

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

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

#### Resumen de ventajas de las DryPlates® cuando son correctamente empleadas, 1/2016:

Inoculan 1 ml de muestra en masa sin perder el tiempo en calentar-fundir-enfriar frascos, y no inoculan sólo los 0,1-0,33 ml que absorbe la superficie de una placa preparada (de modo que multiplican por 3-10 el límite inferior de detección), se ahorra el asa de siembra o los aplicadores, la caducidad es de un año, su formato es en Placa Petri (tamaño minimizado y mejor apilable desde 2017), no hay contaminaciones en el transporte, obtienen recuentos significativamente superiores a los de los medios preparados en formatos clásicos, las colonias crecen con aspecto idéntico al de los formatos clásicos, muchos medios obtienen resultados mucho más rápidos, ahorran espacio en el almacén, en la estufa y en el contenedor de residuos, no necesitan nevera, están disponibles todos los medios necesarios en esta versión (recuentos y patógenos)... todo son ventajas! El slogan es “de la muestra a la estufa en 10 segundos”, siempre que se sepan emplear siguiendo la pie de la letra las instrucciones:

#### Puntos críticos de las DryPlates® a tener en cuenta para obtener resultados adecuados:

Como en todo método nuevo, hay diferentes variables a tener en cuenta, y en el caso de las DryPlates® hay **6 puntos críticos** que debe salvar a la hora de emplearlas y **que significan la diferencia entre obtener valores más reales y rápidos, o no encontrar nada**, (si por error sigue las pautas de la microbiología tradicional, que nada tiene que ver con las DryPlates®):

1-Las DryPlates® son placas preparadas pero de medio deshidratado. Por eso pueden almacenarse sin problemas de temperatura, la única precaución es no dejar la bolsa mal cerrada para que no les entre la humedad atmosférica. Y si ésta es exagerada (trópicos), además almacenar las bolsas autosellables de aluminio en tupperes herméticos con silicagel.

2-Añadir el disco nutritivo sobre el ml de muestra ya añadido a la placa Petri, nunca al revés, o si añadimos la muestra sobre el disco, a menudo no se repartirá en el medio.  
**Importante: en una superficie horizontal, para que el reparto sea homogéneo.**

3-Intentar que la muestra quede hecha una sola gota en el centro de la placa (nivelar la cabina o poyata para que no se desplace a un lado) o de lo contrario el reparto será heterogéneo y mucho más lento. No es grave, ya que igualmente saldrán tantas colonias como ufc, pero la placa no quedará homogénea y posiblemente haya zonas de islas secas. **De todas formas, si ha pasado 1 minuto desde la siembra y sigue habiendo alguna zona seca, inclinar la DryPlate hacia la zona seca y se rellenará en escasos segundos con la muestra líquida sobrante.**

4-No voltear la placa al meterla en la estufa, ya que a simple vista parece que el 100% de la muestra se embebe en unos segundos, pero en realidad un 15-30% de la misma tarda un buen rato en absorberse y se perdería si le damos la vuelta, dando recuentos más bajos.

5-Impedir que las placas toquen el suelo, las paredes y el techo de la estufa, que están a temperaturas mucho más elevadas que el aire interior controlado a 25 ó 35°C. Eso secaría las DryPlates® antes de que crecieran las colonias, dando la falsa sensación de que la muestra estaba perfecta. Pero este problema se delataría porque la superficie de la DryPlate® se vería seca, sin el brillo característico del agar (en este caso del hidragar). Para ello, poner siempre la pila de DryPlates® sobre una o dos placas vacías. E incubarlas dentro de las bolsas autosellables incluidas, sobre todo si no van en cassette sino en plaquita Petri. Este es el mayor problema que podemos encontrar si no seguimos las instrucciones.

6-Por el mismo motivo del punto anterior, **añadir** algún vaso lleno de agua dentro de la estufa y si está muy vacía, **varios vasos llenos de agua**, lo ideal es 4 (1 en cada esquina). No valen botellas, ya que la boca ha de ser ancha para ofrecer más evaporación. No sobrepasar el tiempo de lectura (que además en las DryPlates® suele ser muy anterior al del medio clásico).

