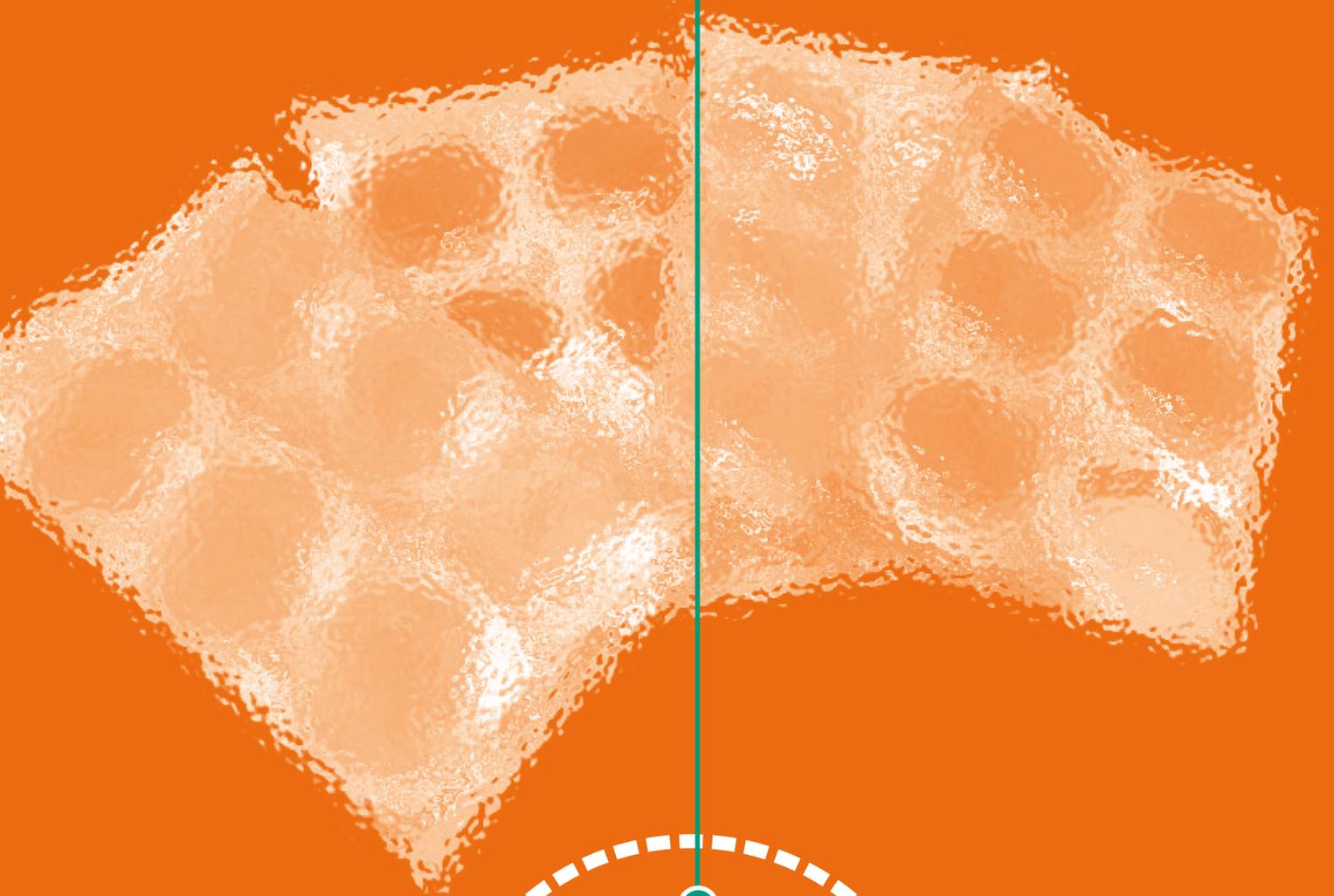


# CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL Y DE SUPERFICIES



Es cada vez más frecuente que dentro de las normativas de control de calidad se incluya un control microbiológico ambiental y de superficies y se hace prácticamente imprescindible en actividades relacionadas con productos destinados a sanidad o alimentación.

Para llevar a cabo este análisis debemos establecer previamente:

- el método de muestreo que se va a utilizar
- los microorganismos que se desean aislar y cuantificar
  - los lugares de muestreo
  - la posición del muestreador
  - número de muestras en cada punto
  - frecuencia de los muestreos

Todos estos puntos dependen de las características específicas del ambiente que se pretende evaluar.

Una vez determinados, conseguiremos análisis que podremos comparar y por tanto, obtener datos estadísticos. Cualquier comparación de resultados ha de tener en cuenta los procedimientos de muestreo utilizados ya que, existen diferencias importantes en la eficacia de captación de los distintos métodos.

Al realizar la valoración de los resultados obtenidos a partir de la medición de microorganismos en ambiente o en superficie, nos encontramos la mayoría de las veces con el problema de la no existencia de criterios legales de valoración. Por ello, sólo nosotros mismos podremos valorar nuestras estadísticas y fijar nuestros parámetros.

