



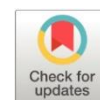


## Eficacia de una intervención administrativa sobre los procesos de preparación del agar Mueller Hinton en dos hospitales públicos del Ecuador

*Evaluation of the effectiveness of an administrative intervention on the preparation processes of Mueller Hinton agar in two public hospitals in Ecuador*

- <sup>1</sup> María Daniela Calderón Racines  <https://orcid.org/0000-0003-0885-9357>  
Hospital Luz Elena Arismendi, Quito, Ecuador  
[Daniela.calderon.racines@gmail.com](mailto:Daniela.calderon.racines@gmail.com)
- <sup>2</sup> Paulina Isabel Armas Freire  <https://orcid.org/0000-0002-2812-0640>  
Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina, Quito, Ecuador  
[piarmas@uce.edu.ec](mailto:piarmas@uce.edu.ec)
- <sup>3</sup> Johana Susana Brito Zambrano  <https://orcid.org/0000-0002-9202-1524>  
Hospital General Latacunga, Latacunga, Ecuador  
[jsbz18@hotmail.com](mailto:jsbz18@hotmail.com)
- <sup>4</sup> Verónica Janeth Chamba Herrera  <https://orcid.org/0000-0002-8512-5923>  
Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas Nro. 1, Quito, Ecuador  
[drachambavero@hotmail.com](mailto:drachambavero@hotmail.com)



### Artículo de Investigación Científica y Tecnológica

Enviado: 10/01/2023

Revisado: 15/02/2023

Aceptado: 08/03/2023

Publicado: 05/04/2023

DOI: <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v7i2.2539>

### Cítese:

Calderon Racines, M. D., Armas Freire, P. I., Brito Zambrano, J. S., & Chamba Herrera, V. J. (2023). Eficacia de una intervención administrativa sobre los procesos de preparación del agar Mueller Hinton en dos hospitales públicos del Ecuador. *Ciencia Digital*, 7(2), 38-63. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v7i2.2539>



*CIENCIA DIGITAL*, es una revista multidisciplinaria, trimestral, que se publicará en soporte electrónico tiene como misión contribuir a la formación de profesionales competentes con visión humanística y crítica que sean capaces de exponer sus resultados investigativos y científicos en la misma medida que se promueva mediante su intervención cambios positivos en la sociedad. <https://cienciadigital.org>  
La revista es editada por la Editorial Ciencia Digital (Editorial de prestigio registrada en la Cámara Ecuatoriana de Libro con No de Afiliación 663) [www.celibro.org.ec](http://www.celibro.org.ec)



Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 International. Copia de la licencia: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

**Palabras  
claves:**  
Mueller  
Hinton,  
control de  
calidad,  
capacitación

### Resumen

**Introducción:** El agar Mueller Hinton es uno de los medios más utilizados en los laboratorios de microbiología para realizar la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos, ya que tiene una buena reproducibilidad lote a lote, presenta bajos nivel de inhibidores que pueden afectar los resultados de sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclinas, permitiendo el crecimiento de casi todas las bacterias no fastidiosas. El objetivo del control de calidad consiste en disminuir la variabilidad de los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad, debido al efecto de las diferentes concentraciones de cationes divalentes  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , que pueden alterar la sensibilidad hacia aminoglucósidos y tetraciclinas. Y a La concentración de timina y timidina, en el medio, afecta la sensibilidad hacia sulfonamidas y de trimetoprim. El control de calidad se realiza lote a lote elaborado en los laboratorios de microbiología, utilizando cepas de referencia tipo ATCC, junto con diferentes sensidiscos. **Objetivos:** El objetivo de esta investigación fue mejorar las características técnicas del agar Mueller Hinton, el mismo que es universalmente recomendado para las pruebas de suceptibilidad antimicrobiana, frente a cepas ATCC *Enterococcus faecalis* 29212, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 en el Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y en el Hospital Pablo Arturo Suárez, implementando un proceso de capacitación sobre la preparación y control de los lotes del mencionado agar, ya que este medio requiere una preparación minuciosa, debido a que mínimas variaciones en su composición provocan alteraciones en los resultados de las pruebas anteriormente mencionadas. **Metodología:** Se realizó un estudio operativo no experimental pre y post evaluatorio con la finalidad de Implementar un proceso de capacitación en la preparación y control de lotes del agar Mueller Hinton para la mejora de las características técnicas y el desempeño del agar frente a cepas ATCC de control. Se realizó una evaluación de conocimiento previo y posterior a la capacitación. **Resultados:** Se estableció el grado de cumplimiento de condiciones de infraestructura, insumos y materiales para la elaboración del agar Mueller Hinton en los laboratorios de dos hospitales de la ciudad de Quito. Paralelamente, se evaluó el grado de conocimientos acerca de la realización del agar Mueller Hinton y el impacto de una intervención educativa sobre los mismos. El grado de cumplimiento de los requerimientos de infraestructura, insumos y materiales de cada casa de salud intervenida, fue de 64% (16/24) y 68% (17/24). El conocimiento sobre el tema, posterior a la capacitación mejoró en los participantes.

**Conclusiones:** Al realizar un diagnóstico situacional de la infraestructura, insumos y materiales se determinó que la ausencia, el mal uso o desuso, constituyen los principales factores que afectaban la elaboración del medio; después que después de la capacitación se logró mejorar las características técnicas del medio para el control de calidad con las cepas ATCC *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Por otro lado, observamos que a falta de actualización sobre los procesos en la elaboración del medio de cultivo, está relacionado con los posibles errores que afecten las características técnicas y su desempeño en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

**Área de estudio:** microbiología.

**Keywords:**

Mueller  
Hinton/  
Quality  
Control/  
Training.

**Abstract**

**Introduction:** Mueller Hinton agar is one of the most used media in microbiology laboratories to perform the antimicrobial susceptibility test, since it has a particularly good reproducibility, it has low levels of inhibitors that can affect the results of sulfonamides, trimethoprim and tetracyclines, allowing the growth of all non-fastidious bacteria. The objective of quality control is to reduce the scarcity of the results obtained in the sensitivity tests, because of the different concentrations of the divalent cations  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$ , which can alter the sensitivity towards aminoglycosides and tetracyclines. And the concentration of thymine and thymidine, in between, affects sensitivity to sulfonamides and trimethoprim. Quality control is conducted batch by batch prepared in microbiology laboratories, using ATCC-type reference strains, together with different sensidiscs. **Objectives:** The objective of this research was to improve the technical characteristics of Mueller Hinton agar, the same one universally recommended for antimicrobial susceptibility tests, against the ATCC strains *Enterococcus faecalis* 29212, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 at the General Hospital of the Armed Forces of Ecuador. and at the Pablo Arturo Suárez Hospital, implementing a training process on the preparation and control of batches of the agar, since this medium requires meticulous preparation, since minimal variations in its composition cause alterations in the test results. tests. **Methodology:** A non-experimental operational study, of pre and post evaluation, was conducted to implement a training process in the preparation and control of batches of Mueller Hinton agar to improve the technical characteristics and performance of the agar against ATCC strains of control. A pre- and post-training knowledge assessment was conducted. **Results:** The degree of compliance with the conditions of

---

infrastructure, inputs, and materials to produce Mueller Hinton agar in the laboratories of two hospitals in the city of Quito was established. In turn, the degree of knowledge about the realization of the Mueller Hinton agar and the impact of an educational intervention on them were evaluated. The degree of compliance with the infrastructure, inputs, and material requirements of each intervened health home was 64% (16/24) and 68% (17/24). The knowledge on the subject, after the training, improved in the participants. **Conclusions:** When carrying out a situational diagnosis of the infrastructure, supplies, and materials, it was determined that the absence, misuse or disuse, constitute the main factors that affected the development of the environment; After the training, it was possible to improve the technical characteristics of the medium for quality control with the strains ATCC *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. On the other hand, it was observed that in the absence of updating the processes in the preparation of the culture medium, is related to errors that affect the technical characteristics and their performance in antimicrobial susceptibility tests. **Study area:** microbiology.

