

COSMETIKIT EASY-PLUS



Kit completo para análisis microbiológico de cosméticos y sus materias primas
¡Ahorra la pérdida de 1 hora al día en autoclavados/calentamientos/enfriamientos de agares!

Reemplaza las placas clásicas, con muy superior caducidad (1 año) y permite contar en 1 ml de muestra, multiplicando por 10 el límite de detección de las placas preparadas clásicas.

Validado mediante los servicios intercomparativos SEILAPARFUM para mejorar la falta de robustez de los métodos clásicos basados en Farmacopea (un cosmético no es un medicamento).

CONTENIDO (caja con 60 test completos)

- 6 x 10 Frascos LPT 100 Neutralizing Broth 90 ml con perlas para tratamiento de 10g de muestra y enriquecimiento de patógenos (mejora el Lethen y el Eugon ISO).
- 60 Dry Plates ® TC para recuento de aerobios..
- 60 Dry Plates ® YM para recuento de hongos (levaduras y mohos).
- 60 Dry Plates ® X-SA para detección de *Staphylococcus aureus*.
- 60 Dry Plates ® EC para detección de *E. coli* y demás coliformes.
- 60 Dry Plates ® CANDI for detection of *Candida albicans*.
- 60 Dry Plates ® PS para detección de *Pseudomonas aeruginosa*.
- 60 Dry Plates ® BCPT para detección de *Burkholderia cepacia*, el patógeno emergente en cosméticos.
- 60 Jeringas estériles 20 ml (sin aguja), 60 Pipetas Pasteur estériles.
60 Asas calibradas 10 µl.



MODO DE EMPLEO (seguir al pie de la letra para obtener resultados fiables)

1. Añadir asépticamente 10 gramos (o 10 ml con jeringa estéril) de muestra en un frasco de 90ml LPT Neutralizing Broth con perlas. Cerrar y mezclar agitando, dejar reposar 20-30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C aprox.). Así se consigue la solución madre (muestra tratada 1:10).
2. Con una pipeta Pasteur estéril, añadir en condiciones asépticas 1 mL de muestra tratada en el centro de una placa de una Dry Plates ® TC, para recuento de aerobios. En todas las placas, añadir siempre la muestra a la placa vacía y después añadir el disco nutritivo encima (nunca la muestra sobre el disco). La muestra autodifundirá en escasos segundos sin necesidad de asas ni de aplicadores. Es aconsejable realizar duplicados en los recuentos de aerobios, para poder incubar una placa a 35°C (flora asociado a patogenicidad) y la otra a 25°C (flora alterativa): pida una caja adicional DPP001. Repita la operación con una Dry Plates® YM, para recuento de hongos (levaduras y mohos) con la misma pipeta que en los aerobios para una misma muestra. Ponga en el incubador 4 vasos llenos de agua, uno en cada esquina, para evitar que los medios se sequen.
3. Incubar las Dry Plates ® en posición no invertida, en total oscuridad, durante 1-3 días a 30-35°C (una de las TC) y 2-5 días a 20-25 °C (la otra TC opcional y la YM). A menudo los resultados ya son positivos y se pueden leer en sólo 1-2 días, pero en microbiología es prudente, si no ha habido crecimiento, releer cada día hasta los 3-5 días. Si no hay crecimiento y la superficie del medio sigue húmeda, se descarta la presencia de estos microorganismos en 1 mL de muestra tratada. Prevenir la desecación prematura de las placas, evitando que toquen directamente el metal del incubador (base, paredes y techo), ya que su temperatura, mayor que la del aire, las seca muy rápido (colocar las pilas de placas en uso sobre 2-3 placas vacías)
4. Al mismo tiempo que estas placas de recuento, incubar el resto de muestra tratada en el frasco LPT Broth, durante 24-48 h (24 en cosmética general y 48 en cosméticos con mezcla de conservantes compleja o que puedan caer en manos de inmunodeprimidos) a 30-35°C, para obtener la muestra enriquecida, siempre necesaria cuando se buscan patógenos.

MODO DE EMPLEO (seguir al pie de la letra para obtener resultados fiables)

