

CompactDry™

MANUAL DE USUARIO FINAL

Siempre hay una mejor manera.



HIXWER®



NISSUI PHARMACEUTICAL CO.,LTD.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	3
Características	4-6
Protocolos	7-24
Recuento total	7
De tipo Coliforme	8
<i>E. Coli</i> / Coliforme	9
Levadura y Moho	10
Levadura y Moho Rápido	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
<i>Salmonella</i>	13
Enterobacteriaceae	14
<i>Enterococcus</i>	15
<i>Bacillus cereus</i>	16
<i>Listeria</i>	17
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Bacterias heterótrofas en agua	20
Recuento total en Té	21
Muestreo ambiental	22-24
Muestreo por filtración de membrana	24
Aplicaciones industriales	25-36
Industria Panadera	25
Industria de Bebidas	26
Industria Láctea	27
Industria Cárnica	28
Industria de "Snacks"	29
Industria de Frutas y Hortalizas	30
Industria de Pescado y Mariscos	31
Industria del Agua	32
Industria Azucarera	33
Industria de Alimentación animal	34
Nutracéuticos	35
Industria Cosmética	36
Tiempo de Incubación y Temperatura	37
Protocolo de Dilución	38
Pautas de Conteo	39-41
Eliminación de residuos	42
Requisitos mínimos de Laboratorio	43-45
Preguntas Frecuentes	46-47

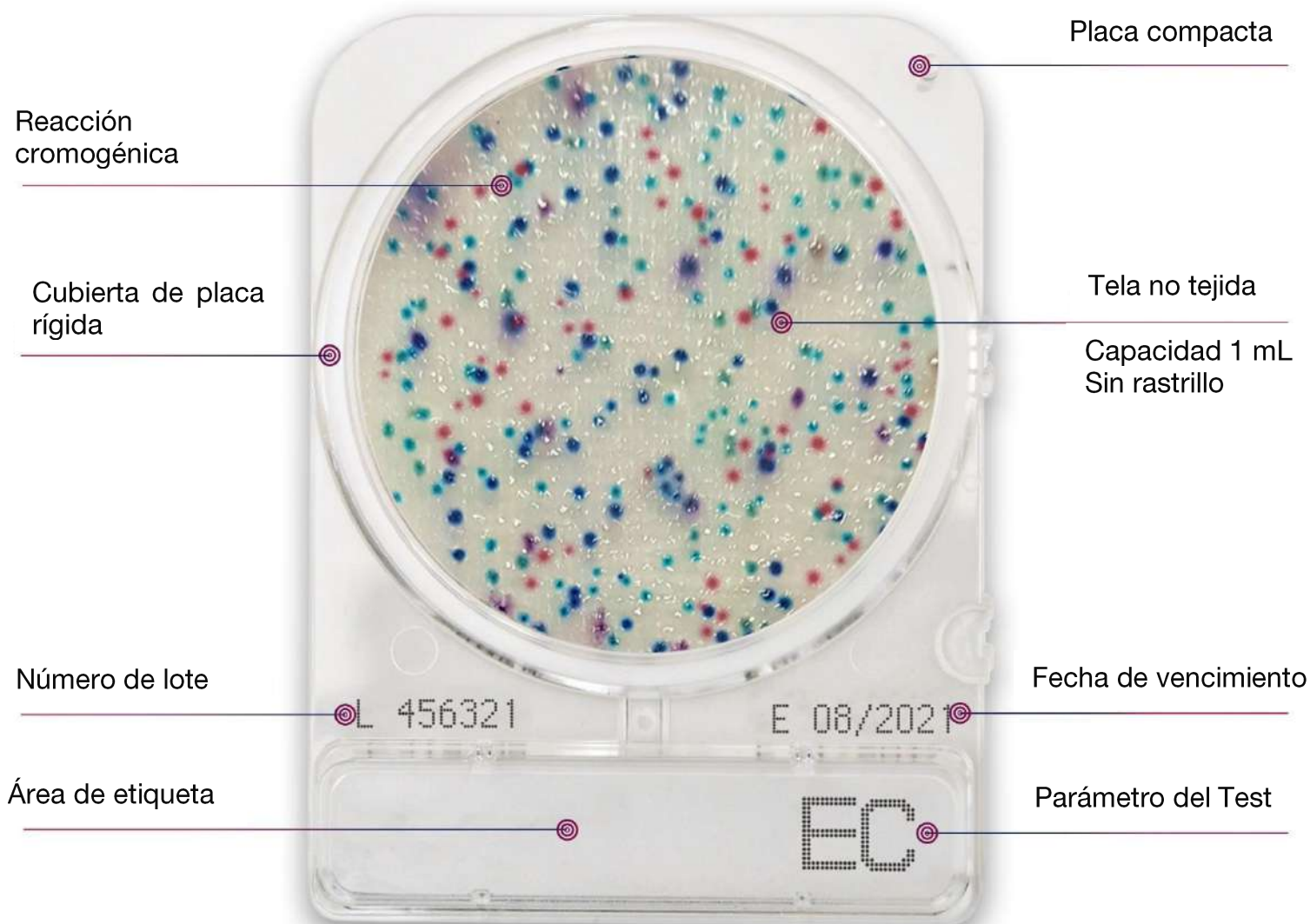
La población mundial está en continuo crecimiento, al igual que la necesidad de productos seguros y de calidad. Las personas consumen alimentos para sobrevivir, toman suplementos dietéticos y se aplican cosméticos para mejorar su aspecto. En general, los alimentos están disponibles en el mercado como congelados, refrigerados, precocidos y/o procesados, mientras que los nutracéuticos y cosméticos están listos para consumir y listos para aplicar, respectivamente. El común denominador para todos estos productos es la necesidad de ser procesados adecuadamente como productos terminados.

El procesamiento adecuado de alimentos, suplementos dietéticos, aditivos y cosméticos debe estar alineado con los estándares establecidos por el gobierno o cualquier organización reconocida interesada en dichos productos. Para poder lograr esto, los fabricantes deben comenzar a invertir en diferentes métodos de prueba de seguridad alimentaria que garanticen la calidad y seguridad de sus productos. Uno de los más importantes es someter los productos a análisis microbiológicos para verificar si estos se encuentran dentro de los estándares establecidos por los comités reguladores de seguridad de productos específicos. La forma tradicional de hacer el ensayo es a través del método convencional de enchapado, que puede tomar de dos (2) a siete (7) días dependiendo del microorganismo de interés. A esto se suman los métodos de identificación, especialmente para los patógenos, que necesitan confirmación adicional, como pruebas bioquímicas o incluso pruebas de identificación molecular. Con estos métodos tradicionales, los alimentos procesados no pueden ser fácilmente declarados como "aptos para entrega" o "aprobados" por el Control de Calidad. Esto conduce a un flujo más lento, costos de almacenamiento adicionales e inventario de mercancías con una vida útil más corta.

Para abordar este problema, los fabricantes recurren a herramientas alternativas que pueden hacer la misma función pero con resultados más rápidos sin sacrificar la sensibilidad y la especificidad. Una de esas herramientas es CompactDry™, un producto de Nissui Pharmaceuticals Co., Ltd. con sede en Japón, una innovación del método de placa convencional y el futuro de las pruebas microbiológicas. CompactDry™ es una placa de medios cromogénicos lista para usar que se puede usar como sustituto directo del método convencional. Elimina el laborioso trabajo de preparación de medios y esterilización. En las grandes empresas fabricantes, se puede ahorrar un total de cuatro (4) a seis (6) horas diarias en las pruebas microbianas generales, que se pueden utilizar para otras tareas de laboratorio. Además, para la creación de micro, pequeñas y medianas empresas con instalaciones limitadas, el uso de kits de prueba rápida también es una ventaja porque solo necesita un espacio pequeño debido a los requisitos mínimos de laboratorio.

CompactDry™ es muy fácil de usar y requiere un entrenamiento mínimo. Este kit de prueba rápida está disponible en 15 parámetros que incluyen organismos de descomposición, patógenos y otros parámetros especiales. En comparación con otras tecnologías similares, CompactDry™ es el único sistema con pruebas disponibles para *Enterococcus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y Recuento Total en infusión. También ofrece un tiempo de prueba reducido para *E. coli* / coliformes, y Levadura y Moho con solo 24-72 horas de tiempo de incubación, respectivamente, otro desarrollo de productos que es parte del compromiso de Nissui Corporation con la innovación continua y proporcionar las mejores soluciones para diversas industrias.

CARACTERÍSTICAS



CARACTERÍSTICAS

LISTO PARA USAR

- No requiere esterilización
 - Ahorra tiempo, agua y energía
 - Evita series de contaminación
- medios cromogénicos lista

MEDIOS AUTODIFUSORES

- Permite un tiempo de manipulación de 10 segundos
- Elimina el uso de otros accesorios, tales como rastrillo
- Sin "tiempo de gelificación"; el medio infundido en la almohadilla de tela se solidifica rápidamente tras la inoculación
- No es necesario presionar, extender e inclinar las placas



DISEÑO INNOVADOR

- Placa compacta con cubierta de placa robusta para evitar la contaminación y los derrames
- Con área de escritura que no se borra fácilmente debido al acabado mate
- Diseñado con una manija fácil de levantar y espacio de aire para una distribución uniforme de oxígeno
- Con capacidad de apilamiento ilimitado dependiendo de la capacidad de la incubadora sin comprometer el crecimiento del microorganismo objetivo

PRESENTACIÓN ESTRATÉGICA

- Estable a temperatura ambiente durante 18-36 meses.
- Placas con cluster para agrupar un tipo de muestra con múltiples diluciones
- Las placas también se pueden romper para un solo uso
- Empaquetado con 4 placas por lámina para evitar el efecto de la vida útil secundaria (30 días) al abrir la lámina

CONVENIENTE

- Flujo de trabajo más optimizado
- Temperatura de incubación uniforme de 35 °C para la mayoría de los parámetros, excepto para Levadura y Moho (25 °C) y *Salmonella* (41 °C)
- Pruebas microbiológicas en 3 sencillos pasos: inocular, incubar e interpretar



MAYOR GAMA DE PARÁMETROS DISPONIBLE & MAYORES APLICACIONES

- Actualmente con un total de 15 parámetros que incluyen patógenos, comúnmente probados y otros parámetros especiales
- Aplicable para la mayoría de las muestras sólidas y líquidas, filtración por membrana, muestreo de aire, toma de muestras manuales y superficiales

RESULTADO RÁPIDO & PRECISO

- Resultados en tan solo 24-48 horas para la mayoría de los parámetros
- No se necesitan discos ni procedimientos de confirmación adicionales
- Contraste de color distintivo para una mejor identificación de colonias
- Diferenciación más fácil entre levadura y moho debido al espacio de aire que permite el crecimiento 3D
- Fácil recolección de colonias aisladas para su posterior análisis
- Aprobaciones internacionales: AOAC International, European Microval, Nordval y HPFB Health Canada





Recuento total

AOAC #010404 NordVal #033 MicroVal #20007LR01

Se refiere a todos los microorganismos presentes en una muestra que puede tolerar la presencia de oxígeno y no tiene requisitos de crecimiento específicos típicamente no incluidos en la formulación de medios de propósito general. De acuerdo con la regulación de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), el recuento total se considera uno de los parámetros de liberación para muestras de alimentos (congelados, refrigerados, precocidos y preparados), farmacéuticas y nutracéuticas.

