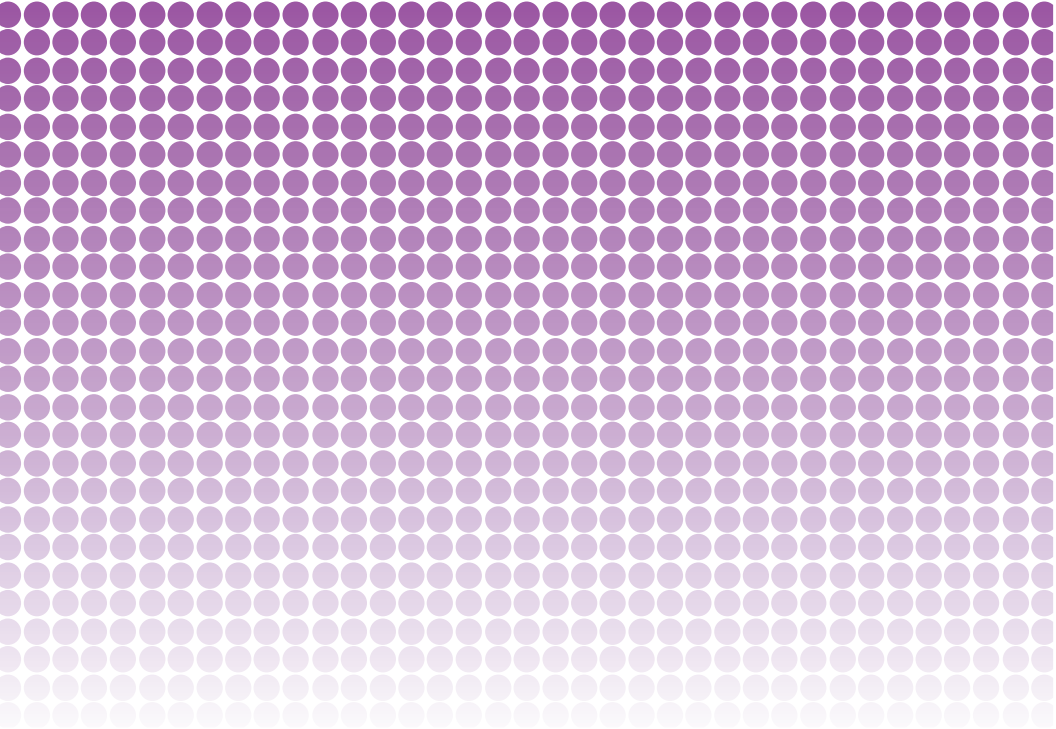


MANUAL DEL OPERADOR

PeelPlate[®] EC HV E. COLI AND COLIFORM HIGH VOLUME

PARA DETECCIÓN Y ENUMERACIÓN DE COLIFORMES TOTALES
INCLUYENDO *E. COLI*



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	7
<hr/>	
Descarte	9
<hr/>	
Apoyo Técnico	9
<hr/>	
Información de Ordenes	9
<hr/>	
Garantía	10

Información del Kit

Introducción

La prueba Peel Plate® *E. coli* y coliformes de Alto Volumen (EC HV) detecta y enumera coliformes totales incluyendo *E. coli* en un volumen de 5 mL. El método es aplicable para la determinación de coliformes totales en productos lácteos (excepto quesos duros) cuando se incuban a 32 ± 1 °C por 24 ± 2 horas. Este método diferenciará colorimétricamente *E. coli* de otros coliformes en alimentos, muestras de ambiente y aguas cuando se incuben a 35 ± 1 °C por 24 ± 2 horas. Una alícuota de 5 mL de una dilución 1:5 de la muestra (ó 5 mL de una dilución 1:10 en cada una de 2 placas) se agrega a la placa HV y luego se incubaba a 32 ± 1 °C para lácteos y 35 ± 1 °C para otro tipo de alimentos. Los productos fermentados tales como yogurt requieren la adición de bisulfito de sodio al homogenizado de muestra antes de la homogenización, quesos duros requieren una prueba Peel Plate (EC-C-HV) con diferente formulación. Las pruebas Peel Plate EC-HV están diseñadas para laboratorios microbiológicos, pero también pueden ser utilizadas por los interesados en calidad de alimentos tales como agricultores, procesadores de leche y alimentos o en plantas procesadoras de agua de municipalidades. El límite de detección del método es 1 o más unidades formadoras de colonia por 5 mililitros (UFC/5 mL) de muestra. El rango cuantitativo para coliformes incluyendo *E. coli* se define como 1 a 154 UFC/prueba.