En el cumplimiento de las normas ISO se exige la recopilación del mayor número de datos posibles, que relacionen un producto con todo su proceso de fabricación y distribución. Un parámetro importante sería el control ambiental y de superficie. El acopio de datos en este sentido y la calidad del producto final, nos ayudará a crear nuestros propios criterios de valoración.

A continuación se exponen los distintos métodos existentes para el muestreo de los microorganismos en aire y superficie:

## TÉCNICAS DE MUESTREO AMBIENTAL

### A) SEDIMENTACIÓN

Es el método más rudimentario de medición de microorganismos en el ambiente. Consiste en la exposición de placas de Petri al ambiente durante un cierto tiempo.

Este método tiene la ventaja de que se puede realizar en todas las condiciones habituales de trabajo y en tiempo real, es el más económico y requiere muy poco tiempo de dedicación.

**El resultado ha de expresarse como: u.f.c (unidades formadoras de colonias) /cm<sup>2</sup>/hora** (no puede referirse a un volumen de aire, por lo que los resultados no pueden ser cuantitativos/volumen de aire, pero si comparativos).

Los tiempos de exposición no deben ser extremadamente largos para evitar que se reseque la superficie de la placa.

Se utilizan placas de Petri estándares de 90 mm de diámetro y los medios más utilizados son:

- Agar de **Triptona y Soja (T.S.A)** para el recuento de aerobios (**ref. 064-PA0031**, para placas preparadas y **ref. 1-200** para el medio deshidratado).
- **Agar Rosa de Bengala o Agar de Sabouraud cloranfenicol** para el recuento de hongos (Ref. 064-PA0038 o 064-PA0026, para placas preparadas y **ref. 1-301 o 1-166** para el medio deshidratado).

En el caso de control de salas blancas recomendamos utilizar placas preparadas e irradiadas, de esta forma evitamos introducir contaminación en la sala y los recuentos son fiables.

- Ref. **064PA0031I**, placas de 90 mm de diámetro de **T.S.A irradiadas**.
- Ref. **064PA0026I**, placas de 90 mm de diámetro de **Agar Sabouraud Cloranfenicol irradiadas**.

El Agar Rosa de Bengala es un medio selectivo para la detección de hongos que, además de los requerimientos nutritivos para el desarrollo de los mismos, incorpora el indicador de Rosa de Bengala que, además de teñir las levaduras de color rosado, facilitando su contaje, impide el crecimiento masivo de mohos tales como Rhizopus y Neurospora permitiendo así detectar otros

de crecimiento más lento. Recomendamos por tanto este medio para ambientes frecuentemente contaminados con este tipo de mohos.

Se puede recurrir al uso de otros medios selectivos cuando nos interese controlar grupos concretos de microorganismos, por ejemplo el **Agar Mac-ConKey** o el **Agar Rojo Bilis Violeta** para enterobacterias o coliformes, el **Agar Baird Parker** para estafilococos, etc. No dude en consultarnos y le indicaremos cuál puede ser el medio idóneo para su control.



PLACAS IRRADIADAS PARA CONTROL EN SALAS BLANCAS

## B) RECOGIDA EN MEDIO LÍQUIDO

Consiste en hacer pasar un volumen determinado de aire en forma de burbujas a través de un caldo de cultivo o solución isotónica, en los cuales, teóricamente, quedan retenidos la mayor parte de los microorganismos.

El recuento de microorganismos se realiza a partir de la siembra de alícuotas de esta muestra, pudiendo utilizar a continuación las distintas técnicas de análisis cuantitativo (NMP, inclusión en agar, filtración).

Este método es más laborioso que el anterior y necesita más utillaje (bomba de vacío o trompa de agua, material de vidrio). Se introducen por tanto en el ambiente más variables (el propio utillaje y el analista, que debe estar presente mientras se efectúa el muestreo).

En este caso no existe peligro de desecación del medio de cultivo y hay exactitud en el recuento que se puede expresar en u.f.c/m<sup>3</sup> de aire. Una posible proliferación bacteriana en el líquido puede conducir a errores en la cuantificación.

Los medios de cultivo que se utilizan son los mismos que en el caso de la sedimentación y además, la Ref. **3-156 Agua de Pep-tona** o Ref. **6-073 Solución Ringer**, que se utilizan como líquido de burbujeo en la recogida de la muestra.

## C) FILTRACIÓN

Se hace pasar un volumen determinado de aire a través de un filtro en el cual quedan retenidas las partículas portadoras de microorganismos.

Se pueden utilizar distintos tipos de filtros, siendo los más comunes los de membrana celulósica, o los de gelatina, los cuales se llevan directamente sobre un medio de cultivo sólido o bien se lavan, realizando posteriormente siembras en un medio sólido a partir del líquido de lavado.

Tiene las mismas ventajas y desventajas que el método anterior, a excepción de que en este caso sí que puede producirse la muerte de microorganismos por desecación con volúmenes de muestreo superiores a 250 l.