Interpretación de resultados

Colonias rojas y de otro color

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 ± 3 horas
MicroVal y NordVal: $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 ± 3 horas



Lea resultados



De Tipo Coliforme

AOAC #110402 NordVal #035 MicroVal #MV0806-003 LR

Los coliformes son bacterias anaerobias facultativas, gramnegativas, en forma de bastón, no formadoras de esporas que se encuentran comúnmente en el intestino de los animales de sangre caliente y el suelo. El término "coliforme" se usa para referirse a bacterias entéricas (tanto fermentadores de lactosa como no lactosa) que se encuentran en muestras de alimentos como carne y mariscos, cosméticos, materias primas farmacéuticas y, más especialmente, muestras de agua. Las bacterias como *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacteria* se consideran coliformes, pero el coliforme más reconocido es *Escherichia coli*. La prueba de la presencia de coliformes es importante en la industria alimentaria, especialmente en el monitoreo de la calidad del agua.

Interpretación de resultados

Colonias azules o azules verdosas

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



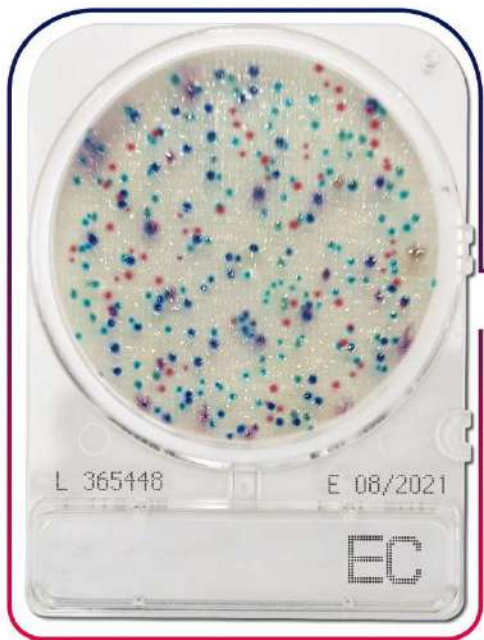
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International, MicroVal, y NordVal: 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



E. Coli / Coliforme

AOAC #110402 NordVal #036 MicroVal #MV0806-005 LR (*E. coli*)
MicroVal #MV0806-004 LR (Coliform)

Escherichia coli es un coliforme que se encuentra en el intestino de los animales de sangre caliente, lo que lo convierte en un excelente indicador de contaminación fecal. No todas las *E. coli* son patógenas, pero existen cepas que pueden considerarse bacterias oportunistas que infectan a un huésped inmunocomprometido. La prueba de la presencia de coliformes y *E. coli* es importante en la industria alimentaria, especialmente en el monitoreo de la calidad del agua.

Interpretación de resultados

E. coli - colonias azules

Coliformes totales - colonias rojas, azules y moradas

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



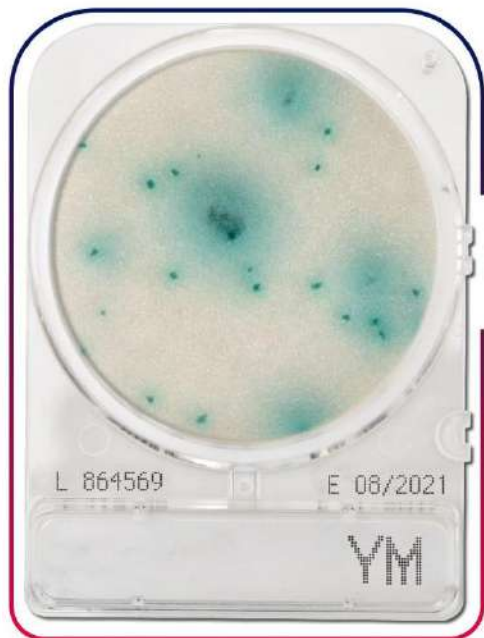
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas
MicroVal, y NordVal: $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



Levadura y Moho

AOAC #100401 NordVal #043 MicroVal #RQA208LR10

Las levaduras y los mohos (YM) son microorganismos formadores de esporas. Estas esporas son resistentes a condiciones severas como pH extremo, sequía y temperatura extrema. YM es el índice de limpieza del bioaerosol ambiental en diferentes plantas de producción. El incumplimiento de la cantidad tolerable de YM en el área de producción dará como resultado el deterioro de los alimentos. YM puede estropear fácilmente los alimentos debido a su amplia tolerancia a las condiciones ambientales (por ejemplo, actividad del agua de menos de 0,85 y tan baja como 0,45). Por lo tanto, según la regulación de la Administración de Drogas y Alimentos, es parte de los parámetros de liberación de alimentos y bebidas, y parte del sistema de monitoreo ambiental a través del muestreo de aire.

Interpretación de resultados

Levaduras - Colonias azules y blancas

Mohos - Colonias algodonosas con colores característicos

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



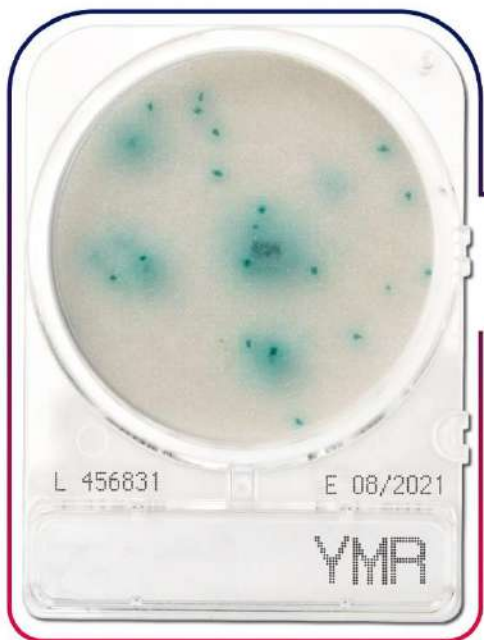
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International, MicroVal, y NordVal: 25 ± 2 °C durante 3 a 7 días



Lea resultados



Levadura y Moho Rápido

NordVal #050 MicroVal #2016LR61

Las levaduras y los mohos (YM) son microorganismos formadores de esporas. Estas esporas son resistentes a condiciones severas como pH extremo, sequía y temperatura extrema. YM es el índice de limpieza del bioaerosol ambiental en diferentes plantas de producción. El incumplimiento de la cantidad tolerable de YM en el área de producción dará como resultado el deterioro de los alimentos. YM puede estropear fácilmente los alimentos debido a su amplia tolerancia a las condiciones ambientales (por ejemplo, actividad del agua de menos de 0,85 y tan baja como 0,45). Por lo tanto, según la regulación de la Administración de Drogas y Alimentos, es parte de los parámetros de liberación de alimentos y bebidas, y parte del sistema de monitoreo ambiental a través del muestreo de aire.

Interpretación de resultados

Levaduras - Colonias azules y blancas

Mohos - Colonias algodonosas con colores característicos

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)

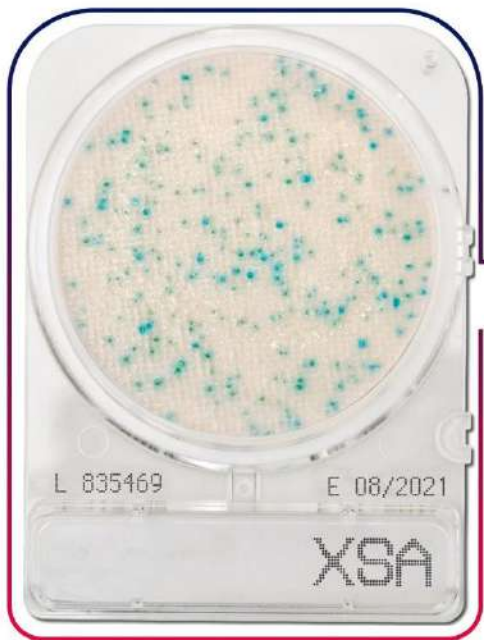
➡
Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.

➡
Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).

➡
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.

➡
Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: 25 ± 2 °C durante 48-72 horas
MicroVal, y NordVal: 25 ± 1 °C durante 3 días

➡
Lea resultados



Staphylococcus aureus

AOAC #081001 NordVal #042 MicroVal #2008LR14

Staphylococcus aureus es una microflora humana común, se puede encontrar naturalmente en la piel, la nariz y el cabello. Debido a esto, se usa comúnmente como índice de higiene personal de los manipuladores de alimentos. Por lo tanto, la alta población de estafilococos en el sistema alimentario indica falta de higiene y saneamiento. Normalmente son inofensivos, pero a una alta población, pueden comenzar a formar endotoxinas que causan intoxicación alimentaria por "estafilococos". También pueden tolerar baja actividad de agua y son oportunistas en alimentos con alto contenido de azúcar.

Interpretación de resultados

Colonias azules o celestes

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: 35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas
MicroVal, y NordVal: 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



Salmonella

Salmonella es un género de bacterias gramnegativas que se compone de solo dos (2) especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Juntas, tienen más de 2500 serovariedades, la mayoría de las cuales son patógenos. Los reservorios históricos son aves o aves de corral, pero se han aislado en mascotas, reptiles y alimentos con poca actividad de agua, como especias y harina. Según el estándar establecido por la Administración de Drogas y Alimentos, la *Salmonella* debe estar totalmente ausente en todas las muestras de alimentos y ambientales. No se estableció un nivel tolerable porque tiene una dosis infecciosa baja que puede conducir a enfermedades fatales. La infección por *Salmonella* es causada por la contaminación cruzada durante la evisceración de animales, lavado y transporte de cadáveres y también puede ocurrir durante la preparación de la materia prima. Por lo tanto, el procedimiento de monitoreo ambiental debe estar presente en industrias como la de las aves de corral porque es altamente susceptible a la contaminación.

Interpretación de resultados

Salmonella positivo

1. Negro a verde aislado o fusionado
2. Halo amarillo alrededor de las colonias
3. Motilidad positiva

Salmonella negativo

1. Sin cambios en el color de la placa
2. Colonias moradas rojas o rojizas

NOTA: Recuento de *Salmonella* demasiado alto - la placa se vuelve completamente amarilla sin colonias aisladas; se presentan manchas de colonias negras y verdes fusionadas.

