

# Estudio comparativo entre diferentes medios de cultivo en placa de contacto para control microbiológico (recuento total) de superficies

Ana Esponera del Campo\*, Cristina Cordero Enríquez\*, Gregorio Kaklis Orozco\*, Jorge Sanchis Solera\*

*Se pretende establecer una comparación entre diferentes medios de cultivo para recuento total en placa de contacto a fin de averiguar cuáles son los más idóneos en el control microbiológico de superficies. Se estudian tanto la recuperación de UFC como la diversidad de especies.*

*A comparison between several kinds of culture media for total count in contact plates is made to find the best media for microbiological surface testing. Recovery of CFU and species diversity are studied.*

## Material y métodos

Se han utilizado 640 placas de contacto preparadas con 8 medios de cultivo distintos para recuento total. Los estudios se han realizado en 17 puntos

de muestreo diferentes de industrias, hospitales y lugares públicos. En cada lugar se han tomado muestras diarias durante una semana laborable (5 días).

## Resultado

Muestra	TSA1	TSA2(LP)	PCA	PCA-C	NUT.A	LPTX	LPTX-C	D/E N
1	6 4	10 5	40 4	7 3	5 4	19 6	12 4	15 4
2	13 3	6 4	41 4	91 7	76 5	10 4	5 2	12 4
3	112 4	29 4	56 5	5 3	55 4	6 2	1 2	15 5
4	52 2	11 4	480 2	1 1	32 2	34 2	3 2	67 2
5	10 2	32 2	10 3	1 1	10 3	9 3	8 2	9 1

## control microbiológico

Muestra	TSA1	TSA2(LP)	PCA	PCA-C	NUT.A	LPTX	LPTX-C	D/E N
6	14	28	IIMU	17	4	94	18	19
	3	5	1	4	2	4	4	2
7	9	5	32	26	22	73	IIMU	19
	6	2	3	3	5	4	1	2
8	12	38	23	26	43	184	21	47
	3	4	2	5	4	4	5	3
9	18	58	36	12	38	29	14	26
	2	2	2	2	2	3	3	2
10	46	IIMH	96	15	102	60	20	77
	4	4	5	5	3	4	4	6
11	60	25	20	80	35	85	20	25
	8	7	6	6	6	3	7	5
12	60	65	80	65	75	85	50	120
	10	6	7	7	6	6	7	6
13	86	80	100	65	180	150	100	100
	6	4	6	7	7	5	4	5
14	38	50	29	60	80	50	6	76
	2	2	2	3	3	3	3	3
15	97	20	94	79	71	108	80	84
	4	2	4	4	4	2	4	4
16	6	2	5	1	1	5	3	20
	3	2	4	1	1	3	4	5
17	9	6	5	8	5	10	60	7
	5	2	2	5	4	2	3	4
18	6	3	21	12	10	8	25	25
	4	1	3	5	3	1	4	2
19	11	7	1	0	4	1	89	0
	3	3	1	0	2	1	2	0
20	-	-	148	160	123	600	139	160
	3	2	3	1	3	3	3	3
21	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC
	2	3	1	1	1	1	3	1
22	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC
	2	1	2	1	1	2	2	2
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC
	2	2	2	2	2	2	2	2
25	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC
	3	2	2	4	2	2	2	3
26	912	288	240	70	408	600	IIMH	IIMH
	3	5	5	7	4	3	7	12
27	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC
	6	3	4	6	4	3	3	3
28	IC	IC	360	IC	IC	IC	720	IC
	4	4	4	4	4	3	4	5
29	390	240	360	98	IC	864	IC	IC
	3	3	3	4	3	2	4	4
30	768	IC	IC	IC	462	450	160	406
	4	4	7	5	6	2	3	4
31	61	57	72	50	77	91	35	35
	3	3	7	8	4	7	6	4
32	250	53	92	960	168	980	188	816
	7	3	5	4	4	5	8	8
33	648	360	IC	800	432	912	700	624
	5	3	5	6	5	3	3	6
34	264	384	192	16	52	336	68	320
	3	5	3	2	2	4	4	5
35	120	181	210	77	451	228	IIMU	193
	3	5	6	6	5	6	1	5
36	IIMU	83	648	IIMU	63	92	112	84
	1	5	6	1	8	9	7	6
37	336	156	70	432	112	264	180	432
	7	4	6	9	6	6	5	7
38	312	99	240	66	720	208	120	792
	5	6	2	4	5	6	3	8
39	240	358	65	80	28	480	45	395
	4	4	3	3	4	3	3	7
40	504	216	168	210	240	192	IIMU	120
	7	4	6	7	4	6	1	10
41	960	720	408	IIMU	480	576	160	192
	6	4	7	1	8	9	3	7
42	264	140	58	128	720	85	32	78
	7	8	5	6	5	6	4	8
43	312	313	672	432	430	360	432	360
	7	4	4	7	4	7	3	5
44	IIMU	240	37	150	600	360	201	85
	3	4	2	4	3	3	3	4