Los medios de cultivo utilizados son los mismos que para el método de sedimentación. Si se hace un lavado de las membranas, se requiere también la ref. **3-109 Líquido de lavado para membrana filtrante**.

## D) IMPACTACIÓN

Un volumen determinado de aire se impacta sobre un medio de cultivo sólido. Existen varios equipos basados en este método:

1. Recolector de Andersen 6 niveles
2. Recolector de Andersen 1 nivel
3. Recolector de hendidura CASELLA
4. Recolector RCS (Reuter Centrifugal System)
5. Muestreador SAS (Surface Air System)

Este método es el más costoso en cuanto a material y a mantenimiento. Requiere formación del analista y su presencia durante el muestreo, por lo que, en el ambiente, se incluyen variables distintas a las habituales en tiempo real. Disminuye el tiempo de recogida de la muestra. En muestreos prolongados y en condiciones de sequedad y altas temperaturas puede desecarse el medio de cultivo.

Los muestreadores SAS están preparados para trabajar con placas de Rodac estándar o placa de 90 mm, sin embargo otros requieren material especial, que sólo suministra el mismo proveedor que vende el equipo.

## MUESTREADORES DE AIRE AMBIENTAL SAS (SURFACE AIR SYSTEM)




El sistema más cómodo y rápido para efectuar el muestreo ambiental y la detección de contaminaciones de tipo biológico.

Pueden utilizarse placas RODAC (utilizada en el control de superficies) o placas petri convencionales de 90 mm.

Facilita el trabajo bajo GLP y GPM gracias a un completo sistema de microprocesador, que permite el registro en memoria de fecha, hora, volúmenes de muestreo, e incluso datos de la sala y del operador.

Puede memorizar hasta 32 registros y transmitirlos a un PC o impresora gracias a un interface, RS 232.

Sistema de retardo de puesta en marcha y multimuestreo en intervalos programables.

Con 8 rangos de volúmenes prefijados: 10, 20, 30, 50, 100, 200, 500, 1.000 l; más otros ocho volúmenes posibles.

Autonomía de la batería: 7 h, 400.000 l muestreados.

Cada muestreador se suministra con cargador y maleta.

Peso: 1.750 g

REFERENCIA	MODELO	CAPACIDAD
120-302223	SAS SUPER 100	Capacidad: 100 l aire/minuto
120-302224	SAS SUPER 180	Capacidad: 180 l aire/minuto

Cada muestreador debe llevar incorporado un cabezal para poder aplicar diferentes tipos de placas y es válido para las dos referencias de muestreador (el muestreador viene sin el cabezal).

REFERENCIA	MODELO
120-302209	Cabezal aluminio para placa RODAC
120-301824	Cabezal de acero inoxidable para placa RODAC
120-302382	Cabezal aluminio para placa PETRI
120-302385	Cabezal de acero inoxidable para placa PETRI

**SI NO ENCUENTRA EL PRODUCTO  
QUE SE ADAPTE A SUS NECESIDADES  
¡CONSÚLTENOS!**



## TÉCNICAS DE MUESTREO DE MICROORGANISMOS EN SUPERFICIES

Los instrumentos y superficies de trabajo, debido a las condiciones habituales de uso, o bien, a causa de una deficiente desinfección, pueden actuar como reservorios de los contaminantes biológicos.

Normalmente el método no recupera todos los microorganismos, pero si proporciona una valiosa información.

Los procedimientos básicos para el muestreo de superficies son:

### A) MÉTODO DE LA PLACA DE CONTACTO (PLACA RODAC)

El método de contacto directo del agar con los microorganismos que se multiplican (RODAC= Replicate Organisms Direct Agar Contact) utiliza placas Petri especiales, ideales para la investigación de gérmenes en superficies. Se usa medio de cultivo TSA o diferentes medios selectivos a conveniencia.

Se añade a una placa de Rodac, un medio de cultivo sólido (seleccionado en función de los microorganismos buscados), en ligero exceso, para que la superficie quede convexa.

Las superficies a controlar suelen ser limpiadas periódicamente con detergentes y/o desinfectantes. Para realizar el recuento total de microorganismos en superficie, es aconsejable neutralizar los restos de detergentes y desinfectantes ya que podrían inhibir el crecimiento. Para ello se utilizará preferentemente un medio de cultivo que contenga polisorbato, histidina y lecitina (a veces llamados Tween 80 y lecitina) que funcionan como neutralizantes de aldehídos, compuestos fenólicos y amonios cuaternarios, que suelen ser utilizados como desinfectantes y detergentes con actividad antibacteriana. Con esta neutralización se consigue evitar interferencias, debido a que estas sustancias no pueden inhibir el crecimiento colonial durante el periodo de incubación y por tanto no afectan a la ulterior lectura e interpretación de resultados.

Es el método ideal para examinar superficies lisas, duras y no porosas, pero no es muy recomendable en casos de superficies muy contaminadas, donde es más práctico el uso de medios selectivos.