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 25,0 g o pipetee 25,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)

Agregue 225,0 ml de diluyente y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de *Salmonella* son el "buffer" de agua peptonada y otros diluyentes apropiados según el BAM.

Incuba a 36 ± 1 °C durante 20-24 horas.

Obtenga 0,1 ml de la muestra pre-enriquecida e inocúela a aproximadamente 1 cm del borde de la CompactDry™ *Salmonella*. Luego, agregue 1,0 ml de agua destilada estéril en el lado opuesto del inóculo. Vuelva a tapar la placa.

Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 42 ± 1 °C durante 22 ± 2 horas

Lea resultados



Enterobacteriaceae

NordVal #034v MicroVal #MV0806-002 LR

Enterobacteriaceae es una familia de bacterias Gram-negativas con características conocidas de ser anaerobias facultativas, no formadoras de esporas y comúnmente motiles, aunque también hay algunos géneros no mótiles. Las enterobacterias se encuentran comúnmente en el medio ambiente, así como en el intestino de los animales. Casi todas las bacterias patógenas transmitidas por los alimentos pertenecen a esta familia, incluidas *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia*. Enterobacteriaceae es un parámetro de liberación en varias muestras de alimentos, bebidas, productos farmacéuticos, nutracéuticos y cosméticos. Como un desarrollo reciente en seguridad alimentaria, *Enterobacter sakazakii* está siendo monitoreada en la leche de fórmula debido al alto riesgo de contaminación de la leche, así como su impacto en la salud cuando es ingerido por bebés.

Interpretación de resultados

Colonias rojas o moradas y colonias de otro color

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



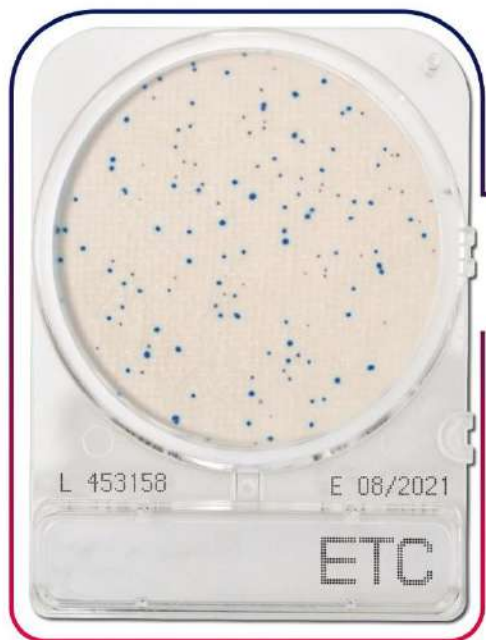
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas
MicroVal: 37°C durante 24 horas, **NordVal:** $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



Enterococcus

MicroVal #2014LR48 NordVal# 047

Los *enterococci* se encuentran abundantemente en el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Por lo tanto, esto puede usarse como un índice de buena higiene y saneamiento. El alto conteo de *enterococci* en el medio ambiente y las muestras de alimentos significa que la compañía no cumplió con el monitoreo ambiental adecuado. La mayoría de las especies de *Enterococcus* se consideran patógenos de "bajo grado", pero algunas son oportunistas y pueden producir varios tipos de factores de virulencia con una amplia resistencia contra diferentes antibióticos. Dos (entre otras) especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, han ganado una importancia significativa en la microbiología clínica, ya que se sabe que causan diversas infecciones, como infecciones del tracto urinario, bacteriemia, meningitis, infecciones de heridas e infecciones neonatales. En la industria alimentaria, los *Enterococcus* son un parámetro de liberación de productos alimenticios como la leche, la carne, los embutidos y variantes de leche y carne fermentadas.

Interpretación de resultados

Colonias azules o azules verdosas

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
AOAC International: $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 - 24 horas
NordVal: $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



Bacillus cereus

MicroVal #2011LR41 NordVal #045

Bacillus cereus es una bacteria Gram-positiva, aeróbica, formadora de esporas que generalmente prospera en la tierra, vegetales y varios productos alimenticios crudos y procesados. Las esporas de *Bacillus* pueden sobrevivir a condiciones adversas y germinar si las condiciones mejoran, una característica que dificulta su eliminación por completo. Estudios mostraron que cuando la población bacteriana de *B. cereus* alcanzan más de 10^6 células/g, se producen toxinas, que pueden ser enterotoxinas eméticas o diarreicas, a las que son atribuidos ataques agudos de náuseas y vómitos, con dolor abdominal y diarrea, respectivamente. Con esto, *B. cereus* es considerado un parámetro de liberación para carnes y verduras cocidas, arroz hervido y frito, salsa de vainilla, natillas, sopas y brotes de vegetales crudos.

Interpretación de resultados

Colonias redondas azules o celestes

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas
MicroVal: 30 °C durante 48 horas. **NordVal:** 30 ± 1 °C durante 48 ± 2 horas



Lea resultados



Listeria

Las *listerias* son bacterias grampositivas, mótils (en condiciones mesofílicas), psicrotróficas con seis (6) especies conocidas - *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimen*, *L. ivanovii*, y *L. grayi*. Se asocian con importancia clínica debido a su actividad de virulencia. Pero entre las seis especies de *Listeria*, la más prevalente es *L. monocytogenes* que causa listeriosis, que incluye sepsis, meningitis, encefalitis, úlcera corneal, neumonía, infección cervical y aborto, donde los ancianos, los inmunocomprometidos, las mujeres embarazadas y los bebés son los más susceptibles. Debido al creciente brote de *Listeria*, se hizo necesario realizar pruebas de contaminación por *Listeria* a ciertos alimentos de alto riesgo. Estos alimentos de alto riesgo son los siguientes: mariscos listos para comer, frutas y verduras preenvasadas, bebidas hechas de frutas frescas, embutidos sin más proceso de cocción, leche no pasteurizada, helado cremoso, queso blando, aderezos para ensaladas y guarniciones de verduras crudas.

Interpretación de resultados

Colonias azules o celestes de aproximadamente 1-2 mm de diámetro.

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 25,0 g o pipetee 25,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa WhirlPak)



Agregue 225,0 ml de diluyente y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de *Listeria* son el "buffer" de agua peptonada y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Pre-enriquecer a 20 °C durante 1 hora



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra pre-enriquecida en el medio de la placa CompactDry™ *Listeria*. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 35 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas



Lea resultados



Vibrio parahaemolyticus

Vibrio es una bacteria gramnegativa en forma de bastón que se caracteriza por una curva rígida, generalmente es motil debido a un flagelo polar único. *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son las tres especies patógenas conocidas de *Vibrio* con casos documentados. *Vibrio* se encuentra comúnmente en el agua de mar, ya que puede tolerar una alta concentración de sal. Los alimentos que están contaminados con *Vibrio* pueden tener consecuencias negativas para la salud, comenzando con diarrea y, lo que es peor, con la muerte. Por lo tanto, se considera como un parámetro de liberación para mariscos y productos a base de mariscos.

Interpretación de resultados

Colonias azules o azules verdosas

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



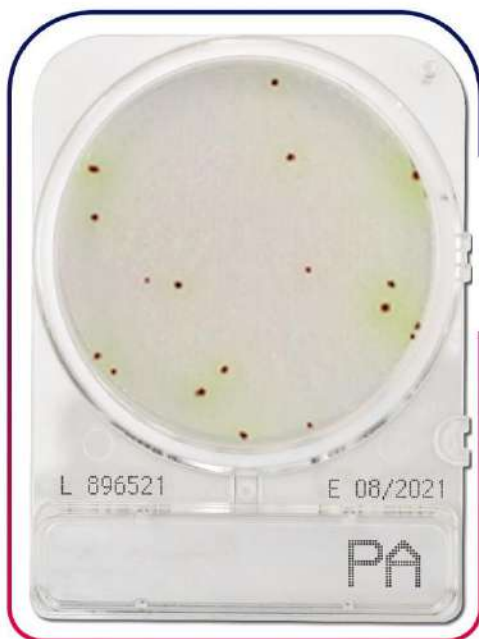
Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 35-37 °C durante 20-24 horas



Lea resultados



Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas es una bacteria psicrófila que puede sobrevivir y prosperar a baja temperatura; Debido a esto, es un conocido agente causal del deterioro de los productos refrigerados, tales como carnes rojas, aves, pescado y leche y productos lácteos. Son ubicuos en la naturaleza y pueden prosperar en el suelo, el agua dulce y el medio marino. Su capacidad de supervivencia se basa en el amplio rango de requisitos ambientales, como la actividad del agua, la concentración de sal y la temperatura. Por lo tanto, además de los productos alimenticios, también se sabe que contaminan el entorno clínico y los productos cosméticos y farmacéuticos. El aumento en la cantidad de tales bacterias tiende a disminuir la calidad y la seguridad de los alimentos y aumenta el riesgo de contraer enfermedades. Algunas especies son conocidas por poseer actividad patógena, mientras que otras son bacterias oportunistas para individuos inmunocomprometidos. Además, *Pseudomonas aeruginosa* es un objetivo común en las industrias alimentaria y farmacéutica debido a su capacidad metabólica versátil, persistencia y múltiples factores de virulencia; una de ellas es la prolífica formación de biopelículas.

Interpretación de resultados

Colonias rojas con anillo o halo amarillo verdoso

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente 10,0 g o pipete 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 35 ± 1 °C durante 48 ± 3 horas



Lea resultados



Bacterias heterótrofas en agua

De acuerdo con la conciencia establecida por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el agua potable y las aguas de proceso deben estar libres de microorganismos contaminantes. Similar a las muestras de alimentos, se debe determinar el recuento microbiológico total de agua, que se denomina recuento heterotrófico en placas (HPC por sus siglas en inglés). El HPC incluye todos los microorganismos, incluidas las bacterias y la levadura y el moho que requieren una alta fuente de carbono. Por lo tanto, el medio para HPC es diferente del recuento aeróbico en placas (APC). En términos de condición de incubación, el método convencional de enumerar HPC requiere una temperatura elevada de hasta 40 °C durante cinco (5) a siete (7) días, dependiendo del método utilizado. Se requiere HPC para analizar muestras de agua entubada, especialmente en la parte estancada de la tubería, debido a la acumulación de diferentes microorganismos en forma de biopelícula. Además, las pruebas de HPC son parte del estándar nacional para el agua potable, aparte de obtener el recuento total de coliformes termotolerantes y el recuento total de *E. coli*.