## control microbiológico

Muestra	TSA1	TSA2(LP)	PCA	PCA-C	NUT.A	LPTX	LPTX-C	D/E N
45	570 4	362 6	55 6	820 8	384 6	153 5	128 4	117 11
46	104 7	144 4	240 7	288 8	IIMU 1	192 7	72 3	600 3
47	45 6	216 4	46 6	120 7	68 6	25 4	48 4	50 4
48	172 5	74 5	54 6	130 4	78 4	336 7	45 7	92 4
49	288 4	570 3	144 3	160 5	432 4	121 4	68 4	98 4
50	336 6	168 4	48 4	49 5	156 7	120 8	IIMU 2	65 8
51	24 4	20 4	3 3	12 5	74 4	30 6	26 5	18 4
52	11 2	20 3	3 2	21 5	10 3	17 3	11 3	10 2
53	24 3	67 3	9 3	27 3	11 3	74 4	IIMU 3	50 3
54	73 3	17 2	3 1	23 2	6 3	45 3	IIMU 1	28 4
55	63 4	64 3	1 1	18 2	36 3	30 3	IIMU 1	- -
56	IIMU 3	IIMU 5	IIMU 6	IIMU 6	IIMU 5	IIMU 5	IIMU 5	IIMU 4
57	768 6	IIMU 3	IIMU 7	780 3	IIML 6	IC 8	912 4	80 4
58	IC 6	480 3	124 6	840 4	432 6	IIMU 6	850 4	90 3
59	648 3	336 4	80 4	700 4	97 5	672 3	930 4	480 5
60	882 6	148 7	112 5	IIMU 4	139 7	- -	120 3	68 5
61	115 7	59 6	28 6	97 9	95 7	31 6	83 6	70 6
62	62 5	57 6	35 5	81 5	45 6	51 4	47 4	18 6
63	30 1	11 1	41 4	34 3	30 3	24 3	55 2	11 4
64	960 1	648 1	504 1	752 1	IC 1	IC 2	408 1	IC 1
65	4 3	8 2	0 0	0 0	5 2	150 1	3 1	6 2
66	-	-	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-	-	-
69	-	-	-	-	-	-	-	-
70	4 2	30 2	2 1	8 2	3 1	25 2	6 3	12 2
71	IC 4	300 6	5 4	12 4	400 7	8 5	40 4	2 2
72	IC 6	IC 6	IC 5	15 5	15 5	16 4	IC 3	40 6
73	408 5	480 5	360 6	35 5	264 5	360 5	7 5	60 8
74	264 4	264 5	50 6	48 4	60 6	30 4	160 8	80 4
75	240 7	60 3	120 7	336 8	40 4	240 6	6 1	288 5
76	20 5	IC 6	100 4	120 10	IIMH 3	IC 8	15 4	IC 4
77	IC 7	4 1	175 7	125 7	6 5	16 3	IIMH 6	40 8
78	140 3	696 4	120 6	5 4	5 4	IC 6	6 4	9 6
79	216 7	168 4	336 9	720 5	456 4	240 5	360 5	600 6
80	IC 5	840 5	IC 4	IC 5	IC 4	IC 5	480 2	IC 2

### Leyenda del cuadro de resultados

La primera cifra de cada apartado se refiere al recuento

total, por placa de contacto de 55 mm de diámetro, de UFM (bacterias, levaduras y mohos).

