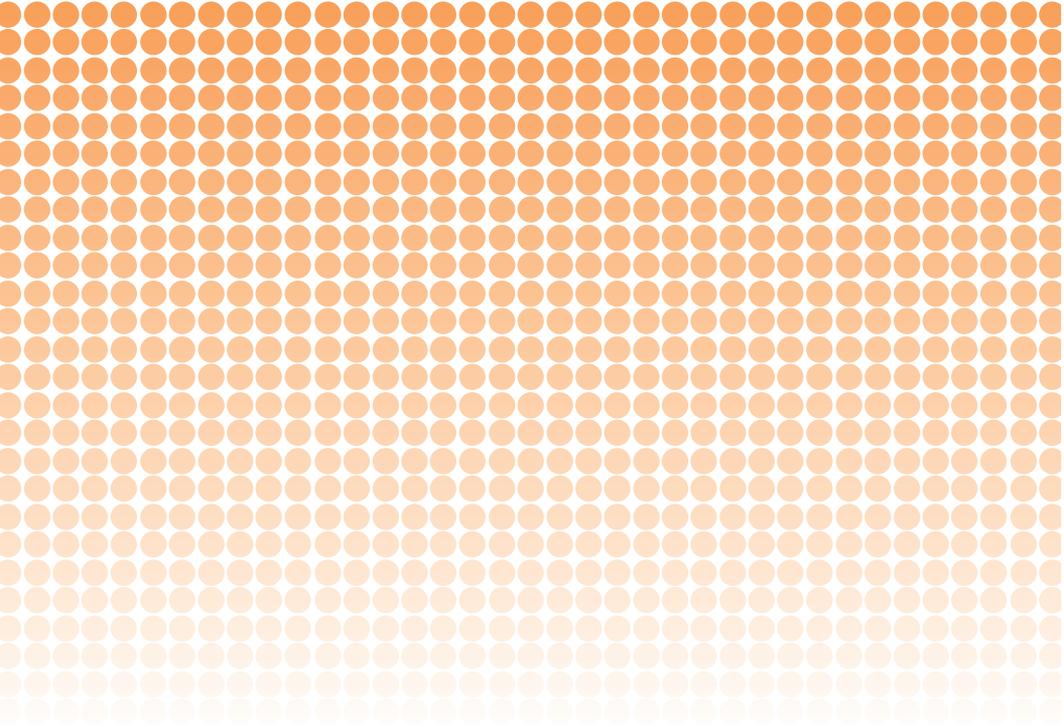


MANUAL DEL OPERADOR



PeelPlate® EB
ENTEROBACTERIACEAE

PARA LA DETECCIÓN Y ENUMERACIÓN DE BACTERIAS ENTEROBACTERIACEAE EN MUESTRAS DE ALIMENTOS, DILUCIONES EN SERIE DE ALIMENTOS Y ESPONJAS AMBIENTALES



Contenido

Información del Kit	4
Introducción	4
Contenido del Kit, Almacenamiento y Condiciones para Análisis. . .	4
Principio	4
Aplicabilidad	5
Precauciones	5
<hr/>	
Preparación de la Muestra	6
<hr/>	
Procedimiento de Prueba Peel Plate EB	7
<hr/>	
Control de Calidad	9
<hr/>	
Descarte	9
<hr/>	
Apoyo Técnico	9
<hr/>	
Información de Ordenes	10
<hr/>	
Garantía	11

Información del Kit

Introducción

La prueba Peel Plate EB (Enterobacteriaceae Bacteria) detecta y enumera bacterias Enterobacteriaceae en alimentos, diluciones en serie de alimentos y esponjas ambientales. La muestra o su dilución se incuban hasta por 24 a 48 horas a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Las pruebas Peel Plate EB están diseñadas para laboratorios microbiológicos, pero también pueden ser utilizadas por los interesados en la calidad de alimentos tales como agricultores, procesadores de leche y tratamiento de agua de municipalidades. La sensibilidad del método es de 1 unidad formadora de colonia por mililitro ($>1\text{ UFC/mL}$) de muestra. El rango cuantitativo adecuado es de 1 a 150 UFC/ml.

Contenido del Kit, Almacenamiento y Condiciones de Análisis

Cada kit (código: PP-EB-100K) contiene 100 pruebas, dos bolsas de aluminio, cada una conteniendo 50 pruebas y un desecante azul.

Los kits no necesitan ser refrigerados durante su envío.

Almacene en su bolsa de aluminio en refrigeración ó a temperatura ambiente (menos de 25 °C) hasta fecha de expiración.