Interpretación de resultados

Se cuentan las colonias rojas y de otro color

PROCEDIMIENTO

Pese asépticamente una muestra de 100 ml en una botella de muestreo estéril apropiada



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra pura en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Si es necesario, diluya más la muestra (p.ej. agua ambiental o superficial), consulte la página 38.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 36 ± 2 °C durante 44 ± 4 horas
ISO 6222: 22 ± 2 °C durante 68 ± 4 horas
Filtro / SMEWW: 35 ± 1 °C durante 48 ± 2 horas



Lea resultados



Recuento total en Té

El recuento microbiológico total es el índice de estabilidad alimentaria y es un parámetro de liberación importante en la industria de alimentos. En consecuencia, el medio de uso general utilizado para el recuento total no se puede utilizar para determinar la población microbiológica en las muestras de té debido a la presencia de una sustancia antiséptica, la catequina. Esta sustancia inhibirá el crecimiento de bacterias, lo que conducirá a una subestimación. Por lo tanto, para contar adecuadamente la población microbiana en el té, el medio debe tener neutralizador de catequina para contrarrestar el efecto de la sustancia antiséptica del té.

Interpretación de resultados

Se cuentan las colonias rojas y de otro color

PROCEDIMIENTO

Pese aseptícamente 10,0 g o pipetee 10,0 ml de muestra en un recipiente estéril apropiado (ej: bolsa Stomacher, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak)



Agregue 90,0 ml de diluyente para lograr la dilución 1:10 y homogeneice. Ajuste el pH si es necesario. Los diluyentes sugeridos para los parámetros de rutina son el "buffer" de fosfato de Butterfield, Diluyente de Recuperación máxima y otros diluyentes apropiados según el BAM.



Si es necesario, diluya más la muestra (consulte la página 38).



Abra la tapa. Dispense 1,0 ml de muestra diluida en el medio de la placa CompactDry™. Vuelva a tapar la placa.



Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación.
Recomendación del fabricante: 35 ± 2 °C durante 48 ± 3 horas



Lea resultados

MUESTREO AMBIENTAL

A. Muestreo de Superficie

Hisopo: Parámetros comúnmente probados

España: Patógenos (*Salmonella*, *Listeria*)

Obtenga el hisopo estéril o una esponja prehumedecida.



Limpie por hisopado o absorción un área de superficie objetivo de 4"x4" o 10"x10" respectivamente usando la técnica de trama cruzada



Devuelva el hisopo en el tubo o coloque la esponja en una Whirl-Pak estéril

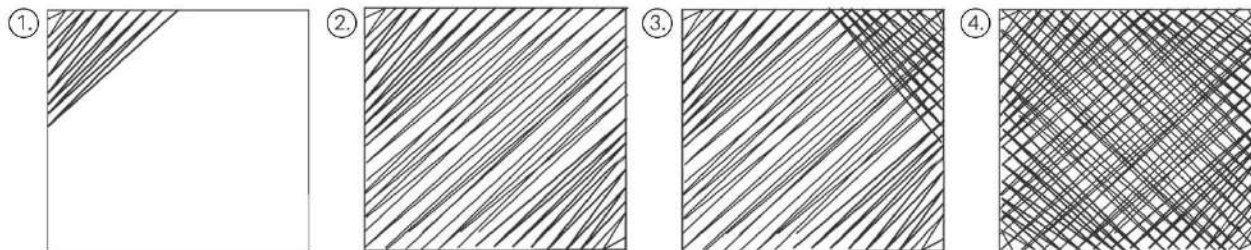


Agregue el diluyente recomendado para obtener la dilución 1:10



Agite y proceda al análisis usando el CompactDry™ del parámetro objetivo

Técnica de trama cruzada



MUESTREO AMBIENTAL

B. Muestreo Manual



1. Retire el hisopo del tubo.



2. Limpie toda la superficie de la mano, especialmente las **áreas omitidas** frecuentemente.



3. Regrese el hisopo al tubo.



4. Agitar para mezclar. Retire la tapa de la punta. Proceda al análisis usando el CompactDry™ del parámetro objetivo.

Áreas frecuentemente omitidas durante el lavado de manos



- Omitidas con mayor frecuencia
- Omitidas frecuentemente
- Omitidas con menor frecuencia

Fuente: Organización Mundial de la Salud

Parte de atrás de la mano

Parte frontal de la mano

MUESTREO AMBIENTAL

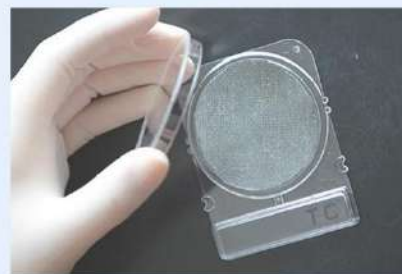
C. Muestreo de Aire



1. Rehidrate la placa CompactDry™ con 1 ml de diluyente estéril.



2. Exponga la placa al aire durante 15 minutos.



3. Regrese la tapa a la placa. Invierta e incube las placas en condiciones específicas de incubación (ver pág. no. 37).

FILTRACIÓN POR MEMBRANA



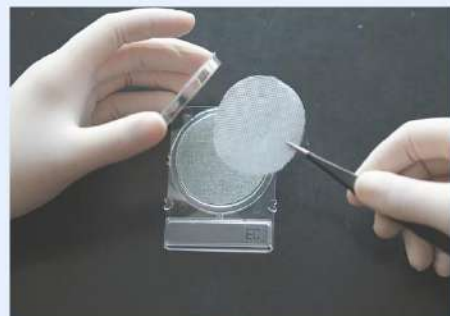
1. Dispense 1 ml de agua destilada estéril en la placa CompactDry™.



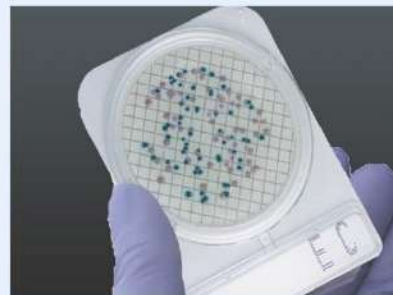
2. Filtre la muestra llenando la cámara estéril con la cantidad requerida de muestra líquida. Abra el vacío para comenzar la filtración.



3. Después de la filtración, lave la superficie interna con 20-30 ml de agua destilada estéril. Repita 20-30 veces.



4. Transfiera el filtro de membrana a las placas CompactDry™, con el lado atrapado hacia arriba. Asegúrese de que no haya burbujas entre la placa y el filtro realizando un movimiento de balanceo ("rolling"). Incubar las placas en condiciones específicas de incubación (consulte la página no. 37).



5. Lea los resultados.



Industria Panadera

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Bacillus cereus* (XBC), *Salmonella* (SL), y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, YM, XSA y XBC) - Corte el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g) con un cuchillo o tijeras estériles. Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneizar y diluir como corresponda.

Para patógenos (SL y LS) – Pese 25 g y diluya con 225 ml de BPW estéril.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

- Use un tamaño de muestra de 25 g para muestras que absorben un gran volumen de diluyente
- Use bolsas de filtro para minimizar la inclusión de partículas de muestra durante la inoculación.

Efecto del color de la muestra en la interpretación del resultado

El color de la muestra puede interferir con la interpretación de los resultados (Fig. 1). Coloque la dilución más alta posible sin afectar la sensibilidad necesaria de la prueba, p. Ej. Si el nivel permitido para el recuento total es de 800 UFC/g, coloque en la placa 1 ml de la dilución 10^{-2} (Fig. 2) pero no 10^{-3} , ya que no puede detectar el nivel requerido.

Muestra: Muffin de Chocolate

Dilución: 10^{-1}
Observación: Sin colonias visibles



Figura 1

Dilución: 10^{-2}
Observación: Colonias visibles



Figura 2

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas
E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas

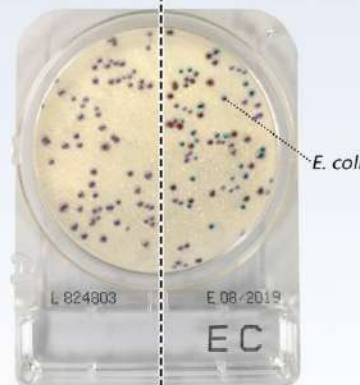


Figura 3



Industria de Bebidas

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Salmonella* (SL), y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, YM y XSA):

- Para muestras líquidas filtrables: filtre 100 ml de muestra líquida utilizando un filtro de membrana de 47 mm con un tamaño de poro de 0.45 µm.
- Para muestras de líquidos y polvos no filtrables: pese el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g). Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneizar y diluir como corresponda.

Para patógenos (SL y LS): Pese 25 g y diluya con 225 ml de BPW estéril.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

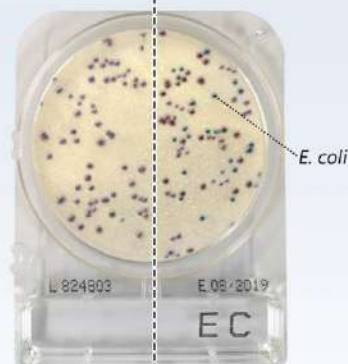
Verifique el pH de la muestra después de la dilución 10^{-1} . Asegúrese de que el pH de la muestra esté entre 6 y 8; de lo contrario, neutralice utilizando hidróxido de sodio estéril 0,1 N (NaOH) si es inferior a 6, o ácido clorhídrico 0,1 N (HCl) si es superior a 8.

Para muestras filtradas, rehidrate las placas CompactDry™ con 1 ml de diluyente estéril antes de transferir el filtro de membrana, usando un movimiento de balanceo para evitar bolsas de gas entre el filtro y la tela.



Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

<i>E. coli</i> 0157:H7 aparece como colonias moradas	<i>E. coli</i> : colonias azules Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas
--	--





Industria Láctea

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Bacillus cereus* (XBC), *Salmonella* (SL), y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM, XSA y XBC*):

- **Muestras sólidas y líquidas** - corte o pese el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g) con un cuchillo o tijeras estériles. Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneizar y diluir como corresponda.
- **Mantequilla** - según la norma ISO 6887-5:2010, pese 10 g o 25 g de muestra en un matraz estéril y caliente hasta que se derrita en un baño de agua a 45 °C. Agregue 90 ml o 225 ml de diluyente estéril precalentado a 45 °C y mezcle bien. El uso de Stomacher es muy recomendable.

* Se establece que *Bacillus Cereus* (XBC) sea probado solo para productos en polvo

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

Para la CompactDry™ EC, se puede observar interferencia para los productos lácteos fermentados (por ejemplo, yogur y queso blando) debido a su contenido natural de β -galactosidasa. Diluya como corresponda

Muestra: Yogur

Dilución: 10^{-1}

Observación: luce Demasiado Numerosas para Contar (TNTC).