Si se desea controlar un grupo de microorganismos en concreto, también recurriremos a medios selectivos.

La placa de Rodac es muy laboriosa de preparar y además se deshidrata y contamina muy fácilmente. Por ello Scharlab le suministra la placa de Rodac ya preparada, en cajas de 30 unidades repartidas en 5 blister de 6 placas cada uno. Cada blister va a su vez introducido en una bolsa totalmente sellada.

Este embalaje prolonga la vida de las placas, evitando la deshidratación y contaminación.

En el proceso de fabricación se utilizan todos los materiales estériles, pero si el medio lo permite, una vez terminado el proceso se irradian las cajas completas. Este proceso garantiza su estabilidad y nos permite poder entrar el material en salas blancas sin riesgo de introducir contaminación.

El mismo blister, utilizado como bandeja, nos facilitará también el transporte de las placas desde el lugar de muestreo hasta la estufa de incubación.

#### MODO DE EMPLEO

La placa se coloca sobre la superficie a muestrear de una forma directa, manteniéndola inmóvil y presionando.

Cerrar e invertir la placa para su incubación, a temperatura y tiempo adecuados según el medio y determinación realizada.

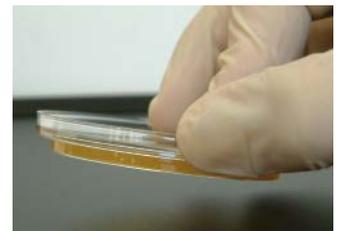
#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Contar las colonias que han crecido y expresar el resultado en ufc/placa.

El resultado también se puede expresar en UFC/cm<sup>2</sup> de superficie.

Diversos estudios han deducido que una placa de contacto sólo recoge el 0,1% de la flora de las superficies (se considera que una placa Rodac tiene 25 cm<sup>2</sup>), por tanto se recomienda que el conteo de la placa se divida por 25 y se multiplique por 1000 para poder expresar el resultado en ufc/cm<sup>2</sup> de superficie estudiada.

A continuación detallamos los medios de cultivo disponibles en placa de Rodac. Si desean prepararse sus placas a partir de medio deshidratado consulten el capítulo "Medios de cultivo".



## PLACAS DE CONTACTO (PLACAS RODAC)



REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN
<b>RECuento TOTAL DE AEROBIOS</b>		
064-PR0001	Recuento en Placa A. (PCA)	30 p. Rodac
064-PR0004	Tryptona y Soja A. (TSA)	30 p. Rodac
064-PR0005	T.S.A+Polisorbato+Histidina+Lecitina	30 p. Rodac
064-PR0020	PCA+Lecitina+Polisorbato	30 p. Rodac
064-PR0028	TSA+PNasa	30 p. Rodac
<b>RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS</b>		
064-PR0002	Sabouraud Dextrosado A.	30 p. Rodac
064-PR0003	Sabouraud Cloranfenicol A.	30 p. Rodac
064-PR0007	Rosa Bengala A.	30 p. Rodac
064-PR0022	Sabouraud+Polisorbato+Lecitina A.	30 p. Rodac
<b>DETECCIÓN ENTEROBACTERIAS</b>		
064-PR0006	Rojo Bilis Violeta Glucosa A. (VRBG)	30 p. Rodac
064-PR0011	MacConkey A.	30 p. Rodac
064-PR0012	Hektoen A.	30 p. Rodac
064-PR0018	Rojo Bilis Violeta Lactosa A. (VRB)	30 p. Rodac
<b>DETECCIÓN ESTAFILOCOCOS</b>		
064-PR0008	Baird Parker A.	30 p. Rodac
064-PR0015	Manitol Hipersalino A.	30 p. Rodac
<b>DETECCIÓN PSEUDOMONAS</b>		
064-PR0009	Pseudomonas A. Select.	30 p. Rodac
<b>DETECCIÓN LACTOBACILOS</b>		
064-PR0030	MRS Agar	30 p. Rodac

## B) LAMINOCULTIVOS



La utilización de sistemas analíticos cada vez más rápidos y más prácticos es una exigencia común en todos los laboratorios de control microbiológico.

Los laminocultivos son sistemas prácticos, estudiados y diseñados especialmente para la determinación cuantitativa y cualitativa de los microorganismos en todos aquellos sectores productivos en los cuales es necesario el control de la microbiota contaminante. Este sistema analítico ofrece las siguientes ventajas:

- Permiten la determinación cualitativa y cuantitativa de los microorganismos.
- La presencia de dos medios de cultivo en un solo soporte permite efectuar muestreos separados con un solo laminocultivo.
- El cierre hermético con tapón roscado disminuye la posibilidad de contaminación accidental y mejora la estabilidad del producto.
- Su reducido volumen facilita el transporte, almacenamiento y permite una mejor gestión del espacio siempre escaso de la estufa de incubación.



