

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	AIRESANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

Quanti-P/A Enterocult

Recuento de *Enterococos fecales*
en 1 g, 50 ml, 100 ml ó 250 ml de muestra

Quanti-P/A-Enterocult-BEA para detección y recuento fiables de Enterococos fecales en 100/250 ml de muestra de aguas potables o en 1 gramo/ml de muestra de alimentos. Ref: QPA-ETC (caja 20 u)

Mediante este nuevo método de recuento por inclusión en masa de muestras grandes (ej: 100/250 mL de agua, o bien 1 g de alimento) sin tener que fundir ni enfriar medios de cultivo agarizados, puede Ud. enumerar las colonias crecidas como ufc/100-250 mL de agua (o en 1 g de alimento en vez de en 0,1 g) sin necesidad de filtración de membrana en aguas (ni de diluciones en alimentos, que impedian el auténtico recuento en 1 g completo y obligaban a expresar los resultados como “<10 ufc/g”). Incluso en trabajos de campo.



Damos la bienvenida al futuro a los pioneros, con criterio propio, que no se dejan cegar por la ortodoxia normativa! Sin duda pasarán años hasta que este nuevo método sea el oficial, pero de ninguna manera eso significa que no deba emplearlo desde ya y adelantarse al futuro normativo, que siempre es tan lento. La fiabilidad de resultados es lo más importante. ¿Por qué conformarse con un recuento en 0,1 g de muestra, cuando ahora ya puede hacerse en 1 g completo?

Empleando el mismo hidragar de las DryPlates diseñado y patentado por MICROKIT, mezclado con el medio de cultivo Bilis Esculina Azida Agar (BEA) en bolsas transparentes, rígidas y herméticas, con tapón a rosca, se consigue una **recuperación muy cercana al 100%** del valor inóculo y una **sensibilidad también muy cercana al 100%** de las muestras realmente positivas. Hemos bautizado este **nuevo método** patentado por MICROKIT con el nombre Quanti P/A, porque utilizamos los mismos caldos P/A que diseñamos hace décadas, pero con el hidragar de las DryPlates para poder hacer recuentos.

Se añaden como ventajas a la **fiabilidad** mediante estos excelentes resultados, la **comodidad** del método (**ahorro de filtraciones de membrana**, que además son destructivas para las células subletales; **siembra en masa sin necesidad de calentar y enfriar agares**) y su extraordinaria **caducidad (3 años desde fabricación)**. A pesar de la hermeticidad del kit, los enterococos crecen perfectamente, dejemos o no cámara de aire.

El **Agar BEA** es el medio Normativo para confirmación de *Enterococos fecales*, tanto en muestras de alimentos (KAA CENAN modificado), como de aguas de consumo humano (ISO 7899). En la validación del método de Noviembre de 2017, demostramos que se puede acortar el tiempo de incubación de la Norma ISO 7899 de 48 h (Slanetz-Bartley Agar) +2 h (Bilis Esculina Azida Agar) a sólo 18-24 h (directamente en Bilis Esculina Azida Agar, sea en versión placa tras filtración de membrana, sea en versión Quanti-P/A ETC sin necesidad de filtrar). Y obteniendo incluso exactitudes y precisiones superiores a las del método convencional.

¡Enhorabuena por utilizar el mejor método para recuento de anaerobios en aguas (o en alimentos y cosméticos) sin necesidad de calentar/enfriar agares, sin oxigenar por filtración y sin necesidad de atmósferas de anaerobiosis, sustituto del Siglo XXI de los medios deshidratados, de los medios preparados hidratados en tubo, frasco o botella y del método destructivo de Filtración de Membrana!

MODO DE EMPLEO (ver tutorial en <https://www.youtube.com/watch?v=A8WifR8mZ1k>):

1) para detección y recuento de Enterococos fecales en 100/250 ml de muestra de aguas de consumo humano, envasadas, baño...:

1. Tome un Quanti-P/A-ETC, dele la vuelta para que el medio salga del fondo, doble el fondo de la bolsa para que no vuelva a depositarse allí, ponga la bolsa vertical con el fondo doblado, abra el tapón y añada por el orificio, con pulso para evitar derrames, 100 ml/250 ml de la muestra de agua (tratada con Na TioSulfato si es clorada).
2. Cierre con fuerza el tapón. Coloque la bolsa horizontal sobre la superficie de trabajo.
3. Amase el conjunto con las manos unas 30 veces (o bien vertical con stomacher-masticator) para mezclar el medio con los 100 ml de muestra de agua. Dele la vuelta y repita la operación. Si queda polvo o algún grumo de más de 1 cm, pellízquelo hasta que se disuelva o parta. No se preocupe por los pequeños grumos que queden, desaparecerán durante la incubación.
4. Ponga la bolsa de pie –tapón arriba-, abra el tapón, golpee el fondo de la bolsa contra la poyata para que el medio interno que se haya colocado cerca del tapón, caiga dentro; deje escapar el aire con cuidado, apretando desde abajo del todo con las manos el medio con muestra, que burbujeará, hasta que el medio hidratado suba hasta el borde del tapón y desaparezca todo el aire.
5. Cierre entonces de nuevo el tapón con fuerza, sin dejar cámara de aire y vuelva a amasar para repartir, esta vez sin bolsitas de aire (con las manos o con stomacher-masticator). Cuanto mejor amase mejores resultados obtendrá, por separar mejor las ufc. No se preocupe por los grumos que todavía quedarán, ya que se reabsorberán durante la incubación.
6. Deposite la bolsa horizontal en la estufa de cultivos, verificando que el tapón sigue herméticamente cerrado. Si lo desea, hágalo en una cubeta para prevenir eventuales vertidos. Extienda el medio con muestra en toda la superficie interna de la bolsa para que la capa de medio sea lo más homogénea posible, y así luego pueda contar mejor las colonias al trasluz.
7. Incube 18-24 horas a 35-45°C (dada la selectividad del medio BEA, se puede incubar a 35°C aprox, aunque los protocolos oficiales digan que es mejor a 44°C aprox).
8. Extraiga la bolsa, déjala horizontal y cuente todas las colonias color beige (rodeadas o no de ennegrecimiento), que serán el número de ufc de *Enterococos fecales* en 100 ml de muestra de agua. Cuente al trasluz la colonias opacas. O bien cuente primero por una cara y repita el recuento por la otra, ya que el medio es traslúcido: Sume los recuentos de ambas caras. En este sistema se cuentan perfectamente entre 1 y 100 colonias. Si lo desea, según nuestros datos de validación, puede aplicar el siguiente factor de corrección, calculado a causa de la opacidad del medio: Recuento < 50 colonias, no corregir. Recuento >50 colonias, multiplicar por 1,3. La presencia de artefactos negros de Citrato Férrico-Amónico no afecta los resultados, al ser de contorno irregular y no confundirse con colonias. Puede extraer colonias para confirmarlas, simplemente pinchando a través de la bolsa.