Abra la bolsa y realice los análisis en un área seca a temperatura ambiente. Remueva el número de placas necesarias para análisis. **Placas mantenidas a temperatura ambiente por 1 hora ó más, serán mas fáciles de abrir.** Para almacenar las pruebas sin usar, reselle la bolsa debidamente. Almacenamiento en humedad o calor harán que las pruebas decoloren a amarillo. No use pruebas decoloradas o de bolsas que tengan desecante rosado/blanco.

*Refrigeración definida como temperatura de 0 a 4.5 °C y requerida para Laboratorios Certificados en Estados Unidos.

Principio

La prueba Peel Plate EB está basada en un agar selectivo de sal biliar, glucosa y substratos colorimétricas de enzimas para permitir el crecimiento e identificar coloriméricamente el crecimiento de bacterias de la familia enterobacteriaceae. El medio también contiene agentes gelificantes y absorbentes que permiten absorber y difundir la muestra.

Aplicabilidad

La prueba Peel Plate EB es aplicable a múltiples matrices de alimentos incubadas en oscuridad a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. El método ha sido validado de acuerdo a ISO 16140-2 (2016) para certificación por MicroVal para dos categorías: 1 - Leche y productos lácteos procesados por calor y 2 - Formula y cereales para infantes. La preparación de las porciones de muestra fue realizada de acuerdo a ISO 6887 partes 1, 4 y 5. El método es considerado "First Action" bajo AOAC Official Methods of Analysis (OMA), para leche en polvo, formula láctea para infantes con o sin probiótico, formula de soya para infantes, mantequilla, helado de vainilla, cereal de arroz para infantes, esponjas de superficies de acero inoxidable, enjuague de carcasa de pollo con agua peptonada buferada y agua peptonada vuferada neutralizante. El método de la prueba Peel Plate ha sido comparado a un método de referencia, ISO 21528 métodos partes 1 y 2 y no se encontraron diferencias significantes durante las validaciones. La Prueba Peel Plate EB puede ser también aplicable a otros productos lácteos, carnes, huevos, alimentos procesados, alimentos de mascota así como las superficies en contacto con los respectivos procesos de manufactura pero no han sido validados oficialmente por organizaciones certificadas.

Las muestras deben ser diluidas en serie hasta un rango contable de 1 a 150 UFC/mL.

Precauciones

Siga Buenas Prácticas de Laboratorio al hacer análisis microbiológico. Evite contaminación de las muestras.

- Alimentos crudos o procesados, productos animales y sus superficies de contacto pueden contener microorganismos dañinos o patógenos tales como *Listeria monocytogenes*, *E. coli* hemorrágica y salmonella. Realice las pruebas con manos limpias y con guantes, asumiendo la posibilidad de bacterias patógenas.
- Si tiene contacto directo o si hay derramos, lave el área afectada con detergente para piel y ropa, y use desinfectante para otras superficies. Si hay contacto con ojos o boca enjuague cuidadosamente. Si ocurre irritación, se siente enfermo o hay infección, consulte un médico.
- Evite contacto con las muestras o con el medio en las placas Peel Plate EB. Realice y maneje las pruebas corridas usando protección personal tal como lentes, batas y guantes.
- Realice las pruebas en una superficie nivelada, limpia, libre de polvo y bien ventilada.
- Después de agregar muestra, coloque la cubierta adhesiva, sin arrugas o dobleces para evitar que el medio rehidratado se seque durante el tiempo de incubación.
- Para evitar el riesgo de contaminación cruzada entre muestras, limpie y desinfecte toda la cristalería y área de trabajo en contacto con alimentos y pruebas corridas.

Preparación de la Muestra

<p>Productos Líquidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Productos líquidos (leche, productos lácteos pasteurizados, huevos) pueden analizarse directamente o ser diluidos en serie hasta un rango contable (1 a 150 UFC/mL). Para hacer diluciones en serie, agregue 11 mL en 99 mL de un búfer microbiológico apropiado. Otras opciones de dilución y pipetores de dilución son aceptables. • Para leche en polvo y evaporada/condensada, reconstituya con agua estéril al contenido normal de sólidos y deje reposar por 3 minutos. Analice como producto líquido. <i>Nota, matrices validadas usan agua peptonada al 0.1% como diluyente.</i>
<p>Productos Sólidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Agregue 25 g de producto sólido (helado, leche evaporada y condensada, carne molida, alimento de mascotas, etc) a 25 mL de un búfer microbiológico apropiado para obtener un rango contable (1 a 150 UFC/mL). • Homogenice ó utilice un “stomacher” por 1 a 2 minutos. Deje que las partículas sedimente y continúe diluyendo 10 mL de la dilución previa en 90 mL (ó 11 en 99ml) de solución de dilución hasta un rango contable. Otros esquemas de dilución de 1 parte de muestra y 9 partes de bufer también son aceptables. <i>Nota: Para cereales y otras matrices que pueden absorber diluyente, es posible que requieran una dilución 1:50, por ejemplo 25 g a 1225 ml para crear una muestra que se absorbe y difunde en la placa. En este caso 5 ml de muestra homogenizada es equivalente a 1 ml de una dilución 1:10. Muestra de 5 ml puede ser analizada en cinco placas Peel Plate EB o en una placa Peel Plate High Volume (HV). Consulte al manual de Peel Plate EBHV.</i>
<p>Hisopo Ambiental</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Consulte el Adendo de Preparación de Muestras para Peel Plate.