Cuando en vez de un número aparecen siglas, éstas sig-

## control microbiológico

nifican:

- IIMU: Incontables por invasión de especie mucosa
- IIMH: Incontables por invasión de moho
- IIML: Incontables por invasión de colonia en melena de león
- IC: Incontables por confluencia de colonias (se han considerado incontables las placas con más de 999 colonias y no se han tenido en cuenta para el estudio de recuperación de colonias, sí para el de diversidad de especies)
- (-) : No se pudo tomar la muestra

La segunda cifra de cada apartado se refiere a la diversidad en número de especies distinguibles a simple vista por la morfología y color de la colonia.

Medios de cultivo:

- TSA1: Tryptic Soy Agar Microkit
- TSA2 (LP): Tryptic Soy Agar con Lecitina y Polisorbato Multinacional USA
- PCA: Plate Count Agar Microkit
- PCA-C: Plate Count Agar con partículas de carbón activado Microkit
- NUT.A: Nutrient Agar Microkit
- LPTX: Lecithin Polisorbate Triton X100 Agar Microkit
- LPTX-C: LPTX100 Agar con partículas de carbón activado Microkit
- D/E N: D/E Neutralizing Agar Microkit

Lugares de la toma de muestras (5 días seguidos):

- 1-5: Zona limpia de laboratorio farmacéutico (zona de paso)
- 6-10: Suelo de despacho laboratorio farmacéutico bajo aire acondicionado
- 11-15: Suelo en laboratorio de análisis de alimentos
- 16-20: Cabina de flujo laminar en laboratorio de análisis de alimentos
- 21-25: Matadero, mesa de teflón
- 26-30: Matadero, sierra de cuarteado
- 31-35: Suelo del cuarto de estar en una residencia de ancianos
- 36-40: Suelo de la cocina de una residencia de ancianos
- 41-45: Suelo del consultorio de un ATS
- 46-50: Suelo del WC de una clínica
- 51-55: Suelo del WC de una guardería
- 56-60: Suelo del cuarto de estar de una guardería
- 61-64: Suelo de una oficina
- 65: Mesa de operaciones de un quirófano
- 66-70: Suelo de un quirófano
- 71-75: Equipo de procesado en una fábrica de zumos de cítricos
- 76-80: Almacén de materias primas en una fábrica de derivados de cítricos

**Media de recuento incluidos los lugares con recuentos altos**

Nº colonias en placas con menos de 1000 UFC / Nº placas con menos de 1.000 UFC

TSA1: 13.487 / 61 =	221,10 UFC/placa
TSA2(LP): 10.974 / 62 =	177,00 "
PCA: 8.011 / 63 =	127,16 "
PCA-C: 10.676 / 63 =	169,46 "
NUT.A: 9.752 / 62 =	157,29 "
LPTX: 11.704 / 61 =	191,87 "
LPTX-C: 8.713 / 58 =	150,22 "
D/E N: 8.937 / 62 =	144,15 "
Total: 82.254 / 492 =	167,18 "

**Media de recuento excluidos los lugares con recuentos altos**

Nº colonias en placas con menos de 100 UFC / Nº placas con menos de 100 UFC

TSA1: 984 / 31 =	31,74 UFC/placa
TSA2(LP): 1.238 / 34 =	36,41 "
PCA: 1.450 / 39 =	37,18 "
PCA-C: 1.513 / 42 =	36,02 "
NUT.A: 1.470 / 39 =	37,69 "
LPTX: 1.268 / 33 =	38,42 "
LPTX-C: 1.153 / 37 =	31,16 "
D/E N: 1.822 / 43 =	42,37 "
Total: 10.898 / 298 =	36,57 "

