la condición que cambia
2. Las condiciones que cambian pueden incluir: principio de medición, método de medición, observador, instrumento de medición, patrón de referencia, lugar, condiciones de uso, tiempo.
3. La reproducibilidad puede ser expresada cuantitativamente en términos de la dispersión característica de los resultados.
4. Se entiende que los resultados usualmente son corregidos. [6,9].

3.3 Evaluación de la calidad

La Evaluación y Control de la Calidad son los mecanismos que comprenden todas aquellas acciones y actuaciones cuyos objetivos son comprobar, verificar y evaluar el grado de cumplimiento de una serie de criterios e indicadores básicos respecto a un plan de formación.

La evaluación de la calidad es un proceso que consta de dos actividades fundamentales: medición y comparación.

3.3.1 ISO 17025:2017 Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.

La Norma ISO 17025 proporciona los requisitos necesarios que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración, facilitando la armonización de criterios de calidad. El objetivo principal de ésta es garantizar la competencia técnica y la fiabilidad de los resultados analíticos. La norma contiene tanto requisitos de Gestión como requisitos Técnicos que inciden sobre la mejora de la calidad del trabajo realizado en los laboratorios.

Favoreciendo la creación de un conocimiento colectivo que facilita la integración del personal, y un profundo conocimiento interno de la organización, proporcionando flexibilidad en la adaptación a necesidades y cambios del entorno. Estos requisitos son empleados como herramientas para la difusión de un conocimiento colectivo, que facilita la integración del personal, proporciona flexibilidad en la adaptación a cambios del entorno y permite detectar problemas para su resolución anticipada. Finalmente, la Acreditación del Laboratorio será el reconocimiento formal de la competencia y capacidad técnica para llevar a cabo análisis

3.3.2 ISO 11133:2014, Microbiología de alimentos, piensos y agua: Preparación, producción, almacenamiento y análisis de rendimiento de medios de cultivo

La norma ISO 11133:2014 define los términos relacionados con el aseguramiento de la calidad de los medios de cultivo y especifica los requisitos para la preparación de medios de cultivo además de la información sobre la producción de medios de cultivo, la norma describe los procedimientos de las pruebas de rendimiento y define los criterios mínimos de aceptación para obtener resultados microbiológicos consistentemente fiables. [7]

3.3.3 ISO 15189:2022 Laboratorios clínicos. Requisitos para la calidad y la competencia

La norma ISO 15189 es una norma internacional que especifica los requisitos de calidad y competencia en los laboratorios médicos. Esta norma es aplicable a los laboratorios médicos en el desarrollo de sus sistemas de gestión de la calidad (SGC) y la evaluación de su competencia. Su objetivo es promover el bienestar de los pacientes y la satisfacción de los usuarios del laboratorio mediante la confianza en la calidad y la competencia de los laboratorios médicos. La norma contiene los requisitos mínimos de calidad y competencia, y anima a los servicios a reconocerlos y a esforzarse por la mejora continua de la calidad. [17]

3.4 Medio de cultivo

Los medios de cultivo se denominan como un conjunto de componentes o sustancias sintéticas y/o naturales empleados para permitir la multiplicación, mantenimiento,

recuperación, crecimiento, detección, transporte y/o enumerar diferentes microorganismos como bacterias, hongos y algunos parásitos. El laboratorio Central de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca produce gran variedad de medios de cultivo enriquecidos, selectivos, pruebas bioquímicas y soluciones en diferentes presentaciones, volúmenes y consistencia; fabricados por método directo o fórmula bajo solicitudes de pedido según la necesidad académica. [8]

3.4.1 Clasificación de los medios de cultivo

Los medios de cultivo pueden ser clasificados teniendo en cuenta criterios muy diversos. Hasta el momento, no existe una clasificación única; sólo algunos autores o casas comerciales coinciden en las clasificaciones más sencillas, basadas, por ejemplo, en el estado físico (sólidos, semisólidos o semilíquidos y líquidos), o en la escala en que se emplean (de laboratorio o industriales). A continuación se exponen algunas de las clasificaciones más difundidas. [19]

3.4.1.1 Medios de cultivo según su consistencia

Líquidos: contienen nutrientes a los cuales se les adicionan sustancias con la capacidad de mantener estables un pH, entre ellos podemos encontrar el caldo nutritivo y caldo peptona.

Sólidos: se obtienen agregando agar (sustancia de tipo polisacárido que se obtiene de algas marinas) a un medio líquido determinado. Al tener un medio sólido, nos facilita obtener colonias bacterianas aisladas.

Semisólidos: similares a los medios sólidos, la única diferencia es que a estos se les disminuye la cantidad de agar, lo que permite conservar cepas bacterianas y la observación y registro de bacterias móviles. [20]

3.4.1.2 Medios de cultivo según su función

Medios Simples: Poseen los requisitos nutricionales para permitir el desarrollo bacteriano general, ejemplos: agar nutritivo, caldo nutritivo, entre otros.

Medios enriquecidos: Son medios simples o comunes, a los que se le añaden ciertos elementos como sangre, suero, líquido ascítico, huevo, glucosa, vitaminas, etc. lo que permite el aporte de factores de crecimiento o sustancias que neutralizan agentes inhibidores del crecimiento en bacterias exigentes nutricionalmente, entre algunos ejemplos: agar sangre, medio de Löwenstein-Jensen, enriquecido con huevo para facilitar el crecimiento de *Mycobacterium*; agar desoxicolato-lactosa (DLA), enriquecido con lactosa y desoxicolato.

Medio selectivo: El medio selectivo contiene agentes que permiten el crecimiento de ciertas bacterias, además de inhibir el crecimiento de otras. Los agentes inhibidores pueden ser fármacos antimicrobianos, tintes o alcoholes. Entre algunos ejemplos: agar Mac Conkey que

contiene cristal violeta, Thayer-Martin medio selectivo para *Neisseria spp.*, ya que posee antibióticos como la vancomicina colistina y nistatina, Löwenstein-Jensen con verde de malaquita es selectivo para *Mycobacterium spp.*

Medio diferencial: El medio diferencial distingue entre diferentes tipos de bacterias en función de la apariencia del cultivo. El medio diferencial contiene uno o más factores que hacen que bacterias, con ciertas características metabólicas o de cultivo, tengan una apariencia diferente a la de otras bacterias que crecen en la misma placa de agar. Este tipo de medio a veces también se le conoce como indicador del medio. En respuesta a los componentes del medio, las colonias bacterianas pueden cambiar de color o alterar la apariencia del medio mediante la producción de enzimas extracelulares. [21]

Entre algunos ejemplos: Agar eosina azul de metileno (EMB), diferencia *E. coli* (color verde metálico brillante) de colonias de *Enterobacter aerogenes* (color rosado, consistencia mucosa y crecimiento abundante). Agar sangre, diferencia variedades de *Streptococcus pyogenes* en *Streptococcus spp.* beta-hemolíticos de *Streptococcus spp.* alfa-hemolítico y gama hemolítica, Agar *Salmonella-Shigella* tiene lactosa y un indicador de pH que permite diferenciar las colonias de bacterias fermentadoras de este disacárido.

Medios de enriquecimiento: Son medios líquidos que favorecen o permiten la multiplicación de las bacterias cuando la muestra obtenida es muy pobre, entre algunos ejemplos: Caldo tioglicolato, favorece el crecimiento de las bacterias anaeróbicas, Caldo tetrationato favorece el crecimiento de bacterias microaerófilas, Los caldos bilis y de Muller-Kauffman, favorecen el crecimiento del género *Salmonella spp.*, Caldo o agua peptonada se utiliza para el crecimiento de *Vibrio Cholerae*. [8]

3.5 Área de Cepario

El área de cepario se define como el espacio físico y técnico destinado al almacenamiento, conservación, mantenimiento y control de cepas microbianas puras, que sirven como material biológico de referencia para la docencia, la investigación y el aseguramiento de la calidad en los laboratorios microbiológicos. Según Madigan et al. (2020), el cepario es una colección organizada de microorganismos que deben conservarse bajo condiciones controladas con el fin de mantener su viabilidad y estabilidad genética a lo largo del tiempo.

Por su parte, la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2016) señala que los bancos de cepas son herramientas clave en el aseguramiento de la calidad microbiológica, pues permiten rastrear el origen, manipulación y características de cada microorganismo mediante registros y protocolos de trazabilidad. [13] .

En la institución actualmente se usan alrededor de 108-115 cepas entre bacterias y hongos para los diversos componentes según los objetivos de cada uno, [1] .

3.5.1 Ingreso de la cepa al laboratorio central

El ingreso de cada cepa se puede dar de dos maneras diferentes. Una es mediante la compra de la misma, siendo ésta una cepa de referencia, solicitada a partir de un proceso de compra con cartera, donde usualmente se trata de un microorganismo de difícil adquisición o mantenimiento, la otra manera de ingreso es a partir de donación por parte de docentes o por temas investigativos. [1] .

3.5.2 Mantenimiento y conservación de la cepa en el laboratorio central

Para la conservación de las cepas existe el sistema de congelación a -70°C , que es realizada mediante crioviales, siendo este un sistema evaluado por la misma institución en 18 especies bacterianas autóctonas de la colección de cultivos del Programa de Bacteriología de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá- Colombia.