---

## Introducción

El control de calidad tiene como objeto, la verificación de la precisión y exactitud del proceso analítico, el funcionamiento de los reactivos y equipos utilizados, la competencia profesional del personal que realiza la prueba (Perdomo, 2009). Es necesario realizar periódicamente controles del medio deshidratado, de los aditivos que se van a utilizar, del procedimiento de elaboración, envasado, etiquetado y almacenamiento (Rivera et al., 2014). Los medios deshidratados y aditivos deben estar etiquetados con las fechas de caducidad, de recepción y la fecha en la que se abrieron por primera vez (Rivera et al., 2014). El proceso de elaboración debe quedar registrado: anotando la identidad de los medios, el número de lote, fecha de preparación, fecha de caducidad y la identidad de la persona que los ha preparado. Se recomienda que cada placa o tubo individual vaya identificado con el nombre del medio, número de lote y fecha de preparación (Miranda et al., 2004).

La FDA recomienda que los sensidiscos cumplan las siguientes características:

- 1) Se debe utilizar discos color blanco con un diámetro aproximado de  $\frac{1}{4}$  de pulgada (6,5 $\pm$  0,5 mm)
- 2) El peso del papel filtro debe ser de 30 mg  $\pm$  4 por cm<sup>2</sup>

- 3) El papel no debe tener ningún material que inhiba o aumente la actividad antibacteriana para lo cual se determina el pH el mismo que no debe ser mayor a 0.3 U en relación con el pH del agua destilada con el que se va a medir.
- 4) Los discos deben estar acompañados de certificados en los que consten la concentración de los discos, el número de lote, la eficiencia frente a los microorganismos recomendados para el control de calidad (Cockerill et al., 2012).

Los discos deben mantenerse refrigerados de 2 - 8°C, si van a ser utilizados en los siguientes 7 días, se deben mantener a -14 °C, para su conservación a largo plazo. Para mantener su potencia, los discos que contienen drogas de la familia de los  $\beta$ -lactámicos deben mantenerse en congelador, salvo una pequeña provisión que puede permanecer en el refrigerador (Cockerill et al., 2012).

Los discos deben guardarse en contenedores herméticos y ser sacados del refrigerador o congelador 1-2 horas antes de su uso, a fin de lograr un equilibrio en la temperatura antes de ser utilizados. Este proceso evita la condensación que podría ocurrir cuando la humedad del ambiente alcanza los frascos fríos (Miranda et al., 2004).

La mayoría de las drogas antibacterianas son muy sensibles a la exposición de un ambiente húmedo que a temperaturas templadas. Dentro de los antimicrobianos más afectados por los problemas de conservación, se encuentran, la familia de los  $\beta$ -lactámicos: los carbapenemes (meropenem e imipenem), oxacilina, cefaclor, las combinaciones de  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ lactamasas (amoxicilina/ac. clavulánico, ampicilina/sulbactam, ticarcilina/ac.clavulánico, cefoperazona/sulbactam y piperacilina/tazobactam) siendo estos los más lábiles (Miranda et al., 2004).

Para conocer si el sensidisco está funcionando correctamente es preciso realizar un antibiograma, como si fuese de un paciente, pero utilizando cepas puras conocidas a nivel mundial, las cuales jamás han tenido contacto con antibióticos. Se controlan comparando el halo de inhibición o diámetro de la sensibilidad de acuerdo con el antibiótico y la cepa a analizar (Hudzicki, 2013).

*Cepas de referencia:* las cepas de referencia o cepas patrón son microorganismos, procedentes de un cultivo puro y de origen conocido. El laboratorio de microbiología debe mantener una colección de microorganismos de referencia para utilizarlos en la verificación y validación de los medios de cultivo, reactivos, colorantes para tinción, y las pruebas de pruebas de sensibilidad a antimicrobianos (Rojo, 2010). Estas cepas se pueden obtener de:

De una colección nacional o internacional reconocida, como la *American Type Culture Collection (ATCC)*; la *Nacional Collection of Type Cultures (NCTC)*, entre otras.

Además, estas cepas deben tener certificados de calidad, con el fin de mantener la trazabilidad de esta (Rojo, 2010).

*Mantenimiento de las cepas:* las cepas de referencia deben reconstituirse siguiendo las instrucciones del proveedor. Las cepas de reserva se pueden conservar mediante liofilización, en nitrógeno líquido o congeladas a temperaturas  $\leq -50^{\circ}\text{C}$  en medios con agentes estabilizantes para la congelación. Según el documento M22-A3 en estas condiciones pueden mantenerse indefinidamente y a temperaturas entre  $-50^{\circ}\text{C}$  y  $-20^{\circ}\text{C}$ , se pueden conservar hasta un año (Rennie et al., 2006). Los viales deben identificarse con el nombre de la cepa, procedencia y fecha de congelación. Una vez descongeladas las cepas de reserva no se deben volver a congelar ni a reutilizar (Rennie et al., 2006). Las cepas de trabajo se obtienen por subcultivo de las cepas de reserva. Se deben conservar de  $2-8^{\circ}\text{C}$  durante un máximo de un mes, siempre que se asegure su viabilidad. De las cepas de trabajo se pueden realizar como máximo tres subcultivos, siempre que se conserve sus características. Posteriormente, deben reemplazarse a partir de la cepa de reserva congelada (Rennie et al., 2006). Cada vez que se use una cepa de referencia, cepa de reserva o una cepa de trabajo, hay que comprobar, su pureza, morfología típica. Se recomienda un máximo de 5 repiques por cada cepa (Rojo, 2010). Las cepas deben testarse regularmente para asegurar la eficiencia de la prueba y que los resultados se encuentren dentro de los límites especificados según el documento M100 “*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*” (Cockerill et al., 2012).

*Escala de McFarland:* la densidad del inóculo también afecta el rendimiento del antibiograma. De hecho, los inóculos con mayor carga bacteriana de la normatizada provocan diámetros de inhibición menores, ocurriendo lo contrario cuando el inóculo es demasiado bajo (Rojo, 2010). La densidad del inóculo debe tener un patrón de turbidez BaSO<sub>4</sub> del 0.5 de la escala de *MacFarland* que puede ser comparada con una suspensión bacteriana que contiene  $1.5 \times 10^8 \text{ UFC/m}$ . o su equivalente óptico (por ejemplo, suspensión de partículas de Látex) o fotometría (Cockerill et al., 2012). La escala de McFarland se prepara de la siguiente manera: se coloca 0,5 ml de cloruro de sodio en una solución de bario deshidratado al 1,175% en 99.5ml de ácido sulfúrico al 1%. Esto se alícuota en tubos y se sella con cera. Se almacenan hasta 6 meses a temperatura ambiente y en un sitio oscuro (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). Comprobar la exactitud de la escala de McFarland con el uso de un espectrofotómetro, la absorbancia de la longitud de onda a 625 nm, debe ser de 0,08 a 0,13 para obtener el 0,5 de McFarland (Cockerill et al., 2012). Si no se dispone de un espectrofotómetro, realizar 10 diluciones utilizando cepa control y realizar el conteo en placa (Centers for Disease Control and Prevention, 2009).

