

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

|                  |                    |                      |                |
|------------------|--------------------|----------------------|----------------|
| <b>MCC P/A</b>   | <b>COSMETIKIT®</b> | <b>DRY PLATES®</b>   | <b>MUGPLUS</b> |
| <b>CRIOTECA®</b> | <b>CHROMOSALM</b>  | <b>DESINFECTEST®</b> | <b>CCCNT</b>   |
| <b>PLAQUIS®</b>  | <b>KITPRO-PLUS</b> | <b>CROMOKIT®</b>     | <b>MBS</b>     |
| <b>M-IDENT®</b>  | <b>SEILAGUA®</b>   | <b>SALMOQUICK</b>    | <b>AIREANO</b> |
| <b>NEOGRAM</b>   | <b>ENVIROCOUNT</b> |                      |                |

## BUFFERED PEPTONE NEUTRALIZING WATER

Sustituto del Agua Peptonada Tamponada clásica en alimentos que contienen ajo, pimentón, pimienta, mostaza, aromáticas, grasas u otros conservantes/inhibidores naturales o artificiales, que pueden enmascarar la presencia de patógenos: **MINIMIZA EL EFECTO MATRIZ**. Incluso inactiva los metabolitos de la flora acompañante antagónica, que pueden enmascarar el crecimiento del microorganismo diana en el Agua Peptonada Tamponada clásica. Alerta rápida para control de esterilidad comercial.

### COMPOSICIÓN

|  |        |
|--|--------|
| Polipeptona bacteriológica               | 15,0 g |
| Extracto de Levadura                     | 5,0 g  |
| Cloruro sódico                           | 7,5 g  |
| Fosfato disódico                         | 4,5 g  |
| Fosfato monopotásico                     | 0,75 g |
| Polisorbato Tween 80                     | 5,0 g  |
| Mix de inactivadores de amplio espectro* | 6,3 g  |

(Fórmula en g/l)

Ajustar a pH:  $7,3 \pm 0,2$

Este medio, según sea el agua destilada empleada, puede requerir hasta 7 ml de NaOH 1 N por cada litro de medio final

(\* Mezcla sinérgica de Lecitina, Tioglicolato sódico, Tiosulfato sódico, Bi-sulfito sódico, Histidina)

**PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO, EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO.**  
 COD: **DMT011**

### PREPARACIÓN

Disolver 44 g de medio en 1 l de agua bidestilada. Dispensar en tubos o en



Izda: Sin inocular. Dcha: Tubo turbio, con crecimiento a pesar de los conservantes de la muestra.

frascos. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos. El color final del medio es paja-ámbar. El polvo es untuoso porque incluye 5 ml/l de polisorbato Tween 80, que permite obtener mejores efectos inactivadores de los inhibidores incluso en productos grasos. Imprescindible ajustar el pH para conseguir la efectividad necesaria.

### **CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO**

Realizado en nuestro laboratorio; es prudente repetirlo en su laboratorio siempre que varíen las condiciones (más de 3 meses sin usar, tras desinfectar laboratorio, tras conservar a alta T<sup>a</sup>, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta,...)

DESHIDRATADO: Polvo fino, crema, fuerte olor desagradable a tioglicolato

PREPARADO: Estéril, paja-ámbar

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO ISO/TS 11133-2 (Aplicando el método ISO 6579:2003, o el del Manual MICROKIT actualizado), 18 h a 37 °C:

*Salmonella abony* WDCM00029, Excelente, Tras 45 minutos a 25°C, resiembra en TSA y obtención de >50-150% de colonias respecto al número de ufc inoculadas. Tras 18 h a 37°C, turbidez de ligera a elevada.

*E. coli* WDCM00013, Excelente, Tras 18 h a 37°C, turbidez de ligera a elevada.

*Staphylococcus aureus* WDCM00033, Excelente, Tras 18 h a 37°C, turbidez de ligera a elevada.

*Pseudomonas aeruginosa* WDCM00026, Excelente.

*Bacillus subtilis* WDCM00003, Excelente.

*Candida albicans* WDCM00054, Excelente.

**PRESENTACIÓN:** MEDIO DESHIDRATADO (DMT011), frascos preparados 50 ml (RPL112), frascos preparados 50 ml con perlas de vidrio para dispersar productos grasos o grumosos (RPL114), frascotes preparados 225 ml con perlas de vidrio para dispersar productos grasos o grumosos (RPL235), tubos preparados 9 ml (TPL110).