Procedimiento para Prueba Peel Plate EB



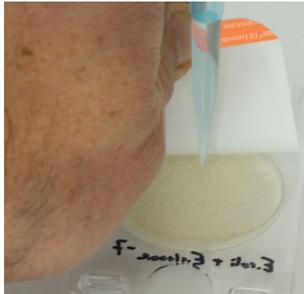
Paso 1

- Para facilidad de apertura, use placas a temperatura ambiente.
- Identifique la placa en el lado claro usando un marcador o una tira de código de barras. No marque o identifique la placa dentro del área circular de 47 mm.
- Para mejores resultados, mantenga las placas a temperatura ambiente antes de inocularlas.



Paso 2

- Invierta y coloquela en una superficie nivelada. Aplique presión con los dedos en la plataforma trasera (como en la foto) y levante la tapa adhesiva
- Levante la cubierta adhesiva completamente hasta exponer el disco de cultivo. Deje la parte posterior adherida a la parte posterior de la placa.



Paso 3

- Manteniendo la cubierta levantada y la placa en una superficie plana, **dispense verticalmente 1.0 mL de muestra o dilución de la muestra en el centro del disco.** Deposite muestra en 2 a 3 segundos y a 1-2 cm arriba de la superficie.



Paso 4

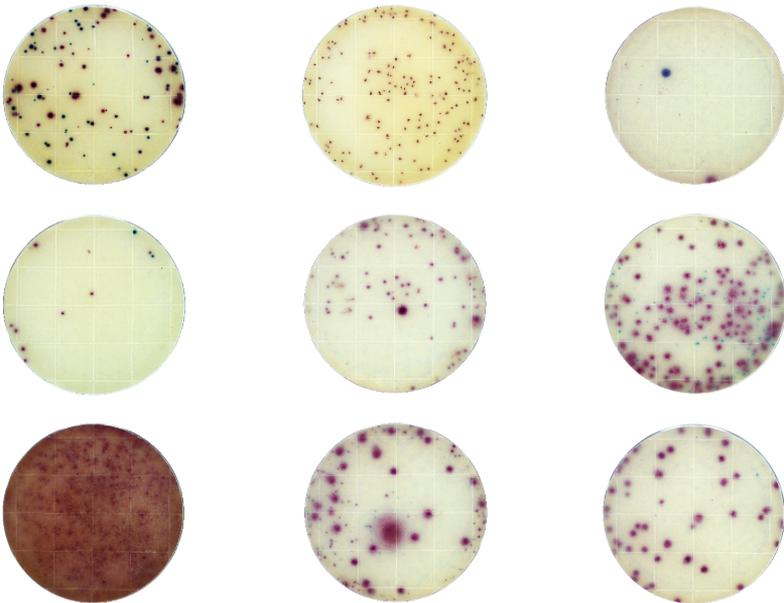
- La muestra se difundirá a los bordes del disco.
- Re-aplique la cubierta adhesiva evitando dobleces o arrugas. Presione alrededor en la orilla para asegurarse de sellado apropiado.



Paso 5

- Incube las placas con la parte clara hacia arriba, como se muestra. Incube a **$32 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas**.
- Las placas pueden colocarse una sobre otra alineando las protuberancias y la plataforma rectangular. Usando esta configuración puede colocar hasta 20 placas una sobre otra sin afectar la transferencia de calor.

Análisis de Resultados



- Al final del período de incubación, observe las colonias a través del lado claro de la prueba. Cada punto, independientemente del color representa 1 UFC de EB. La suma de estos puntos rojos se reporta como UFC/ml o UFC/gm por dilución analizada.

- En caso de bacterias propagándose por la caja, marque una UFC por cada punto ldefinido. Colonias mezcladas o propagadas se anotan como una UFC.
- Multiplique las UFC/mL por la dilución para calcular UFC/(mL ó g) en la muestra original.
- Conteos de 1 a 150 UFC/placa se consideran resultados cuantitativos mientras que resultados fuera de este rango son considerados estimados.
- Muestras fuera del rango cuantitativo deben ser diluídas y re-analizadas.
- Un conteo estimado con mas de 150 colonias ó Muy Numerosas para Contar (MNPC ó en Inglés: TNTC) puede hacerse usando la cuadrícula. Escoja crecimiento representativo en 1 cm cuadrado y cuente, ó escoja 5 cuadritos y tome el promedio, y multiplique por 17.4, el área de la placa. Este es un estimado de conteo por placa. Este número debe ser multiplicado por el factor de dilución para obtener UFC/mL ó g de muestra.