El método de congelación se basa en el crecimiento de la cepa por 24h o 48 horas según sea su característica, con el propósito de tener el microorganismo en fase de latencia ya que de esta manera se encuentra metabólicamente inactivo. Seguido de ello se realiza la preparación del criovial con 1 ml de caldo BHI para preservar de forma mínima el metabolismo del microorganismo y con ellos ayudar a su viabilidad con el tiempo, luego se coloca una asada de 10uL de la cepa de interés y 100 uL de glicerol el cual se aplica para crioproteger los microorganismos. Realizados los crioviales se conservan en el congelador REVCO a -70°C , que posee 4 niveles de organización, donde el primer y segundo espacio se conservan los microorganismos adscritos a la colección de cultivos. En reserva por cada cepa se conservan de 9 a 10 viales, donde cada semestre se usa un vial, es así como estos viales duran 4 años y medio, exceptuando las cepas de difícil crecimiento, que necesitan ser reconstituidas cada vez sean solicitadas y no es posible generar un banco de cepario de las mismas.

Para la conservación de cepas de hongos se realiza usando un pluck, es decir, un pedazo del hongo con el agar y se pasa a un papel de filtro y este también es almacenado a -70°C bajo el mismo protocolo de conservación descrito anteriormente.

Para la descongelación de los microorganismos se debe retirar el vial congelado y esperar hasta su completa descongelación antes de la recuperación de los microorganismos. Seguido a ello se realiza la inoculación de una asada de microorganismo de interés en caldo BHI y se incuba a 37°C para posteriormente ser sembrado en los medios selectivos. [1] .

3.5.3 Reproducción de cepas en el laboratorio central

Anualmente se realiza la reproducción de cepas (tomando los crioviales de interés) a los diferentes agares para mantener el banco de cepario según las necesidades de la institución. El alistamiento de este material se hace usualmente entre noviembre y diciembre, donde se descongelan nuevas cepas y se realiza su pase a medios de cultivo nutritivos mediante siembra por agotamiento, incubando según requerimientos de temperatura de cada microorganismo y posteriormente se cubren con parafilm para llevar a refrigeración durante 6 meses, realizando pases mensualmente. [1] .

3.5.4 Alistamiento de material académico

En enero se realiza la verificación del primer pase en los medios de cultivo refrigerados y se evalúa la viabilidad de las cepas mediante la realización de un nuevo pase observando sus características morfológicas, capacidad de hemólisis y funcionalidad bioquímica de cada microorganismo en su medio. Es importante tomar en cuenta que el banco de cepario con las cepas ya crecidas en medios nutritivos se tienen como reserva para las necesidades mensuales, sin embargo, microorganismos de difícil crecimiento como *Neisseria spp*, *Moraxella spp.* y *Brucella spp.* no se encuentran en el cepario, ya que solo se sacan de congelación al ser requeridas. [1] .

3.5.5 Recuperación de cepas en el laboratorio central

Bacterias: Para la recuperación de las cepas, inicialmente se realiza una siembra en agar BHI y se incuban a 37°C por 24h. Luego se ajusta de acuerdo al tubo 0.5 escala Macfarland y se siembra en un agar selectivo para cada uno de los microorganismos.

Hongos Filamentosos: Se realiza siembra en agar PDA para Hongos Filamentosos y luego se incuban a 25 °C por 5 días o el tiempo que requiera cada cepa. El porcentaje de recuperación debe ser mayor al 70%. Si se posee cepas ATCC se realiza una comparación del recuento del medio de referencia del lote analizado en relación con el recuento del medio de cultivo a evaluar. [1] .

3.5.6 Estandarización de procesos en el área de cepario

En el ámbito académico, la estandarización de los procesos en el área de cepario no solo representa un respaldo microbiológico, sino que también constituye una herramienta pedagógica fundamental. Su implementación garantiza que los estudiantes trabajen con microorganismos viables y seguros, promueve la uniformidad en las prácticas de laboratorio y asegura que los resultados obtenidos sean comparables entre diferentes grupos. La estandarización requiere establecer protocolos claros de ingreso, conservación y uso de cepas, mantener una documentación sistemática que incluya hojas de vida, registros de congelación

y trazabilidad, así como garantizar la capacitación constante de docentes y estudiantes y realizar evaluaciones periódicas de viabilidad y pureza de las cepas. [18]

3.5.7 Control de calidad de procedimientos en el área de cepario del laboratorio central

El control de calidad en el área de cepario constituye un componente esencial para garantizar la fiabilidad y la trazabilidad de los procesos microbiológicos que se desarrollan en el laboratorio. Este control tiene como propósito principal asegurar que las cepas conservadas mantengan sus características morfológicas, fisiológicas y genéticas estables a lo largo del tiempo, evitando alteraciones que puedan comprometer la validez de los resultados en ensayos académicos, clínicos o investigativos.

Las actividades de control de calidad comprenden la verificación de parámetros fundamentales como la productividad o crecimiento, selectividad, recuperación, viabilidad, pureza e identificación. La productividad se evalúa mediante el crecimiento adecuado de las cepas en medios nutritivos; la selectividad, a través del desarrollo específico en medios diferenciales o selectivos; la recuperación, verificando que el porcentaje de crecimiento sea superior al 70%; la viabilidad, observando la capacidad de las cepas para reproducirse en condiciones óptimas de incubación; y la pureza e identificación, mediante la observación morfológica, la coloración de Gram y la confirmación bioquímica. [1] .

3.5.7.1 Productividad (o crecimiento)

La productividad se define como la capacidad de un medio de cultivo o una cepa para generar un crecimiento visible y característico del microorganismo en condiciones óptimas de incubación. Este parámetro verifica que la cepa mantiene su potencial de multiplicación y que el medio proporciona los nutrientes necesarios para su desarrollo.

3.5.7.2. Selectividad

La selectividad evalúa la capacidad de un medio de cultivo para favorecer el desarrollo del microorganismo objetivo e inhibir el crecimiento de flora acompañante o no deseada. Este parámetro confirma que la cepa responde adecuadamente a las características diferenciales o inhibitorias del medio selectivo. En el control del cepario, se utiliza para verificar la identidad funcional de la cepa, inoculándola en medios selectivos o diferenciales (por ejemplo, MacConkey, EMB, MSA) y comprobando su crecimiento esperado y las reacciones características (color, halo, fermentación).

3.5.7.3 Viabilidad

La viabilidad se refiere a la capacidad de los microorganismos para mantenerse vivos y capaces de reproducirse después de ser sometidos a condiciones de almacenamiento prolongado o manipulación.

En el cepario, la viabilidad se determina mediante el crecimiento visible en un medio adecuado tras la descongelación o reactivación. La pérdida de viabilidad indica fallas en las condiciones de conservación, crioprotección o control de temperatura.

3.5.7.4 Identificación

Según la OPS (2016) y la ISO 15189:2022, la identificación puede realizarse mediante métodos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos o moleculares, dependiendo del nivel de precisión requerido. En el cepario del laboratorio central, para la identificación se realiza la coloración de Gram de 3 colonias diferentes para comprobar la compatibilidad morfológica con el microorganismo esperado y pruebas bioquímicas básicas (como oxidasa, catalasa, fermentación de azúcares). [13].

4. DISEÑO METODOLÓGICO

El control de calidad en la producción de medios de cultivo es un proceso esencial porque garantiza que los medios preparados cumplan con los requisitos necesarios para el crecimiento, inhibición y el aislamiento de microorganismos específicos. La presente metodología describe de manera sistémica el procedimiento para la evaluación de medios de cultivo, pruebas bioquímicas y cepas microbianas.

4.1. Control de calidad de las cepas.


El control de calidad comprende desde la verificación de parámetros fundamentales como la productividad o crecimiento, selectividad, recuperación, viabilidad, pureza e identificación. La productividad se evalúa mediante el crecimiento adecuado de las cepas en medios nutritivos; la selectividad, a través del desarrollo específico en medios diferenciales o selectivos; la viabilidad, observando la capacidad de las cepas para reproducirse en condiciones óptimas de incubación; y la pureza e identificación, mediante la observación morfológica, la coloración de Gram y la confirmación bioquímica. [1].

4.1.1 Técnica de control de calidad de las cepas.

PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD	DESCRIPCIÓN
Pureza e identificación	Se debe observar el crecimiento en los medios selectivos y diferenciales comprobando la regularidad de las características morfológicas de las colonias y evidenciando las reacciones bioquímicas como fermentación, producción de pigmentos o formación de compuestos específicos si es lo esperado dependiendo de cada cepa. Para la identificación se realiza la coloración de Gram de 3 colonias diferentes para comprobar la compatibilidad morfológica con el microorganismo esperado.
Productividad	Se realiza la inoculación de microorganismos en medios de cultivo nutritivos y se evalúa su crecimiento.
Selectividad	Las cepas se verifican utilizando medios de cultivo selectivos los cuales contienen inhibidores específicos que restringen el crecimiento de microorganismos no deseados. Cada cepa a evaluar se inocula en el medio correspondiente con el fin de confirmar su crecimiento exclusivo.

Viabilidad	Se realiza la inoculación de los microorganismos con asa calibrada en los medios selectivos para su crecimiento. Seguido a ello se incuban a la temperatura óptima de cada uno entre 18 y 24 horas y se observa su crecimiento.
Actividad enzimática	Se realizan los montajes de pruebas bioquímicas mediante método automatizado como el VITEK, el cual se basa en la inoculación de una suspensión de microorganismos en tarjetas con determinados paneles de reacciones bioquímicas. Por otro lado, puede realizarse de forma manual, tomando en cuenta los reactivos necesarios para cada una de las pruebas.

Estos controles se complementan con la documentación detallada de cada cepa en su respectiva hoja de vida (Tabla 2), donde se registran su origen, método de conservación, condiciones de almacenamiento, pases realizados y resultados de las evaluaciones. De esta manera, se asegura la trazabilidad del proceso, permitiendo detectar posibles fallas y aplicar acciones correctivas oportunas. Además, la implementación sistemática de estos controles garantiza la disponibilidad de cepas viables y confiables para la preparación de medios de cultivo, prácticas docentes y actividades de investigación.

	UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA LABORATORIO CENTRAL
Hoja de Vida de Cepa	
Campo	Información
Género y especie	
Tipo de microorganismo	<input type="checkbox"/> Bacteria <input type="checkbox"/> Hongo <input type="checkbox"/> Levadura <input type="checkbox"/> Otro _____
Origen de la cepa	<input type="checkbox"/> Donación docente <input type="checkbox"/> Aislamiento interno <input type="checkbox"/> Adquisición comercial <input type="checkbox"/> Proyecto de investigación
Fecha de ingreso al cepario	
Responsable del ingreso	
Condiciones de conservación	
Método de conservación	<input type="checkbox"/> Criopreservación <input type="checkbox"/> Congelación <input type="checkbox"/> Subcultivo refrigerado <input type="checkbox"/> Otro _____
Medio de preservación	<input type="checkbox"/> Caldo BHI + Glicerol 10% <input type="checkbox"/> Agar nutritivo <input type="checkbox"/> Papel filtro (pluck) <input type="checkbox"/> Otro
Ubicación física	Congelador: _____ / Estante: _____ / Nivel: _____ / Posición: _____ Refrigerador _____ Estante: _____ / Nivel: _____ / Posición: _____

Fecha de última verificación	
Método de identificación	<input type="checkbox"/> Coloración de Gram <input type="checkbox"/> Pruebas bioquímicas manuales <input type="checkbox"/> VITEK <input type="checkbox"/> MALDI-TOF <input type="checkbox"/> PCR
Resultado de viabilidad	<input type="checkbox"/> Viable <input type="checkbox"/> No viable
Observaciones	

Historial de movimientos			
Fecha	Procedimiento	Responsable	Observaciones

Tabla 2: Formato hoja de vida de cepa.

Todo movimiento o manipulación de la cepa debe estar sustentado con la firma del responsable y la fecha de ejecución. Los registros de las hojas de vida de las cepas se archivan y se integran al sistema de gestión documental del laboratorio central.

4.2. Técnica estandarizada para la preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas.

PASOS	DESCRIPCIÓN
Ingreso y almacenamiento de materiales	Al ingresar los agares deshidratados y reactivos al laboratorio, se debe realizar su registro en el inventario institucional. Cada medio recibe un código de trazabilidad que permite identificar su lote, fecha de vencimiento y proveedor. Es fundamental verificar la disponibilidad y estado físico de los insumos antes de su utilización. Posteriormente, los medios y reactivos se almacenan en condiciones adecuadas de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, generalmente en un ambiente fresco, seco y protegido de la luz, con el fin de preservar su estabilidad y calidad.
Limpieza y desinfección previa	Se realiza la desinfección de las superficies de trabajo con hipoclorito y posteriormente alcohol al 70%. En cuanto al material utilizado, se emplea material de vidrio previamente lavado con detergente y sometido al proceso de esterilización en el autoclave específico para ello.
Preparación del	Para la preparación del medio de cultivo, se debe consultar previamente la ficha


medio	técnica o las instrucciones descritas en el envase del producto. Con base en esta información, se calcula la cantidad exacta de agar y de agua destilada necesaria para la formulación. El agar se pesa en una balanza calibrada, asegurando precisión en la medición. Posteriormente, se disuelve completamente en el volumen adecuado de agua destilada mediante calentamiento. En caso de ser necesario, se ajusta el pH del medio con soluciones reguladoras. Una vez preparado el medio debe ser etiquetado con: nombre del medio, fecha de preparación y responsable.
Esterilización	El medio preparado se somete a un proceso de esterilización en autoclave para garantizar la eliminación de posibles microorganismos contaminantes. Antes de iniciar el ciclo, se verifican las condiciones del equipo, incluyendo nivel de agua, funcionamiento de válvulas y temperatura de operación. La esterilización se realiza siguiendo el tiempo y la temperatura recomendados por el fabricante o el protocolo institucional (generalmente 121 °C durante 15 minutos). Al finalizar, se registra el ciclo de esterilización, asegurando trazabilidad del proceso.
Dispensación	Una vez esterilizado, el medio debe ser dispensado en caliente bajo condiciones estrictamente asépticas. Para ello, se verifica previamente que los tubos o cajas de Petri estén esterilizados. Durante la dispensación, se encienden mecheros o se trabaja dentro de una campana de flujo laminar, evitando corrientes de aire que puedan favorecer la contaminación. El medio se vierte cuidadosamente y se deja enfriar hasta lograr su solidificación. Cada recipiente se etiqueta con el nombre del medio y la fecha de preparación.
Almacenamiento	Cuando el medio ya está solidificado, se almacena en refrigeración a aproximadamente 4 ± 2 °C para mantener su estabilidad y prolongar su vida útil. Los medios se organizan siguiendo el sistema FIFO (First In – First Out), asegurando que se utilicen primero los medios más antiguos. Finalmente, se actualiza el inventario para mantener un registro claro de la disponibilidad y estado de los medios preparados.

Infografía de la técnica de preparación de medios en el anexo 4.

4.2.1 Lista de verificación

Se elaboró una lista de verificación con el objetivo de utilizarla durante la preparación de los medios de cultivo, con el fin de corroborar en tiempo real que cada una de las etapas del proceso se ejecute conforme a los pasos establecidos en la técnica previamente estandarizada.

Se elaboraron ítems enfocados en los procesos de ingreso y almacenamiento de materiales, preparación del medio, esterilización, dispensación y almacenamiento de los medios de cultivo, corroborando que se estuvieran realizando de manera adecuada.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA LABORATORIO CENTRAL.					
RESPONSABLE VERIFICACIÓN: _____			RESPONSABLE DEL ÁREA O PROCESO: _____		
ÁREA A EVALUAR:	PROCESO:	FECHA: _____		HORA: _____	
Ítem	Descripción	C	NC	Observaciones	
1. Almacenamiento de Materiales	Verificar disponibilidad en inventario.				
	Almacenamiento de medios en condiciones adecuadas.				
2. Preparación del Medio	Consultar las instrucciones del fabricante en el frasco del medio para su preparación				
	Calcular la cantidad necesaria de agar y agua destilada según el inserto.				
	Pesar el agar en balanza calibrada (La fecha de calibración se encuentra en una etiqueta sobre la balanza).				
	Disolver el agar completamente en agua destilada.				
	Ajustar el pH si es necesario.				
	Etiquetar el frasco o vial con nombre del medio, cantidad y fecha.				
3. Esterilización	Verificar las siguientes condiciones del autoclave antes de usar: <ul style="list-style-type: none"> ● Que se encuentre limpio. ● Cámara vacía ● Nivel adecuado de agua <i>(De ser necesario el manual del fabricante se encuentra en el archivo de control de equipos en recepción).</i>				
	Esterilizar el medio según el tiempo y temperatura recomendados según el inserto de cada medio (generalmente 121 °C durante 15 minutos)				
	Registrar el ciclo de esterilización.				
4. Dispensación	Verificar que los tubos o cajas estén esterilizados previamente.				
	Servir el medio aún caliente en condiciones asépticas.				
	Encender mecheros durante la dispensación.				

	Evitar corrientes de aire durante el proceso.			
	Dejar enfriar y solidificar el agar.			
	Etiquetar cada caja o tubo con nombre del medio y fecha.			
5. Almacenamiento	Refrigerar medios a ± 4 °C una vez solidificados.			
	Organizar por fecha de producción (FIFO).			
	Registrar ubicación e inventario actualizado.			
Responsable de la verificación X _____				

Tabla 3: Lista de verificación de medios de cultivo.

C: Cumple NC: No cumple

Fuente: Elaboración propia

Luego de verificar que la técnica estandarizada se está aplicando correctamente en el momento de la elaboración de los medios de cultivo y pruebas bioquímicas, se procede a iniciar la etapa de evaluación experimental del control de calidad. Este procedimiento incluye la verificación de la esterilidad del medio (prueba de esterilidad) y la evaluación de su capacidad de selectividad y/o inhibición (prueba de selectividad y crecimiento).

4.2.2 Muestra

Se evaluó un total de 326 medios, correspondientes a 188 medios de cultivo y 136 pruebas bioquímicas.

Medio de cultivo	Cantidad evaluada	Prueba bioquímica	Cantidad evaluada
A. Actinomyces	2	Almidón	4
A. Sabouraud Dextrosa	6	Arabinosa	12
A. Sangre	8	Arginina	2
A. Tripticasa de Soya	2	Bilis Esculina	2
A. XLD	6	Bilis verde brillante	10
A. BHI	10	Citrato simmons	10
A. Sabouraud Cloranfenicol	4	Fructosa	2
A. Manitol	2	Glucosa	4
A. Nutritivo	10	LIA	10
A. Chocolate	10	Lactosa	4

A. Chocolate + Isovitalex	6	Lisina	2
A. DTM	6	MIO	6
A. Dicloran Sabouraud	2	Maltosa	2
A. King B	6	Manitol	6
A. Mueller Hinton	2	Motilidad	10
A. Mueller Hinton 2% glucosa	2	Ornitina	2
A. Muller Hilton + sangre	4	Sacarosa	4
Xilosa	6	TSI	16
A. Oxford	4	Triptófano	12
A. PDA	8	Urea	10
A. Nutritivo + sacarosa	2	Xilosa	6
A. Cled	8	Total	136
A. Rosa de bengala	8		
A. Nutritivo + 1% NaCl	4		
A. Chromagar candida	4		
A. CMO	2		
A. MRS	6		
A. Macconkey	16		
A. Cetrimide	8		
A. EMB	6		
A. Salado manitol	4		
A. ENDO	2		
A. Hektoen entérico	6		
A. TCBS	4		
A. S.S	8		
Total	188		

Tabla 5: Cantidad de medios y pruebas bioquímicas evaluados.