#### USO DE DRYPLATES PARA AISLAMIENTO DE PATÓGENOS TRAS ENRIQUECIMIENTO:

Tras el enriquecimiento para patógenos en agua peptonada tamponada, agua peptonada neutralizante, LPT Neutralizing Broth o el caldo más conveniente para el microorganismo buscado, añadir **1 ml de agua estéril**, (Ref: KBB002) al centro de la base de cada una de las placas DPP, con una misma pipeta estéril (Ref: P1S1G). En todas las Dry Plates®, añadir el agua a la placa y luego dejar caer encima el disco con medio (nunca al revés). Así, en unos segundos tendremos rehidratadas las placas para patógenos, dejando las demás del paquete, con su larga caducidad, para posteriores análisis.

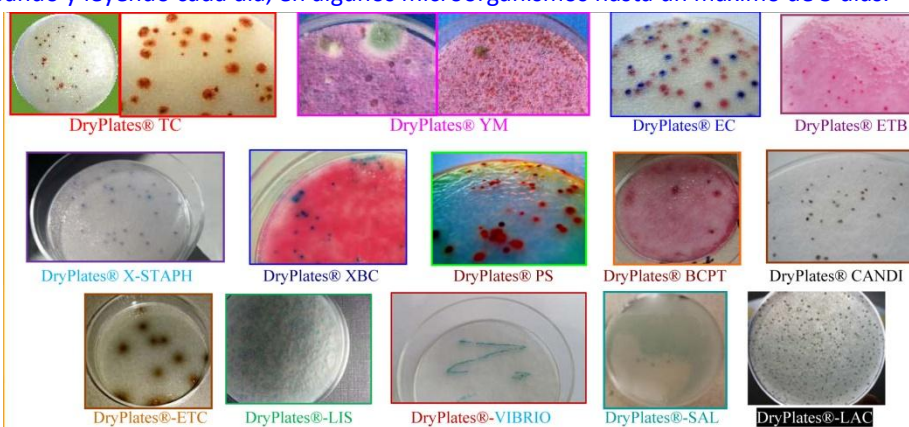
Una vez hidratados los medios, **estriar una pequeña alícuota del caldo enriquecido, en la superficie de cada placa**, con un asa estéril (Ref: 302750D estériles o bien VDA151 con mango de Kolle VDA153); cuanto más larga consigamos barrer la estría en la placa, más fácil será aislar colonias, que se diferenciarán muy bien del resto del medio con sus colores característicos. También se puede estriar sobre la DryPlate prehidratada, un escobillón (torunda, swabb) con el que se haya barrido una superficie en busca de algún microorganismo concreto. Este método de estrías no se puede realizar en los otros formatos de placa deshidratada de otras marcas, ya que son matrices blandas que no lo permiten hacer profesionalmente.

Otros fabricantes de placas deshidratadas dicen que se añada 1 ml del caldo enriquecido (saben que en las suyas no se puede sembrar en estría), lo cual es una pésima práctica microbiológica, porque los millones de microcolonias así generadas en caso positivo, no se verán, sólo un tenue viraje de color en toda la placa, que a menudo pasará desapercibido al ojo humano, provocando falsos negativos.

#### DUDAS MÁS FRECUENTES DE LOS CLIENTES EN SUS PRIMEROS USOS:

**1-El enriquecimiento de patógenos en cosméticos ha de ser de 18, de 24 o de 48h?** Depende del tipo de cosmético. 18-24h es suficiente para cosméticos los normales y 48 h para cosméticos con alta y compleja carga conservante y para cosmética para inmunodeprimidos. En general lo que no sale en 18h ya no sale en 24h, por eso indicamos el intervalo internacionalmente aceptado 18-24 h, pero sí que hay veces que el patógeno no crece en 18-24 h y si en 48h