Control de Calidad

El control de calidad debe ser realizado de acuerdo a Buenas Practicas de Laboratorio y con la frecuencia determinada por procedimientos estándar de operación de laboratorio. Una práctica común es usar Control de Dilución, Control Negativo y Control Positivo.

- **Control de Dilución:** Analice 1.0 mL de bufer de dilución estéril para verificar la ausencia de bacterias luego del periodo de incubación.
- **Control Negativo:** Prepare Control Negativo autoclaveando la dilución apropiada de muestra a 121°C por 15 minutos. Enfíe y analice 1.0 mL para verificar la ausencia de bacterias en el Control Negativo.
- **Control Positivo:** Contamine una muestra con una concentración conocida de cultivo bacteriano. Diluya la muestra a un rango de 1 a 150 UFC/mL y analice 1.0 mL para verificar que la detección después de la incubación es \pm 50% del valor estimado.

Descarte

Los cultivos microbiológicos y reactivos deben ser colectados en bolsas de riesgo biológico y esterilizados en el autoclave. Deseche de acuerdo a las regulaciones locales, estatales y federales.

Apoyo Técnico

Si tiene preguntas contacte su representante local o Charm Sciences al +1.978.687.9200 ó support@charm.com.

Información de Ordenes

Descripción	Cantidad	Código del Kit
Peel Plate EB	100	PP-EB-100K
	1000	PP-EB-1000K

Existen pruebas Peel Plate para *E. coli* y coliformes, conteo de coliformes, bacterias aeróbicas y heterotróficas. Visite el sitio web de Charm Sciences en www.charm.com por más detalles.

Garantía

Charm Sciences, Inc ("Charm") garantiza que todos los productos reactivos, incluyendo pero sin limitación a los kits para pruebas, están libres de defectos por materiales y mano de obra y no tienen desviaciones de las especificaciones y descripciones de los productos reactivos Charm que aparecen en la documentación de producto Charm, siempre y cuando se almacenen en las condiciones adecuadas y se les de el uso normal y adecuado para cual fue previsto, hasta la fecha de vencimiento del periodo de conservación del producto reactivo, o si no se especifica, durante un año posterior a la fecha de entrega de dicho producto reactivo al comprador de consumo final. ESTA GARANTÍA SUSTITUYE TODAS LAS DEMÁS GARANTÍAS, YA SEAN ESTATUTARIAS, EXPRESAS O IMPLÍCITAS (INCLUYENDO LAS GARANTÍAS DE TÍTULO, NO INFRACCIÓN, COMERCIALIZABILIDAD E IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO EN PARTICULAR Y TODAS LAS DEMÁS GARANTÍAS QUE SURJAN DE CURSO POR MANEJO O USO DE COMERCIO). La garantía que se suministra no puede ser alterada excepto mediante expreso consentimiento por escrito y firmado por un funcionario de Charm. Las interpretaciones, orales o escritas que no son coherentes con esta garantía no se han autorizando, y si se proporcionan, no son válidas. En caso de violación de esta garantía, la única obligación de Charm será reemplazar el producto reactivo o la parte de este, que se compruebe defectuoso por materiales o mano de obra, dentro del periodo de garantía, siempre y cuando el cliente notifique a Charm rápidamente de dicho defecto antes del vencimiento del periodo de garantía establecido. La única compensación que se proporciona por la presente no debe interpretarse como omisión de su propósito esencial mientras que Charm esté dispuesta a reemplazar cualquier producto o parte reactiva. Charm no tendrá responsabilidad por daños consecuentes, incidentales ni daño indirecto alguno que resulte en pérdidas económicas o a la propiedad causado a unos clientes debidas al uso de los productos reactivos. Excepto por la obligación de Charm establecida anteriormente, de reemplazar el producto reactivo que se compruebe defectuoso dentro del periodo de garantía, Charm no tendrá responsabilidad por daños de ningún tipo que surjan de o sean causados por resultados incorrectos o equivocados de pruebas obtenidas al usar dichos productos reactivos, sean o no causados por defectos en el producto reactivo.



OM-701-003



659 Andover Street, Lawrence, MA, 01843-1032, USA
T +1.978.687.9200 | **F** +1.978.687.9216 | **E** info@charm.com | **www.charm.com**

© 2019 Charm Sciences, Inc. Charm y Peel Plateson marcas registradas de Charm Sciences. Ver www.charm.com/patents por una lista de patentes otorgadas, publicadas y pendientes y aplicaciones PCT.

OM-701-003 (EV OM-677-007) Sep-2019