Los laminocultivos se presentan en dos versiones:

- Una estudiada para el muestreo y control de líquidos: laminocultivos con dos o tres medios de cultivo,
- y otra pensada para el control de superficies: laminocultivos con dos superficies. En este caso poseen un soporte flexible que con la simple presión de la mano puede doblarse en ángulo de 90° respecto al tapón, permitiendo así una posición perfectamente paralela con la superficie a muestrear.

## MODO DE EMPLEO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### • Para muestras líquidas:

La inmersión del laminocultivo en las muestras líquidas permite que parte de las bacterias presentes en el líquido se adhieran al medio de cultivo. El número de microorganismos que se fijan sobre el sustrato nutritivo es proporcional a la población de la muestra. Tras la incubación, si la muestra estaba contaminada, se desarrollarán colonias visibles sobre el laminocultivo.

Aflojar el tapón y sacar el laminocultivo del tubo sin tocar la superficie del agar.

Sumergir el laminocultivo totalmente en el recipiente que contenga la muestra, durante un máximo de 5 segundos.

(El mismo tubo del laminocultivo puede servir de recipiente para ser llenado con el líquido de muestra, recordando siempre de vaciarlo tras la inmersión. Si se dispone de poco volumen de muestra, dejarla gotear sobre el laminocultivo con ayuda de una pipeta Pasteur.)

Dejar escurrir el exceso de muestra del medio de cultivo.

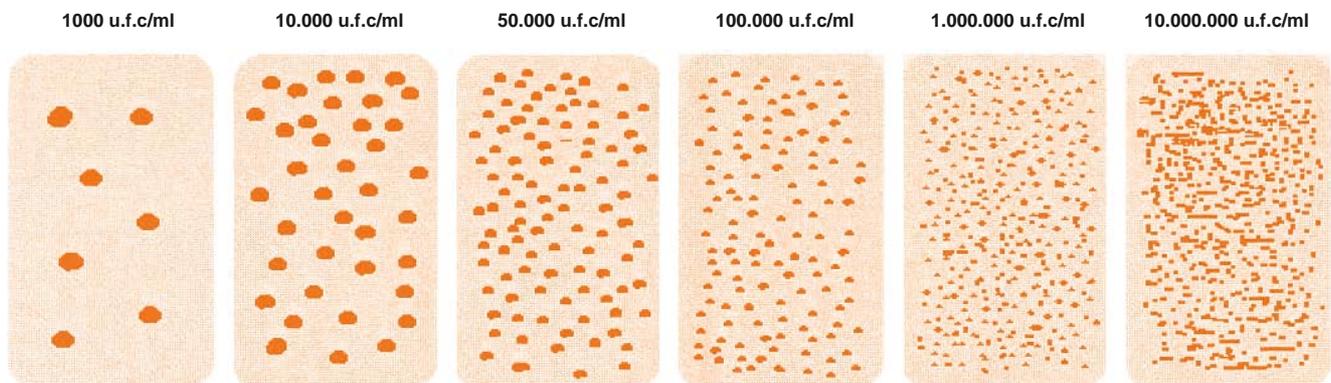
Volver a meter el laminocultivo en su tubo y roscarlo bien.

Incubarlo en la estufa, en posición vertical, durante el tiempo y la temperatura indicada.

Sacar el laminocultivo y comparar la densidad de las colonias crecidas con la siguiente tabla de patrones que indica la carga microbiana correspondiente por ml de muestra líquida.

El recuento microbiano en líquidos de la tabla se ha realizado por comparación con las figuras adjuntas y se expresa en unidades formadoras de colonias (u.f.c) por ml.

Si el recuento obtenido es superior a 100.000 unidades formadoras de colonias por ml, se recomienda repetir el proceso a partir de una dilución de la muestra en Agua de Peptona y luego multiplicar los resultados por el factor de dilución. De esta forma conseguiremos resultados más fiables.



### • Para superficies:

Aflojar el tapón y sacar el laminocultivo del tubo sin tocar la superficie del agar.

Plegar la paleta del laminocultivo apoyando un dedo sobre el borde del extremo (Véase imagen en la página anterior).

Apoyar el medio de cultivo nº 1 sobre la superficie a muestrear, cuidando que el contacto sea total, ejerciendo una ligera presión, pero sin desplazarlo.

Girar el laminocultivo y repetir el mismo procedimiento con el medio nº 2. Muestrear en una superficie muy próxima a la anterior, pero sin que coincida. Si la superficie a controlar no es plana o es de difícil acceso, tomar la muestra con un hisopo estéril humedecido en Ringer o Agua de Peptona y después hacerla girar sobre toda la superficie del medio nº 1 del laminocultivo. Repetir la operación para el medio nº 2.

Para la toma de muestras de superficies tratadas con desinfectantes o detergentes utilizar laminocultivos con medios de cultivo que contengan neutralizante, de esta forma se inhiben los restos de estas sustancias que puedan quedar en la superficie y pudiendo verificar la actividad bactericida de los desinfectantes.

Anotar la zona de muestreo correspondiente a cada tipo de agar.