*Agar Mueller Hinton*: el documento “M2- A11 *Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*” recomienda el uso del agar para la elaboración de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana:

- Muestra buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad.
- Contiene bajo nivel de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclina.
- Permite el desarrollo de la mayoría de los microorganismos patógenos. Existen suficientes datos recopilados que avalan la experiencia de las pruebas de sensibilidad realizadas en este medio (Cockerill et al., 2012). Dentro de su composición se encuentra: extractos de ternera, caseína, sales, cationes divalentes y almidón soluble necesario para que los resultados sean reproducibles. Se trata de un medio de cultivo no selectivo, pues permite el crecimiento de la mayor parte de los gérmenes que no necesitan condiciones exigentes, además es un medio no exento (Murray et al., 2014).

El medio de cultivo debe tener las siguientes características:

- Altura del agar recomendada: 3,5 a 4,5 mm.
- pH del agar: 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente.
- Ausencia de humedad.
- Concentración baja de timina- timidina (Morales-Parra, 2017).
- La concentración de calcio y magnesio recomendada por el *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, debe estar entre 20 a 25 mg/l y 10 a 12.5mg/l respectivamente (Girardello et al., 2012).

En estudios realizados por el *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, se determinó que el agar Mueller Hinton tiene una excelente estabilidad, pues este puede durar alrededor de 10 años cuando se almacena en frascos de vidrio sellados a temperatura ambiental controlada (Rennie et al., 2006). Los medios ya preparados, que tengan más de 7 días y que no hayan sido almacenados adecuadamente en fundas plásticas, no deben utilizarse en la realización de las pruebas de sensibilidad por desecación (Malbrán, 2001).

#### *Requisitos mínimos para la elaboración del agar Mueller Hinton*

**Reactivos:** Medio de cultivo: Son sustancias higroscópicas, sensibles a la humedad, el calor, y a la luz. Debe ser homogéneo, libre de flóculos. Si hay algún cambio de la apariencia física, descartar el medio. Se deben almacenar a temperatura ambiente entre 2-25°C. Dependiendo del medio y su almacenamiento, los medios de cultivo tienen una fecha de caducidad de entre 2 y 4 años (Clavell & Pedrique, 1992).

En el mercado existen los siguientes medios de cultivo:

- Mueller Hinton Agar Britania.

- Mueller Hinton BIO-RAD
- Agar *Mueller-Hinton Oxoid* BD Mueller Hinton tiene certificación ISO 9000

*Agua:* La guía Mo6-A2 “*Protocols for evaluating dehydrated Mueller Hinton agar*”, recomienda que el agua utilizada en la elaboración del medio sea desionizada/ destilada (Rennie et al., 2006).

*Cajas petri:* es un recipiente de cristal o plástico, cuya base es de forma circular y sus paredes tienen un 1 cm de altura; su cubierta tiene la misma forma, pero con diámetro algo mayor. La caja Petri se utiliza generalmente en los laboratorios de bacteriología, para el cultivo, aislamiento e identificación de microorganismos (QuimiNet.com, 2010).

Dentro de sus características:

- Son fabricadas con poliestireno cristal.
- Esterilizadas por radiación gamma para uso en microbiología.
- Deben ser fabricados con un material resistente al calor.

La guía Mo6-A2 “*Protocols for evaluating dehydrated Mueller Hinton agar*”, recomienda el uso de caja Petri de 150 X 25 mm de diámetro, en los cuales se deben dispensar 70 ml del agar preparado. En las cajas de 100 X 15 mm de diámetro se debe colocar de 25 a 30 ml del material preparado (Rennie et al., 2006; Basu, 2005).

#### *Equipamiento*

*Balanza analítica:* utilizada para medir pequeñas masas, ofrece valores de precisión de lectura de 0,1 µg a 0,1 mg; debe ser colocada en una superficie sólida, además de ser antimagnética y permanecer a temperatura ambiente (TP - Laboratorio Químico, 2012).

*Autoclave:* es un dispositivo que sirve para esterilizar material de laboratorio, utiliza vapor de agua a alta presión y temperatura.

*Deionizador:* es un equipo que permite la eliminación de Iones inorgánicos presentes en el agua mediante el uso de resinas absorbentes de iones (González, 2010).

*Potenciómetro-pH metro:* se utiliza para determinar la concentración de iones de hidrógeno [H<sup>+</sup>] en una disolución. Las aplicaciones del instrumento están relacionadas con el control de medios de cultivo, caldos y buffer (Villamil, 2005). Se utiliza para este propósito un electrodo sensible a los iones. Este electrodo debe ser conservado en una solución saturada de cloruro de potasio para evitar la pérdida de iones (Villamil, 2005).

*Cabinas de flujo laminar:* Son equipos diseñados para mantener el área de trabajo libre de partículas o probables contaminantes. Emplean un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) barriendo la superficie de trabajo. El filtro tiene una eficiencia mínima de retención de partículas del 99.9%, cuando



el tamaño de estas es de 0.3 micrómetros. Se recomienda en la preparación de medios de cultivo o reactivos (Organización mundial de la salud [OMS], 2005). Espátula, calculadora, probeta la misma que se utiliza para medir la cantidad de agua necesaria según las especificaciones del fabricante, Erlenmeyers o matraces. Conviene tomar como precaución ocupar solo la mitad del matraz, para evitar que el contenido salte y ensucie al tapón en el momento de la esterilización (Tотора, 2007). Cubículo con luz ultravioleta y sin corriente de aire, mesones en acero inoxidable, nivelados. Refrigeradores y nevera para el almacenamiento de los medios de cultivo hasta su distribución (Ordoñez, 2014).

*Personal:* los análisis microbiológicos deben ser realizados y supervisados por personal que demuestre competencia técnica, preferiblemente que tenga título superior en microbiología. Se admitirán otras titulaciones siempre que el personal tenga experiencia comprobada relacionada con el trabajo en microbiología. Es necesario que el personal reciba la formación y entrenamiento adecuados para aprender las técnicas con las que se va a trabajar. La dirección del laboratorio debe mantener registros de la formación y cualificación, de la experiencia profesional y de la competencia de todo el personal.

*Infraestructura:* No se ha establecido un área para la preparación de medios de cultivo, ya que, en la actualidad, son pocos los laboratorios de microbiología que preparan estos medios de manera rutinaria. Como norma general se requiere un lugar cerrado, estéril, libre de corrientes de aire. Es importante fumigar este sitio previamente con antibacterianos y antimicóticos, también se recomienda usar luz UV para esterilizar el ambiente y reducir al mínimo la posibilidad de contaminación de los medios de cultivo (Ordoñez, 2014).

La Sociedad Española de microbiología recomienda que el área de preparación de medios de cultivo sea un área específica, próxima al área de limpieza y esterilización, al laboratorio de bacteriología general y la zona de almacenamiento de medios (Alados, 2015).

Como norma general un laboratorio de microbiología debe disponer:

- El espacio destinado al laboratorio debe ser de 14 a 18 m<sup>2</sup> por trabajador
- El área de trabajo debe tener una altura entre 2,70 y 3 m.
- El techo debe estar construido con materiales de elevada resistencia mecánica, recubierto por una superficie lavable con el fin de evitar la acumulación de polvo o material tóxico.
- La mesa de trabajo debe tener una altura de 75-90 cm.
- Se recomienda que el material de la mesa sea de acero inoxidable, debido a que este material es resistente al fuego, a la corrosión, son fáciles de limpiar.
- El área de trabajo sobre la mesa debe ser de 50 x160 cm.

- Se debe envasar el medio en una cámara estéril o en caso de no disponer de la misma, en un cuarto sin corrientes de aire con mechero cerca para evitar la contaminación (Forbes, 2009).