**2-Por qué hay tantos rangos en las temperaturas de incubación, a veces diferentes en cada folleto?** Cuando se indica por ejemplo 1-5 días, se trata del intervalo de seguridad: se mira la DryPlate a las 24h y si ha crecido, ya tenemos un recuento muy estimado de lo que habrá, aunque es habitual esperar hasta las 48h; si no sale nada, se esperan hasta 5 días para darle tiempo a las cepas más lentas a crecer, mirando cada día las placas para así ahorrar tiempo de liberación del lote, por si acaso, si ya crecen en 3 ó en 4 días. 35 y 37 °C es exactamente lo mismo, crece la misma flora (asociada al hombre, a menudo patógenos), lo que pasa es que en cosméticos se habla de 35°C y en alimentos y aguas de 37°C. Igualmente 21 y 25°C es equivalente, crece la misma flora (alterativos no patógenos). *S.aureus* es capaz de crecer en las DryPlates en sólo 18h, pero para mayor seguridad si no han crecido entonces, hay que esperar hasta 48h. *P.aeruginosa* y *B.cepacia* lo mismo, si las cepas presentes están muy activas crecen en sólo 18h en las Dryplates, pero si no crecen entonces, es prudente releer cada día hasta los 3 días y, por si están muy estresadas, incluso hasta los 5 días (máxima seguridad). *C.albicans* igual, suele crecer en 18-24h pero si no ha crecido entonces, hemos de releer las placas a las 48h. *E.coli* y resto de coliformes son las más rápidas, siempre crecen en sólo 18-24 h. En definitiva, las DryPlates son más rápidas y nos pueden permitir detectar un lote con patógenos mucho antes que el método tradicional; pero si NO crecen los patógenos en sus primeras 18 horas de incubación en DryPlates, hay que seguir incubando y leyendo cada día, en algunos microorganismos hasta un máximo de 5 días.



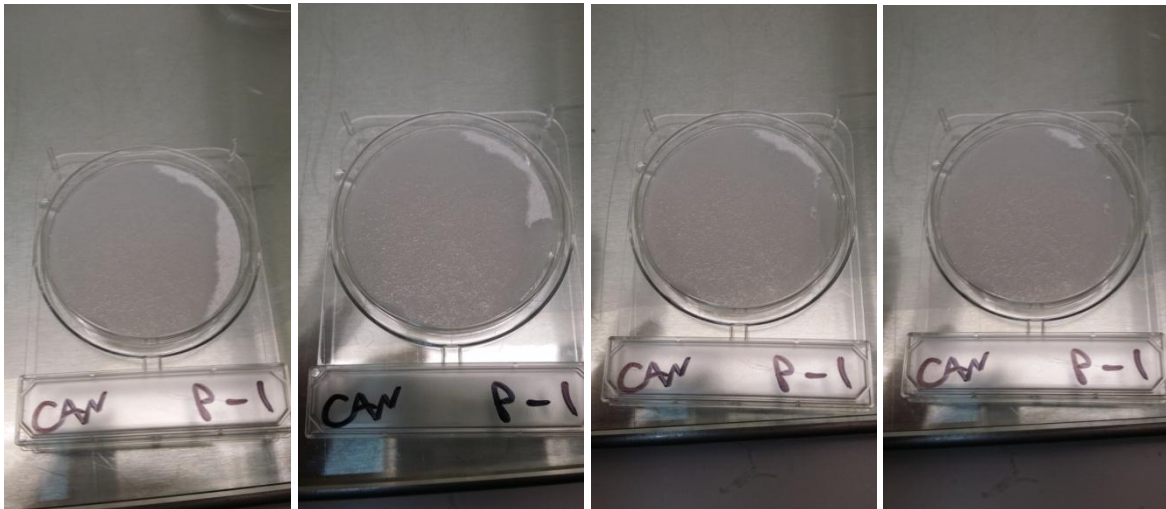
## NUEVAS REFLEXIONES 2/2017 AL CAMBIAR A CASSETTES:

Lógicamente las DryPlates en cassette ya no quedan estables sobre el podio naranja que se ponía en las plaquitas redondas para separarlas del metal de la estufa. Ahora basta con poner 2-3 cassettes vacías o 1-2 placas Petri de 90 mm debajo de cada pila. Sin embargo las pilas son mucho más estables y así pueden ser mucho más altas al transportarlas a la estufa (foto dcha):