4.2.3 Inspección visual

Se realiza una primera inspección visual a los medios de cultivo y pruebas bioquímicas teniendo en cuenta color, turbidez, solidificación y pH del medio.

4.2.4 Selección de cepas

Se hace una selección de las cepas microbianas necesarias tanto para la siembra en los medios como para la realización de pruebas bioquímicas, teniendo en cuenta la finalidad de

cada medio de cultivo. Las cepas utilizadas correspondieron a cepas de trabajo suministradas desde el área de cepario por la docente encargada del área, María José Jiménez. Así mismo a todas las cepas se les realizaron las pruebas correspondientes.

Bacterias Gram Negativas	Bacterias Gram Positivas	Hongos y Levaduras
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus</i>	
<i>Salmonella enterica</i>	<i>Streptomyces griseus</i>	
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		

Para consultar más información sobre las cepas utilizadas remitirse al archivo del laboratorio central donde se encuentra la hoja de vida de cada una de las cepas.

4.2.5 Prueba de selectividad y crecimiento óptimo

En una de las cajas, se siembran dos tipos de microorganismos: uno que debe presentar un crecimiento óptimo y otro que debe ser inhibido por el medio si este es el fin del mismo, en caso de ser un medio enriquecido sin ningún tipo de inhibidor se siembran dos cepas, las cuales presentan morfología colonial distinta. Incubar según el tipo de microorganismo, si se trata de hongos a temperatura ambiente, microorganismos exigentes a 37 °C en atmósfera con CO₂ y gérmenes comunes a 37 °C en condiciones estándar.

En caso de ser pruebas bioquímicas se siembran las cepas microbianas anteriormente seleccionadas con el fin de poder evidenciar los distintos procesos bioquímicos que se deben llevar a cabo como lo es la generación de H₂S, gas, fermentación de azúcares, etc.



Imagen 1: prueba de selectividad y crecimiento óptimo en agar EMB, inoculada con Escherichia coli con crecimiento Satisfactorio y Staphylococcus aureus, inhibido por el medio

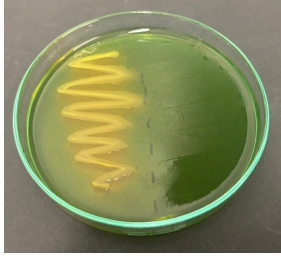


Imagen 2: prueba de selectividad y crecimiento óptimo en agar TCBS, inoculado con Vibrio cholerae con crecimiento Satisfactorio y Escherichia coli, inhibido por el medio.



Imagen 3: prueba de selectividad y crecimiento óptimo en agar MSA, inoculado con Staphylococcus aureus con crecimiento Satisfactorio y fermentación del medio y Escherichia coli, inhibido por el medio.

4.2.6 Prueba de esterilidad

La segunda caja o tubo se deja sin inocular, y se emplea como control de esterilidad para verificar la ausencia total de contaminación. Incubar a 37 °C en condiciones estándar.

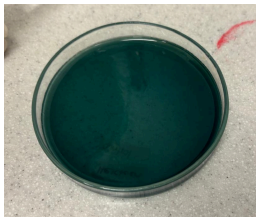


Imagen 4: Resultado prueba de esterilidad satisfactorio en agar CLED, medio sin inocular, incubado a 37 °C durante 48 horas.

4.2.7 Lectura y registro de resultados

Se realiza la observación de las cajas y tubos a las 24 y 48 horas de incubación, evaluando crecimiento y morfología colonial, en caso de ser pruebas bioquímicas, se evalúa los procesos bioquímicos como lo es la generación de H₂S, gas, fermentación de azúcares, etc. Se documentan los resultados mediante registros fotográficos y se consignan en una bitácora de laboratorio.


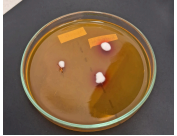


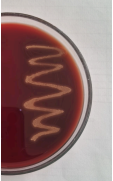
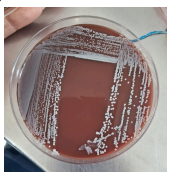
4.2.8 Registro digital de datos y análisis de resultados

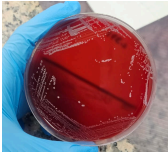

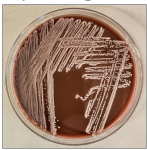
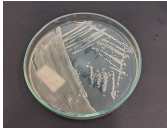
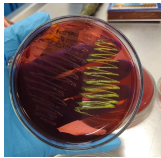
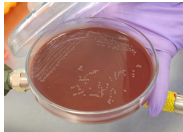
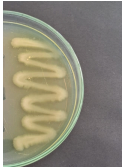
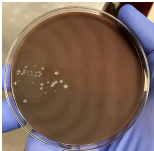
Los resultados obtenidos se registran en una hoja de cálculo en Excel, se realiza el análisis de los datos registrados para evaluar la calidad de los medios de cultivo, determinando su eficacia, esterilidad y capacidad de inhibición o promoción del crecimiento microbiano según lo esperado.

5. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos tras la implementación del modelo estandarizado de control de calidad y el control microbiológico de las cepas utilizadas.

5.1 Resultados de las cepas evaluadas

Microorganismo	Morfología colonial	Tinción y morfología microscópica	Prueba bioquímica
<i>Aspergillus niger</i> 	Colonias negras con reverso blanco-amarillento, textura algodonosa. 1.00 cumplimiento	KOH: Hifas septadas, conidióforos con cabezas conidiales negras 1.00 cumplimiento	No aplica
<i>Trichophyton rubrum</i> 	Colonias blancas algodonosas, reverso rojo vino. 1.00 cumplimiento	KOH: Hifas septadas con microconidios en forma de lágrima 1.00 cumplimiento	No aplica
<i>Candida albicans</i> 	Colonias cremosas, brillantes, beige. 1.00 cumplimiento	Levaduras ovaladas 1.00 cumplimiento	No aplica
<i>Streptococcus pyogenes</i> 	Colonias pequeñas, translúcidas 1.00 cumplimiento	Gram positivo cocos en cadenas 1.00 cumplimiento	β -hemólisis en agar sangre 1.00 cumplimiento
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 	Colonias umbilicadas, mucosas 1.00 cumplimiento	Gram positivo cocos 1.00 cumplimiento	α -hemólisis 1.00 cumplimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> 	Colonias doradas, redondas 1.00 cumplimiento	Gram positivo cocos en racimos 1.00 cumplimiento	Catalasa + / Coagulasa + 1.00 cumplimiento

<p><i>Enterococcus faecalis</i></p> 	<p>Colonias grisáceas, pequeñas</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram positivo cocos en cadenas cortas</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Bilis esculina +</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Lactobacillus spp.</i></p> 	<p>Colonias blancas, cremosas</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram positivo bacilos largos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Catalasa - / fermentador de lactosa</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Streptomyces griseus</i></p> 	<p>Colonias secas, aspecto "polvoso" blanquecino</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram positivo</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>No aplica</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Bacillus subtilis</i></p> 	<p>Colonias irregulares, secas, bordes ondulados</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram positivo bacilos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Catalasa +</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Escherichia coli</i></p> 	<p>Colonias lisas beige, olor característico</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram negativo bacilos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Fermenta lactosa en MacConkey; Indol +</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Haemophilus influenzae</i></p> 	<p>Colonias pequeñas, grisáceas</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram negativo cocobacilos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Requiere factores X y V</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> 	<p>Colonias verde-azuladas, olor a uva</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram negativo bacilos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Oxidasa +</p> <p>1.00 cumplimiento</p>
<p><i>Proteus mirabilis</i></p> 	<p>Colonias con swarming (oleadas)</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Gram negativo bacilos</p> <p>1.00 cumplimiento</p>	<p>Urea +</p> <p>1.00 cumplimiento</p>

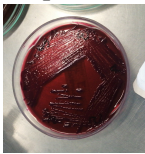
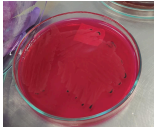
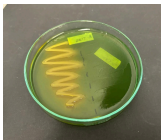
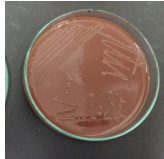
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 	Colonias mucosas y brillantes 1.00 cumplimiento	Gram negativo bacilos 1.00 cumplimiento	Urea positiva 1.00 cumplimiento
<i>Salmonella enterica</i> 	Colonias beige, sin fermentación de lactosa 1.00 cumplimiento	Gram negativo bacilos 1.00 cumplimiento	H2S +, K/A en TSI 1.00 cumplimiento
<i>Vibrio cholerae</i> 	Colonias amarillas en TCBS 1.00 cumplimiento	Gram negativo bacilos curvos 1.00 cumplimiento	Oxidasa + 1.00 cumplimiento
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 	Colonias translúcidas, brillantes 1.00 cumplimiento	Gram negativo diplococos 1.00 cumplimiento	Oxidasa + 1.00 cumplimiento

Tabla 4: Tabla de resultados de las cepas evaluadas. Imágenes obtenidas durante el proceso.

Se realizaron los controles de productividad, selectividad, viabilidad, pureza e identificación a las cepas conservadas y utilizadas en el Laboratorio Central. Para su respectivo análisis se establece un puntaje de calidad ideal de 1.00, el cual corresponde al máximo valor posible, indica que la cepa cumple adecuadamente con los estándares establecidos de calidad

Los resultados obtenidos fueron satisfactorios con un puntaje de calidad promedio de 1.00, evidenciando que todas las cepas cumplen con los parámetros microbiológicos esperados y mantienen sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas estables. Esto confirma la efectividad del protocolo de conservación y manejo implementado en el área de cepario, garantizando la confiabilidad y trazabilidad del material biológico empleado en las prácticas académicas y procedimientos técnicos.