*Almacenamiento de los reactivos utilizados en la elaboración del agar Mueller Hinton:* Es necesario un área de almacenamiento de los distintos materiales usados en el laboratorio de microbiología. La ubicación del área debería estar en un lugar adecuado que reduzca al mínimo el desplazamiento del personal. Es importante disponer de una cámara fría (2–8°C) o refrigeradoras, acorde con el número de muestras que procese el laboratorio. Esta cámara fría debe contar con puertas de apertura hacia el exterior, sistemas de alarmas, estantería de material resistente a la corrosión (Alados, 2015).

*Parámetros de control de calidad del Mueller Hinton:* El desempeño de los diferentes lotes del agar de Mueller-Hinton varía debido a:

- Efecto de las diferentes concentraciones de cationes divalentes  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , que alteran la sensibilidad hacia aminoglucósidos y tetraciclinas.
- Efecto de la concentración timina- timidina, que altera la sensibilidad hacia el trimetoprim sulfametoxazol (Zhurbenko et al., 2010). Ericsson & Sherris (citado en Rennie et al., 2006), en su estudio multicéntrico: “sensibilidad antimicrobiana en el agar *Mueller Hinton* y otros agares”, llegaron a la conclusión que se debe realizar controles de calidad a los medios de cultivo con el fin de evitar las variaciones en las pruebas de susceptibilidad.

*Determinación de cationes:* La variación de cationes divalentes principalmente  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$  afectarán los resultados con tetraciclina, colistín y aminoglucósidos frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853. La variación en la concentración puede desencadenar una diversidad de resultados entre la sensibilidad y resistencia como consecuencia de los cambios de los agentes antimicrobianos a través de la membrana. Koneman (2008), propuso que el mecanismo por el cual la concentración de cationes afecta la actividad de *Pseudomona aeruginosa*, frente a los discos mencionados, se debía principalmente a que los lipolisacaridos de la pared celular tienen uniones cruzadas con cationes divalentes lo que le proporciona estabilidad.

Las tetracilinas necesitan atravesar las membranas de los microorganismos grampositivos como los gramnegativos, de ahí que para lograr esto, deben interactuar con el magnesio formando complejos (García-Álvarez, 2010). Los cationes actúan como cofactores para el desarrollo del microorganismo en el medio, así cuando un microorganismo crece en medios escasos de cationes, aumenta la permeabilidad de la pared celular a los aminoglucósidos, lo que ocasiona una zona de inhibición mayor a la esperada, entendiéndose como falsa susceptibilidad. En cambio, cuando un microorganismo crece en medios con exceso de cationes presentará reducción de las zonas de inhibición,

provocando falsas resistencias (Koneman, 2008). Las guías de *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, indican que la concentración de cationes debe mantenerse entre: Calcio: 20 a 25 mg/l Magnesio: 10 a 12.5 mg/l. Estas recomendaciones son necesarias para obtener resultados confiables sobre la sensibilidad antimicrobiana, pues se ha reportado casos en los cuales se ha debido incrementar la MIC de antibióticos como el colistin y la polimixicina contra la *P. aeruginosa*, debido a las grandes concentraciones de calcio y magnesio en el medio de cultivo. Además, se han reportado casos en los que las altas concentraciones de cationes divalentes causan interferencia con otros antimicrobianos como son las fluorquinolonas, y carbapémicos. En el estudio realizado por Girardello et al. (2012), “*Cation Concentration Variability of Four Distinct Mueller-Hinton Agar Brands Influences Polymyxin B Susceptibility Results*”, evidenciaron como se detalla en la página 3 que las distintas concentraciones de cationes en *Mueller Hinton* de distintas casas comerciales originaron diversos halos de susceptibilidad, el que menos.

concentración de cationes tenía en su composición fue el de la MERK (Ca: 2.1 y Mg: 0.6) originando halos más grandes de lo esperado (Girardello et al., 2012). La concentración de cationes debe evaluarse cada vez que se comience un nuevo lote, si existen alteraciones de los halos esperados se debe desechar el lote y comunicarse con el proveedor (Bazet et al., 2007).

*Efecto de concentración de timina- timidina:* Los medios que contienen una excesiva cantidad de timina-timidina, pueden revertir los efectos inhibitorios de las sulfonamidas, debido a que las bacterias la utilizan como medio para sintetizar ácido fólico, produciendo halos de inhibición más pequeños de los esperados (Cockerill et al., 2012). Cabe indicar que un grupo de microorganismos requiere de timidina para su metabolismo, entre ellos se destacan *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* y *Enterococcus* (Zhurbenko et al., 2010). Al agregar timidina fosforilasa o sangre lisada de caballos al medio, puede mejorar la nitidez de los halos y la confiabilidad de las pruebas en las que se utiliza sulfonamidas y trimetoprima frente a patógenos comunes, excepto para enterococos. Para evaluar la concentración de timidina se debe utilizar la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 o la cepa *E. faecalis* ATCC 33186 con un disco de trimetoprim (Cockerill et al., 2012). La concentración de timina-timidina, solo debe evaluarse con cada cambio de lote (Bazet et al., 2007).

*Medición de pH:* el agar debe tener pH 7,2 - 7,4 a temperatura ambiente y debe determinarse después de su solidificación y esterilización. Para ello se debe trasvasar una pequeña cantidad del medio de cultivo en una caja Petri, dejando enfriar hasta que se gelifique, para luego medir el pH. Mantener el resto del agar preparado en baño maría a 50°C para que no se solidifique. Las correcciones necesarias se realizarán agregando NaOH 1M o HCl 1M, según sea necesario. Se puede medir el pH utilizando cepas ATCC *Escherichia Coli* 25922 con discos de gentamicina y tetraciclina, sin embargo, este

método ha quedado en desuso (Torrico, 2003). Si el pH es demasiado bajo, ciertas drogas (Aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos serán menos activas; mientras otras (tetraciclinas) tendrán mayor actividad. Si el pH es demasiado alto se esperarán los efectos opuestos. El pH actúa sobre la polaridad de los antibióticos (Herrera, 1999). Se ha estudiado el efecto del pH sobre la sensibilidad in vitro de los fármacos. Un claro ejemplo son los aminoglucósidos, sustancias de carácter básico, los mismos que son inhibidos a pH ácidos (Molina et al., 2009). Los aminoglucósidos requieren para ejercer su efecto, atravesar la membrana celular utilizando transporte de electrones. Sin embargo, existe resistencia si hay disminución de pH, cationes, hiperosmolaridad o anaerobiosis (Vives, 2004). La determinación del pH debe realizarse cada vez que se prepare el medio de cultivo (Bazet et al., 2007).

*Medición de grosor:* La altura del agar recomendada: 3,5 a 4,5 mm, esto corresponde a 60 - 70 ml de agar para placas de 150 mm de diámetro interno y de 25 a 30 ml para las de 100 mm de diámetro interno. Se demostró que, con volúmenes mayores o menores de agar, la prueba pierde reproducibilidad ya que pequeñas variaciones tienen efectos significativos (Malbrán, 2001). Un agar delgado, permite una mejor difusión de los antibióticos produciendo una falsa sensibilidad, pero también un agar con más de 4 mm de profundidad puede producir una disminución en la migración (difusión) del antibiótico con la consiguiente falsa resistencia (Chamorro & Zárate, 2008). El grosor del agar debe medirse cada vez que se prepara el medio de cultivo (Bazet et al., 2007).

*Control de esterilidad:* Los medios de cultivo ya sean enriquecidos, diferenciales o selectivos deben estar estériles, porque ellos son la fuente nutricional para las bacterias. La prueba de esterilidad tiene como fundamento la detección de formas viables de microorganismos, en medios de cultivo (Ordoñez, 2014). Se debe controlar la esterilidad en una muestra representativa, del lote, se analiza el 5% del lote, cuando se recibe una tanda de hasta 100 unidades y un máximo de 10 unidades en lotes mayores (Forbes, 2009). Si existe una mínima contaminación (1-2 colonias), se debe revisar el procedimiento de preparación; si la contaminación es notoria se debe descartar el lote (Bazet et al., 2007).