- Tras este enriquecimiento de patógenos, añadir 1 mL de agua estéril (ej.Ref: KBB002) en el centro de cada una de las 5 placas de patógenos, con una misma pipeta estéril (Ref: P1S1G): Dry Plates® X-SA para buscar *Staphylococcus aureus*; Dry Plates® EC para buscar *E. coli* y otros Coliformes; Dry Plates® CANDI para buscar *Candida albicans*; Dry Plates® PS para buscar *Pseudomonas aeruginosa*; y Dry Plates® BCPT para buscar *Burkholderia cepacia*. En cada una de estas Dry Plates®, añadir el agua en la placa y después poner el disco nutritivo encima (nunca el agua sobre el disco). Esto rehidratará las 5 placas de patógenos en sólo unos segundos, dejando las otras, con su larga caducidad, para posteriores muestras. Una vez cada medio está hidratado, estriar una pequeña alícuota de la muestra enriquecida del frasco LPT Broth, en la superficie de las 5 placas, con un asa estéril incluida en el kit: cuanto más larga consiga hacer la estría, más fácilmente obtendrá después colonias aisladas. Con este método de siembra, el crecimiento contrastará muy bien con el medio gracias a sus diferentes colores característicos.
- Es una buena práctica de laboratorio (GLP) estriar también la muestra enriquecida en otra Dry Plates® TC e identificar las colonias así obtenidas, para aumentar la sensibilidad en cepas muy estresadas, que podrían no crecer en medios selectivos (pida una caja adicional DPP001).
- Incubar las 5 Dry Plates® de patógenos, en posición no invertida, separándolas del metal del incubador y con 2-3 placas vacías bajo cada pila de placas en uso, durante 18-24 horas a 30-35° C. Ponga 4 vasos llenos de agua, uno en cada esquina de la estufa, para evitar el secado prematuro de las DryPlates®. Si no hay crecimiento en 18-24 h, podría deberse a presencia de flora todavía estresada, por lo que en microbiología siempre es prudente releer los resultados cada día hasta 3-5 días de incubación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El recuento total de aerobios (Dry Plates® TC, colonias rojas) no debe ser nunca superior a 100 ó 1000 ufc / ml o gramo de muestra original, según sean sus requerimientos (cosmética general o cosmética que puede acabar en manos de inmunodeprimidos). Por tanto, de la dilución madre efectuada, no deben aparecer más de 10 ó 100 colonias por Dry Plates®. Lo mismo sucede con los hongos (levaduras y mohos) en DryPlates® YM: colonias no filamentosas (levaduras) o filamentosas (mohos). En caso contrario (recuentos excesivos), siempre que no haya patógenos, puede reprocesarse el lote. Este nivel de cuantificación no es posible obtenerlo con las placas preparadas clásicas, ya que no absorben adecuadamente 1 mL de muestra, sino 0,1 mL y, en el mejor de los casos (absorbiendo bien 0.3 mL), su límite inferior de cuantificación no llega a los estándares necesarios (3 colonias están muy por debajo de las 15 colonias necesarias para que la incertidumbre permita hablar de recuentos).

No debe aparecer ni una sola colonia/estría característica en las 5 Dry Plates® de patógenos:

- Escherichia coli* (colonias o estrías azules en Dry Plates® EC; colonias o estrías rosas o rojas en este medio son indicadoras de otros coliformes que, siendo o no patógenos o indicadores de contaminación fecal, suelen ser alterativos habituales en productos cosméticos)
- Staphylococcus aureus* (colonias o estrías azules o violetas en Dry Plates® X-STAPH)
- Pseudomonas aeruginosa* (colonias o estrías rojas, con fluorescencia, más evidente en oscuridad bajo luz UVA de 366 nm, linterna VMT050 de MICROKIT, en Dry Plates®-PS)
- Burkholderia cepacia* (colonias o estrías rojas, con medio virado del salmón al fucsia, en Dry Plates® BCPT)
- Candida albicans* (colonias o estrías pardas que no viran el medio a pardo, en Dry Plates®CANDI).

Otros colores de colonias o estrías, que no son los indicados en cada medio, nunca deben tenerse en cuenta. Los mohos crecidos en los 5 medios que no son de recuento, tampoco deben tenerse en cuenta, sólo si aparecen en los medios de recuento.

Los patógenos son también indicadores de su origen: contaminación fecal (coliformes y *E. coli*), agua (*Pseudomonas*), biofilm (*Burkholderia*), trabajadores (*Staphylococcus*, *Candida*), aire (hongos).

Si cualquiera de los 5 patógenos aparece, el lote no puede ser reprocesado y debe ser destruido. Sólo las placas que se lean mientras siguen con su superficie brillante (húmedas) proporcionan resultados fiables: mantenga siempre la estufa incubadora bien húmeda. Para confirmaciones definitivas de las colonias sospechosas (en microbiología no existen colonias confirmativas), consulte a MICROKIT los diferentes kits de confirmación de cada microorganismo, mientras guarda su lote en cuarentena por si ha obtenido un falso positivo que no es patógeno.



DryPlates® TC

DryPlates® YM

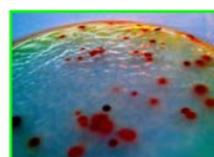
DryPlates® EC



DryPlates® X-STAPH



DryPlates® CANDI



DryPlates® PS



DryPlates® BCPT

COSMETIKIT
EASY-PLUS