Figura 1

Dilución: 10^{-2}

Observación: <100 CFU/g



Figura 2

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7
aparece como
colonias moradas

E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias
azules + rojas/moradas

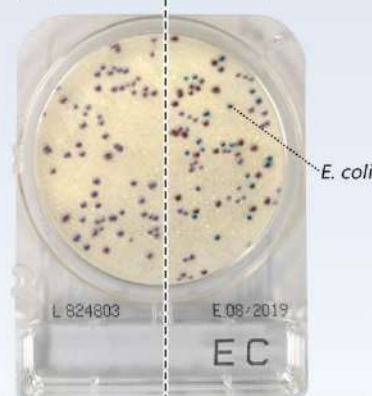


Figura 3

Industria Cárnica

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Salmonella* (SL), y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- **Método destructivo o de escisión** - Corte el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 go 25 g) del cuerpo de carne con un cuchillo o tijeras estériles. Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneizar y diluir como corresponda.
- **Hisopado de la carne** - Con un hisopo o esponja estéril, frote un área de muestreo estandarizada (por ejemplo, 10x10 cm) en la superficie de la carne. Resuspender la esponja o esponja en diluyente estéril. Diluir como corresponda.

Para patógenos (SL y LS) - Pesar 25 g de muestra de carne y diluir con 225 ml de BPW estéril. Algunos países requieren la ausencia de *Salmonella* en la muestra de 10 g en lugar de 25 g para carne molida (de origen no avícola) y carne separada mecánicamente (MSM).

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

La carne cruda generalmente tiene una alta carga microbiana; carne molida o picada aún más. Para TC, utilice dilución 10^{-3} (Figura 2) o 10^{-4} (Figura 3) mientras usa 10^{-1} para otros organismos indicadores. Para TC de muestras de esponja o hisopo, use 10^{-2} o 10^{-3} , ya que estas tienden a tener una carga microbiana más baja.

Muestra: Carne cruda

Dilución: 10^{-2}
Observación: TNTC, sin colonias visibles



Figura 1

Dilución: 10^{-3}
Observación: Contable



Figura 2

Dilución: 10^{-4}
Observación: Contable fácilmente



Figura 3

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas
E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas

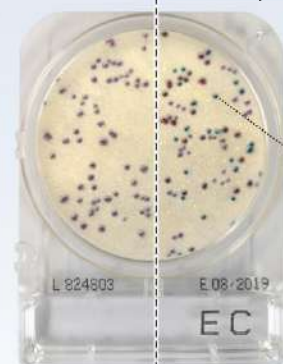


Figura 4



Industria de “Snacks”

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Bacillus cereus* (XBC) y *Salmonella* (SL)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM, XSA y XBC) - Recorte el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g) con un cuchillo o tijeras estériles. Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml de “buffer” de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneizar y diluir como corresponda.

Para patógeno (SL) - Pese 25 g y diluya con 225 ml de BPW estéril.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

- Utilice un tamaño de muestra de 25 g para muestras que absorben un gran volumen de diluyente (ejm, galletas y panecillos).
- Use bolsas de filtro para minimizar la inclusión de partículas de muestra durante la inoculación.
- Verifique el pH de la muestra después de la dilución 10^{-1} , especialmente para muestras ácidas. Asegúrese de que el pH de la muestra esté entre 6 y 8; de lo contrario, neutralice con hidróxido de sodio estéril 0,1 N (NaOH) si es inferior a 6, o ácido clorhídrico estéril 0,1 N (HCl) si es superior a 8.

Efecto del color de la muestra en la interpretación del resultado

El color de la muestra puede interferir con la interpretación de los resultados. Coloque la dilución más alta posible sin afectar la sensibilidad necesaria de la prueba. Por ejemplo, si el nivel permitido para el recuento aeróbico es 800 UFC/g, coloque en placa 1 ml de la dilución 10^{-2} pero no 10^{-3} ya que no se podría detectar el nivel requerido.

Dilución: 10^{-1}
Observación: Sin colonias visibles



Figura 1

Dilución: 10^{-2}
Observación: Colonias visibles



Figura 2

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7
aparece como
colonias moradas

E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias
azules + rojas/moradas

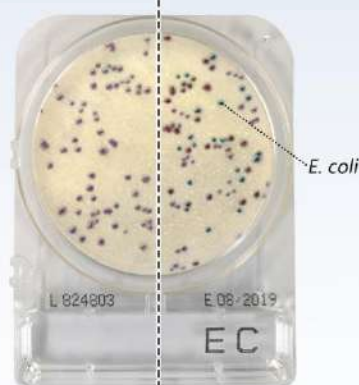


Figura 3



Industria de Frutas y Hortalizas

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Salmonella* (SL) y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM y XSA) - Recorte el tamaño de muestra estandarizado (ejm. 10 g o 25 g) de la fruta o vegetal usando un cuchillo o tijeras estériles, luego coloque en un recipiente estéril. Agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (ejm. 90 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%), luego homogeneice y diluya como corresponda.

Para patógenos (SL y LS) - Para muestras cortadas, pese 25 g y diluya con 225 ml de BPW estéril. Para frutas o verduras enteras, analice las muestras tal cual, incluida cualquier suciedad visible. Agregue suficiente BPW estéril para flotar la muestra.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

Verifique el pH de la muestra después de la dilución 10^{-1} , especialmente para frutas ácidas. Asegúrese de que el pH de la muestra esté entre 6 y 8; de lo contrario, neutralice con hidróxido de sodio (NaOH) estéril 0.1 N si es inferior a 6, o ácido clorhídrico 0.1 N (HCl) si es superior a 8

Podría observarse interferencia en la CompactDry™ EC, ya que la mayoría de las frutas (por ejemplo, manzanas y tomates) tienen naturalmente β -galactosidasa. Diluir consecuentemente.

Muestra: Manzana

Dilución: 10^{-1}
Observación: Luce TNTC

Dilución: 10^{-2}
Observación: <100 CFU/g



Figura 1



Figura 2

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7
aparece como
colonias moradas

E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias
azules + rojas/moradas

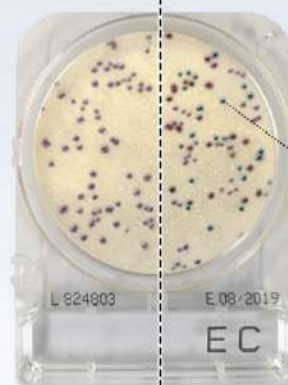


Figura 3

Industria de Pescado y Mariscos

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Salmonella* (SL), *Listeria* (LS) y *V. parahaemolyticus* (VP)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM y XSA) - Corte o pese el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g) con un cuchillo o tijeras estériles. Colocar en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (ejm. 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneice y diluya como corresponda.

Para patógenos (SL y LS) - Pese 25 g de muestra y diluya con 225 ml de BPW estéril, luego homogeneice.

Para patógeno (VP) - Pese 50 g de muestra y añada 450 ml de "buffer" de fosfato de Butterfield estéril (BPB), luego homogeneice. Use los tejidos superficiales, las branquias y el intestino para el pescado, mientras que, para los mariscos, use la carne y el jugo.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

Los mariscos crudos generalmente tienen una alta carga microbiana. Para TC, utilice la placa con dilución 10^{-3} (Figura 2) o 10^{-4} (Figura 3) mientras que para otros organismos indicadores use 10^{-1} . Los mariscos cocidos tienden a tener una menor carga microbiana. Para TC, utilice 10^{-1} o 10^{-2} .

Muestra: Marisco crudo

Dilución: 10^{-2}
Observación: TNTC; sin colonias visibles



Figura 1

Dilución: 10^{-3}
Observación: Contable



Figura 2

Dilución: 10^{-4}
Observación: Fácilmente contable



Figura 3

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas
E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas

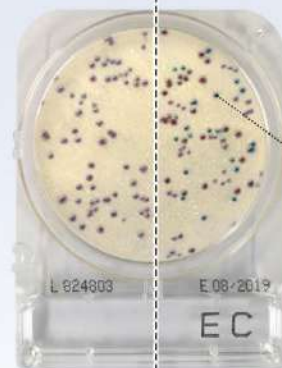


Figura 4



Industria del Agua

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Bacterias heterótrofas en agua (AQ), *E. Coli* y Coliformes (EC), *Enterococcus* (ETC), *Pseudomonas aeruginosa* (PA) y *Salmonella* (SL)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM y XSA):

- Para muestras con una carga microbiológica muy baja (p. Ej., Agua potable) - Filtre 100 ml de muestra líquida usando un filtro de membrana de 47 mm con un tamaño de poro de 0.45 µm.
- Para muestras con carga microbiológica baja a alta (p. Ej., Agua superficial y aguas residuales) Inocular directamente 1 ml de muestra o, si se sospecha que es alta, diluir a 10 usando diluyente estéril.

Para patógenos (SL):

- **Directo** - Mida 100 ml de muestra de agua y diluya con 100 ml de "buffer" de agua peptonada (BPW) estéril de doble concentración (BPW).
- **Filtración** - Filtre 100 ml de muestra de agua y transfiera el filtro a 100 ml de BPW estéril

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia de Protección Ambiental (EPA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

Para muestras cloradas, asegúrese de que el recipiente estéril tenga suficiente tiosulfato de sodio estéril ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) para neutralizar el cloro en el agua. Para muestras de 100 ml, agregue 100 µl de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 3% para agua potable y 100 µl de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10% para desechos clorados o agua efluente. Los recipientes de muestreo comercialmente preparados generalmente tienen pastillas de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.



Para muestras filtradas, agregue 1 ml de diluyente estéril para rehidratar las placas CompactDry™. Transfiera el filtro de membrana con un movimiento de balanceo para evitar bolsas de gas entre el filtro y la tela.



Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β-glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas

E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas





Industria Azucarera

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento Total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA) y *Salmonella* (SL)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, YM y XSA):

- **Para muestras con una carga microbiológica baja** - Pese el tamaño de muestra estandarizado (ejm, 10 g o 25 g). Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (ejm, 90 ml o 225 ml de Diluyente de Recuperación máxima o MRD o agua de peptona al 0,1%). Agitar para disolver. Filtre 100 ml de muestra líquida utilizando un filtro de membrana de 47 mm con un tamaño de poro de 0,45 µm.
- **Para muestras con alta carga microbiana o de color oscuro** - Pese el tamaño de muestra estandarizado (por ejemplo, 10 g o 25 g). Coloque en un recipiente estéril, luego agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (por ejemplo, 90 ml o 225 ml de MRD o agua con peptona al 0,1%). Homogeneice y diluya como corresponda.