5.2 Resultados de medios evaluados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos tras la implementación del modelo estandarizado de control de calidad en la preparación de medios de cultivo. La evaluación semanal de los medios de cultivo y pruebas bioquímicas, incluyó inspección visual, pruebas

de esterilidad, selectividad y crecimiento, evaluando un total de 188 medios de cultivo y 136 pruebas bioquímicas.

Para el análisis estadístico se establecieron las siguientes categorías: medios para hongos y levaduras. medios selectivos y diferenciales, medios nutritivos y pruebas bioquímicas.

5.2.1. Medios para mohos y levaduras

Medio de cultivo	Cantidad evaluada	Inspección Visual	Prueba de esterilidad	Prueba de selectividad y crecimiento óptimo
A. Actinomyces	2	100%	100%	100%
A. Sabouraud Dextrosa	6	100%	100%	100%
A. Sabouraud Cloranfenicol	4	100%	100%	75%
A. DTM	6	100%	100%	100%
A. Dicloran Sabouraud	2	100%	100%	100%
A. PDA	8	100%	100%	100%
A. Rosa de bengala	8	100%	100%	62.5%
A. Chromagar candida	4	100%	50%	75%
Total	40			

Inspección visual medios de cultivo: Los medios presentan las características esperadas en cuanto a color, turbidez, solidificación y pH del medio.

Prueba de esterilidad: Los medios de hongos y levaduras cumplieron con la prueba de esterilidad, evidenciando la ausencia de contaminación microbiana tras la incubación a 37°C. A excepción del medio *Chromagar Candida*, que presentó un 50% de cumplimiento debido a que la mitad de los agares presentó algún tipo de contaminación, lo que sugiere posibles inconsistencias en el proceso de preparación o esterilización.

Prueba de selectividad y crecimiento óptimo: Se establece un promedio ideal del 100% el cual corresponde al máximo valor posible. Los medios *Actinomyces*, *Sabouraud Dextrosa*, *DTM*, *Dicloran Sabouraud* y *PDA* alcanzaron un 100% de cumplimiento, evidenciando una inhibición efectiva de microorganismos no deseados y un desarrollo adecuado de los microorganismos específicos para cada medio, por otro lado el agar *Rosa de bengala* presenta un 62,5%, *Chromagar candida* y *Sabouraud* con cloranfenicol un 75% de cumplimiento, esto debido a que hubo crecimiento escaso o no se observó una inhibición adecuada.

5.2.2 Medios Selectivos y diferenciales

Medio de cultivo	Cantidad evaluada	Inspección Visual	Prueba de esterilidad	Prueba de selectividad y crecimiento óptimo
A. Sangre	8	87.5%	75%	100%
A. XLD	6	100%	66.7%	100%
A. Manitol	2	100%	100%	100%
A. King B	6	100%	66.7%	100%
A. Oxford	4	100%	100%	100%
A. Cled	8	100%	100%	87.5%
A. CMO	2	100%	100%	75%
A. MRS	6	100%	100%	66.7%
A. Macconkey	16	100%	100%	75%
A. Cetrimide	8	100%	100%	87.5%
A. EMB	6	100%	100%	83.3%
A. Salado manitol	4	100%	100%	75%
A. ENDO	2	100%	100%	100%
A. Hektoen entérico	6	100%	100%	83.3%
A. TCBS	4	100%	100%	75%
A. S.S	8	100%	100%	87.5%
Total	96			

Inspección visual medios de cultivo: Los medios presentan las características esperadas en cuanto a color, turbidez, solidificación y pH del medio, a excepción del agar sangre el cual tenía presencia de burbujas en su superficie en 1 de los medios evaluados por lo cual tiene un porcentaje de cumplimiento del 87.5%..

Prueba de esterilidad: Se evidencia en el Agar sangre un 75% de cumplimiento, XLD y King B un 66,7% de cumplimiento, lo que indica la presencia de contaminación microbiana y sugiere la necesidad de revisar las condiciones de esterilización y manipulación durante su preparación, los demás medios evaluados presentan un 100% de cumplimiento.

Prueba de selectividad y crecimiento óptimo: Los medios CLED, CMO, MRS, Macconkey, Cetrimide, EMB, Salado manitol, Hektoen entérico, SS, TCBS obtuvieron valores por debajo del 100%. Lo anterior debido a que no se observó una inhibición adecuada, o los medios que tenían que producir H₂S, fermentación u otras características no lo hicieron, o se contaminaron debido a factores como la presencia de agua de condensación o posiblemente errores en el cálculo para la preparación.

5.2.3. Medios Nutritivos

Medio de cultivo	Cantidad evaluada	Inspección Visual	Prueba de esterilidad	Prueba de selectividad y crecimiento óptimo
A. Trypticase de Soya	2	100%	100%	100%
A. BHI	10	100%	100%	80%
A. Nutritivo	10	80%	100%	100%
A. Chocolate	10	90%	100%	100%
A. Chocolate + Isovitalex	6	83.33%	100%	100%
A. Mueller Hinton	2	100%	100%	100%
A. Mueller Hinton 2% glucosa	2	100%	100%	100%
A. Muller Hilton + sangre	4	100%	100%	100%
A. Nutritivo + sacarosa	2	100%	100%	100%
A. Nutritivo + 1% NaCl	4	100%	100%	75%
Total	52			

Inspección visual medios de cultivo: Los medios presentan las características esperadas en cuanto a color, turbidez, solidificación y pH del medio. Sin embargo, se detectaron ligeras variaciones en el color y apariencia de los medios *Nutritivos*, *Chocolate*, *Chocolate + Isovitalex*, posiblemente relacionadas con el sobrecalentamiento durante la preparación o a errores en el momento de servir el medio.

Prueba de esterilidad: Los medios nutritivos cumplieron con un 100% la prueba de esterilidad, evidenciando la ausencia de contaminación microbiana tras la incubación a 37°C.

Prueba de selectividad y crecimiento óptimo: 8 de los 10 medios nutritivos evaluados cumplió satisfactoriamente con la prueba. Los medios BHI y Nutritivo + 1% NaCl alcanzaron un 83% de cumplimiento, este resultado indica que hubo crecimiento escaso o nulo, lo que sugiere posibles variaciones en las condiciones de preparación y cálculo de las cantidades necesarias para la preparación del medio.

5.2.4. Pruebas bioquímicas

Prueba bioquímica	Cantidad evaluada	Inspección Visual	Prueba de esterilidad	Prueba de Selectividad y crecimiento óptimo
Almidón	4	100%	100%	100%
Arabinosa	12	100%	100%	100%
Arginina	2	100%	100%	100%

Bilis Esculina	2	100%	100%	100%
Bilis verde brillante	10	100%	100%	100%
Citrato simmons	10	100%	100%	100%
Fructosa	2	100%	100%	100%
Glucosa	4	100%	100%	100%
LIA	10	100%	100%	100%
Lactosa	4	100%	100%	100%
Lisina	2	100%	100%	100%
MIO	6	100%	100%	100%
Maltosa	2	100%	100%	100%
Manitol	6	100%	100%	100%
Motilidad	10	100%	100%	100%
Ornitina	2	100%	100%	100%
Sacarosa	4	100%	100%	100%
TSI	16	100%	100%	100%
Triptófano	12	100%	100%	100%
Urea	10	100%	100%	100%
Xilosa	6	100%	100%	100%
Total	136			

Inspección visual medios de cultivo: Los medios presentan las características esperadas en cuanto a color, turbidez, solidificación y pH del medio cumpliendo en su totalidad con la inspección visual.

Prueba de esterilidad: Las pruebas bioquímicas obtuvieron un 100% de cumplimiento, lo que evidencia ausencia de contaminación en los tubos utilizados como control, indicando que las condiciones de preparación y manipulación fueron en adecuadas.

Prueba de selectividad y crecimiento óptimo: Se evidencia cumplimiento del 100%, lo cual refleja la capacidad de las pruebas para llevar a cabo distintos procesos bioquímicos dependiendo de la cepa inoculada.

5.3. Efectividad

Se establece un puntaje de calidad ideal de 1.00, el cual corresponde al máximo valor posible, indica que el medio cumple adecuadamente con los estándares establecidos de calidad referentes a esterilidad, y crecimiento óptimo, reflejando un desempeño completamente satisfactorio.

Para la obtención del puntaje de calidad promedio se evaluaron tres parámetros: Prueba de esterilidad (S), crecimiento a 24 horas (M24) y crecimiento a 48 horas (M48). Los resultados

«Cumple» o «Satisfactorio» se codificaron como 1; «No cumple» o «Inhibido» como 0. El puntaje de calidad por medio-día se obtuvo con la expresión:

$$\text{Puntaje de calidad promedio} = \frac{(S + M24 + M48)}{n}$$

Donde n es el número de variables (prueba de esterilidad, crecimiento 24 horas, crecimiento a 48 horas) siendo una constante de 3. Posteriormente, se promediaron los valores del puntaje de calidad de todos los medios, obteniendo la media de calidad que representa su efectividad por grupo evaluado.