### **SIEMBRA E INTERPRETACIÓN**

Añadir 1-25 gramos de muestra en 10-225 ml de medio (5 g en los frascos con 50 ml). Agitar (las perlas de vidrio de los frascos ahorran el uso de un homogeneizador en muestras blandas, salsas...) y dejar reposar para que actúe la inactivación de agentes inhibidores presentes en la muestra, durante 20-30 minutos a temperatura ambiente. Si es necesario, realizar las ulteriores diluciones decimales en este mismo medio.

PRECAUCIÓN: En matrices cuyo agente conservante sea la salazón, salmuera o almíbar, o en aquellas con alta proporción de sales o de azúcares, puede requerirse que la solución madre sea 1:100 (-2) en lugar del clásico 1:10 empleado en los demás alimentos. Ya si son 2,5 g en 247,5 mL, o 25 g en 2.475 mL, depende de la muestra mínima necesaria (en *Salmonella* son 25 g).

Para realizar recuentos, sembrar 1 ml de cada dilución en masa en los agares adecuados, sin previo enriquecimiento. Recomendamos el PCA cromogénico de MICROKIT (BCD510) ya que por el mismo precio que el PCA clásico, se distinguen las colonias (rojas) de las partículas de muestra.

Para enriquecimiento revitalizador, incubar 18 h a 35-37°C antes de pasar a enriquecimientos selectivos secundarios o antes de estriar en placas selectivas.

Para control de esterilidad comercial, incubar 18-72 h a 35-37°C y sembrar en estría en la superficie de una placa de un agar de recuento general, por ejemplo, PCA-cromogénico (BCD510), aunque la turbidez del caldo es una alerta rápida de la contaminación microbiana.

**NOTA:** Dados los resultados de los intercomparativos Seilalimentos de microbiología alimentaria de la última década, recomendamos este caldo peptonado neutralizante, que tan inmejorables resultados proporciona, como el sustituto habitual de la clásica agua peptonada tamponada para inactivar los conservantes que la mayoría de alimentos resultan incluir. Además ha sido validado internamente por el método de pares y con cepas cuantitativas de referencia en los 5 parámetros microbiológicos de máxima importancia en microbiología alimentaria: *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Clostridium perfringens* y *Listeria monocytogenes*.

**ATENCIÓN, MÉTODO RÁPIDO PARA SALMONELLA:** Uniendo este avance a un enriquecimiento mixto acelerado (mezclando los medios del preenriquecimiento revitalizador y neutralizante: 225 ml Buffered Peptone Neutralizing Water de MICROKIT DMT011+ enriquecimiento selectivo 18 ml SS Broth concentrado [x5] de MICROKIT DMT067) e incubándolos juntos en las 18 h previas; permite la detección fiable de Salmonella en sólo 36 h desde la muestra inicial. Por todo ello, este método acertado es la herramienta que estaban esperando todas las fábricas de productos alimenticios para poder liberar lotes gracias a la detección precoz de este patógeno, que les retrasaba hasta ahora el resultado global del laboratorio microbiológico a 3-5 días.

## **BIBLIOGRAFÍA**

☞ Sanchis, J. 09-2014: XIX Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos. Doble enriquecimiento simultáneo para detección de Salmonella. J. Sanchís. MICROKIT.

☞ Sanchis, J. 10-2022: Informes Seilalimentos comparando APT con APTN

### **MEDIO PATENTADO POR MICROKIT**

El usuario final es el único responsable de la destrucción de los organismos que se hayan desarrollado, según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar a la basura.

Medio diseñado y fabricado en la UE por MICROKIT desde 2008, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en X-2022

## REVALIDACIÓN Buffered Peptone Neutralizing Water (BPNW) mediante Intercomparación

### Seilalimentos: ESTUDIO DEL EFECTO MATRIZ

Añadimos desde 2017 los caldos diluyentes generales empleados por cada laboratorio participante en Seilalimentos, así como los falsos negativos que obtiene, para ver si obtenemos conclusiones sobre una posible correlación de los mismos con la calificación global obtenida, como sucede desde hace años con LPT Neutralizing Broth en Seilaparfum. Tras el primer año, los resultados hablan claramente a favor del Agua Peptonada Tamponada NEUTRALIZANTE, frente a las no neutralizantes, en todos los alimentos comparados:

El agua de peptona tamponada neutralizante (APTN, BPNW) para usos alimentarios, es un desarrollo de MICROKIT, patentada desde Julio de 2018 a la vista de los resultados de Seilalimentos. Ya que tanto en aguas como en cosméticos a nadie se le ocurre partir de la matriz sin haber previamente eliminado los conservantes (el cloro en el agua), pero nadie habla de este tema en alimentos, siendo la realidad que prácticamente todos ellos llevan conservantes (estén declarados o no, sean artificiales o naturales como las especias, las plantas aromáticas, el ajo...)