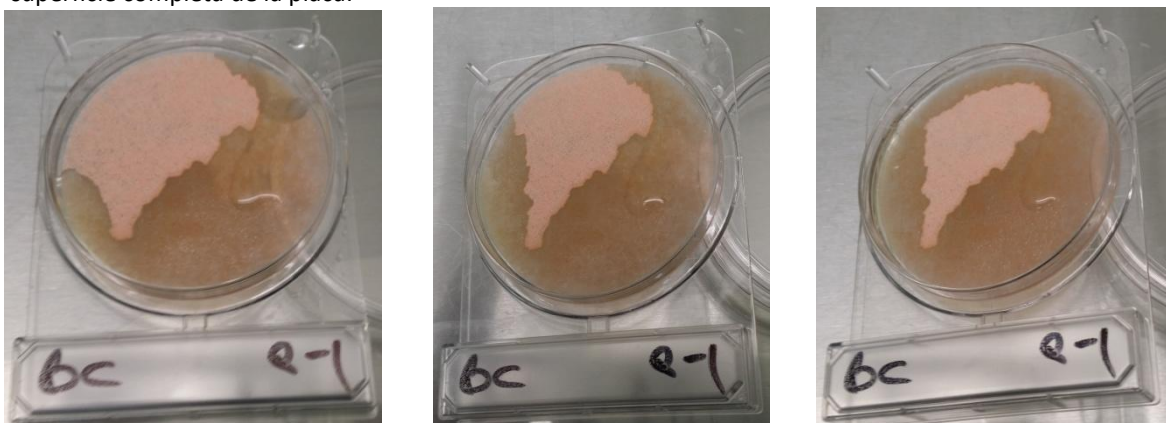


Cada medio se comporta de forma diferente en cuanto a rapidez en absorber la muestra, formación de islas secas y desecación en la estufa. Hay DryPlates cuya siembra es perfecta, rápida en <5 seg y sin formar islotes secos (PS, CAN, XLD...), siempre que la muestra quede bien centrada en la placa antes de añadirle el disco, mientras otras tardan hasta 30 seg (XStaph...), o bien forman lóbulos secos (EC, TC...), o bien no llegan a embeberse hasta el final, formando una playa seca en forma de media luna, problema que se solventa inclinando suavemente la placa para que el líquido sobrante llegue a la isla y la embeba (TC, YM, EC, BCPT, SAL...). Todas estas consideraciones no afectan al resultado, ya que igualmente el ml de muestra ha sido absorbido, por lo que todas las ufc presentes en la muestra darán lugar a colonias. Lo más que puede suceder es que el recuento en la placa no sea homogéneo, por ejemplo no habrá colonias en las islas secas, o pueden concentrarse más colonias en una mitad de la placa que en la otra mitad. En casos extremos, si la muestra se sale del disco porque hemos inclinado demasiado o hemos depositado la muestra en un extremo de la placa, habrá un crecimiento en masa en ese margen, que nos está avisando que el recuento real es superior al número de colonias contadas en el resto de la placa.

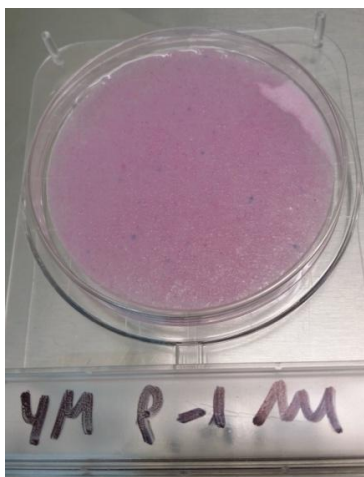
Para evitar que se creen islas secas enormes, la inclinación de la placa para ayudar a que la media luna marginal seca, acabe embebiéndose, debe ser muy suave y lenta. El líquido va avanzando por un margen entre el disco y la pared interna de la placa y va embebiendo el disco que aun no se había empapado. Ver secuencia correcta:



Pero si lo hacemos demasiado rápido o con demasiada inclinación, sobre todo si hemos sembrado la muestra lateralmente, lejos del centro de la placa, la muestra caerá por ambos lados de la placa, cerrará el círculo embebiendo los márgenes y quedará una isla seca interna, perpetua, en la zona sub-marginal, que ya no será posible empapar con la muestra sobrante, la cual quedará inmovilizada donde no es necesaria (observar gota paralizada), lo que dará lugar a resultados más heterogéneos dentro de la superficie completa de la placa:

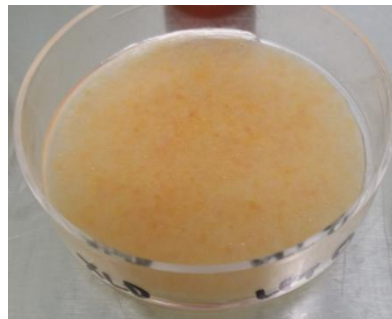


En la XStaph una misma cepa puede crecer a veces de color turquesa (azul claro), a veces índigo (azul oscuro) y a veces púrpura (vino tinto, burdeos).