#### *Frecuencia para la realización de los controles del antibiograma*

##### *Prueba diaria*

La frecuencia de control debe ser diaria si se adopta la técnica por primera vez o si existe algún cambio en el procedimiento, una vez que la técnica sea exacta y reproducible, se puede pasar a una frecuencia semanal (Malbrán, 2001). Para cada combinación antibiótico/organismo, sólo 3 de 30 resultados consecutivos puede estar fuera del rango aceptable (intervalo de confianza del 95) (Rojo, 2010).

Cualquier diámetro de inhibición, diferente al valor esperado nos hará sospechar de una contaminación o de una mutación. En este último caso se debe reemplazar la cepa de trabajo por un nuevo subcultivo de la cepa de reserva o de referencia (Cockerill et al., 2012).

### *Prueba semanal*

*Cambio de la prueba diaria a la prueba semanal* (demostración de comportamiento adecuado) Pruebe todas las cepas de control de calidad correspondientes diariamente, por el término de 30 días y documente los resultados. Para pasar de control diario a semanal, no más de 1 de 20 o más de tres de los 30 valores de zonas de diámetro obtenidos diariamente se pueden encontrar fuera de los rangos aceptables para cada combinación drogamicroorganismo (Cockerill et al., 2012).

*Implementación del control de calidad semanal*, se puede pasar al control de calidad semanal sólo cuando se ha documentado un comportamiento satisfactorio de control de calidad diario. Continuar con el control de calidad una vez por semana y cuando se cambie algún reactivo involucrado en el procedimiento (por ej. nuevo lote de agar, o nuevo lote de discos del mismo o distinto fabricante) Si alguno de los controles de calidad semanales está fuera del rango aceptable se requiere una acción correctiva Si se adiciona un nuevo agente antimicrobiano, este debe ser probado por 30 días consecutivos y se debe documentar el correcto comportamiento, previamente a que este se pueda controlar semanalmente. Además, se requiere la prueba de 30 días consecutivos si se realiza un cambio importante en el método para leer los resultados (Cockerill et al., 2012). Para medir el diámetro de cada halo de inhibición lo más cercano a 0,1 mm con calibradores (VERNIER), colocado contra la parte posterior del plato que se ilumina con la luz sobre el plato y con una superficie oscura no reflectante. El plato puede estar colocado sobre una superficie oscura no reflectante de manera que la fuente de luz se encuentre sobre y detrás a unos 45° en oposición al lector (Rennie et al., 2006).

### **Metodología**

Se realizó un estudio operativo no experimental pre y post evaluatorio con la finalidad de Implementar un proceso de capacitación acerca de la preparación y control de lotes del agar Mueller Hinton para la mejora de las características técnicas de los lotes a preparar y el desempeño del agar frente a cepas ATCC *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, aplicando la guía M6-A2, M02-A11 del *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*.

El Universo del presente estudio estará constituido por la totalidad de los agares Mueller Hinton preparados según la norma *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, Mo6-A2 “*Protocols for evaluating Dehydrated Mueller Hinton Agar*”, y M02-A11

“*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*”; en el Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y en el Hospital Pablo Arturo Suárez.

Dado que la presente investigación se basa en la aplicación de la guía *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), Mo6-A2, Protocols for evaluating Dehydrated Mueller Hinton Agar*, se requiere 30 replicaciones por cada agente antimicrobiano según la cepa ATCC a probar. Es necesario realizar 200 réplicas en el Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y en el Hospital Pablo Arturo Suárez, para el control del pH, espesor, esterilidad, control de cationes y de timina- timidin

*El estudio se realizará siguiendo las siguientes fases:*

- A) **Diagnostico Situacional:** en la primera etapa se hará un diagnóstico situacional de ambos laboratorios en los que se incluirá tanto una evaluación de conocimientos del personal sobre la elaboración y control de calidad del agar Mueller Hinton, donde se verificará las condiciones de infraestructura, insumos y materiales necesarios para la elaboración del agar Mueller Hinton. Esta lista está basada en el documento de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005), titulado: “Instrumentos para la evaluación de laboratorios. Se observará como se realizan en los diferentes laboratorios los medios de cultivo y se tomara un registro digital (video) previa capacitación.
- B) **Preparación Mueller Hinton:** se utilizará el agar Mueller Hinton de la casa comercial BD, y se tomaran como parámetros de control de calidad la medición del pH en el cual se utilizará el pHmetropotenciometro de electrodo, marca Hanna, previamente verificado. Permitiendo que una pequeña cantidad del agar solidifique alrededor del bulbo del electrodo del pHmetro, el pH ideal debe ser de 7.2 a 7.4. Se controlará la concentración de cationes utilizando cepas *P. aeruginosa* ATCC 27853. Junto con sensidiscos tetraciclina, colistín y aminoglucósidos esperando encontrar halos de inhibición entre 18-26 mm, el efecto timina-timidina se observará utilizando cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 o la cepa *E. faecalis* ATCC 33186 obteniendo halos de inhibición >20 mm. Para medir el diámetro de cada halo de inhibición lo más cercano a 0,1 mm, se utilizará calibradores (VERNIER). Se determinará el espesor del medio utilizando calibrador marca Pie de Rey dividiendo en cuatro cuadrantes e introduciendo el extremo del calibre metálico, y se comprobará la esterilidad del medio colocando en la estufa, allí se observará el posterior crecimiento de microorganismos contaminantes. Se construirá una base de datos en la cual se colocarán las variables como son: pH, espesor, control de esterilidad, control de cationes y timidina, se analizará los datos obtenidos y se verificara si existen más de 3 de 30 resultados consecutivos fuera del rango aceptable.

- C) **Capacitación:** una vez obtenidos los primeros datos del diagnóstico situacional, se pasara a la siguiente fase del estudio en el que se realizara la intervención en los puntos que deban ser reforzados o reformulados, mediante la capacitación del personal a cargo de la elaboración del medio de cultivo con la implementación de un taller de aproximadamente dos horas, sobre la elaboración y el control de calidad del Mueller Hinton, de manera interactiva , en el cual se involucra plenamente al profesional de la salud en el proceso de aprendizaje, con sus experiencias, vivencias, conocimientos previamente obtenido a lo largo de sus años de trabajo, con material audiovisual (presentación en PowerPoint), siguiendo una guía predeterminada. Al finalizar el taller se realizará una autoevaluación, se entregarán instructivos y manuales de procedimiento.
- D) **Evaluación y Seguimiento:** se realizará una evaluación de los parámetros del control de calidad anteriormente mencionados que serán registrados en la hoja de registro de datos.

Las variables cualitativas se expresarán en porcentaje con su respectivo intervalo de confianza al 95%, mientras que las variables cuantitativas se expresaran en promedio y desvió estándar. Para el análisis inferencial se 33 utilizará una Prueba de McNemar, se considerará un error de inferencia del 5% ( $p \leq 0,05$ ). Los datos serán procesados en el programa estadístico SPSS versión educativa.

El presente estudio respetará las normas éticas de investigación con la Declaración de Helsinki mediante el cual se respeta la confidencialidad de la información obtenida, al tratarse de un estudio operativo no experimental pre y post evaluatorio de una intervención administrativa no requiere de un consentimiento informado

## Resultados

Se estableció el grado de cumplimiento de condiciones de infraestructura, insumos y materiales para la elaboración del agar Mueller Hinton en los laboratorios del Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y en el Hospital Pablo Arturo Suárez de la ciudad de Quito. Paralelamente, se evaluó el grado de conocimientos acerca de la realización del agar Mueller Hinton y el impacto de una intervención educativa sobre los mismos. La tabla 1 muestra el grado de cumplimiento de los requerimientos de infraestructura, insumos y materiales de cada casa de salud intervenida, el porcentaje de requerimientos cumplidos para el Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador fue del 64% (16/24), en tanto que en el Hospital Pablo Arturo Suárez se cumplieron el 68% (17/24).

