

Especificación

Medio de cultivo general con neutralizantes, para la enumeración y aislamiento de microorganismos aeróbicos en superficie.

Presentación

| | Encajado | Caducidad | Almacenamiento |
|---|--|-----------|----------------|
| 30 Placas Contacto Placas de contacto - Doble Envase con: 15 ± 2 ml | 1 caja con 5 blisters (PET laminado y bolsa PPBO) con 6 placas de contacto / Blister. | 6 meses | 2-25 °C |

Composición

Composición (g/l):

| | |
|------------------------------|------|
| Peptona de caseína..... | 5,0 |
| Extracto de levadura..... | 2,5 |
| D(+) Glucosa..... | 1,0 |
| Lecitina..... | 0,7 |
| Polisorbato 80..... | 5,0 |
| Histidina..... | 1,0 |
| Tiosulfato sódico..... | 0,5 |
| Agar..... | 15,0 |
| Solución estéril TTC 1%..... | 5 ml |

Descripción/Técnica

Descripción:

El Agar de Recuento en Placa sigue esencialmente las normativas del estudio de Buchbinder y cols. respecto a las características de un medio para el recuento general en placa de microorganismos de la leche.

La formulación inicial del agar normalizado para la bacteriología láctea se ha ido modificando para prescindir de la adición de leche hasta obtener una formulación capaz de permitir el crecimiento de la mayoría de microorganismos sin más adiciones.

El Agar de Recuento en Placa se ajusta su formulación a los prescritos por los "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" y *Tryptone Glucose Yeast Agar* de la USP, AOAC, DIN y APHA (*Standard Methods Agar*). En la actualidad éste es el medio de elección para el recuento en placa de cualquier tipo de muestra.

Solución estéril al 1% de cloruro de 2-3-5-Trifenil-2H-tetrazolio (TTC). Se utiliza como aditivo en los medios de cultivo para indicar actividad biológica, ya que la forma incolora se hidrogena o reduce hasta un pigmento rojo insoluble, el trifenilformazán que es fácilmente visible.

La adición de agentes neutralizantes que TLHTh (Tween 80 - Lecitina - Histidina - tiosulfato de sodio) pueden inactivar una variedad de desinfectantes.

* La combinación de lecitina, polisorbato 80 e histidina neutraliza aldehidos y compuestos fenólicos.

* La combinación de lecitina y polisorbato 80 neutraliza los compuestos de amonio cuaternario.

* El polisorbato 80 neutraliza derivados hexaclorofeno y mercuriales.

* Sodio tiosulfato neutraliza compuestos halogenados.

* La lecitina neutraliza clorhexidina.

* Histidina neutraliza el formaldehído.

Técnica:

Las placas de contacto se utilizan en el control microbiológico de desinfección y limpieza de superficies como un tampón que actúa simultáneamente de muestreador y medio de cultivo a incubar sin otras operaciones intermedias.

Las placas ya tienen una forma adecuada a esos usos y se pueden utilizar con distintos medios de cultivo en función del tipo microbiano que se desee controlar. Como término medio las placas de contacto ofrecen una superficie de contacto aproximada de 25 cm².

En el momento de usarla, se saca la cubierta y se apoya suavemente el medio de cultivo sobre la superficie a controlar, ejerciendo una presión suave para asegurar el contacto de las dos superficies. Se retira la placa y se cubre con la tapa para evitar contaminaciones aéreas. Es aconsejable que la tapa se asegure con cinta adhesiva y que se rotule la parte inferior con los datos del muestreo (Lugar, fecha y hora). Si las superficies a muestrear son rugosas, las placas no harán buen contacto, aún cuando se aumente la presión. En estos casos es aconsejable delimitar un cuadrado de 5 cm de lado y frotarlo enérgicamente con un hisopo estéril húmedo y luego frotar el hisopo sobre la placa.

Si se verifica la eficacia de un proceso de limpieza o desinfección, las placas deben usarse en las dos horas siguientes a la finalización del proceso, asegurándose que la superficie a muestrear esté seca. Es aconsejable incluir siempre controles positivos, muestreando la zona antes de la desinfección o zonas sucias anexas a las desinfectadas.

La frecuencia del muestreo y de la desinfección los establecerá el técnico en función de los objetivos. De forma general se establece, aplicar directamente sobre la superficie que se quiere monitorizar, con una presión constante durante un tiempo aprox. de 10 segundos.

Las placas inoculadas se incuban a 30 °C durante 48-72 horas con exámenes diarios.

Proceder al recuento de todas las colonias aparecidas, que en este medio se visualizan fácilmente por adquirir coloración rojo oscuro por la utilización del TTC, y considerar las diluciones realizadas para calcular la carga microbiana en la muestra analizada.

Nota: Las placas de contacto se utilizan para el control de la contaminación microbiológica de las superficies y el aire en el interior de salas limpias, aisladores, RABS, industrias alimentarias y hospitales. La envoltura irradiado doble / triple asegura que el paquete en sí no contamina el medio ambiente, se retira la primera envoltura justo antes de entrar en el área limpia.

Las placas se deben conservar en su envase original (blisters) para garantizar su estabilidad a fin de caducidad.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Amarillento

pH: 7,0 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad).

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 30 ± 1 °C, lectura a 72 ± 3h

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Microorganismo*Bacillus subtilis* ATCC® 6633, WDCM 00003*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012*L. monocytogenes* ATCC® 35152, WDCM 00109*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, WDCM 00032**Desarrollo**

Bueno- colonias rojo oscuro

Bueno- colonias rojo oscuro

Bueno - Colonias blancas a Rosa pálido

Bueno- colonias rojo oscuro

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- BUCHBINDER, L., Y. BARIS & L. GOLDSTEIN (1953) Further studies on new milk-free media for the standard plate count of dairy products. Am. J. Public Health 43:869-872.
- CLESCERI, L.S., A.E.GREENBERG and A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA, AWWA, WPCF. Washington.
- DIN 10192 (1971) Prüfungsbestimmungen für Milch und Milcherzeugnisse. Deutsche Landwirtschaft, Fachbereich Ernährung.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed., APHA, Washington.
- FIL/IDF Standards 3 (1958), 100, 101 (1981), 109 (1982) and 132 (2004).
- HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. AOAC International. Gaithersburg.
- IFU Method No 6 (1996) Mesophilic, thermophilic and thermophilic bacteria: Spores Count. D-1 Mesophilic Aerobic Sporeforming bacteria: Spores count.
- ISO 4833 (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony count technique at 30°C.
- ISO 8552 (2004) Milk - Estimation of psychrotrophic microorganisms. Colony count technique at 21°C (Rapid method).
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 17410 (2019) Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.
- MARSHALL, R.T. (1992) Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. APHA. Washington.