

Recuento Total con Indicador de Color

Introducción

El método Simplate Recuento Total - Indicador de Color (TPC -CI) es usado para la detección y cuantificación de bacterias aeróbicas totales. La mezcla del medio y la muestra es transferida a la placa Simplate e incubada por lo menos de 24 a 28 horas. El medio cambia de color con la presencia de microorganismos aeróbicos. El recuento total de aeróbicos es determinado al cuantificar el número de posillos que cambian de color y usando como referencia la tabla de conversión del Simplate. Las placas Simplate son vendidas y empacadas separadamente.

I Medio para prueba individual

Componentes del kit

100 viales individualmente empacados con medio TPC-CI deshidratado. El contenido de cada vial es para una prueba.

A. Preparación de la muestra

- (a) Pesar 50 g de muestra en 450 mL de diluyente estéril (ejemplo: agua deionizada o solución de Buffer Fosfatado (Butterfield's Phosphate Buffer) o 0.1% de Agua Peptonada en dilución 1:10. Homogenizar. Si la cantidad de la muestra es menos de 50 g, pesar una porción equivalente a la mitad de la cantidad que tiene y agregar diluyente para tener al final una dilución 1:10.
- (b) Si la preparación de la muestra ya está especificado en su método de rutina entonces basta preparar una solución con el 10% del peso de esta solución.
- (c) Si es necesario se pueden preparar diluciones seriales de 10 cuando de antemano se conozca la concentración aproximada de microorganismos en la muestra.

B. Procedimiento de la prueba

- (a) Hidratar el medio de cultivo en 9.0 mL o 9.9 mL del diluyente estéril (ejemplo: agua deionizada, Butterfield's Phosphate Buffer o 0.1% de solución de Agua Peptonada) Transferir 1.0 mL o 0.1 mL de la muestra homogenizada al frasco que contiene el medio. El volumen final dentro del frasco debe ser de 10 mL \pm 0.2 mL. Agitar para disolver el medio totalmente.
- (b) Retirar la tapa de la placa Simplate y vaciar la solución medio/muestra en el centro de la placa (Figura 1). Cerrar la placa. Continuar con el paso (c) de la próxima página.

M Medio para prueba múltiple

Componentes del kit

20 viales con medio TPC-CI deshidratado. El contenido de cada vial es suficiente para 10 pruebas.

A. Preparación de la muestra

- (a) Pesar 50 g de muestra en 450 mL de diluyente estéril (ejemplo: agua deionizada o solución de Buffer Fosfatado (Butterfield's Phosphate Buffer) o 0.1% de Agua Peptonada) en dilución 1:10. Homogenizar. Si la cantidad de la muestra es menos de 50 g, pesar una porción equivalente a la mitad de la cantidad que tiene y agregar diluyente para tener al final una dilución 1:10.
- (b) Si la preparación de la muestra ya está especificado en su método de rutina entonces basta preparar una solución con el 10% del peso de esta solución.
- (c) Si es necesario se pueden preparar diluciones seriales de 10 cuando de antemano se conozca la concentración aproximada de microorganismos en la muestra.

B. Procedimiento de la prueba

- (a) Vaciar el medio deshidratado en 100 mL de diluyente estéril (ejemplo: agua deionizada o solución de Buffer Fosfatado (Butterfield's Phosphate Buffer) o 0.1% de Agua Peptonada). Agitar para disolver el medio totalmente.
- (b) Retirar la tapa de la placa Simplate, usando una pipeta depositar 1.0 mL o 0.1 mL de la muestra ya homogenizada en el centro del plato (Figura 2). Agregar a la muestra y en el centro del plato 9.0 mL o 9.9 mL del medio hidratado. Al final el volumen total del líquido deberá ser 10 \pm 0.2 mL. Inmediatamente ponga la tapa sobre el plato. Continúe con el paso (c) de la siguiente página.

B. Procedimiento de prueba para muestras Individuales y Múltiples

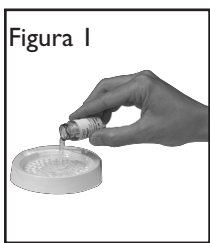
- (c) Sobre la superficie plana agitar suavemente en círculos con el fin de distribuir la mezcla del medio y la muestra en todos los pocillos (Figura 3). El plato puede ser tomado con las dos manos para inclinarlo ligeramente y así ayudar a distribuir el líquido en los pocillos.
- (d) Si es necesario, golpear SUAVEMENTE en una superficie dura para eliminar las burbujas de aire que se hayan quedado atrapadas en los pocillos (Figura 4). No preocuparse si algunos pocillos están parcialmente llenos. Los pocillos que estén parcialmente llenos de líquido serán positivos si hay presencia de bacterias viables. Evite el uso excesivo de fuerza al golpear para evitar que el líquido entre en contacto con la tapa.
- (e) Presionando ligeramente la tapa contra el plato en cualquier lado de la cavidad de la esponja vaciar el exceso de medio. Inclinar el plato hacia Ud. para permitir que la esponja absorba el líquido (Figura 5). Observe el color base de los pocillos. Este color base es la mezcla de medio y muestra dentro de los pocillos.
- (f) Invierta el dispositivo Simplate. De acuerdo con los métodos AOAC®/BAM/USDA incubar de 24 a 48 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ($32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para productos lácteos).