5.3.1 Puntaje de calidad promedio para medios de cultivo de mohos y levaduras: 0.90

Medio de cultivo	Prueba de esterilidad	Crecimiento 24H	Crecimiento 48H	Puntaje de calidad
A. Actinomyces	100%	1.00	1.00	1.00
A. Sabouraud Dextrosa	100%	1.00	1.00	1.00
A. Sabouraud Cloranfenicol	100%	0.75	0.75	0.83
A. DTM	100%	1.00	1.00	1.00
A. Dicloran Sabouraud	100%	1.00	1.00	1.00
A. PDA	100%	1.00	1.00	1.00
A. Rosa de bengala	100%	0.625	0.625	0.75
A. Chromagar candida	50%	0.75	0.75	0.66
Puntaje de calidad promedio				0.90

5.3.2 Puntaje de calidad promedio para los medios selectivos y diferenciales: 0.89

Medio de cultivo	Prueba de esterilidad	Crecimiento 24H	Crecimiento 48H	Puntaje de Calidad
A. Sangre	75%	1.00	1.00	0.91
A. XLD	66.7%	1.00	1.00	0.88
A. Manitol	100%	1.00	1.00	1.00
A. King B	66.7%	1.00	1.00	0.88
A. Oxford	100%	1.00	1.00	1.00
A. Cled	100%	0.875	0.875	0.91
A. CMO	100%	0.75	0.75	0.83

A. MRS	100%	0.66	0.667	0.77
A. Macconkey	100%	0.75	0.75	0.83
A. Cetrimide	100%	0.875	0.875	0.91
A. EMB	100%	0.833	0.833	0.88
A. Salado manitol	100%	0.75	0.75	0.83
A. ENDO	100%	1.00	1.00	1.00
A. Hektoen entérico	100%	0.833	0.833	0.88
A. TCBS	100%	0.75	0.75	0.83
A. S.S	100%	0.875	0.875	0.91
Puntaje de calidad promedio				0.89

5.3.3. Puntaje de calidad promedio para los medios nutritivos: 0.98

Medio de cultivo	Prueba de esterilidad	Crecimiento 24H	Crecimiento 48H	Prueba de selectividad y crecimiento óptimo
A. Tripticasa de Soya	100%	1.00	1.00	1.00
A.BHI	100%	0.83	0.83	0.88
A. Nutritivo	100%	1.00	1.00	1.00
A. Chocolate	100%	1.00	1.00	1.00
A. Chocolate + Isovitalex	100%	1.00	1.00	1.00
A. Mueller Hinton	100%	1.00	1.00	1.00
A. Mueller Hinton 2% glucosa	100%	1.00	1.00	1.00
A. Muller Hilton + sangre	100%	1.00	1.00	1.00
A. Nutritivo + sacarosa	100%	1.00	1.00	1.00
A. Nutritivo + 1% NaCl	100%	0.83	0.83	0.88
Puntaje de calidad promedio				0.98

5.3.4. Puntaje de calidad promedio para pruebas bioquímicas: 1.00

Prueba bioquímica	Prueba de esterilidad	Crecimiento 24H	Crecimiento 48H	Prueba de selectividad y crecimiento óptimo
Almidón	100%	1.00	1.00	1.00
Arabinosa	100%	1.00	1.00	1.00
Arginina	100%	1.00	1.00	1.00
Bilis Esculina	100%	1.00	1.00	1.00
Bilis verde brillante	100%	1.00	1.00	1.00
Citrato simmons	100%	1.00	1.00	1.00
Fructosa	100%	1.00	1.00	1.00
Glucosa	100%	1.00	1.00	1.00
LIA	100%	1.00	1.00	1.00

Lactosa	100%	1.00	1.00	1.00
Lisina	100%	1.00	1.00	1.00
MIO	100%	1.00	1.00	1.00
Maltosa	100%	1.00	1.00	1.00
Manitol	100%	1.00	1.00	1.00
Motilidad	100%	1.00	1.00	1.00
Ornitina	100%	1.00	1.00	1.00
Sacarosa	100%	1.00	1.00	1.00
TSI	100%	1.00	1.00	1.00
Triptófano	100%	1.00	1.00	1.00
Urea	100%	1.00	1.00	1.00
Xilosa	100%	1.00	1.00	1.00
Puntaje de calidad promedio				1.00

Los puntajes de calidad promedio fueron de 0.90 para los medios de hongos y levaduras, 0.89 para los medios selectivos y diferenciales y 0.98 para los medios nutritivos.

GRUPO	PUNTAJE DE CALIDAD
Mohos y levaduras	0,90
Selectivos y diferenciales	0,89
Nutritivos	0,98
Pruebas bioquímicas	1,00

El análisis de estos puntajes de calidad promedio revelan un alto nivel de desempeño, sin embargo se evidencian oportunidades de mejora para llegar al valor ideal (1.00). Por otro lado el puntaje de calidad de las pruebas bioquímicas fue de 1.00 siendo totalmente satisfactorio esto sugiere que los procedimientos en el laboratorio y en el control de calidad cumplen con todos los parámetros establecidos.

5.4 Desviación estándar

Un puntaje de desviación estándar cercano a cero indica que los resultados son consistentes entre sí, reflejando una baja variabilidad o dispersión en los valores obtenidos para cada grupo de medios, lo que evidencia uniformidad y estabilidad en el desempeño del proceso de preparación y control de calidad.

El análisis de la desviación estándar y el coeficiente de variación mostró una baja dispersión de los datos, indicando que los procedimientos aplicados presentan alta consistencia y repetibilidad, factores esenciales para mantener la calidad en los procesos microbiológicos.

Fórmula desviación estándar sobre una muestra:

$$S = \sqrt{(\sum(x_i - \bar{x})^2 / n - 1)}$$

S = Desviación estándar muestral. Mide qué tanto se dispersan los datos respecto a la media.

Σ = Significa “suma de”. Indica que se deben sumar todas las diferencias cuadradas.

x_i = Cada valor individual del conjunto de datos. Representa cada observación tomada (día, medición, repetición, etc.)

\bar{x} = La media o promedio de todos los valores.

n = Número total de datos medidos.

n - 1 = Llamado grados de libertad. Se usa en muestras para obtener un valor más preciso (corrección de Bessel).

5.4.1. Medios para mohos y levaduras

Desviación estándar: 0.14

$$S = \sqrt{(\sum(x_i - \bar{x})^2 / n - 1)}$$

$$S = \sqrt{((1.00 - 0.90)^2 + (1.00 - 0.90)^2 + (0.83 - 0.90)^2 + (1.00 - 0.90)^2 + (1.00 - 0.90)^2 + (1.00 - 0.90)^2 + (0.75 - 0.90)^2 + (0.66 - 0.90)^2}$$

$$8 - 1$$

$$S = \sqrt{0.135/7}$$

$$S = 0.1389 \approx 0.14$$

5.4.2. Medios selectivos y diferenciales

Desviación estándar: 0.07

$$S = \sqrt{((0.91 - 0.89)^2 + (0.88 - 0.89)^2 + (1.00 - 0.89)^2 + (0.88 - 0.89)^2 + (1.00 - 0.89)^2 + (0.91 - 0.89)^2 + (0.83 - 0.89)^2 + (0.77 - 0.89)^2 + (0.83 - 0.89)^2 + (0.91 - 0.89)^2 + (0.88 - 0.89)^2 + (0.83 - 0.89)^2 + (1.00 - 0.89)^2 + (0.88 - 0.89)^2 + (0.83 - 0.89)^2 + (0.91 - 0.89)^2}$$

$$16 - 1$$

$$S = \sqrt{0.0671/15}$$

$$S = 0.0669 \approx 0.07$$

5.4.3. Medios Nutritivos

Desviación estándar: 0.05

$$S = \sqrt{((1.00-0.98)^2 + (0.88-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (1.00-0.98)^2 + (0.88-0.98)^2}$$

$$10-1$$

$$S = \sqrt{0.0232 / 9}$$

$$S = 0.05$$

5.4.4. Pruebas bioquímicas

Desviación estándar: 0

5.5. Reproducibilidad

- Coeficiente de variación (CV) con valores inferiores a 10% se consideran muy reproducibles, 10-20% aceptables, mayor a 20% alta variabilidad. Estos intervalos combinan la recomendación ideal de la OMS, el límite regulatorio de la FDA y las prácticas reportadas en estudios de reproducibilidad.

GRUPO	CÁLCULO	CV
Mohos y levaduras	$CV = (0.14 / 0.90) \times 100$	15.5%
Selectivos y diferenciales	$CV = (0.07 / 0.89) \times 100$	7.87%
Nutritivos	$CV = (0.05 / 0.98) \times 100$	5.10%
Pruebas bioquímicas	$CV = (0.0 / 1.00) \times 100$	0.0%

El grupo de mohos y levaduras presentó un coeficiente de variación del 15,5%, lo que indica una reproducibilidad aceptable. En contraste, los demás grupos (medios selectivos y diferenciales, medios nutritivos y pruebas bioquímicas) mostraron valores inferiores al 10%, considerándose altamente reproducibles.

5.6. Recomendaciones y Oportunidades de mejora

-Repetir lotes y aumentar la replicación de medios evaluados un solo día para confirmar su desempeño.

- Se recomienda hacer uso de los elementos de bioseguridad y dispensar el medio caliente en condiciones asépticas (área limpia, cerca de mecheros encendidos, etc), en caso de que se

rompa la asepsia la porción afectada del lote se debe desechar o considerar no apta para cultivos.

-Implementar gráficos de control automáticos en el archivo Excel para detección temprana de desviaciones.

-Registrar datos semicuantitativos (número de colonias o turbidez) y condiciones de incubación para correlacionar fallas.

-Capacitar al personal en la interpretación de crecimiento para reducir la subjetividad.

5.7. Elaboración de herramienta digital OVA



Fuente: OVA Preparación y control de calidad de medios de cultivo.

