

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		



EL MÉTODO P/A
(PRESENCIA/AUSENCIA)
PARA ANÁLISIS DE AGUAS:
KITS PREPARADOS
MICROKIT® P/A
(INTRODUCCIÓN)

Tradicionalmente el análisis microbiológico de aguas y otros productos que requieren una muestra mínima de 100 ml, se ha realizado por el método de los tubos múltiples por Número Más Probable (MPN) o por Filtración de Membrana (MF).

Ambos métodos suponen importantes manipulaciones, tiempo y un alto coste relativo; además, el segundo requiere aparataje de filtración.

Un tercer método, el de Presencia/Ausencia (P/A), hace ya casi una década que fue introducido por MICROKIT en nuestro país y ha demostrado no sólo ser el **más cómodo de inocular** y el **más simple de interpretar**, sino además el **más fiable, por su mayor sensibilidad**; en efecto, publicaciones americanas anteriores (JACOBS & Co., Mayo/1986, App.Env.Microbiol., Vol. 51, nº 5, pp.1007-1012) ya demostraban una importante ventaja: nada menos que el 36% de detecciones por P/A, eran falsos negativos con MF y un 18% de detecciones por P/A, eran falsos negativos con MPN.

La nueva **Directiva Europea de aguas de consumo humano** (3/XI/1998) y el **BOE 21/02/2003** obligan a la ausencia de *E.coli*, Enterococos y *Clostridium perfringens* y sus esporas en 100 ml de toda agua de consumo, incluidas las que intervienen en **fabricación de alimentos**. Ello permite aplicar el método más sencillo y sensible (P/A) a partir de ahora.

Un **estudio intercolaborativo realizado en España** entre Enero de 1998 y Mayo del 2000, coordinado por esta empresa, con 10 Laboratorios participantes, y 500 muestras comparativas (XII Congreso Nacional de

Microbiología de los alimentos, Oviedo, 9/2000), valida las grandes ventajas del método: No necesita manipulaciones ni aparataje, es más sensible, los microorganismos no se estresan a causa de una filtración o de un cambio de hábitat (aguas salobres o marinas que en filtración dejan de rodear al microorganismo...). **El servicio intercomparativo SEILAGUA 2002-2003 demuestra que el método P/A, con los kits de MICROKIT es, en conjunto, y a la vista de su extraordinaria sensibilidad, ¡hasta 5 veces más fiable que el método de Filtración de Membrana, en conjunto entre los 11 parámetros microbiológicos comparados.**

Todos los kits preparados por MICROKIT para P/A, incluyen inactivadores del cloro que pueda contener el agua de muestra. Se incuban, en general 24 horas a 37 °C y se leen por virajes de color o turbidez. Son altamente selectivos pero, como todos los medios de cultivo, y como los otros métodos, no son específicos, por lo que pueden requerir posteriores confirmaciones bioquímicas y/o inmunológicas. Su única limitación es que no permiten recuento sino, como su nombre indica, si es positivo o no el parámetro buscado.

La presentación de los kits P/A MICROKIT, la gama más completa a nivel internacional, varía en tres formatos (en la imagen, frascos y tubos preparados y estériles, y kits en polvo irradiado prepesado, para economizar costes):

Puede convertir estos kits en cuantitativos simplemente añadiéndolos, antes de incubar, a NMP-RACKS o a CLIPCOUNTER + QUANTIBAG

1- **Frascos preparados estériles (líquidos).**

Es la presentación más utilizada, al servir el mismo frasco contenedor como tomamuestras hermético. Incluyen medio preparado a alta concentración (pueden contener precipitados y grumos que se disuelven al añadir los 100 ml de agua de muestra). Los parámetros disponibles (otros bajo encargo), en cajas de 10 ó 90 test, son:

1-1- Coliformes y *E.coli*: COLICULT-MCC Cromo/Fluorogénico (vira a azul y fluorescente). RPL303.

1-2- Estreptococos fecales-Enterococos: ENTEROCULT Cromogénico (vira de ámbar a negro). RPL301.

1-3- *Clostridium perfringens* y sus esporas: CLOSTRICULT Cromogénico (vira de paja a negro). RPL308.

1-4- Clostridium sulfito-reductores y sus esporas: Cromogénico (vira de crema a negro). RPL062.

1-5- *Pseudomonas aeruginosa*: PSEUDOCULT Cromogénico (vira de paja a rosa). RPL302.

1-6- *Staphylococcus aureus*: Cromogénico (vira de rojo a amarillo-naranja). RPL320.

1-7- *Aeromonas/Plesiomonas/Pseudomonas*: Turbidez (y viraje de rojo a naranja o azulado). RPL309.

1-8- *Vibrios halófilos*: Turbidez. RPL310.

1-9- *Vibrio cholerae*: Turbidez (y viraje de verde-azulado a amarillento). RPL312.

1-10- Algas: FICOKIT. Viraje tras incubar 2-7 días, 16 h de luz/8 horas de oscuridad. RPL307.

1-11- Cianobacterias: CIANOKIT. Viraje tras incubar como FICOKIT. RPL306.

1-12- Hongos (levaduras y mohos): Turbidez o floculación. RPL315.

1-13- Piscinas (Coliformes y *E.coli*, Enterococos, *Pseudomonas*, Estafilococos, Cianobacterias, Hongos y arerobios): Caja de 1 test. RPL399.