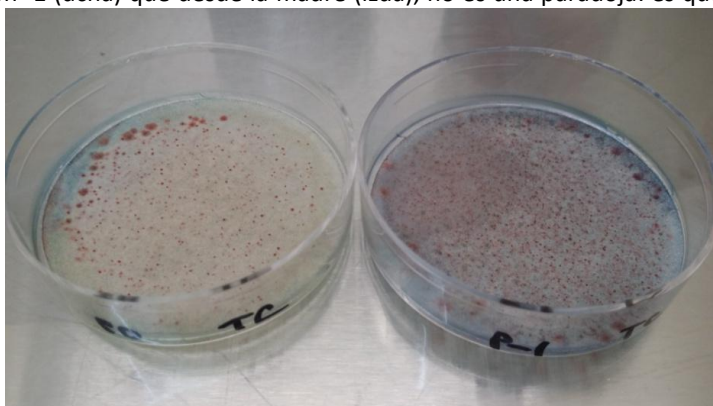
En la YM (izda), los puntos azules que se observan sobre el fondo rosa al inocular, desaparecen durante la incubación y no alteran los resultados.

Lo mismo sucede en la XLD (dcha) con los grumos naranjas que se observan al inocular, entre el fondo de color más suave: desaparecen al incubar y no afectan al resultado final.



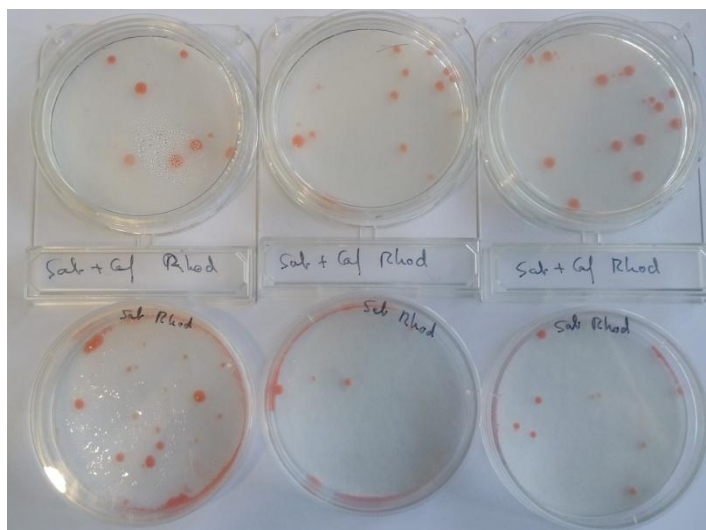
Al sembrar en estría, si apretamos con el asa o inclinamos la placa, algunas exudan una parte de la muestra (sobre todo TC, XStaph...). Lógicamente esto no tiene la menor importancia si estamos detectando patógenos por estría tras enriquecimiento, o en control de superficies con escobillón, ya que lo importante es si hay o no hay crecimiento del patógeno o indicador buscado.

Las DryPlates nos dan evidencias del poder inhibitorio intrínseco de una muestra: Si crecen más microorganismos a partir de la dilución -1 (dcha) que desde la madre (izda), no es una paradoja: es que en el frasco -1, los conservantes del alimento o del cosmético están más diluidos, actúan menos y permiten mejor el crecimiento de los microorganismos, por lo que el recuento más fiable en este caso, es el de la dilución -1, que lógicamente hay que multiplicar por 100 para informar del número de ufc/g (si la madre era la dilución de 1 g de muestra en 9 ml, o de 10 g en 90 ml, o de 25 g en 225 ml).