Volver a meter el laminocultivo en su tubo y roscarlo bien.

Incubarlo en la estufa, en posición vertical, durante el tiempo y la temperatura indicada.



En caso de ser necesarias unas condiciones de convención para proceder a la incubación, se recomiendan las siguientes:

- Hongos y levaduras: 24-48 h a 25-30° C
- Resto de determinaciones: 24-48 h a 37° C

Sacar el laminocultivo y comparar la densidad de las colonias crecidas con la tabla de patrones que indica la carga microbiana correspondiente por ml de muestra líquida.

El recuento microbiano de las superficies se lleva a cabo contando las colonias presentes en cada uno de los medios del laminocultivo y se divide entre 10. Este resultado corresponderá a las unidades formadoras de colonias por cm<sup>2</sup>.

## LAMINOCULTIVOS CON 2 MEDIOS DE CULTIVO



RECOMENDADOS PARA SU USO EN EL CONTROL DE SUPERFICIES Y MUESTRAS LÍQUIDAS

REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN
604-11.065*	Laminocultivos para la detección de Estafilococos/Estafilococos Agar manitol hipersalino/Agar Manitol hipersalino	20
604-11.070	Laminocultivos para la detección de Estreptococos/Enterobacterias Agar Slanetz-Bartley/A Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)	20
604-11.056*	Laminocultivos para la detección de Estreptococos/Estreptococos Agar Slanetz-Bartley/Agar Slanetz-Bartley	20
604-11.045	Laminocultivos para la detección de Flora total/Enterobacterias Agar recuento en placa+TTC+neutralizante /A Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)+neutralizante	20
604-11.046	Laminocultivos para la detección de Flora total/Enterobacterias Agar recuento en placa+TTC/A Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)	20
604-11.041*	Laminocultivos para la detección de Flora total/Flora total Agar recuento en placa+TTC+neutralizante / Agar recuento en placa+TTC+neutralizante	20
604-11.050	Laminocultivos para la detección de Flora total/Levaduras y mohos Agar recuento en placa+TTC+neutralizante/A Rosa de Bengala+neutralizante	20
604-11.060	Laminocultivos para la detección de Flora total/Levaduras y mohos Agar Triptona y soja (TSA)+TTC/A Sabouraud cloranfenicol	20
604-11.040	Laminocultivos para la detección de Flora total/Levaduras y mohos Agar recuento en placa+TTC+neutralizante /A Sabouraud Oxitetraclina+neutralizante	20
604-11.061*	Laminocultivos para la detección de Flora total/Levaduras y mohos Agar Triptona y soja (TSA)+TTC/A Sabouraud	20
604-11.295*	Laminocultivos para la detección de Listeria/Estafilococos Agar Palcam/Agar Baird Parker	20
604-11.062*	Laminocultivos para la detección de Pseudomonas/Levaduras y mohos Agar Selectivo Pseudomonas/A Sabouraud cloranfenicol	20

\*SÓLO BAJO PROGRAMACIÓN

La interpretación de los resultados puede variar de un laboratorio a otro. Como guía se incluye una tabla recomendada por el Committee on microbial contamination of surfaces of the Laboratory Section de la APHA:

ZONA DE MUESTREO	N° DE COLONIAS EN AGAR RECuento EN PLACA		
	BUENO	MEDIO	ALTO
<b>SALA DE HOSPITAL</b>			
SUELOS	0-25	26-50	> 51
MESILLAS	0-5	6-15	> 16
<b>SERVICIOS</b>			
SUELOS	0-25	26-50	> 51
LAVABOS	0-15	16-25	> 26
<b>NURSERÍAS</b>			
MESAS	0-5	6-15	> 16

Medios	Morfología	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	Estreptococos	Estafilococos	Mohos y levaduras	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Cryptococcus</i>	Lactobacilos
Agar VRBA	Colonias Medio	Rojo Violeta Rojo	Rojo Violeta Rojo	Rojo Violeta Rojo	Incoloras Rojo							
A. Rosa Bengala	Colonias Medio							Creimosas, rosadas, blancas o negras Rosado				
TSA + TTC	Colonias Medio	Rojo ladrillo Amarillo	Rojo ladrillo Amarillo	Rojo ladrillo Amarillo	Rojo ladrillo Amarillo	Rojo ladrillo Amarillo	Rojas o rosadas Amarillo	Rosadas Amarillo				
A. Vogel Johnson	Colonias Medio						Negras Amarillo					
A. Bilis y Esculina	Colonias Medio		Crecimiento parcialmente inhibido	Crecimiento parcialmente inhibido		Blancas Negro						
A. Cetrimide	Colonias Medio				Verdes con borde irregular Blanco							
Agar OGYE	Colonias Medio							Blanco verdoso Amarillo				
A. D/E Neutralizante	Colonias Medio	Amarillo Amarillo	Amarillo Amarillo - Violeta	Amarillo Amarillo - Violeta		Amarillo Amarillo - Violeta	Amarillo Amarillo - Violeta					
A. Sabouraud	Colonias Medio							Blancas o pigmentadas Amarillo				
A. Sianetz Bartley	Colonias Medio					Rojas Amarillo						
A. Manitol Hipersalino	Colonias Medio						Amarillas Rosado					
A. Sabouraud Cloranfenicol	Colonias Medio								Negras	Amarillo, verde, pardo Amarillo	Pardo oscuro Amarillo	Amarillo
A. MRS	Colonias Medio	Medio										Opacas, incoloras o blancuzcas

