



Obras Sanitarias del Estado

Sistema Integrado de Gestión
de Laboratorios (SIGLA)

PROCEDIMIENTO TÉCNICO

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y AGUA PARA USO EN ENSAYOS Y CONTROLES

PT.BB.01
Versión Vigente
N° 06
Página 1 de 7

1. OBJETIVO / ALCANCE

Preparación de medios de cultivo y agua preparada y fraccionada para uso en el laboratorio de Bacteriología.

El procedimiento de preparación descrito corresponde a la preparación de medios de cultivo líquidos y sólidos necesarios para la determinación y cuantificación bacteriológica en muestras de agua analizadas en el Área Bacteriología y para el control del material y del ambiente de trabajo. También se describe la preparación de agua para uso en controles de ensayos, diluciones de muestras y como reactivo.

2. REFERENCIAS

- Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 22nd Ed.
- Procedimiento Técnico PT.BB.02 - Lavado, acondicionamiento y descarte de material.
- Procedimiento Técnico PT.BB.03 – Actividades Generales del Área Bacteriología

3. DEFINICIONES

Un medio de cultivo es un material nutritivo en el que se pueden recuperar, multiplicar y aislar microorganismos, así como efectuar pruebas de susceptibilidad. Generalmente se presentan desecados en forma de polvo fino o granular, pero también pueden encontrarse hidratados y pre-dispensados.

El agua para uso en controles de ensayos y diluciones de muestras es agua destilada estéril controlada y aprobada.

Elaborado por:
Gratel Duarte

Revisado por:
Patricia Draper
Rodolfo Graña

Aprobado por:
Rita Caristo



Obras Sanitarias del Estado

Sistema Integrado de Gestión
de Laboratorios (SIGLA)

PROCEDIMIENTO TÉCNICO

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y AGUA PARA USO EN ENSAYOS Y CONTROLES

PT.BB.01
Versión Vigente
N° 06
Página 2 de 7

4. RESPONSABILIDADES

La responsabilidad de la ejecución del presente procedimiento es de Técnicos y/o Laboratoristas del Área Bacteriología del Laboratorio Central.

5. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

La preparación de medios de cultivo consiste en pesar cada componente del medio de cultivo a preparar, hidratarlo, disolverlo, fraccionarlo y esterilizarlo (o viceversa) para luego controlarlo y utilizarlo.

La preparación de agua para su uso en controles, diluciones o como reactivo consiste en coleccionar agua recién destilada, termostatizarla, controlar su pH y conductividad, fraccionarla y esterilizarla para luego controlarla y almacenarla para uso.

6. CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD

Para la preparación del medio m-ENDO Agar deberá emplearse sobre túnica, guantes de protección y máscara antipolvo debido al efecto cancerígeno de la fucsina básica constituyente del medio. También es necesario el uso de guantes en la manipulación de las placas con el medio ya dispensado.

Al finalizar el proceso de esterilización, retirar el material del autoclave con sumo cuidado y utilizando los elementos de protección individual adecuados para evitar quemaduras (lentes, guantes, etc.)

Los materiales son descartados según el Procedimiento Técnico PT.BB.02 - Lavado, acondicionamiento y descarte de material.

7. INTERFERENCIAS

No aplica.



8. CONSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Una vez preparados, los medios deberán ser almacenados según la tabla 1 que se muestra a continuación:

Tabla 1: Tiempo y temperatura de conservación de los medios.

Medio de cultivo	Tiempo de almacenamiento	Temperatura de almacenamiento (°C)
Medio fraccionado en placas	2 semanas	5 ± 3
Agar o caldos en recipientes con tapas de ajuste	2 semanas	5 ± 3
Agar o caldos en recipientes con tapa rosca bien cerrados	3 meses	Temperatura ambiente

El agua para controles y el agua destilada estéril tiene una vigencia de uso de tres meses a partir de su preparación.

9. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Balón de fondo plano

Barra agitadora magnética

Espátulas

Frascos de vidrio con sus tapas

Guantes protectores del calor

Integradores químicos de vapor

Matraz Erlenmeyer

Pipetas graduadas

Placas de Petri de plástico de 55 - 60 mm o de 90 - 100 mm de diámetro

Probetas graduadas



Tubos de ensayo de vidrio
Tapas para tubos de ensayo
Agua destilada
Solución de HCl (ácido clorhídrico) 1N
Solución de NaOH (hidróxido de sodio) 1N
Autoclave
Balanza
Baño de agua con tapa a temperatura 45 ± 4 °C
Bomba peristáltica
Destilador
Horno a microondas
Plancha calefactora con agitación magnética
pH-metro
Pipeteador automático

10. DESARROLLO

Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de un medio de cultivo siga las instrucciones descritas en el respectivo instructivo de trabajo y en los instructivos de uso de los equipos requeridos en su preparación (ITP.BB.XX.YY).

Previamente a la preparación corrobore que los reactivos a utilizar estén vigentes.

Cuando determine la masa de los componentes del medio de cultivo pese cada componente según la cantidad de cifras significativas que se indica en el instructivo de trabajo, sin tomar en cuenta la siguiente cifra que se muestra en la balanza. Por ejemplo, si en el instructivo de preparación del medio indica “pesar 1.6 g”, considere toda masa que se encuentre entre 1.55 g y 1.64 g.



Registre todos los datos requeridos en el/los formulario/s de Registro Técnico que corresponda/n.

Preparación de agua para uso en ensayos bacteriológicos

Para la preparación de agua destinada estéril y agua control siga las instrucciones descritas en sus respectivos instructivos de trabajo.

Luego de la salida del destilador permita la termostatización del agua entre 20 °C y 30 °C y determine el pH de la misma y la conductividad. Para ello utilice un pH-metro y una sonda de conductividad siguiendo las instrucciones de operación del mismo y registre todos los datos requeridos en los registros técnicos correspondientes.

Tanto los lotes de agua como los de medios de cultivo son segregados mientras se realizan los controles de calidad correspondientes.

Las instrucciones para realizar los controles y los resultados esperados se encuentran en cada instructivo de preparación de medio o agua.

11. INFORME DE RESULTADOS / REGISTROS

A continuación se listan los formularios de Registro Técnico requeridos en la preparación de medios de cultivo y agua para uso en el Área Bacteriología:

Título del formulario	Código del formulario
Preparación de medios de cultivos/Reactivos	FTP.BB.01.01



Obras Sanitarias del Estado

PROCEDIMIENTO TÉCNICO

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y AGUA PARA USO EN ENSAYOS Y CONTROLES

PT.BB.01
Versión Vigente
N° 06
Página 6 de 7

Sistema Integrado de Gestión
de Laboratorios (SIGLA)

Ajuste pHmetro	FTP.BB.03.09
Control de reactivos, medios y materiales	FTP.BB.01.02
Esterilización - Medios de cultivo / Agua / Soluciones	FTP.BB.01.03
Esterilización de material limpio	FTP.BB.02.02
Control de pH del agua destilada previo a su uso	FTP.BB.03.18
Uso de estufas y baños de cultivo	FTP.BB.03.01

Los datos de la preparación de los medios de cultivo se registran en el formulario de registro técnico FTP.BB.01.01- Preparación de medios de cultivo/Reactivos.

Los controles son registrados en el formulario de registro técnico FTP.BB.01.02 - Control de reactivos, medios y materiales.

Los datos correspondientes a la esterilización de los medios de cultivo preparados se registran en el formulario de registro técnico FTP.BB.01.03 - Esterilización - medios de cultivo.

Los datos de esterilización de agua control y agua destilada estéril se registran en el FTP.BB.02.02.

12. CONTROL DE CALIDAD / ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Siga las instrucciones de cada instructivo de trabajo y recuerde el registro de todos los datos requeridos.



Si los resultados de los controles no son los esperados se analizan las posibles causas y se evalúa repetir los controles o descartar el lote. En este último caso se procede según PG.CC.04 - Tratamiento de no conformidades, sugerencias, quejas, reclamos, y acciones correctivas, preventivas y de mejora.

13. NATURALEZA DE LA REVISIÓN

Se revisó el documento en su totalidad

Se eliminó el FTP.BB.01.04

Se actualizo el formulario de registro técnico FTP.BB.01.01

Se modificaron los diferentes tipos de aguas que se preparan en el área.

Se actualizo la tabla de registros

Se agregó la medida de conductividad en el agua destilada.

14. ANEXOS

No aplica.

LA IMPRESION DEL PRESENTE DOCUMENTO GENERA UNA COPIA NO CONTROLADA