De 21 alimentos comparados, en 14 los laboratorios que obtienen las mejores calificaciones (menos resultados falsamente negativos) usan BPNW en vez del clásico BPW. En 3 alimentos no hay diferencias. Y en 4 alimentos el uso de la clásica BPW mejora los resultados del BPNW. De modo que en el 67% de alimentos, sería necesario emplear BPNW y en el 19% de alimentos (un tipo de sándwich, pastel de pescado, hojaldre y potaje) sería contraproducente este cambio. Pero la diferencia es muy elevada en ese 67% de alimentos donde el BPNW mejora los resultados: 43 ± 25% más laboratorios con excelencia usando BPNW que los que usan BPW. Le animamos a comparar ambos caldos en su laboratorio en los demás alimentos que analice. Puede pedirnos inóculos ciegos de cepas para que la comparativa sea más rigurosa.

En la ronda 73 de arroz 3 delicias:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Excelencia/caldo inicial |
|------------------|-------------|--------------------------|
| BPNW             | 3           | 100%                     |
| Otros diluyentes | 17          | 83%                      |

17% mejores resultados en arroz 3 delicias usando BPNW en vez de BPW o Peptone Water clásica

En la ronda 74 de pastel de salmón:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Excelencia/caldo inicial |
|------------------|-------------|--------------------------|
| BPNW             | 6           | 100%                     |
| Otros diluyentes | 16          | 62,5%                    |

37,5% mejores resultados en pastel de salmón para los laboratorios que emplean BPNW en vez del clásico BPW

En la ronda 75 de barras de cereales:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Excelencia/caldo inicial |
|------------------|-------------|--------------------------|
| BPNW             | 12          | 100%                     |
| Otros diluyentes | 9           | 66,7%                    |

33,3% mejores resultados en barras de cereales para los laboratorios que han usado BPNW en vez de BPW

En la ronda 76 de pollo a la mostaza:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW             | 6           | 4                      | 66,7%                                |
| Otros diluyentes | 18          | 2                      | 11,11%                               |

55% de mejores resultados en pollo a la mostaza con BPNW que con BPW

En la ronda 77 de pastel de surimi, el eneldo no ha inhibido nada, ya que todos los laboratorios, empleasen agua de peptona a secas o la empleasen neutralizante, obtuvieron los mismos resultados de excelencia:

| Caldo inicial | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|---------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW          | 6           | 6                      | 100 %                                |
| Otros         | 14          | 14                     | 100 %                                |

El pastel de surimi no ha tenido efecto matriz: idénticos resultados con BPNW que con BPW

En la ronda 78 de pizza se observa de nuevo como afecta la calidad de los análisis en la mayoría de participantes, disminuyendo el número de resultados falsamente negativos, aunque no llegue a ser tan evidente como es siempre con el LPT Neutralizing Broth en cosméticos, según se ve en Seilaparfum. En esta ronda se ve de nuevo una diferencia, aunque no es tan dramática como otras veces: el efecto matriz depende de la ronda y de la efectividad de los conservantes naturales y artificiales que tenga la muestra, que es la gran desconocida *a priori* de realizar cada ronda (y por ello, es la gran desconocida en cada laboratorio antes de hacer cada análisis, por lo que vale la pena usarla siempre en cualquier alimento):

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Nº falsos negativos | falsos negativos/usuario |
|------------------|-------------|---------------------|--------------------------|
| BPNW             | 8           | 4                   | 0,5                      |
| Otros diluyentes | 12          | 8                   | 0,67                     |

Disminución del 17% de falsos negativos/laboratorio en pizza al usar BPNW en vez de BPW.

No se hace este estudio para falsos positivos, porque nunca se pueden achacar al caldo inicial sino a los agares y confirmaciones posteriores.