## LAMINOCULTIVOS CON 3 MEDIOS DE CULTIVO

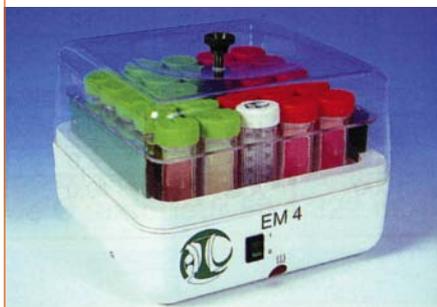


### RECOMENDADOS PARA MUESTRAS LÍQUIDAS

REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN
604-11.100*	Laminocultivos para la detección de Enterobacterias/Estafilococos/Mohos y levaduras Agar Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)/A. Vogel Johnson/A. Rosa de Bengala	20
604-11.075*	Laminocultivos para la detección de Enterococos/Pseudomonas/Enterobacterias Agar Bilis Esculina /A. Cetrimide/A. Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)	20
604-11.110	Laminocultivos para la detección de Flora total/Coliformes/ <i>E. Coli</i> Agar Triptona y Soja (TSA)/A Rojo Bilis Violeta (VRBL)/A. MacConkey MUG	20
604-11.090*	Laminocultivos para la detección de Flora total /Enterobacterias/Estafilococos Agar Triptona y soja (TSA)+TTC/A Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)/A. Vogel Johnson	20
604-11.115	Laminocultivos para la detección de Flora Total/Enterobacterias/Mohos y levaduras Agar triptona y Soja (TSA)/A Rojo Bilis Violeta Dextrosa (VRBG)/A Rosa de Bengala	20

\*SÓLO BAJO PROGRAMACIÓN

## MINI INCUBADORA PARA LAMINOCULTIVOS EM4

Compacta y de fácil manipulación, con cubierta transparente y asa para facilitar la extracción.

Incluye rack para 23 laminocultivos.

Incluye termómetro

Permite la incubación de laminocultivos, placas Petri, placas RODAC, tubos, etc.

Temperatura ajustable desde ambiente + 5° C hasta +44° C.

REFERENCIA	VOLUMEN	PRECISIÓN	ANCH.xF.xALT. EXT.	ANCH.xF.xALT INT.	PESO
114-000020	4 litros	± 1° C	23x23x18 (cm)	18x18x12,5 (cm)	1,5 kg

## C) MÉTODO DEL ESCOBILLÓN O FROTIS

Se utilizan torundas estériles de algodón; es un método especialmente indicado para superficies de difícil acceso para las placas de contacto o los laminocultivos, como superficies flexibles, irregulares o muy contaminadas. La recuperación de los microorganismos depende de la textura de la superficie, de su naturaleza y del tipo de flora. A pesar de sus limitaciones, este método es rápido, sencillo y barato para calcular la flora microbiana de superficies y herramientas.

### MODO DE EMPLEO

Se coloca una plantilla estéril en la superficie a examinar y se refriega con cuidado la zona expuesta con un escobillón humedecido en solución de **Ringer (ref. 6-073, 064-TA2120 o 064-TA2159)**, o en **Agua de Peptona Tamponada (ref. 2-277 o 064-TA0100)**, para facilitar la toma de muestra.

En este caso si la superficie ha sido limpiada con detergentes o desinfectantes se recomienda usar medios de cultivo con neutralizantes, como por ejemplo el **Agar Lethen Modificado (ref. 1-237)**, o **TSA+Polisorbato+Histidina+Lecitina (ref. 1-613, 064-PA0075)**.

A continuación se introduce el escobillón en un tubo con 10 ml de solución salina y se agita. Se obtiene un dilución 1/10. Si se sospecha que la superficie esta muy contaminada, se prepara un banco de diluciones con 9 ml de Ringer.

Las placas se inoculan con alícuotas de 0,1 ml en placas de TSA. Se hace un duplicado como mínimo por siembra. Con el asa de Drigalsky, previamente esterilizada a la llama con alcohol, se reparte el inóculo por toda la superficie, efectuando movimientos de rotación hasta que el líquido queda completamente absorbido.

Otra opción es realizar siembras directamente en medio sólido, haciendo girar la torunda por toda la superficie del agar.