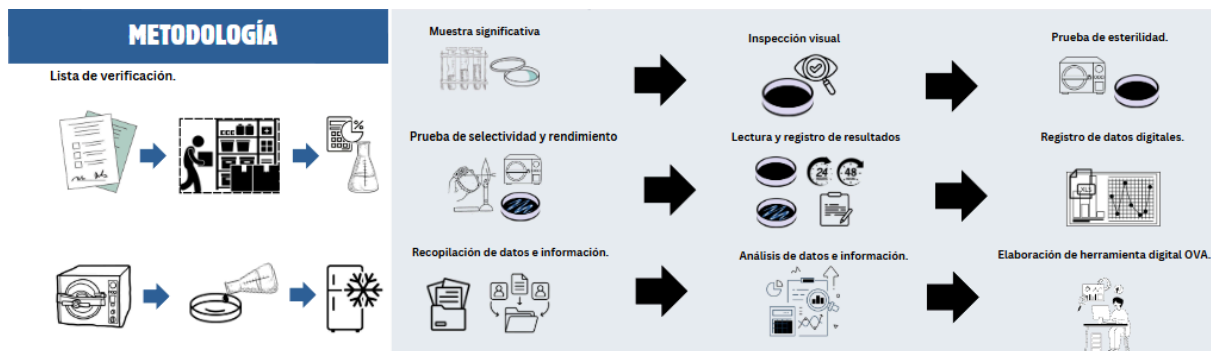
Se diseñó una herramienta académica digital tipo OVA en la plataforma Moodle con el objetivo de socializar, capacitar a los estudiantes y profesionales con la técnica estandarizada para el control de calidad y la preparación de medios de cultivo con el fin de promover el desarrollo de prácticas de laboratorio seguras y eficientes a través de un entorno virtual de aprendizaje interactivo y colaborativo. Esta herramienta virtual está compuesta por cuatro módulos específicos:

5.4.1. Introducción al laboratorio central: el cual contiene un recorrido virtual por el laboratorio central, introducción general al laboratorio y una actividad dinámica (sopa de letras)

5.4.2. Preparación de medios de cultivo: este módulo contiene un video explicativo sobre la técnica de preparación de medios de cultivo, infografía de la técnica, un algoritmo con los puntos de control críticos en el proceso de elaboración de medios de cultivo y una actividad evaluativa.

5.4.3. Control de calidad: este módulo contiene un video explicativo sobre la técnica de control de calidad estandarizada, fórmulas necesarias para los respectivos análisis de calidad y una actividad evaluativa.

5.4.4. Manejo y conservación de cepas microbianas: este módulo contiene un mapa mental con la información necesaria para el manejo y conservación de cepas microbianas, desde su almacenamiento, hasta su reproducción y conservación.



Fuente: Elaboración propia.

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios y demostraron la efectividad de los modelos estandarizados. Sin embargo, se recomienda realizar una reevaluación futura con una muestra más amplia y representativa de medios de cultivo. Esto permitirá fortalecer la validez estadística de los resultados, identificar posibles variaciones no detectadas en esta fase y garantizar una mayor robustez en la validación del modelo bajo diferentes condiciones experimentales.
2. Las cepas evaluadas demostraron estabilidad, pureza, productividad y selectividad, lo que valida la confiabilidad de los protocolos de conservación y control de calidad.
3. La creación de la herramienta digital tipo OVA que consolida los procedimientos estandarizados es un recurso pedagógico que contribuye a la mejora continua de los procesos académicos, favorece la apropiación académica del modelo, fortaleciendo el aprendizaje autónomo y la gestión de la calidad en el ámbito educativo.

REFERENCIAS

1. Mora Gil LF, Albarracín Reyes MA. Estandarización del modelo de control de calidad para la preparación de medios de cultivos de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Bacteriología; 2024.
2. Rodríguez-Benavides Gerarda, Blanco-Sáenz Rigoberto. Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. Rev. costarric. cienc. méd [Internet]. 2001 June [cited 2024 Nov 13]; 22(1-2): 83-97. Available from:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100009&lng=en.
3. Global quality and standards programme. Gqspcolombia.org. Aseguramiento de validez de los resultados. [citado el 13 de noviembre de 2024]. Disponible en:
<https://gqspcolombia.org/fase1-quimicos/wp-content/uploads/2022/08/Aseguramiento-de-la-Validez-de-los-Resultados.pdf>
4. Nicolás Castillo. Calidad en el laboratorio clínico. Laboratorio privado Sanatorio Santa Clara de Saguier, Santa Fe, Argentina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7304-4520> .
<https://www.revistabioanálisis.com/images/Rev%20131n/Nota%203.pdf>
5. Herrera Marco Luis, Campos Marlen. Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [Internet]. 2005 Jan [cited 2025 Oct 22]; 40(1): 09-15. Available from:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462005000100002&lng=en.
6. Portuondo Paisan Y , Portuondo Moret J. LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD EN EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS PROCESOS DE MEDICIÓN. Tecnología Química [Internet]. 2010;XXX(2):117-121. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445543770014>
7. Tiselab. ARTÍCULO TÉCNICO - MICROBIOLOGÍA. Visión general de la nueva ISO 11133:2014 desde la perspectiva del control de calidad
<http://www.tiselab.com/comunicados/ISO-11133-2014-White-Paper.pdf>
8. Instituto Nacional de Salud. Adquirir Medios de Cultivo. (s/f). Gov.co. Recuperado de <https://www.ins.gov.co/Direcciones/Produccion/Paginas/planta-de-sueros-hiperinmunes.aspx>

9. TCM Consultoría y Formación; Técnicas de Control Metrológico S.L. Repetibilidad y Reproducibilidad en un sistema de medición. (2024, septiembre 2). <https://www.tcmetrologia.com/blog/repetibilidad-reproducibilidad/>
10. Timetoast Timelines. Retrieved May 23, 2025, Historia del Control de Calidad (5QM1, HNDA) timeline. (n.d.). from <https://www.timetoast.com/timelines/linea-del-tiempo-control-de-calidad-1fb81168-66f3-440c-b20f-9cb4af9a379f>
11. Faster Capital. Retrieved May 23, 2025, Comprender el papel de la evaluación de la calidad. (n.d.). from <https://fastercapital.com/es/contenido/Comprender-el-papel-de-la-evaluacion-de-la-calidad.html>
12. Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2020). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson Education.
13. Jiménez, N. M. (2018). *Mantenimiento y conservación de cepas de referencia para el control de calidad de los métodos de análisis del laboratorio de microbiología*. Universidad Nacional de Colombia.
14. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Aseguramiento de la calidad y control de calidad en laboratorios microbiológicos. OPS/OMS; 2016.
15. United States Pharmacopeia (USP). Microbiological Best Laboratory Practices (Chapter <1117>). USP 44–NF 39. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention; 2021.
16. American Type Culture Collection (ATCC). Reference Strains: How Many Passages Are Too Many? Technical Document. Manassas, VA: ATCC; 2020. Available from: <https://www.atcc.org/resources/technical-documents/reference-strains-how-many-passages-are-too-many>
17. ISO 15189 (2022). Laboratorios clínicos. Requisitos para la calidad y la competencia Disponible en: <https://www.intedya.com/internacional/73/consultoria-iso-151892022-laboratorios-clinicos-requisitos-para-la-calidad-y-la-competencia.html>
18. Mantenimiento de cepario para control de calidad [Internet]. ANNAR Health Technologies - Colombia. Annar Health Technologies; 2023. Disponible en: <https://colombia.annarht.com/mantenimiento-de-cepario-para-control-de-calidad/>

19. Rodríguez Martínez Raisa Zhurbenko. MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO 2018. Disponible en: <https://www.biocen.cu/wp-content/uploads/2021/05/Manual-MC-2018.pdf>
20. Medios de Cultivos: Usos, Tipos y Medios más Comunes. Somos Avance. 2022. Disponible en: <https://somosadvance.com/expertise/medios-de-cultivos-usos-tipos-y-medios-mas-comunes/>
21. Medio diferencial y selectivo - Labster Labster.com.. Disponible en: <https://theory.labster.com/es/diferencial-selective-media/>
22. Anexo 2 Sistema de gestión de la calidad del laboratorio: manual. Organización Mundial de la Salud; 2011. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241548274>
23. Anexo 2 M10 BIOANALYTICAL METHOD VALIDATION AND STUDY SAMPLE ANALYSIS guidance for industry. Fda.gov. 2022 . Disponible en: <https://www.fda.gov/media/162903/download>
24. Anexo 2 International Organization for Standardization. ISO 5725-1:2023. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-1:ed-2:v1:en>

Grupo	Desviación Estándar
Mohos y levaduras	0.14
Medios selectivos y diferenciales	0.07
Medios nutritivos	0.05
Pruebas bioquímicas	0

ANEXOS

Anexo 1: Análisis de Métricas de Calidad y Reproducibilidad de Medios de Cultivo

1. Cálculo de la media de calidad

Cada prueba se evaluó con tres componentes cuantificados de forma binaria: control de esterilidad (S), crecimiento a 24 horas (M24) y crecimiento a 48 horas (M48). Los resultados «Cumple» o «Satisfactorio» se codificaron como 1; «No cumple» o «Inhibido» como 0. El puntaje de calidad por medio-día se obtuvo con la expresión:

$$Quality\ Score = (S + M24 + M48) / n$$

donde n es el número de componentes disponibles (normalmente 3, salvo registros incompletos). Posteriormente, para cada medio se promedió el Quality Score de todos los días de evaluación, obteniéndose la media de calidad que representa su efectividad global.