Los laboratorios con excelencia global (100% de aciertos) se marcan en azul. Nada menos que 9 de 20 de laboratorios (45%) que han obtenido el 100 % en esta ronda (70, 32 y 30% en las anteriores rondas). De ellos, se usan los siguientes caldos iniciales:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Calificación excelencia | Excelencia/caldo inicial |
|------------------|-------------|-------------------------|--------------------------|
| BPNW             | 8           | 4                       | 50%                      |
| Otros diluyentes | 12          | 5                       | 41,7%                    |

**Aumento del 8,3% de la excelencia en pizza de los laboratorios al usar BPNW.**

En la ronda 79 de postre en polvo, la alta concentración de azúcares ha provocado la inhibición de varios parámetros microbiológicos por ser hiperosmótica la dilución (-1), sin embargo los caldos neutralizantes obtienen mucho mejores resultados:

| Caldo inicial | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|---------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW          | 6           | 4                      | 67 %                                 |
| Otros         | 16          | 2                      | 12,5 %                               |

**Aumento del 54,5% de la excelencia en postre en polvo para los laboratorios al usar BPNW**

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Nº falsos negativos | falsos negativos/usuario |
|------------------|-------------|---------------------|--------------------------|
| BPNW             | 6           | 8                   | 1,33                     |
| Otros diluyentes | 16          | 42                  | 2,62                     |

**Disminución del 50 % de falsos negativos/laboratorio en postre en polvo al usar BPNW.**

No se hace este estudio para falsos positivos, porque nunca se pueden achacar al caldo inicial sino a los agares y confirmaciones posteriores.

En la ronda 80 (canelones) lamentablemente sólo dos laboratorios emplean en agua peptonada tamponada neutralizante, con una calificación de 10, la misma que el 40% de participantes que no la usan, por lo que no podemos extraer conclusiones más relevantes.

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Excelencia/caldo inicial |
|------------------|-------------|--------------------------|
| BPNW             | 2           | 100%                     |
| Otros diluyentes | 20          | 40%                      |

**60% más laboratorios con excelencia en canelones al usar BPNW en vez de BPW**

En la ronda 81, estofado, los resultados vuelven a decirnos claramente que el agua peptonada tamponada y neutralizante de MICROKIT es la mejor opción:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW             | 4           | 4                      | 100 %                                |
| Otros diluyentes | 17          | 9                      | 53 %                                 |

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Nº falsos negativos | falsos negativos/usuario |
|------------------|-------------|---------------------|--------------------------|
| BPNW             | 4           | 0                   | 0                        |
| Otros diluyentes | 17          | 16                  | 0,94                     |

**47% mejores calificaciones y disminución de 1 falso negativo/usuario en estofado al emplear BPNW en vez de BPW**

En la ronda 82 de sandwich especial, los resultados se invierten:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW             | 8           | 4                      | 50 %                                 |
| Otros diluyentes | 12          | 6                      | 50 %                                 |

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Nº falsos negativos | falsos negativos/usuario |
|------------------|-------------|---------------------|--------------------------|
| BPNW             | 8           | 10                  | 1,25                     |
| Otros diluyentes | 12          | 5                   | 0,42                     |

**No hay regla sin excepción: en este sándwich especial, los resultados con BPNW empeoran los de BPW**

En la ronda 83 de postre: Frutos deshidratados con natillas (lácteos + huevo) en polvo, vuelve a verse que las soluciones neutralizantes son más que útiles:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW ó LPTN      | 4           | 4                      | 100 %                                |
| Otros diluyentes | 17          | 2                      | 12 %                                 |

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Nº falsos negativos | falsos negativos/usuario |
|------------------|-------------|---------------------|--------------------------|
| BPNW             | 4           | 0                   | 0                        |
| Otros diluyentes | 17          | 39                  | 2,30                     |

**88% mejores calificaciones en los laboratorios que emplean en postre en polvo el BPNW en vez del BPW, con bajada de 2,3 falsos negativos por usuario del BPW a ningún falso negativo en BPNW**

En la ronda 84 de Pastel de pescado: Palitos de cangrejo, anchoas, huevo, nata, leche, pan, mayonesa, sal, pimienta y mostaza. Cuando la muestra no tiene efecto matriz (la escasa proporción de pimienta y mostaza no ha afectado), el Agua de Peptona Tamponada Neutralizante obtiene exactamente los mismos falsos negativos que la no neutralizante, como es lógico.