Media de diversidades

Suma del número de especies / Nº placas con recuento inferior a 1.000 UFC

TSA1: 319 / 74 =	4,31 spp/placa
TSA2(LP): 280 / 74 =	3,78 "
PCA: 311 / 75 =	4,15 "
PCA-C: 328 / 75 =	4,37 "
NUT.A: 307 / 75 =	4,09 "
LPTX: 308 / 74 =	4,16 "
LPTX-C: 270 / 75 =	3,60 "
D/E N: 334 / 74 =	4,51 "
Total: 2.457 / 596 =	4,12 "

## Conclusiones y comentarios

Se han leído 492 placas de contacto, con un total de 82.254 colonias.

Tras la lectura de resultados resulta evidente que la recuperación en UFM (bacterias, levaduras y mohos) por medio es máxima para el TSA (221,10 UFC/placa), seguido del LPTX (191,87 UFC/placa), del TSA-LP (177,00 UFC/placa) y del PCA-Carbón (169,46 UFC/placa), en lugares muy contaminados (recuentos inferiores a 1.000 UFC/placa).

En lugares más limpios, con un máximo de 100 UFC/placa, la máxima recuperación la da el D/E

Neutralizing (42,37 UFC/placa), seguido del LPTX (38,42 UFC/placa), del Nutrient Agar (37,69 UFC/placa) y del PCA (37,18 UFC/placa).

Los recuentos mínimos los dan, en sitios sucios, el PCA (127 UFC/placa), seguido por el D/E Neutralizing (144,15 UFC/placa), el LPTX-Carbón (150,22 UFC/placa) y el Nutrient Agar (157,29 UFC/placa). En sitios menos sucios, los mínimos corresponden al LPTX-Carbón (31,16 UFC/placa), seguido del TSA (31,74 UFC/placa), del PCA-Carbón (36,02 UFC/placa) y del TSA-LP (36,41 UFC/placa).

En cuanto a la diversidad, es máxima en el D/E Neutralizing (4,51 aspectos coloniales diferentes por placa), seguido por el PCA-Carbón (4,37) y por el TSA (4,31). El máximo absoluto de aspectos coloniales diferentes en una sola placa también lo da el D/E Neutralizing (12 en una placa, 11 en otra y 10 en otra), seguido por el PCA-Carbón (10 en una placa) empatado con el TSA (10 en una placa).

La mínima diversidad corresponde al LPTX-Carbón (3,60 aspectos coloniales diferentes por placa), seguido por el TSA-LP (3,78), el Nutrient Agar (4,09), el PCA (4,15) y el LPTX (4,16).

Se concluye así que no siempre es bueno añadir inactivadores de los desinfectantes a los medios de cultivo y que cada laboratorio debe elegir el medio de cultivo óptimo según busque máxima recuperación en sitios limpios, máxima recuperación en sitios sucios o máxima diversidad.

La lectura resulta más fácil en los medios con carbón y en el D/E Neutralizing, ya que las colonias contrastan de forma excelente con el fondo, y aparecen francamente nítidas. Lo opuesto ocurre en los medios incoloros y transparentes, sobre todo el el TSA-LP, cuyas colonias son muy difusas.

Las colonias aparecidas en el D/E Neutralizing son más pequeñas que en los otros medios, de forma constante. Las especies invasoras afectan menos a este medio (2 placas de 74 contadas) y al LPTX (2 placas de 74 contadas), y más al LPTX-Carbón (10 placas de 75). Los demás medios sufren más o menos por igual la aparición de especies invasoras (3-4 placas de 74-75 contadas).

Si medimos la dispersión de los resultados según los medios, para cada muestra, mediante la varianza o la desviación típica, advertiremos que es muy elevada. Por otra parte, el índice de agregación es superior a 1, los individuos están agrupados aunque los grupos puedan a su vez estar distribuidos al azar (distribución contagiosa). Todo ello hace ver que es totalmente insuficiente tomar una sola placa al día para conocer el nivel de contamina-

ción de una superficie. La muestra para cada lugar concreto ha de ser de al menos 5 placas en sendos subespacios escogidos al azar.