2. Aplicación del coeficiente de variación (CV)

Aunque los datos originales son cualitativos, la conversión explícita a valores 0 y 1 permite tratarlos como proporciones continuas en el rango 0–1. A partir de los Quality Score se calcula la desviación estándar empírica entre días y se divide por la media empírica para obtener el CV:

$$CV = (desviación\ estándar) / media$$

Este indicador muestra la variabilidad relativa del desempeño entre lotes. Un CV bajo indica alta reproducibilidad; un CV elevado revela fluctuaciones que pueden comprometer la confiabilidad.

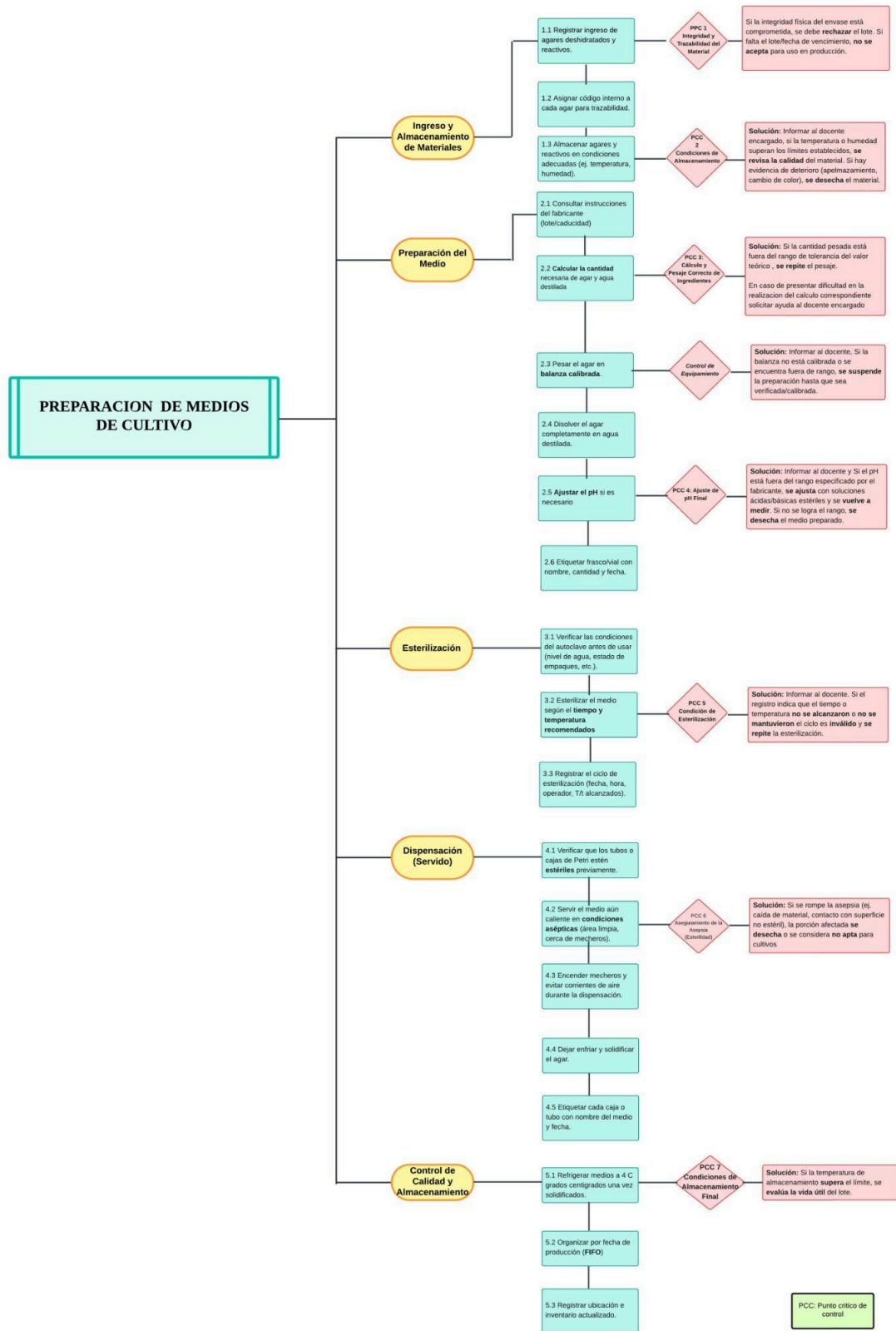
3. Criterios de interpretación del CV

Para clasificar la reproducibilidad se adoptó una escala basada en estándares y guías reconocidas:

Fuente	Recomendación de precisión	Aplicación en esta evaluación
OMS – Laboratory Quality Management System, modulo 7	CV ideal < 5 % en controles internos de laboratorio	Referencia más estricta; guía el objetivo de máxima precisión
FDA / ICH M10 (2024) – Bioanalytical Method Validation	Precisión inter ensayo ≤ 15 % CV	Límite regulatorio aceptado para métodos bioanalíticos
ISO 5725-1 – Accuracy of Measurement Methods	Define CV como medida de reproducibilidad, sin fijar umbrales fijos	Marco conceptual que legitima el uso del CV en estudios colaborativos
Literatura técnica y estudios interlaboratorio	Clasifica CV ≤ 10 % excelente: 10-20 % aceptable: > 20 % alta variabilidad	Escala práctica adoptada para la matriz de medios

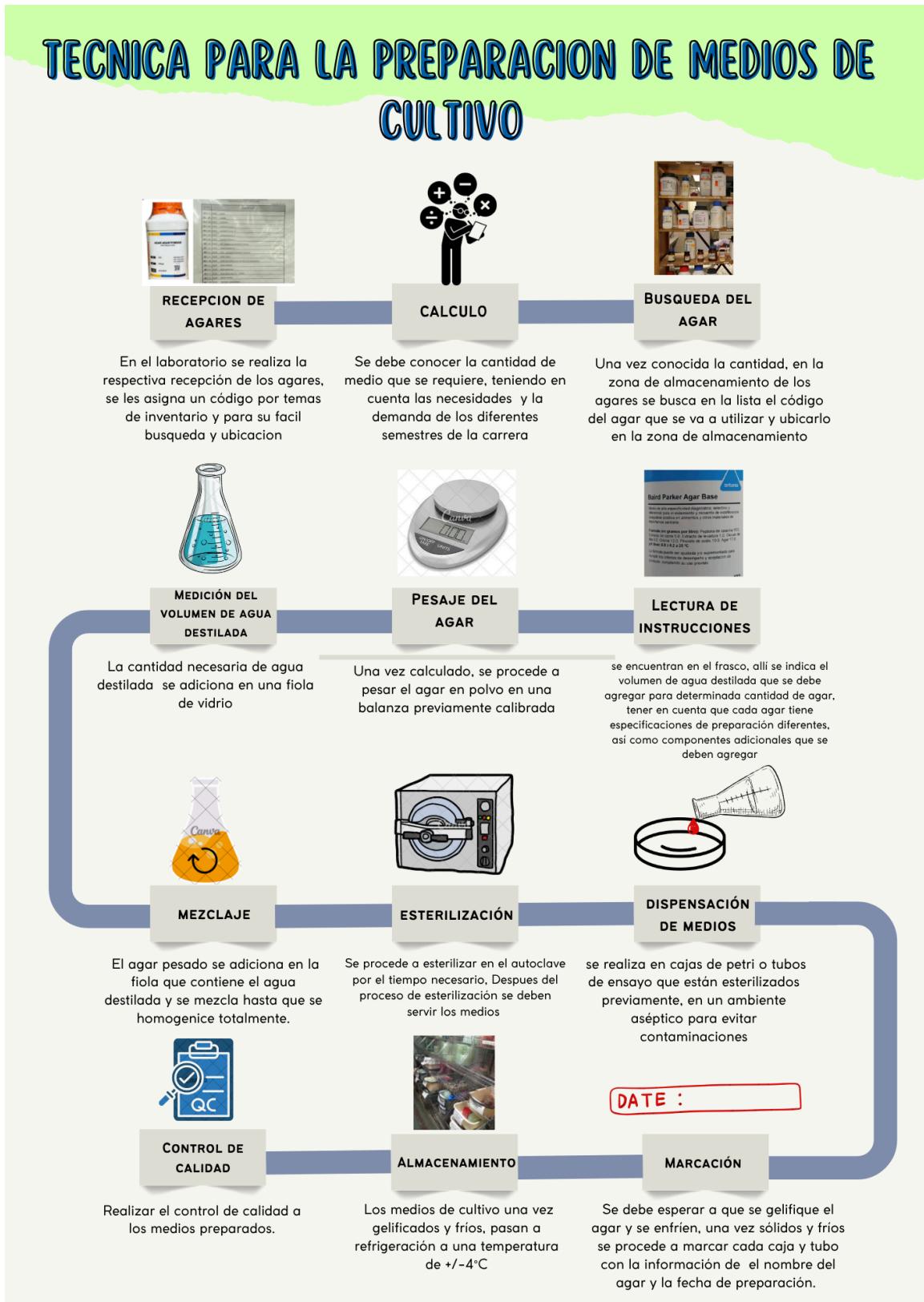
Se consideró «muy reproducible» un medio con $CV \leq 10$ %, «aceptable» entre 10 % y 20 %, y «alta variabilidad» por encima de 20 %. Estos intervalos combinan la recomendación ideal de la OMS, el límite regulatorio de la FDA y las prácticas reportadas en estudios de reproducibilidad. [22,23,24]

Anexo 2: Algoritmo de puntos críticos de control en la técnica de preparación de medios de cultivo



Fuente: Elaboración propia.

Anexo 3: Técnica para la preparación de medios de cultivo y pruebas bioquímicas.



Fuente: Elaboración propia.