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW ó LPTN      | 9           | 4                      | 44%                                  |
| Otros diluyentes | 17          | 12                     | 70%                                  |

No hay regla sin excepción: en este pastel de pescado, los resultados con BPNW empeoran los de BPW

En la ronda 85 de concentrado de astronautas no es posible comparar, dado que todos obtienen la excelencia de resultados.

En la ronda 86 de hojaldre:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW ó LPTN      | 14          | 8                      | 57%                                  |
| Otros diluyentes | 6           | 4                      | 67%                                  |

Tercera ronda donde curiosamente el uso de caldos neutralizantes en hojaldre no mejora los resultados

En la ronda 87 de ensalada de pollo:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW ó LPTN      | 6           | 6                      | 100%                                 |
| Otros diluyentes | 16          | 12                     | 75%                                  |

25% de mejores resultados en ensalada de pollo empleando BPNW en vez de BPW. Los 4 falsos negativos se obtienen sólo en caldos "madre" no neutralizantes

En la ronda 88 de cocktail-1:

| Caldo inicial    | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW ó LPTN      | 10          | 6                      | 60%                                  |
| Otros diluyentes | 10          | 6                      | 60%                                  |

Esta vez de los 8 falsos negativos, 5 se obtienen tras usar caldos neutralizantes y 3 tras usar caldos no neutralizantes, de modo que parece que algo ha sido mas importante que la neutralización en este cocktail.

Se concluye del global de rondas que no es sólo el caldo empleado en la solución madre el culpable de los mejores o peores resultados, pero también se concluye que ayuda, y en algunos alimentos ayuda MUCHO. No nos parece nada despreciable esta mejora por esta simple causa de la que nadie habla en alimentos: la inactivación de conservantes en la muestra antes de realizar los análisis. Se observa ya 3 laboratorios (suelen ser queserías) que por Normas ISO van añadiendo Tween 80 al agua de peptona tamponada, pero eso no suele ser suficiente ya que ese aditivo solo inactiva una escasa parte de los conservantes y metabolitos de la flora acompañante y en realidad se emplea más bien para emulsionar las grasas. Nótese además que quienes emplean en alimentos los dos caldos neutralizantes (LPT Neutralizing Broth diseñado para cosméticos y Buffered Peptone Neutralizing Water diseñado para alimentos) OBTIENEN EN CASI TODAS LAS RONDAS MENOS FALSOS NEGATIVOS, ASI COMO MÁS LABORATORIOS CON CALIFICACIÓN DE EXCELENCIA; a todos ellos les felicitamos por ello.

En la ronda 89 de cocktail-2, no podemos evaluar la diferencia entre usar y no usar caldos neutralizantes, ya que no tendría rigor estadístico cuando prácticamente todos, usen el caldo que usen, obtienen calificaciones de excelencia.

En la ronda 90 de potaje:

| Caldo inicial              | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|----------------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW                       | 10          | 8                      | 80%                                  |
| LPTB                       | 2           | 0                      | 0%                                   |
| Resto diluyentes (APT, AP) | 8           | 7                      | 87,5%                                |

No parece que los caldos especiales de cosmética (LPTB) sean aplicables a la mayoría de alimentos, al menos en esta matriz de potaje. Ni parece que en esta matriz el uso de neutralizantes haya mejorado resultados, claro que en ella no había ningún tipo de conservante.

En esta ronda 91 de Pizza queda patente la absoluta superioridad del uso de caldos neutralizantes sobre los otros diluyentes generales más clásicos:

| Caldo inicial              | Nº usuarios | Mejores calificaciones | Mejores calificaciones/caldo inicial |
|----------------------------|-------------|------------------------|--------------------------------------|
| BPNW                       | 3           | 3                      | 100%                                 |
| LPTB                       | 3           | 3                      | 100%                                 |
| BPWT5                      | 2           | 2                      | 100%                                 |
| Resto diluyentes (APT, AP) | 13          | 2                      | 15%                                  |

85% de laboratorios con más resultados de excelencia usando en pizza el BPNW que el BPW

Nos congratula comprobar que otros fabricantes de USA han empezado a crear caldos neutralizantes para la industria alimentaria, a pesar de que allí tampoco hay todavía consenso oficial sobre su evidente necesidad.