1-14- *Burkholderia cepacia* Viraje de naranja a rojo tras incubar 18-48 h. Ref.RPL323

1-15- DrinkWater kit (Coliformes y *E.coli*, Enterococos, *Clostridium perfringens* y sus esporas, aerobios a 2 temperaturas): Caja 10test Ref.KMT003

1-16-Cosmetikit-Water para aguas de uso cosmético (Enterococos fecales, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, aerobios a dos temperaturas). Caja de 10 test Ref.KMT450



Kits P/A piscinas inoculados: Izquierda – Agua apta para el baño y para usos alimentrios, ningún parámetro es positivo; Derecha – Agua no apta para el baño ni para usos alimentarios, todos los parámetros son positivos: por orden de izquierda a derecha, *E. coli*, Enterococos, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Algas, y Hongos Dermatofitos + *Candida albicans*.

2- Viales o tubos de polvos prepesados irradiados.

De gran éxito entre grandes consumidores, por su bajo coste económico. Y para exportación, por su ahorro en fletes volumétricos. El medio deshidratado, estéril y pre-pesado sólo es necesario añadirlo a 100 ml de agua (tratada contra el cloro) en un contenedor estéril. Los parámetros disponibles (otros estudiables bajo encargo), en cajas de 40 ó 400 test, son:

2-1- Coliformes y *E.coli*:
COLICULT-MCC
Cromo/Fluorogénico (vira a azul y fluorescente). FPA900.

2-2- Streptococos fecales-
Enterococos: ENTEROCULT
Cromogénico (vira de ámbar a negro).
FPA901.



2-3- *Clostridium perfringens* y sus esporas: CLOSTRICULT Cromogénico
(vira de paja a negro). FPA902.

2-4- *Pseudomonas aeruginosa* Cromogénico (vira de incoloro a rosa) FPA903

2-5- *Burkholderia cepacia* Cromogénico (vira de naranja a rojo opaco)
FPA904

2-6- Hongos: Turbidez o floculación FPA905

2-7- *Vibrio cholerae*, viraje de verde-azulado a amarillento FPA906

2-8- *Staphylococcus aureus*, vira de rojo a amarillo-naranja FPA907

Para aguas envasadas, al ser la muestra mínima de 250 ml, deben utilizarse 2 viales por test.

3- Tubos preparados estériles (líquidos).

Presentación especial para parámetros donde es conveniente que la muestra mínima sea de 500-1000 ml. Se añade el contenido a 500-1000 ml de agua en un contenedor estéril. Los parámetros disponibles (otros bajo encargo), en cajas de 20 test:

4-1- Recuento total en 1 ml (kit auxiliar agar nutritivo TTC + anticloro). RPL305. Pedido mínimo 2 cajas.

4-2- *Legionella pneumophila* (kit con torundas) en 1000 ml. RPL330.

4-3- Salmonella y Shigella en 500 ml. RPL331.

4-4- Campylobacter termófilos en 500 ml. RPL332.

4-5- *E.coli* O157:H7 enterohemorrágico (VTEC) en 500 ml. RPL333.

P/A (PRESENCIA/AUSENCIA) COMO MÉTODO DE ANÁLISIS DE AGUAS

Tradicionalmente, las muestras, en la mayoría de productos alimentarios, químicos y cosméticos se consideran suficientes si son de 1 ml (ó 1 g) porque la contaminación microbiana es relativamente elevada.

Cuando hablamos de productos limpios, como los farmacéuticos, las aguas potables y los refrescos, la muestra mínima representativa pasa a ser de 100 ml ó más, dada la baja concentración microbiana esperable, y los métodos tradicionales no sirven.

De ahí surgió hace muchas décadas el método del **Número Más Probable (MPN)**, para realizar recuentos en líquidos presuntamente poco contaminados con métodos estadísticos.

Posteriormente, la técnica de **Filtración de Membrana (MF)**, desarrollada ya durante la Segunda Guerra Mundial, substituyó a la antedicha por ser más representativa la muestra realmente analizada (100 ml frente a 33 ml, en general), entre otras importantes razones (ver kits UFM de MICROKIT).

Pero cuando en el producto no debe de haber ni un solo microorganismo, como es el caso, por ejemplo, de los coliformes totales, de los coliformes fecales y de los estreptococos fecales en aguas potables, el método MPN es inadecuado por defecto y el de MF lo es por exceso.

Surge así el método de **Presencia/Ausencia (P/A)**, ideal para detectar la presencia (1 ó más células) o ausencia (ninguna célula) en muestras de hasta 100 ml.

El método P/A es mucho más sensible (tienen muchos menos falsos negativos) que el método MF, pero es menos específico (tienen más falsos positivos). Por ello es tan útil como screening negativo, para poder procesar un gran número de muestras. Si el kit da negativo, el resultado es negativo. Pero si el kit sale positivo, hay que confirmar esa muestra aislando en placa e identificando colonias aisladas.

Todos nuestros kits P/A permiten ahorrar 4-8 horas de incubación si, antes de inocularlos, se precalienta a 37°C la muestra de agua en un baño María.

Nuestros kits están validados para uso en aguas continentales, no marinas ni salinas. Para analizar agua de mar, se debe diluir ésta a razón 1:10 en agua destilada estéril, ya que la salinidad del mar (3,7-4,5%) sería excesiva para el crecimiento y consecuente detección de los microorganismos diana.

El usuario es el único responsable de la destrucción de los microorganismos generados en el interior del kit durante su uso, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Destruir por inmersión en lejía. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Diseñado y fabricado en la UE por MICROKIT bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs desde 1994. Revisado en 5-2020