2) para detección y recuento de Enterococos fecales en 1 g ó ml de muestra de alimentos, cosméticos u otras matrices:

Siga exactamente los mismos pasos descritos en el apartado anterior, con las siguientes salvedades:

1. Mezcle su ml ó gramo de muestra con 100 ml de agua peptonada tamponada neutralizante, Ringer, Solución marina al 0,9 %, agua...
2. Cuente todas las colonias color beige (rodeadas o no de ennegrecimiento), que serán el número de ufc de *Enterococos fecales* en 1 ml ó gramo de muestra de alimento, cosmético o la matriz que sea (aumenta x10 el límite inferior de cuantificación/detección). En este sistema se cuentan perfectamente entre 1 y 100 colonias.

CONSERVACIÓN Y PRECAUCIONES DE USO

Almacenar a temperatura ambiente (ideal 15-25°C) **¡no en nevera!**, ya que en ésta la humedad es más fácil que prehidrate y estropee los medios. Es imprescindible **almacenar en lugar muy seco y oscuro**, ya que la humedad y la luz dañan irreversiblemente los medios de cultivo deshidratados. Si trabaja en zonas de alta humedad atmosférica, almacene las Quanti-P/A, bien cerradas en su bolsa, dentro de una caja hermética “tupper” con sacos antihumedad (ej: VRB747).

Con este sistema, una vez alcanzada la destreza que da la experiencia, un analista puede controlar (de la muestra a la estufa incubadora) hasta 50 muestras por hora. Ver también Quanti-P/A Clostricult-TSC (QPA-CP) para *Clostridium perfringens* y sus esporas y Quanti-P/A Clostricult-SPS (QPA-CSR) para *Clostridium Sulfito-Reductores*, conseguidos mezclando (TSC Agar y SPS Agar, respectivamente) con Hidragar en este tipo de envase. Para cuantificar Coliformes-*E.coli* y *Pseudomonas aeruginosa* emplee nuestros caldos P/A (MCC Colicult y Pseudocult, respectivamente) en las cubetas NMP. Esto ahorrará los elevados porcentajes de falsos negativos que también implica el método de filtración de membrana en estos tres parámetros (21% en *E.coli*-Coliformes, 6% en *Enterococos fecales* y 33% en *P.aeruginosa*).

El usuario final es el único responsable de la eliminación de los microorganismos según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar a la basura.

Validado en base a la Norma UNE-EN-ISO 16140. Exactitud del 99,59 % respecto a Slanetz-Bartley Agar (SB) en placa por filtración de membrana (117,42 % en el rango bajo de recuento, 103,78 % en el rango medio y 77,58 % en el rango alto). Precisión CV 22% (20,79% en el rango bajo, 24,26 % en el rango medio y 21% en el rango alto), frente al 29,7 % en SB. Exclusividad: 100%. Inclusividad: 100 %. Límite inferior de cuantificación: 1-5 ufc/100 ml.

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 invariable pago de cientos de miles de € a AOAC, AFNOR o similar por cada referencia innovadora; nos puede pedir Bilis Esculina Azida Agar ISO 7899 (Ref: DMT160 en deshidratado, TPL002 en tubo, ECOPQ01J en Ecoplaquitas MF...), o bien Slanetz Bartley Agar ISO 7899 (Ref: DMT117 en deshidratado, ECOPQ13C en Ecoplaquita MF...) ya que de este modo no es un método alternativo y por tanto ningún inspector ni auditor puede impedirle emplearlo. Aunque perderá el valor añadido del kit: su extraordinaria rapidez, su ahorro de membranas filtrantes y equipos y manipulaciones de filtración.... La mejor solución sería realizar una proporción residual pero razonable de muestras con el medio ISO en formato clásico, 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, fiabilidad 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.

Diseñado, Patentado y Fabricado en la UE por MICROKIT, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde Septiembre de 2017, texto actualizado en Mayo de 2020