C. Lectura e interpretación de resultados

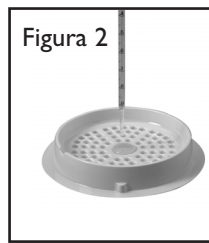
- (a) Después de incubar, observe el cambio de color del líquido en los pocillos. No le ponga atención a las partículas presentes. Cunte el número de pocillos que tengan un cambio de color con respecto al color base. El cambio de color mas común producido por microorganismos es ROSA, pero los siguientes colores se les deberá poner atención : naranja, rojo, café, y blanco.
- (b) Para determinar la concentración por plato, ejecute los siguientes cálculos :
 - (1) Cunte el número de pocillos positivos en el plato
 - (2) Utilice la tabla de conversión de Simplate para determinar el número total de microorganismos por plato
 - (3) Si el tamaño de la muestra es de 0.1 mL, vea **B(a)**, multiplique el número anterior **(b)** por 10.
- (c) Para calcular el número de microorganismos por muestra, multiplicar la cuenta **(b)(2)** o **(b)(3)** por el factor de dilución, ver **A(a-c)**.

D. Información del Producto y su almacenamiento.

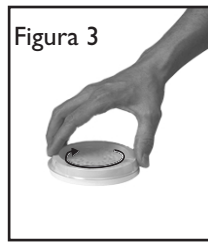
- (a) No usar el dispositivo del Simplate si los pocillos están dañados y perforados.
- (b) No use el producto si ya expiró.
- (c) Almacenar el medio hidratado entre 4°C y 25°C y úselo dentro de las 12 hs. siguientes.
- (d) Maneje y deshágase del medio incubado en un contenedor de descontaminación esterilizando de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio.



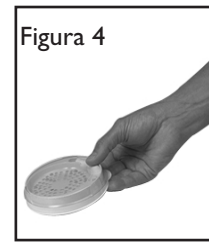
Para la prueba individual, deposite la mezcla muestra/medio en el centro del plato Simplate.



Para prueba Múltiple, pipetear la muestra en el centro del plato. Agregar el medio hidratado hasta volumen total de 10 ± 0.2 mL.



Cerrar la tapa, suavemente mover el plato para distribuir la muestra/medio en los pocillos.



Si es necesario golpear suavemente el plato para eliminar burbujas.



Inclinar el plato hacia Ud. para permitir que la esponja absorba el líquido.

Garantía del Producto

BioControl Systems, Inc. (BCS) garantiza este producto para estar libre de defectos en material y mano de obra, siempre y cuando sea almacenado en condiciones apropiadas y sea manejado adecuadamente hasta la expiración de la vida de anaquel especificada. BioControl está de acuerdo que durante el período de esta garantía a reemplazar todos los productos defectuosos dentro de los 30 días posteriores después que el producto sea devuelto a BCS sin ningún cargo para el Comprador. BCS no tendrá obligación alguna bajo esta Garantía Limitada de hacer reemplazos que resulten parcial o totalmente derivados de alguna catástrofe, falla o negligencia del Comprador o cualquiera que reclame a través o a nombre del Comprador, o por uso inadecuado, o por usar el producto en una manera para la cual no fué designada, o por causas externas a los productos. El Comprador deberá notificar a BCS de cualquier producto los cuales crea están defectuosos durante el período de la garantía. BCS tendrá la opción que tales productos sean regresados por el Comprador a BCS con el costo del transporte y seguros prepagados. BCS deberá reemplazar dentro de los 30 días posteriores después de recibido los productos que sean encontrados como defectuosos y regresar los más rápido posible al Comprador tales productos con el costo de transporte y seguro prepagados. Si después de examinar y probar los productos recibidos BCS encuentra que los productos no están cubierto por la garantía, BCS comentará al Comprador y dispondrá de los productos de acuerdo a las instrucciones del Comprador. El Comprador cubrirá todos los gastos derivados de esto..

AOAC® es una marca registrada de AOAC International. BioControl® y SimPlate® son marcas registradas de BioControl Systems, Inc.

Si Ud. requiere mas información acerca de Simplate para Cuenta Total - CI, su uso o cualquiera de los otros productos de BioControl favor de ponerse en contacto con BioControl Systems, Inc. · 800.245.0113 or 425.603.1123 · Fax 425.603.0080 · www.rapidmethods.com