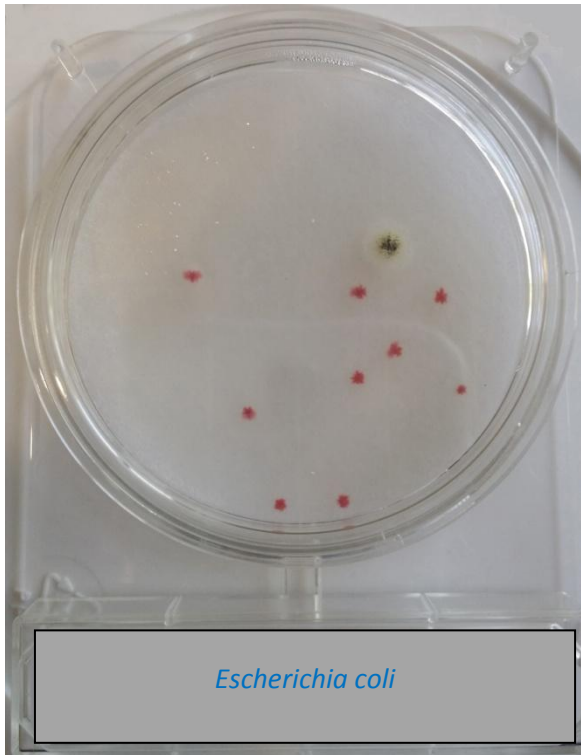
En cuanto a la incubación, las que más rápido se desecan son la TC (cuando se incuban aerobios a 25°C, al tardar hasta 3 días en crecer) y la XStaph (donde normalmente no aparecen las colonias hasta las 48h), por lo que con ellas hay que extremar las precauciones: que no toquen las zonas metálicas de la estufa y tener 4 vasos siempre bien llenos de agua, uno en cada esquina de la estufa. Si la placa no resulta hermética, apretar la tapa con cinta adhesiva.

El uso de DryPlates de recuento en las Cassettes de MICROKIT mejora enormemente el problema de los crecimientos marginales, que son frecuentes en otras placas a causa de la convexidad de su fondo:



*“Las casas reales y presidenciales de varios países del mundo en zonas tropicales han elegido las DryPlates® como único método fiable para analizar la comida y bebida con las que alimentan a sus líderes”*

ASPECTO DE LAS COLONIAS DE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS EN DRYPLATES-TC: IDÉNTICO AL DEL MEDIO CLÁSICO, AL SER EL MISMO MEDIO



**Recuerde:** Si las DryPlates que recibe van con plaquita en vez de cassette, debe incubarlas dentro de las bolsas autosellables, bien cerradas, que incluimos, para evitar su desecación durante la incubación.

Si desea seguir el Reglamento UE 2-2019 que entrará en vigor en 2021 mediante el cual los lobbies del laboratorio han conseguido barrer la innovación que aporta el milagro mediterráneo (la PIME), al exigirnos a los inventores de productos/métodos para industria alimentaria, el inviable pago de cientos de miles de € a AOAC, AFNOR o similar por cada referencia innovadora (muy por encima del valor de venta de los mismos en 5 años); nos puede volver a pedir medios preparados clásicos para siembra en superficie (placas, Ecoplacas, plaquis, Ecoplaquis) o para siembra en masa por calentamiento/enfriamiento de agares (tubos, frascos) de todos los medios clásicos (o cromogénicos) que salen en Normas ISO, ya que de este modo no es un método alternativo y por tanto ningún inspector ni auditor puede impedirle emplearlo. Aunque perderá los valores añadidos de las DryPlates: su extraordinariamente larga fecha de caducidad, el ahorro de fusión de medios en siembras en masa, el uso de medios cromogénicos modernos que aún no aparecen en Normas ISO... La mejor solución sería externalizar una proporción residual pero razonable de sus análisis a un lab.externo vinculante, para presentar sus informes a inspección de Sanidad, y así poder seguir usando internamente en paralelo este kit en esas y en las demás muestras, para la mejora y rapidez de sus resultados de autocontrol. A fin de cuentas, este reglamento que corta de cuajo el I+D que no provenga de multinacionales, no es nada nuevo: los kits de autocontrol nunca han servido para obtener resultados oficiales, pero ayudan a la industria a tomar las mejores decisiones para la rapidez y fiabilidad en la liberación de sus lotes. NADIE puede exigirle que deje de emplear kits diseñados en las 3 últimas décadas para facilitarle su trabajo, con los que obtiene mejores resultados y emplea menos tiempo en su autocontrol, tal y como explica la Norma ISO 17381 sobre la elección de kits de análisis. El reglamento UE 2-2019 es ilegal y quien lo exige, prevarica.

DryPlates® es marca registrada por Laboratorios MICROKIT, S.L

Diseñado y fabricado en la UE por MICROKIT bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde el 18 de Julio de 2013, actualizado en Enero-2021