**Tabla 1***Grado de cumplimiento de infraestructura, insumos y materiales*

Requerimientos	Cumplimiento	
	Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador	Hospital Pablo Arturo Suárez
Área específica	Adecuado	Adecuado
Área de almacenamiento	Adecuado	Adecuado
Protocolo de desinfección	Adecuado	Adecuado
Presencia de corrientes de aire	Inadecuado	Adecuado
Refrigeradoras de uso exclusivo para el almacenamiento del medio	Adecuado	Adecuado
Control de temperatura	Adecuado	Adecuado
Mantenimiento de refrigeradoras	Adecuado	Adecuado
phmetro	Adecuado	Inadecuado
Calibración del phmetro	Inadecuado	Inadecuado
Mantenimiento del phmetro	Inadecuado	Inadecuado
Mesa nivelada	Inadecuado	Adecuado
Balanza analítica	Inadecuado	Adecuado
Autoclave	Adecuado	Adecuado
Cabina de flujo laminar exclusiva para elaboración del medio	Inadecuado	Inadecuado
Destilador	Adecuado	Adecuado
Mantenimiento del destilador	Adecuado	Inadecuado
Dispensador del medio	Adecuado	Inadecuado
Calibración del dispensador	Inadecuado	Inadecuado
Calibradores/Vernier	Inadecuado	Adecuado
Control de sensidiscos	Adecuado	Adecuado
Control de cepas ATCC	Adecuado	Adecuado
Control de agar Mueller Hinton	Adecuado	Adecuado
Control del agua usada en el Mueller Hinton	Inadecuado	Inadecuado
Control de cajas petri	Adecuado	Adecuado

**Fuente:** Calderón & Barrera (2006)

Para el componente de conocimientos relativos a la elaboración del agar Mueller Hinton y su control de calidad, se evaluaron a un total de 8 operadores, de los cuales 5 fueron del Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y los restantes del Hospital Pablo Arturo Suárez, con una mediana de años de trabajo en el servicio para la muestra general de 6.5 años (Rango: 1 – 32 años), siendo para los profesional del Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador una mediana de 3 años (Rango: 1 – 32 años), en tanto que para el Hospital Pablo Arturo Suárez la mediana fue de 7 años (Rango: 6 – 10 años). Todos los sujetos fueron sometidos a una evaluación previa de conocimientos relativos a los parámetros de control de calidad del agar Mueller Hinton, a partir de la cual se diseñó una intervención educativa. Para lo cual se utilizó una Prueba de McNemar ( $p$  no aplicable). Los resultados por ítem consultado en el pre y post-intervención se muestran en la tabla 2.



**Tabla 2***Grado de conocimientos pre y post-intervención. Muestra general*

Conocimiento	Evaluación n (%)			
	Pre-intervención		Post-intervención	
	Adecuado	Inadecuado	Adecuado	Inadecuado
Definición Muller-Hinton	8 (100)	----	8 (100)	----
Parámetros control de calidad	5 (62.5)	3 (37.5)	8 (100)	----
pH del agar	2(25)	6(75)	8 (100)	----
Medición del pH	2(25)	6(75)	8 (100)	----
Efecto del pH del agar	2(25)	6(75)	8 (100)	----
Concentración de timidinas	4(50)	4(50)	8 (100)	----
Efecto de las timidinas del agar	4(50)	4(50)	8 (100)	----
Concentración de cationes	2(25)	6(75)	8 (100)	----
Espesor del agar	1(12.5)	7(87,5)	8 (100)	----
Esterilidad	7 (87,5)	1(12,5)	8 (100)	----

**Fuente:** Calderón & Barrera (2006)

El comportamiento de la adecuación de los criterios técnicos relacionados con el cumplimiento de requisitos en base a la normativa Mo6-A2 “*Protocols for evaluating dehydrated Mueller Hinton agar*”, en el pre y postintervención, se presentan en la tabla 3. Se utilizó una Prueba de McNemar (p no aplicable).

**Tabla 2***Adecuación de criterios técnicos de preparación de agar Muller-Hinton (Norma MO6-A2 y M02-A11) Pre y Post intervención*

Criterios	Condición n (%)	
	Adecuado	Inadecuado
pH		
• Pre – intervención (n=60)	18 (30)	42 (70)
• Post – intervención (n=60)	60 (100)	---
Espesor		
• Pre – intervención (n=60)	14 (23.3)	46 (76.7)
• Post – intervención (n=60)	60 (100)	---
Concentración de cationes		
• Pre – intervención (n=60)	37 (61.7)	23(38.3)
• Post – intervención (n=60)	60 (100)	---
Concentración de timidina		
• Pre – intervención (n=60)	40 (66.7)	20 (33.3)
• Post – intervención (n=60)	60 (100)	---
Esterilidad		
• Pre – intervención (n=60)	29 (48.3)	31 (51.7)
• Post – intervención (n=60)	60 (100)	---

**Fuente:** Calderón & Barrera (2006)

## Discusión

El Control de calidad tiene por objeto la verificación de la precisión y exactitud del proceso analítico, el funcionamiento de los reactivos y equipos utilizados, la competencia profesional del personal que realiza la prueba, este concepto se aplica a todo el laboratorio, incluyendo el área de microbiología, por lo que es imprescindible realizar control de calidad a los distintos insumos utilizados. Uno de estos insumos es el agar Mueller Hinton, el cual es el medio más empleado en el área de microbiología y universalmente recomendado para la elaboración de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Este requiere, una realización minuciosa siguiendo las normativas internacionales, además de necesitar controles de calidad frecuentes. Esto fue claramente demostrado en el estudio multicéntrico realizado por Ericsson & Sherris (citado en Rennie et al., 2006): “Sensibilidad antimicrobiana en el agar Mueller Hinton y otros agares”, en el cual evidenciaron que la falta de control de calidad provocó la variación de los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad.

Se realiza un estudio operativo no experimental pre y post evaluatorio, en el laboratorio de microbiología de dos hospitales en la ciudad de Quito, el Hospital General de las Fuerzas Armadas y el Hospital Pablo Arturo Suárez, debido a que en los mencionados preparan sus propios medios. Se utiliza en un *check list* para infraestructura, insumos y recursos tomado de la guía “Instrumentos para la evaluación de laboratorios OMS”, guía *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, Mo6-A2 “*Protocols for evaluating dehydrated mueller hinton agar*” y la guía *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*.