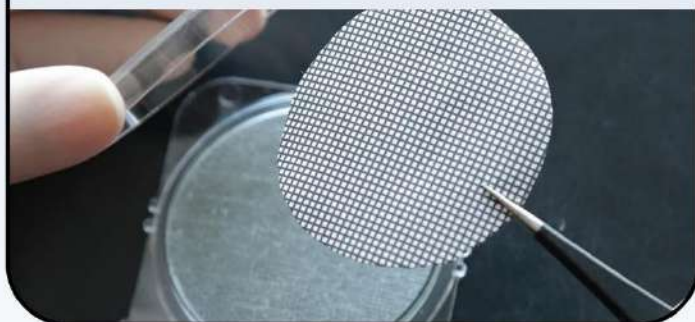
Para patógeno (SL) - Pese 25 g y diluya con 225 ml de "buffer" de agua peptonada estéril (BPW).

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte la Comisión Internacional de Métodos Uniformes de Análisis de Azúcar (ICUMSA), Codex Alimentarius, Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), Agencia de Normas Alimentarias (FSA) u otros organismos reguladores locales.

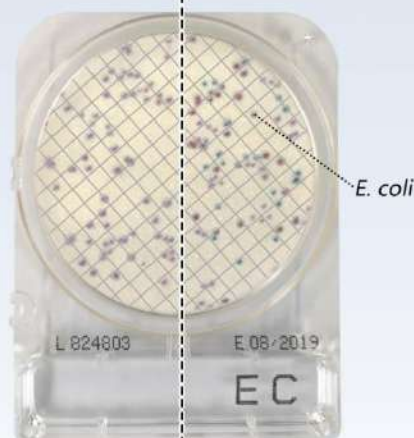
NOTAS DE PROCESAMIENTO

Para muestras filtradas, agregue 1 ml de diluyente estéril para rehidratar las placas CompactDry™. Transfiera el filtro de membrana con un movimiento de balanceo para evitar bolsas de gas entre el filtro y la tela.



Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β-glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

<i>E. coli</i> 0157:H7 aparece como colonias moradas	<i>E. coli</i> : colonias azules Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas
--	--





Industria de Alimentación animal

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Bacillus cereus* (XBC), *Salmonella* (SL) y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM, XSA y XBC) - Recorte el tamaño de muestra estandarizado (ejm. 10 g o 25 g), coloque en un recipiente estéril y agregue el volumen apropiado de diluyente estéril (ejm. 90 ml o 225 ml de "buffer" de agua peptonada o BPW, Diluyente de Recuperación máxima o MRD, o agua de peptona al 0,1%). Homogeneice y diluya como corresponda.

Para patógenos (SL y LS) - Pese 25 g de muestra y diluya con 225 ml de BPW estéril, luego homogeneice.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte el Codex Alimentarius y organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

- Utilice un tamaño de muestra de 25 g para muestras que absorben un gran volumen de diluyente.
- Use bolsas de filtro para minimizar la inclusión de partículas de muestra durante la inoculación.

Los alimentos para animales generalmente tienen una alta carga microbiana. Para TC, use dilución 10^{-3} (Figura 2) o 10^{-4} (Figura 3) mientras que para otros organismos indicadores use 10^{-1} o 10^{-2} .

Muestra: Alimento para animales

Dilución: 10^{-2}
Observación: TNTC



Figura 1

Dilución: 10^{-3}
Observación: Contable



Figura 2

Dilución: 10^{-4}
Observación: Fácilmente contable



Figura 3

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas

E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas

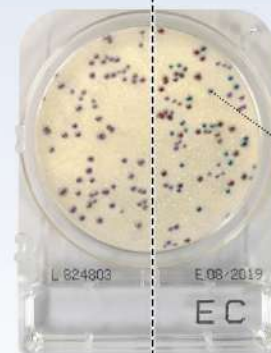


Figura 4



Nutracéuticos

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), *E. Coli* y Coliformes (EC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM), *Staphylococcus aureus* (XSA), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Salmonella* (SL) y *Listeria* (LS)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, EC, ETB, YM, XSA y PA) - Pese 10 g y diluya con buffer diluyente suplementado con Tween (Polisorbato) 80 o 20 (ejm. Buffer de fosfato de Butterfield o BPB, Medio de digestión de caseína de soja fluido o Caldo de soja triptico o TSB). Diluya según sea necesario.

Para patógenos (SL y LS) - Pese 25 g y diluya con 225 ml de TSB estéril.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

La adición de Tween o Polisorbato (4% v/v) no solo ayuda a la dispersión de muestras no solubles en agua, sino que también actúa como neutralizador de los agentes antimicrobianos que se encuentran naturalmente en la mayoría de los suplementos dietéticos de origen vegetal.

Efecto del color de la muestra en la interpretación del resultado

El color de la muestra puede interferir con la interpretación de los resultados. Coloque la dilución más alta posible sin afectar la sensibilidad necesaria de la prueba. Por ejemplo, si el nivel permitido para el recuento total es de 200 UFC/g, coloque en placa 1 ml de la dilución 10^{-2} , no 10^{-3} ya que no se podría detectar el nivel requerido.

Muestra: cápsula herbaria

Dilución: 10^{-1}
Observación: Sin colonias visibles



Figura 1

Dilución: 10^{-2}
Observación: Colonias visibles



Figura 2

Al igual que otras pruebas que dependen de la actividad de la β -glucuronidasa para detectar *E. coli*, CompactDry™ EC no puede detectar *E. coli* 0157:H7 como *E. coli*.

E. coli 0157:H7 aparece como colonias moradas
E. coli: colonias azules
Coliformes: Colonias azules + rojas/moradas;

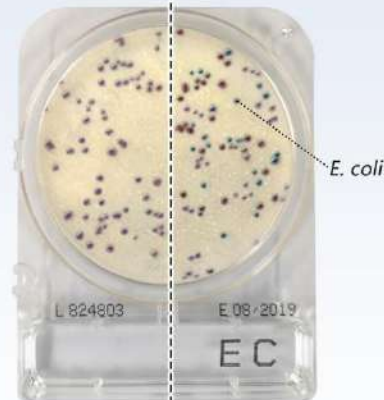


Figura 3



Industria Cosmética

PARÁMETROS COMUNES DE PRUEBA

Recuento total (TC), Enterobacteriaceae (ETB), Levadura y Moho (YM) y *Staphylococcus aureus* (XSA)

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para organismos indicadores (TC, ETB, YM y XSA):

- Muestras solubles en agua - pese 10 g de muestra y diluya con 90 ml de Caldo Lethen modificado (MLB).
- Muestras y polvos a base de aceite - pese 10 g de muestra y diluya con 80 ml de MLB estéril suplementado con 10 ml de Tween (Polisorbato) 80 o 20, luego homogeneice.

Para patógenos (SL y LS) - Pese 25 g y diluya con 225 ml de TSB estéril.

LÍMITES REGLAMENTARIOS

Consulte la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) u otros organismos reguladores locales.

NOTAS DE PROCESAMIENTO

La adición de Tween (Polisorbato) no solo ayuda a la dispersión de muestras no solubles en agua, sino que también actúa como neutralizador de los agentes antimicrobianos que se encuentran en los cosméticos.

Efecto del neutralizador en la interpretación del resultado

MLB es necesario para neutralizar los compuestos antimicrobianos en la formula. Usar otro diluyente sin neutralizador, ejm. El "Buffer" de Fosfato de Butterfield (BPB) en la Figura 2, dará como resultado una pobre recuperación del organismo objetivo.

Muestra: tónico facial

Diluyente: MLB
Dilución: 10^{-1}
Colonias: 40
Observación: mejor recuperación

Diluyente: BPB
Dilución: 10^{-1}
Colonias: 20
Observación: mala recuperación

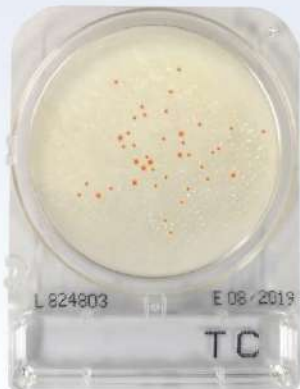


Figura 1



Figura 2

Efecto del color de la muestra en la interpretación del resultado

El color de la muestra puede interferir con la interpretación de los resultados (Fig. 3). Coloque la dilución más alta posible sin afectar la sensibilidad necesaria de la prueba. Ejm. si el nivel permitido para el recuento total es de 500 UFC/g, coloque en placa 1 ml de la dilución 10^{-2} (Fig. 4), no 10^{-3} ya que no se podría detectar el nivel requerido.

Muestra: Lápiz labial

Dilución: 10^{-1}
Observación: Sin colonias visibles

Dilución: 10^{-2}
Observación: Colonias visibles



Figura 3



Figura 4

TIEMPO DE INCUBACIÓN Y TEMPERATURA

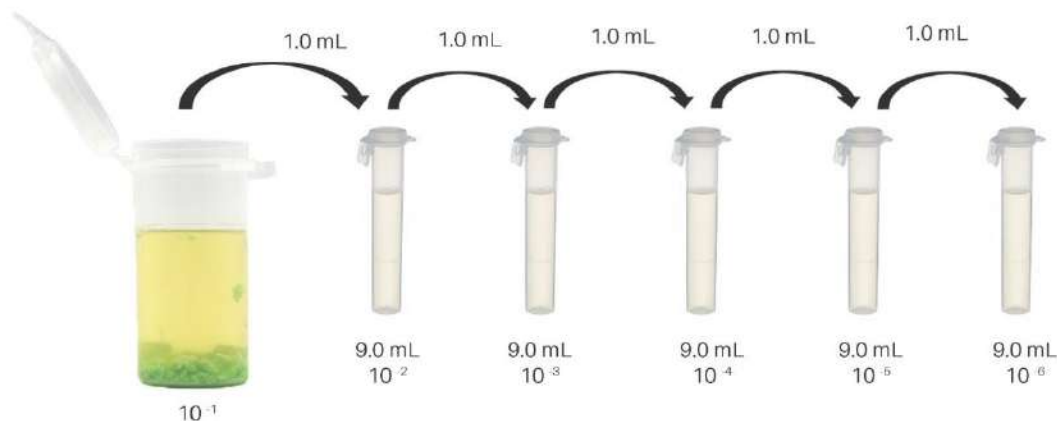
PARÁMETRO DE PRUEBA	TIEMPO Y TEMPERATURA	APROBACIÓN
Recuento total	35 ± 2 °C durante 48 ± 3 horas ^B 30 ± 1 °C durante 48 ± 3 horas ^{C, D}	AOAC #010404 NordVal #033 MicroVal #20007LR01
De tipo Coliforme	37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^{B, C, D}	AOAC #110402 NordVal #035 MicroVal #MV0806-003 LR
<i>E. Coli</i> / Coliforme	35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas ^B 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^{C, D}	AOAC #110402 NordVal #036 MicroVal #MV0806-005 LR (<i>E. Coli</i>) #MV0806-004 LR (<i>Coliforme</i>)
Levadura y Moho	25 ± 2 °C durante 3 – 7 días ^{B, C, D}	AOAC #100401 NordVal #043 MicroVal #RQA208LR10
Levadura y Moho Rápido	25 ± 2 °C durante 48 – 72 horas ^B 25 ± 1 °C durante 3 días ^{C, D}	NordVal #050 MicroVal #2016LR61
<i>Staphylococcus aureus</i>	35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas ^B 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^{C, D}	AOAC #081001 NordVal #042 MicroVal #2008LR14
<i>Salmonella</i>	Enriquecimiento previo: 36 ± 1 °C durante 22 ± 2 horas ^A	En curso
	Placa: 42 ± 1 °C durante 22 ± 2 horas ^A	
Enterobacteriaceae	35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas ^B 37 °C durante 24 horas ^C 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^D	MicroVal #MV0806-002 LR NordVal #034
<i>Enterococcus</i>	37 ± 1 °C durante 20 - 24 horas ^C 36 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^D	MicroVal #2014LR48 NordVal #047
<i>Bacillus cereus</i>	35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas ^A 30 °C durante 48 horas ^C 30 °C durante 48 ± 2 horas ^D	MicroVal #2011LR41
<i>Listeria spp.</i>	Enriquecimiento previo: 20 °C durante 1 hora ^A	En curso
	Placa: 35 ± 1 °C durante 24 ± 2 horas ^A	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	35 - 37 °C durante 22 ± 2 horas ^A	En curso
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35 ± 1 °C durante 48 ± 3 horas ^A	En curso
Bacterias heterótrofas en agua	36 ± 2 °C durante 44 ± 4 horas ^A 22 ± 2 °C durante 68 ± 4 horas ^E 35 ± 1 °C durante 48 ± 2 horas ^F	En curso
Recuento total en Té	35 ± 2 °C durante 48 ± 3 horas ^A	En curso