Las placas sembradas se incuban en posición invertida, Cerrar e invertir la placa para su incubación, a temperatura y tiempo adecuados según el medio y determinación realizada.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se han de contar las placas con un número de colonias entre 30-300. Se hace media aritmética, se multiplica por el inverso de la dilución y por el inverso del inóculo, en caso de que no se haya sembrado directamente en placa.

$$\text{Nº de microorganismos / cm}^2 = 1 / \text{dilución} \times 1 / \text{inóculo}$$

Se puede usar una batería de medios de cultivo selectivos y diferenciales para investigar determinados grupos de microorganismos.

DELTALAB

## ESCOBILLONES ESTÉRILES

CE  
CLASE  
II A



REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN	UNIDADES
027-300200	Cuerpo madera y cabeza algodón	En bolsa individual	1.000
027-300210	Cuerpo madera y cabeza algodón	Embolsados de 2 en 2	2.000
027-300201	Cuerpo de poliestireno rompible y cabeza de algodón	En bolsa individual	1.000
0030021101	Cuerpo de poliestireno rompible y cabeza de algodón	Embolsados de 2 en 2	1.000
027-300203	Cuerpo aluminio y cabeza algodón	En bolsa individual	1.000
027-300250	Cuerpo madera y cabeza algodón	En tubo etiquetado	500
027-300261	Cuerpo de poliestireno rompible y cabeza de algodón	En tubo etiquetado	500
027-300251	Cuerpo aluminio y cabeza algodón	En tubo etiquetado	500

## ESCOBILLÓN ESTÉRIL JUNTO CON UN TUBO QUE CONTIENE 3 ML DE AGUA DE PEPTONA CON EL 10% DE NEUTRALIZANTE

Con este producto se ahorra el paso de la preparación del medio de cultivo para humectar la muestra; además el tubo lleva una etiqueta que le permite anotar los datos del muestreo.

Se sirven embolsados unitariamente para facilitar el transporte hasta la zona de muestreo.

La adición de neutralizante al medio de cultivo permite la eliminación o inhibición de los restos de desinfectante que pueden quedar en la superficie. Es válido para contrarrestar el efecto de amonios cuaternarios, derivados fenólicos, aldehídos, derivados halogenados, hexaclorofeno, formol y etanol.

Para la toma de la muestra se humedece el escobillón en el medio de cultivo que contiene el tubo y una vez tomada se introduce el escobillón dentro del tubo, sustituyendo así el tapón inicial por el conjunto escobillón más tapón. De esta forma podemos transportar de manera cómoda la muestra hasta el laboratorio.

El tiempo de contacto del escobillón con el agua de peptona neutralizante debe ser de un mínimo de 20 minutos. Se puede ajustar el tiempo según necesidades, pero en este caso es importante que el tiempo de permanencia sea siempre el mismo, para que los resultados de varias tomas sean estadísticamente comparables. Si desde que se toma la muestra hasta su análisis deben pasar más de cuatro horas, es preferible mantener los escobillones refrigerados y que sea el propio laboratorio quien los deje los 20 minutos a temperatura ambiente antes de su control.

Posteriormente se realizan siembras en medio sólido a partir de la solución.

En este caso pueden utilizarse medios generales, sin necesidad de que se hayan añadido neutralizantes, puesto que la muestra ya se ha neutralizado en el tubo inicial.

## ESCOBILLÓN CON AGUA DE PEPTONA

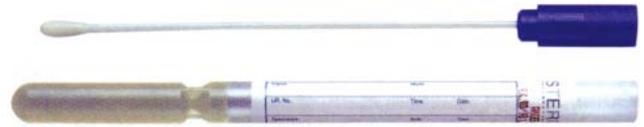
**ATL**


REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN	UNIDADES
114-000005	Escobillón estéril y tubo con agua peptona + neutralizante	En bolsa individual	100

**COPAN**

## OTROS ESCOBILLONES CON MEDIO DE TRANSPORTE

Permite la supervivencia de muchos microorganismos. Aunque algunos microorganismos pueden resistir en el medio durante 3 o más días. Es conveniente que la muestra llegue al laboratorio antes de las 24 h.

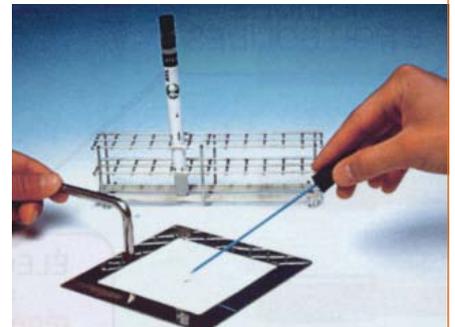


REFERENCIA	DESCRIPCIÓN	PRESENTACIÓN	UNIDADES
120-605629	Medio Amies. Cuerpo de plástico rompible y cabeza sintética	En tubo etiquetado	50
120-605592	Medio Amies. Cuerpo de madera y cabeza de algodón	En tubo etiquetado	50

**ATL**

## PLANTILLA 100 CM<sup>2</sup>

Permite delimitar una superficie de 10x10 cm  
Hecha de acero inoxidable, permite esterilizar a la llama.  
Con asa e acero inoxidable.



REFERENCIA	PRESENTACIÓN
114-000021	1