En este estudio participaron 5 licenciados de laboratorio clínico, que trabajan en el Hospital General de las Fuerzas Armadas y que cuentan con un promedio de experiencia de 3 años (1-32 años), y 3 licenciadas en laboratorio clínico que trabajan en el Hospital Pablo Arturo Suárez, este personal cuenta con un promedio de 7 años de experiencia (6-10 años). Este dato es importante ya que se evidencia que, a pesar de la experiencia obtenida a lo largo del tiempo de trabajo, existían importantes vacíos en cuanto a la elaboración del medio y su control de calidad, debido a la falta de capacitación continua y al trabajo rutinario. Al realizar el diagnóstico situacional se encontró un cumplimiento del 64% en el Hospital General de las Fuerzas Armadas y un 68% de cumplimiento en el Hospital Pablo Arturo Suárez, esto se debe a falta de instalaciones e instrumental adecuado, prácticas de bioseguridad que han quedado en desuso y falta de capacitación. Estas variables afectan la elaboración y el control de calidad del medio de cultivo, así la falta de instalaciones adecuadas, como la presencia de una mesa desnivelada provoca una inclinación del agar lo que ocasiona variaciones en el espesor de los 4 cuadrantes de este. La Organización Panamericana de la Salud recomienda una mesa estable y bien nivelada, para evitar los inconvenientes anteriormente identificados, si bien este fenómeno no ha

sido muy estudiado en el área de laboratorio, en estudios realizados en otras industrias quedo claramente establecido que la principal causa de productos defectuosos se debe a lo anteriormente mencionado (Patel et al., 2016). Para evitar esta variación en el espesor del agar se utiliza una mesa nivelada de acero inoxidable. La falta de instrumental puede generar errores al momento de realizar el control de calidad así al no disponer de un phmetro o que se encuentre en desuso o descalibrado, puede provocar errores en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. En estudios realizados en España, estados Unidos, y otros países, se identifica que un medio acido provoca falsas resistencia en fármacos como aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos, los mismos que son de uso diario. Un mal mantenimiento del phmetro genera daños en el equipo y falsas lecturas; es recomendable mantener el electrodo en una solución saturada de cloruro de potasio, con el fin de evitar la pérdida de iones. Para evitar esos problemas encontrados se utiliza un phmetro nuevo y calibrado. El agar debe ser preparado siguiendo las especificaciones del fabricante, con medidas específicas de ahí que se debería utilizar dispensadores del medio, estos son dispositivos pertenecientes a la familia de las pipetas, estos permiten la distribución de volúmenes predeterminados. De lo anteriormente expuesto se podría deducir que su uso reduciría la variación en el espesor. El agua es uno de los principales elementos utilizados en la preparación del medio, el *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, Mo6-A2 “*Protocols for evaluating dehydrated Mueller Hinton agar*”, recomienda el uso de agua destilada, es importante que todo el personal involucrado en el laboratorio conozca si el destilador se encuentra en buenas condiciones, además de tener los mantenimientos adecuados, debido a que cambios en la composición del agua alteran parámetros del medio como el pH, de ahí que se debe realizar controles y mantenimientos al destilador con el fin de evitar variaciones que podrían alterar los resultados emitidos. Es importante recordar que el área de elaboración de medios de cultivo es un área crítica y estéril de ahí que, cualquier contaminante puede invalidar los resultados emitido. El *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, recomienda el uso de cabinas de flujo laminar exclusivas para la elaboración del medio con el fin de reducir al mínimo la contaminación del medio. El Dr. Willis Withfield et al. (citado en Pérez & Sánchez, 2010), comprobaron que al utilizar una cabina de flujo laminar reducía la contaminación relativa mil veces. Se evidencian prácticas de bioseguridad que han quedado en desuso como el pipeteo bucal, debido al riesgo de contagio de enfermedades (Pérez & Sánchez, 2010). Esto fue demostrado en un estudio publicado por Sulkin & Pike (citado en Pérez & Sánchez, 2010), en 5000 laboratorios, en el cual se observó casos de tuberculosis, turulemia, y brucelosis asociadas al pipeteo bucal e incluso se notificó un 3% de muertes asociadas a esta práctica. De ahí que, se debe suspender, el pipeteo bucal (Cerra et al., 2013). Posteriormente se evalúa el grado de conocimiento, pre y post capacitación, de los 8 profesionales de las casas de salud, intervenidas en cuanto a parámetros de control de calidad. Se encuentra en la pre -capacitación resultados de un 25% de conocimientos efectivos referentes al pH, su medición y sus efectos en el medio,

un 50% en cuanto a la concentración de timina-timidina y su efecto, 25% en la concentración de cationes y su efecto, 12,5% en cuanto al espesor el medio. Posterior a la capacitación se obtuvo una mejoría del 100%. Estos resultados se podrían extrapolar a los resultados obtenidos en un estudio realizado por Céspedes (2009), respecto al “Impacto del proceso enseñanza-aprendizaje sobre la calidad del laboratorio clínico”, en el cual se evidencio un 99,9% de mejoría de los parámetros aplicados tras la capacitación. Seguidamente se valoró en la práctica el control de calidad aplicado a los medios, realizando 30 réplicas de cada parámetro, encontrando que en promedio el pH aceptable en los dos hospitales fue de 30%, el espesor aceptable fue de 23,3%, control de cationes aceptable fue de 61,7%, concentración de timina-timidina 66,7% y esterilidad fue de 48,3%, posterior a la capacitación e intervención los resultados fueron del 100% de aceptabilidad.

Se podría pensar que el porcentaje obtenido en cuanto a la concentración de cationes podría deberse a variabilidad en la concentración del medio. Estudios realizados por Girardello et al. (2012), demostraron que los medios con concentraciones más bajas de cationes a las recomendadas por el *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*, generan halos más grandes de las esperadas, esto sucede sobre todo con medios marca MERCK, sin embargo, en las casas intervenidas se utilizan medios marca BD, los cuales tienen las concentraciones exactas del medio. Es importante recordar que el espesor puede variar el tamaño de los halos inhibición. Se observa que en la mayoría de los casos los medios tenían 7 mm de espesor y se encontraban desnivelados. Existen estudios en los cuales se ha observado que el espesor del agar afecta el tamaño del halo de inhibición de ahí que un medio con un diámetro mayor a lo esperado genera falsas resistencias, en cambio un medio de menor tamaño genera falsas sensibilidades.

### Conclusiones

- Al realizar un diagnóstico situacional de la infraestructura, insumos y materiales se determinó que la ausencia, el mal uso o desuso, constituyen los principales factores que afectaban la elaboración del medio, las necesidades de los laboratorios de microbiología fueron sustentadas y con ello se logró incrementar las características técnicas del medio de frente a las cepas ATCC *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- La falta de actualización sobre los procesos en la elaboración del medio de cultivo está relacionada con los posibles errores que afecten las características técnicas y su desempeño en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana.
- Este estudio contribuye al proceso de gestión de calidad de los laboratorios de microbiología.

**Conflicto de intereses**

Los autores certifican que no existen conflictos de interés en el presente trabajo.

***Referencias Bibliográficas***

- Alados Arboleda, J. C., & Alcázar Soriano, M. J. (2015). Diseño de un laboratorio de Microbiología Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología *Clínica*, 33. 1-26. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diseno-un-laboratorio-microbiologia-clinica-S0213005X0900408X>
- Basu, S., Pal, A., & Desai, P. K. (2005). *Quality Control for commercially prepare microbiological culture media*. *Revista india de microbiología médica*, 23(3), 159-163. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255085721025858>
- Bazet Ugalde, C., Camou, T., & Mogdasy, M. C. (2007). Manual básico de control de calidad en el laboratorio de microbiología. Editorial Montevideo: Hospital De Clinicas "Dr. Manuel Quintela". Repartición Microbiología. [https://pmb.parlamento.gub.uy/pmb/opac\\_css/index.php?lvl=notice\\_display&id=54299](https://pmb.parlamento.gub.uy/pmb/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=54299)
- Calderón Racines, M. D., & Barrera Guarderas, J. F. (2016). *Evaluación de la eficacia de una intervención administrativa sobre los procesos de preparación del agar Mueller Hinton en el Hospital General de las Fuerzas Armadas del Ecuador y en el Hospital Pablo Arturo Suárez*. [Proyecto de investigación, post grado, Especialista en Patología Clínica - Medicina de Laboratorio]. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. <https://docplayer.es/154983827-Universidad-central-del-ecuador-facultad-de-ciencias-medicas-instituto-superior-de-posgrado-posgrado-de-patologia-clinica.html>
- Clavell, L., & Pedrique de Aulacio, M. (1992). *Microbiología. Manual de Métodos Generales* (2da edición). Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2009). Manual para las pruebas de identificación y susceptibilidad antimicrobiana. *Medicina y Laboratorio*. 15 (3-4), 11–12.
- Cerra, H., Aversa, N., Carbone, N., Carnevali, S., Chiesa, C., & Covo, M. (2013). *Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos*. Editorial Asociación Argentina de Microbiología. [https://www.academia.edu/17322914/Manual\\_microbiologia\\_aplicada](https://www.academia.edu/17322914/Manual_microbiologia_aplicada)