^A Recomendación del fabricante
^B AOAC International
^C MicroVal

^D NordVal
^E ISO 6222
^F Filtro / Método SMEWW

ESQUEMA DE DILUCIÓN

Diluyente listo para usar



NOTA:

- Use el mismo diluyente para la dilución inicial
- Para la mayoría de los parámetros: obtenga 1,0 ml de inóculo de la dilución deseada

Fórmula general

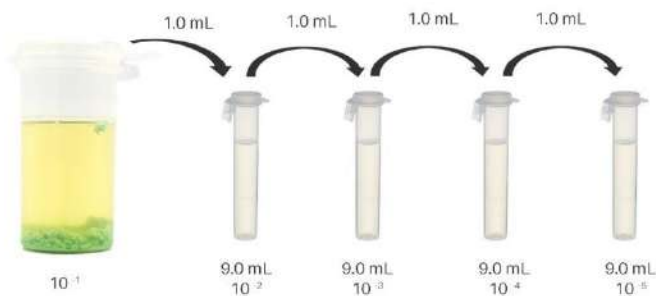
$$\text{Dilución} = \frac{\text{Volumen transferido (ml)}}{\text{Volumen total (ml)}} \times \text{Dilución previa}$$

Dónde:

Volumen total = suma del volumen transferido y el volumen del diluyente utilizado para la dilución en serie

Dilución previa = dilución de referencia del cálculo

Ejemplo: Determine la dilución del "tubo x" dado que el volumen transferido es 1,0 ml, y esta muestra viene del tubo con una dilución 10⁻³ (volumen del diluyente = 9,0 ml).



$$\text{Dilución} = \frac{1,0 \text{ ml}}{10,0 \text{ ml}} \times 10^{-3}$$

$$\text{Dilución} = 0,1 \times 0,001$$

$$\text{Dilución} = 0,0001 \text{ o } 10^{-4}$$

Fórmula general

$$\frac{ufc}{g} = \frac{A}{V} \times Df$$

Donde:

A = Recuento promedio de colonias dentro de la misma dilución y muestra

V = Volumen colocado en placa (en términos de CompactDry™, 1,0 ml)

Df = factor de dilución; recíproco de dilución (ejemplo: 10^{-3} es $1/10^{-3} = 1000$)

Recordatorio: en el método convencional, el recuento aceptable de bacterias y YM debe estar entre 30-300 y 15-150, respectivamente. Este límite se basa en el análisis estadístico en el que se considera el tamaño de la placa frente al espacio mínimo de diferentes colonias que se pueden cultivar en la placa sin superponerse. Así, se evita la subestimación.

1. Una muestra usando dilución única (recubrimiento único)

Dilución	10^{-1}
Recuento	47

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{47}{1,0 \text{ ml}} \times 10$$

$$\frac{ufc}{g} = 470 \text{ o } 4,7 \times 10^2$$

2. Una muestra usando dilución (recubrimiento duplicado)

Dilución	10^{-2}
Recuento	47 52

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{\frac{47 + 52}{2}}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

$$\frac{ufc}{g} = 4950 \text{ o } 4,95 \times 10^3$$

3. Una muestra usando diluciones en serie (recubrimiento duplicado)

Dilución	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³	
Recuento	500	470	52	47	4	3

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{\frac{47 + 52}{2}}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

$$\frac{ufc}{g} = 4950 \text{ o } 4,95 \times 10^3$$

Fórmula dos diluciones sucesivas:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times D}$$

Donde:

$\sum C$ = Suma de colonias (dentro del rango)

n_1 = Número de recubrimientos con recuentos dentro del rango en la primera dilución

n_2 = Número de recubrimientos con recuentos dentro del rango en la segunda dilución

D = Dilución más baja con recuentos dentro del rango

4. Una muestra con dos diluciones sucesivas (recubrimiento duplicado)

Dilución	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³	
Recuento	325	275	34	35	4	3

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{275 + 34 + 35}{[(1 \times 1) + (0,1 \times 2)] \times 0,1}$$

$$\frac{ufc}{g} = \frac{344}{0,12}$$

$$\frac{ufc}{g} = 2866,67 \text{ o } 2,87 \times 10^3$$

Fórmula para el recuento en CompactDry usando líneas de cuadrícula:

$$ufc/g = \frac{A_G \times m}{V} \times Df$$

Donde:

A_G = Recuento promedio de colonias (en al menos 3 cuadrículas) dentro de la misma dilución y muestra

V = Volumen colocado en placa (en términos de CompactDry, 1,0 ml)

m = multiplicador (para cuadrículas grandes = 20; para cuadrículas pequeñas = 80)

Df = Factor de dilución; recíproco de dilución (ejemplo: 10^{-3} es $1/10^{-3} = 1000$)

Recordatorio: el cliente solo puede usar las cuadrículas si hay una distribución uniforme del crecimiento en la placa. Además, es decisión del cliente si se contarán las colonias utilizando cuadrículas pequeñas o cuadrículas grandes.

5. Recuento usando cuadrícula grande

Dilución	10^{-2}		
Recuento	4	5	7

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{\left(\frac{4 + 5 + 7}{3}\right) \times 20}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

$$\frac{ufc}{g} = \frac{106,7}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

$$\frac{ufc}{g} = 10670 \times 1,07 \times 10^4$$

6. Recuento usando cuadrícula pequeña

Dilución	10^{-2}		
Recuento	1	2	1

Recuento:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{\left(\frac{1 + 2 + 1}{3}\right) \times 80}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

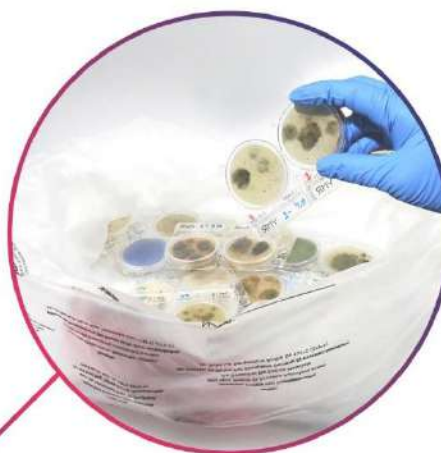
$$\frac{ufc}{g} = \frac{106,7}{1,0 \text{ ml}} \times 100$$

$$\frac{ufc}{g} = 10670 \times 1,07 \times 10^4$$

Cualquier reactivo y material utilizado con CompactDry™ debe descontaminarse en autoclave después de su uso.

Coloque las placas CompactDry™ usadas en una bolsa desechable para autoclave.

Nota: Para evitar la reapertura del plástico después de la descontaminación, separe las placas CompactDry™ de otros materiales que sean desechables.



Coloque la bolsa en el autoclave o en la envasadora a presión industrial y descontamine. (Condición de descontaminación: 121 °C a 15 psi durante 20 min o más, dependiendo de la carga)

Después de la descontaminación, deseche las placas como desechos industriales de acuerdo con las regulaciones estatales oficiales.

Como se menciona en diferentes partes del manual del usuario final de CompactDry™, establecer un laboratorio utilizando un kit de prueba rápida solo necesitaría un número mínimo de equipos y consumibles. Los equipos recomendados que se pueden incorporar en el laboratorio son los siguientes:

INCUBADORA

El número sugerido de incubadoras que necesita una instalación es igual al número de diferentes temperaturas de incubación. Si el laboratorio tiene como objetivo analizar su muestra en busca de parámetros comúnmente probados, como el recuento total, *E. coli* y levadura y moho, se necesitarían dos (2) incubadoras. Sin embargo, si se planea hacer una prueba adicional para *Salmonella*, se necesita una (1) incubadora adicional. Se recomienda no cambiar con frecuencia la temperatura de una incubadora, ya que esto puede afectar el sensor de la unidad y provocar una desviación entre la temperatura interna y la temperatura establecida. Por lo tanto, se necesitaría calibrar nuevamente.

Temperatura de la incubadora:

Parámetros comúnmente probados: 35 ± 2 °C

Levadura y moho: 25 ± 2 °C

Salmonella: 42 ± 1 °C



AUTOCLAVE O CANNER DE PRESIÓN

Como se menciona en el protocolo de "Eliminación de residuos", todos los materiales utilizados en el análisis microbiológico deben someterse a descontaminación antes de su eliminación. El procedimiento validado para matar los microorganismos es calentar los materiales a 121 °C a 15 psi durante 20 minutos o más. Comenzando, la envasadora a presión industrial es suficiente para descontaminar los productos. Esta también se puede utilizar en la esterilización de diferentes materiales destinados como parte del análisis.

REQUISITOS MÍNIMOS DE LABORATORIO

MICROPIPETA

La transferencia del volumen exacto de inóculo para la dilución en serie y el análisis exacto es un factor importante para obtener un resultado confiable al final de la prueba. Tanto el volumen inoculado como el transferido (factor de dilución) son considerados en el cálculo del resultado de la población microbiológica. Por lo tanto, herramientas como una micropipeta bien calibrada deben ser usadas. En el análisis microbiológico usando CompactDry™, son necesarios dos volúmenes, por lo tanto, dos tipos de pipetas deben estar disponibles en el laboratorio – 0,1 ml (análisis de *Salmonella*) y 1,0 ml (otros parámetros). También hay pipetas con volúmenes de 5,0 y 10,0 ml que son útiles en la transferencia aséptica de medio estéril en recipientes más pequeños.