Una mayor profundización en estudios estadísticos a partir de la tabla de resultados puede dar lugar a otras conclusiones interesantes que escapan a los objetivos de este trabajo, por ejemplo la comparación de medias para cada tipo de laboratorio (farmacéutico, alimentario, hospitalario...).

Tampoco era objetivo del presente trabajo identificar las especies encontradas, pero cabe decir que la flora ha resultado ser muy constante (aproximadamente 40 aspectos coloniales diferentes). Las especies más frecuentes y cosmopolitas han sido, por orden decreciente de frecuencia, las siguientes:

### A. Bacterias (más del 97 % de la flora aparecida):

1. Estafilococos (cat +, coag -), no patógenos, diversas especies pigmentadas de tonos blanco, amarillo-limón, amarillo-canario, rosado tenue, rosado casi rojo, naranja, salmón... (carotenoides) que son flora normal de la piel humana. Representan cerca del 30 % de las especies encontradas.
2. Enterobacter agglomerans
3. Escherichia coli
4. Pseudomonas putida, Pseudomonas fluorescens con colonias pigmentadas
5. Citrobacter freundii
6. Enterobacterias con colonias invasoras mucosas
7. Bacillus sp. con colonias invasoras en melena de león
8. Estreptococos con microcolonias
9. Etc.

### B. Mohos (menos del 3 % de la flora aparecida):

1. Penicillium sp.pl.
2. Rhizopus sp.pl.
3. Alternaria sp.pl.
4. Aspergillus sp.pl.
5. Etc.

### Bibliografía

- Hall, L. B., M. S., M. E. & Hartnell, M. J. (1964): Measurement of the bacterial contamination on surfaces in hospital. Public Health Reports, vol.79, nº 11, Nov. 1964 (1.021-1.024).
- Lawrence, C. A. & Block, S. (1968): Disinfection, Sterilization & Preservation. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Litsky, B. Y. & Litsky, W. (1968): Investigation of the

## control microbiológico

---

contamination of hospital surfaces by the use of disinfectant detergents. American Journal of Public Health 1968.58 (3).

– Niskanen, A. & Pohja, M. S. (1977): Comparative studies on the sampling and investigation of microbial contamination of surfaces by the Contact Plate and Swab Methods. Journal of Applied Bacteriology. 1977, 42 (53-63).

– Orefice, L., Gizzarelli, S., Felip, G. D. (1988): Considerations on some methods for evaluation of microbiological contamination of surfaces and worked hands. Rivista Della Società Italiana di Scienza Della Alimentazione, nº17, 2 (121-127).

– Runkle, R. S. & Phillips, G. B. (1969): Microbial Contamination Control Facilities Reinhold Book Corporation. U.S.A.

– Sanchis, J. (1992): Control microbiológico ambiental mediante placas de contacto. Folletos de instrucciones Microkit sobre placas de contacto.

– Solberg, M., Buckalew, J. J., Chen, L. M., Schaffner, D. W., O'Neil, K., Mc Dowell, J., Post, L. S. & Boderck, M. (1990): Microbiological Safety Assurance System for foodservice facilities. Food Technology. Dec. 90 (68-73).

– Tebbutt, G. M. (1988): Laboratory evaluation of disposable and reusable disinfection cloths for cleaning food contact surfaces. Epidemiology and Infection. 101:II (367-375).

---

**\* Microkit, S.L.**

**Colaboradores: Teresa Alonso Calvo, José María Esteban Fernández (director de departamento de farmacobiología de laboratorio farmacéutico), Maisa García Fernández de Velasco, María Soledad González Benito, Carmen Humberrias (directora técnica de Asesoría Alimentaria), Beatriz López Pleite, María Salud Parrilla, José Luis Valle Rodríguez, Salvador, José Luis y Fernando. Los autores agradecen sinceramente a todas estas personas y entidades su apoyo y su participación en la elaboración de este trabajo.**