- Céspedes, C. (2009). Impacto del proceso enseñanza-aprendizaje sobre la calidad del laboratorio clínico en la Misión Barrio Adentro. *Medisan*, 13(1).  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192009000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192009000100001)
- Chamorro, G., & Zárata M. N. (2008). Efecto del espesor y del pH del agar Mueller-Hinton en el antibiograma. *Revista Panamericana de infectología*. 10, 64–69.  
<https://www.yumpu.com/es/document/view/6104965/efecto-del-espesor-y-del-ph-del-agar-mueller-hinton-en-el->
- Cockerill, F.R., Wikler, M.A., Alder, J., Eliopoulos, D.M, & Ferraro G.M, (2012), Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard (11<sup>a</sup> Ed). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).  
<https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=58139aa4615e27240754da03&assetKey=AS%3A422233756704774%401477679780485>
- Forbes, B. (2009). *Medios de Cultivo*. (12<sup>a</sup> Ed) Diagnóstico Microbiológico. (pp. 1160) Houston: Panamericana.  
<https://books.google.com.ec/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- García-Álvarez, L. (2010). Efectos no antimicrobianos de las tetraciclinas. *Revista Española de Quimioterapia*. 23(1), 4–11. <https://seq.es/seq/0214-3429/23/1/garciaalvarez.pdf>
- Girardello, R., Bispo, J. M., Yamanaka, T. M., & Gales, A. C. (2012). Cation Concentration Variability of Four Distinct Mueller-Hinton. *Journal of Microbiology*, 50(7), 2414–2418. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22553247/>
- González de Buitrago, M. (2010). *Técnicas y métodos de laboratorio clínico*. (3Ed). España, Elsevier.  
[https://books.google.com.ec/books?id=IUeVMi8ViNsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=IUeVMi8ViNsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Herrera, Marco Luis. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34(Suppl.), 33-41.  
[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&tlng=es).
- Hudzicki, J. (2013). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology. <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6->

8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf

- Koneman, E. (2008). *Elaboración de medios de cultivo*. (6ª Ed). Diagnostico Microbiológico. Madrid; Panamericana, 1-1691.  
[https://books.google.com.ec/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&source=gbv\\_vpt\\_reviews#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&source=gbv_vpt_reviews#v=onepage&q&f=false)
- Malbrán, C. G. (2001). *Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos*. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.  
<https://1library.co/document/yevgm1lr-manual-procedimientos-determinación-sensibilidad-antimicrobianos-bacterias-aisladas-humanos.html>
- Miranda, C., López, L., & Loret Caballeria, A. (2004). *Recomendaciones sobre el aseguramiento de la calidad de medios de cultivo y reactivos*. Sociedad Española Microbiología.  
[https://seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gegmic/dcientificos/documentos/gegmic\\_dyc1\\_2004.pdf](https://seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gegmic/dcientificos/documentos/gegmic_dyc1_2004.pdf)
- Molina, J., Cordero, E., Palomino, J., & Pachón, J. (2009). Aminoglucosidos y polimixinas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(3), 178–188. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-aminoglucosidos-polimixinas-S0213005X09000986>
- Morales-Parra, G. I., Castro-Amaris, G., Mendoza-Bolaño, Y. C. (2017). Una mirada rápida al control de calidad interno en el quehacer diario del laboratorio de microbiología. *Medicina & Laboratorio*. 23(09-10), 459-474.  
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=99472>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). *Medios de cultivo*. (6a Ed) *Microbiología médica*. pp. 258-270. España: Elsevier, editor.  
[https://www.berri.es/pdf/MICROBIOLOG%C3%8DA%20M%C3%89DICA%20\(Libro%20+%20eBook\)/9788491138082](https://www.berri.es/pdf/MICROBIOLOG%C3%8DA%20M%C3%89DICA%20(Libro%20+%20eBook)/9788491138082)
- Ordoñez Smith, M. (2014). *Medios de cultivo*. (1ª Ed). *Guías Prácticas para los laboratorios de bacteriología clínica*. Colombia: Panamericana.  
<https://www.medicapanamericana.com/co/libro/guias-practicas-para-los-laboratorios-de-bacteriologia-clinica-version-digital>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2005). *Normas de bioseguridad*. (3Ed). *Manual de Bioseguridad en el laboratorio clínico*. Ginebra.

<https://www.paho.org/es/documentos/manual-bioseguridad-laboratorio-3a-edicion-oms-2005>

- Patel, J. B., Cockerill III, F. R., Eliopoulos, G. M., Jenkins, S. G., & Lewis II, J. S. (2016). *M100S Performance Standards for Antimicrobial*. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.ht>.
- Pérez, H., & Sánchez. V. (2010). Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procesamiento aséptico. *Rev. Científicas América Lat. el Caribe, España y Port*, 44(3), 7–14. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120684002>
- Perdomo, Jesús. (2009). Método Juran. Análisis y planeación de la calidad. *Innovador*, 19(33), 142. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-50512009000100011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-50512009000100011&lng=en&tlng=es).
- QuimiNet.com. (2010). *Cajas Petri. Información y negocios segundo a segundo*. [www.quiminet.com](http://www.quiminet.com)
- Rennie, P. R., Callihan, D. R., & Barry, A. L. (2006). *Protocols for evaluating dehydrated Mueller-Hinton Agar. Approved Standard*. Second Edition. 26(2). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <https://webstore.ansi.org/standards/clsi/clsim06a2>
- Rivera, A., Larrosa, N., & Mirelis, B. (2014). Importancia de los controles de calidad para la detección de la resistencia a antibióticos  $\beta$ lactámicos en enterobacterias. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 32(1), 30-36. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0213005X14701478?via%3Dihub>
- Rojo, M. D., Aguía, J. M., Cercenado, E., de Ory, F., & de la Rosa, M. (2010). Recomendaciones para la implantación de la normativa de calidad UNE-EN-ISO 15189 en el laboratorio de microbiología clínica: bacteriología y serología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(9), 629-637. DOI: [10.1016/j.eimc.2009.04.017](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.04.017)
- Torrice, E. (2003). *Control de Calidad Interno, método Bauer Kirby. Manual de procedimientos y control de calidad interno*. Organización Panamericana de la Salud. <http://saludpublica.bvsp.org.bo/cc/BOX.79/documentos/nman13.pdf>
- Totora, G. (2007). *Elaboración de medios de cultivo*. (9 Ed). Introducción a la microbiología. Madrid, Panamericana.



TP - Laboratorio Químico. (2012). *Balanza analítica. Instrumentos de un laboratorio químico*. [www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/balanza-analitica.html](http://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/balanza-analitica.html)

Villamil Gómez, J. (2005). *Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio*. Organización Panamericana de la Salud.

<https://www.paho.org/es/documentos/manual-mantenimiento-para-equipo-laboratorio-2005>

Vives, E.A. (2004). *Aminoglucósidos*. FarmacoMedia.wordpress.com.

<https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/05/aminoglucosidos.pdf%0A>

Zhurbenko, R., Viera Oramas, D. R., Rodríguez Martínez, C., & Ortega Surís, A. (2010). Optimización de la formulación de agar de Mueller-Hinton. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*,4(1),1–12.

<https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220509011.pdf>

El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Ciencia Digital**.



El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Ciencia Digital**.



## Indexaciones