Nota: Las pipetas destinadas al laboratorio de microbiología solo deben usarse para análisis microbiológicos para evitar contaminación.



PUNTAS DE PIPETA CON RACK

Para que una pipeta sea útil, debe estar en tándem con puntas de pipeta estériles (colocadas en un rack). Las puntas están hechas de plástico y se consideran autoclavables, pero no se recomienda su reutilización. En Microbiología, las puntas deben usarse sólo una vez. El recalentamiento de las puntas a una temperatura y presión demasiado altas (similar a la esterilización o descontaminación) puede causar la deformidad de las puntas, lo que hace que la muestra de líquido extraída sea menos precisa en comparación con las puntas no utilizadas.

ESTERILIZADOR UV

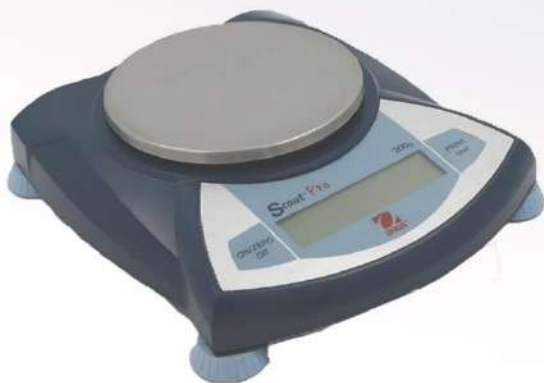
Se debe comprobar la ausencia total de microorganismos contaminantes o asepsia en el área de prueba. Con esto, los cuartos se pueden limpiar con desinfectantes y otras soluciones que pueden eliminar tales contaminaciones. Además de usar diferentes soluciones de limpieza, el laboratorio puede someterse a una esterilización completa usando un esterilizador UV con actividad germicida, específicamente con una longitud de onda que varía de 260-270 nm. La eficacia de la esterilización depende de la altura o la ubicación del esterilizador UV desde la superficie objetivo (8 pies). Los cuartos deben someterse a esterilización UV durante 30 minutos. Después del período de esterilización, deje que las partículas UV se disuelvan durante 10-15 minutos. Ningún personal debe ingresar al lugar dentro del período de disolución para evitar riesgos para la salud.

Nota: Las partículas de luz UV y el esterilizador UV tienen propiedades mutagénicas.



CABINA DE SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA

La Cabina de Seguridad Microbiológica, o más popularmente llamada Cabina de Bioseguridad (BSC), es un equipo utilizado para contener microorganismos, especialmente patógenos que requieren un mayor nivel de bioseguridad durante el análisis microbiológico. Existen diferentes tipos de BSC según el requisito de biocontención. En relación con su función de biocontención, cada BSC debe estar equipado con un filtro HEPA para esterilizar el aire que proviene del área de análisis. La campana de flujo laminar a veces se usa en otras compañías, pero esto no es recomendado debido a la falta de filtración.



BALANZA

La balanza es un equipo importante dentro de un laboratorio. Tiene dos funciones principales: 1.) pesar los medios de cultivo deshidratados para la preparación de los medios, y 2.) pesar las muestras para el análisis microbiano. Existen varios tipos de balanzas que se pueden usar en un laboratorio, y se basan en la cantidad que pueden pesar. Las balanzas más comunes son la balanza de carga superior para muestras pesadas (10-500 gramos) y la balanza analítica para muestras más ligeras y suplementos medianos (0,001 a 5,000 gramos).

FRIGORÍFICO (“CHILLER”)

Algunos medios deben almacenarse a temperatura refrigerada, y otros pueden almacenarse a temperatura ambiente. Se debe comprobar un almacenamiento adecuado cuando estos medios sean almacenados para mantener su efectividad. El “Chiller” también se utiliza para almacenar cepas de referencia como control positivo para diferentes pruebas, así como protocolos de validación. En laboratorios a gran escala, se recomienda adquirir un refrigerador de tipo industrial o un congelador profundo (“Deep freezer”) que se pueda configurar a -86 °C para almacenar enzimas y otros suplementos.



1. ¿Qué sucede si se observaron más de 300 colonias en una placa CompactDry™? ¿Qué debe hacerse?

A. Con colonias observadas

Si hay colonias visibles, no es recomendable contar una placa con más de 300 colonias, ya que esto puede resultar en una subestimación debido al posible crecimiento de colonias superpuestas.

B. Sin colonias observadas

Si una muestra contiene una población bacteriana demasiado alta (≥ 300), entonces es posible que no se observen colonias aisladas, por lo que se presenta como "Demasiado Numerosas Para Contar (TNTC)". El crecimiento de TNTC en las placas CompactDry™ muestra un cambio de color en la almohadilla de tela similar al resultado positivo del resultado de la prueba respectiva (p. ejm. rojo para CompactDry™ TC, azul para CompactDry™ YM y YMR).

Si ocurre cualquiera de estos casos, la muestra puede diluirse aún más hasta que obtengan una dilución específica donde haya un recuento observable (dentro de 1-300 colonias).

2. ¿Qué sucede si 1,0 ml de muestra no se difunde completa y uniformemente en la placa debido a la viscosidad?

A. Alta carga microbiana

Las muestras altamente viscosas deben diluirse adecuadamente. Esto dará como resultado una dilución de 10^{-2} que es menos viscosa y se difundirá fácilmente sobre la almohadilla de tela de la placa CompactDry™.

B. Baja carga microbiana

Obtenga 1,0 ml de inóculo en una dilución de 10^{-1} e inocule un pequeño volumen en al menos 5 puntos diferentes en la placa CompactDry™.

3. ¿Cómo lidiar con muestras altamente pigmentadas sin comprometer la dilución estándar?

A. Alta carga microbiana

Similar a las muestras altamente viscosas, las muestras altamente pigmentadas también se pueden diluir hasta que la pigmentación fuerte se desvanezca.

B. Baja carga microbiana

Para muestras altamente pigmentadas con baja carga microbiana, la dilución se puede aumentar (por ejemplo, 10^{-3}) pero también se debe ajustar el volumen del inóculo. Esto se puede hacer filtrando 10 ml de la dilución 10^{-2} usando un filtro de membrana para retener la sensibilidad necesaria.

4. ¿Se puede almacenar la placa CompactDry™ a temperatura refrigerada?

Sí, se puede almacenar a temperatura refrigerada. Sin embargo, debe llevarse a temperatura ambiente antes de su uso.

5. ¿Cuál es el límite de detección de la placa CompactDry™?

El límite recomendado es de 1 a 300 colonias; de lo contrario, ajuste la dilución.

6. ¿El pH de la muestra afectará la interpretación?

No, la interpretación del resultado es estrictamente cromogénica y se basa en la actividad enzimática del organismo objetivo. Sin embargo, el pH puede afectar la recuperación de microorganismos sensibles al pH. Para evitar esto, ajuste el pH de la muestra agregando NaOH 1N o HCl 1N (según el protocolo BAM) si la muestra es demasiado ácida o demasiado básica, respectivamente.

7. El resultado de CompactDry™ *Salmonella* se considera presuntamente positivo, ¿qué se debe hacer para confirmar la presencia de *Salmonella*?

Para confirmar la presencia positiva de *Salmonella*, elija una colonia aislada de la placa CompactDry™ *Salmonella*. Realice el método de punción y estría en el agar inclinado de TSI (hierro-triple-azúcar), y sin flamear, inocule por doble punción hasta el fondo y estría en superficie en el agar LIA (Agar-lisina-hierro) inclinado. Incube los agares inclinados TSIA y LIA a 35 °C durante 24 horas.

El cultivo típico de *Salmonella* en agar TSI inclinado produce una superficie alcalina (roja) y un fondo ácido (amarillo), con o sin producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) (ennegrecimiento del agar). En LIA, *Salmonella* produce una reacción alcalina (púrpura) en extremo superior (superficie) del tubo. La mayoría de los cultivos de *Salmonella* producen H₂S en LIA. Además, los resultados positivos de TSIA o LIA se someterán a una prueba de aglutinación de látex.

Se tomará una presunta colonia aislada de *Salmonella* del sesgo positivo TSIA/LIA, y se transferirá a una tarjeta de reacción del kit de aglutinación de látex con 1 gota de solución salina donde la solución salina emulsionará la colonia elegida. En los primeros dos minutos de reacción, se observará la autoaglutinación. Después de la primera reacción, se agregará 1 gota de látex de prueba y se observará una mayor aglutinación. La presencia de aglutinación confirma la presencia de *Salmonella*. La reacción de aglutinación se debe a las partículas de látex recubiertas con antisueros polivalentes donde se eleva contra varios antígenos flagelares de *Salmonella*. Además de esto, la *Salmonella* no motil no se detecta por proteínas flagelares sino por cuerpos basales de proteínas similares a la proteína que se encuentra en el punto de unión de los flagelos.

8. ¿Cuál es la diferencia entre CompactDry™ de Recuento Total (TC) y la placa CompactDry™ de Recuento heterotrófico (AQ)?

Estas dos placas CompactDry™ se utilizan para medir el recuento microbiano total, pero están diseñadas para diferentes tipos de muestras. CompactDry™ TC se utiliza para determinar la población microbiana en la mayoría de los sólidos, líquidos, ambientales, y muestras de aire. Por otro lado, CompactDry™ AQ está diseñado para microorganismos heterotróficos o todos los microorganismos que requieren nutrientes orgánicos para su crecimiento, y estos están universalmente presentes en el agua, los alimentos, el suelo, la vegetación, el aire, entre otros (Gensberger et al., 2015). Con su uso para detectar y medir el recuento total microbiano en el agua potable, CompactDry™ AQ es una herramienta importante para cumplir con las normas nacionales, por ejemplo, la Orden Administrativa del Departamento de Salud de Filipinas 2017-0010, que exige que el recuento de placas heterotróficas se mida en toda el agua potable.

9. ¿Cuál es la diferencia entre CompactDry™ de Recuento Total (TC) y CompactDry™ de Recuento Total en Té (TCC)?

CompactDry™ de Recuento Total (TC) y CompactDry™ Recuento Total en Té (TCC) se utilizan para medir el recuento total microbiano. Los productos de té contienen naturalmente catequina que inhibe el crecimiento de microorganismos. CompactDry™ TCC contiene neutralizador de catequina para contrarrestar el efecto de las sustancias antisépticas del té. Por lo tanto, para verificar el crecimiento microbiano total de los productos de té, se recomienda usar CompactDry™ TCC sobre CompactDry™ TC.



NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.
www.nissui-pharm.co.jp

HIXWER®