Contenido del Kit, Almacenamiento y Condiciones de Análisis

Cada kit (código PP-ECHV-25K) contiene una bolsa de aluminio con 25 Peel Plates EC HV. Adicionalmente se incluye una botella de Solución de Bisulfito de Sodio para preparar muestras de yogurt y otros productos lácteos cultivados aparte de quesos duros. El kit de 100 pruebas (Código: PP-ECHV-100K) contiene 4 bolsas con 25 pruebas Peel Plate cada una y 2 botellas de Solución de Bisulfito de Sodio. Para quesos duros hay una formulación diferente de Peel Plate (Código PP-EC-C-HV-100K).

Los Kits no necesitan refrigeración durante su envío.

Almacene los kits en la bolsa de aluminio hasta por 12 meses en refrigeración ó a temperatura ambiente hasta por 1 mes.

Realice los análisis en un área seca a temperatura ambiente. Abra la bolsa y remueva el número de placas necesarias para análisis. 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.

Principio

El medio de la prueba Peel Plate ECHV está basado en medio selectivo convencional para cultivar y diferenciar coloriméricamente el crecimiento de coliformes y *E. coli* en muestras cultivadas a 35 °C. La prueba Peel Plate ECHV contiene el sustrato enzimático salmon-gal (6-cloro-3-indolyl-B-D-galactopiranosido) usado para detectar β-galactosidasa producida por coliformes y x-glucuronido (5-bromo-4cloro-3-indoil-B-D-glucuronido) usado para detectar β-glucuronidasa producida por *E. coli* cuando la muestra es incubada a 35°C. La prueba Peel Plate ECHV también contiene agentes gelificantes y absorbentes que permiten absorber y difundir la muestra.

Aplicabilidad

La prueba Peel Plate EC HV es aplicable en productos lácteos líquidos (e.g. crema, leches saborizadas), productos lácteos sólidos (e.g. crema agria, helado, suero condensado), productos lácteos cultivados que necesitan homogenización con el diluyente bisulfito de sodio (como queso cottage, yogurt), esponjas ambientales de superficie, agua de proceso de lavado de frutas/vegetales cuando se requiere un nivel de sensibilidad de 1 a 154 UFC/5 mL.

Precauciones

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

- Realice las pruebas con manos limpias y con guantes, asumiendo la posibilidad de bacterias patógenas.
- Haga los análisis en una superficie nivelada y limpia, libre de polvo o de corrientes de aire.
- Evite contacto con las muestras o con el medio en las placas Peel Plate ECHV.

Preparación de Muestra

<p>Productos Lácteos Líquidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Leche blanca (leche entera cruda o pasteurizada, baja en grasa y descremada) puede analizarse directamente o ser diluida en serie hasta un rango contable (1 a 154 UFC/mL). <ul style="list-style-type: none"> > Para hacer diluciones en serie, agregue 11 mL en 99 mL de un diluyente microbiológico apropiado. Otras opciones de dilución y pipetores de dilución son aceptables.
<p>Otros Productos Líquidos y Productos Lácteos Sólidos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Agregue 11 g de producto sólido (helado, crema agria, heavy cream) a 99 mL de un diluyente microbiológico calentado a 40-45°C para obtener un rango contable (1 a 154 UFC/mL). • Para productos lácteos sólidos fermentados (queso cottage, yogurt, suero condensado, etc.) que contiene cultivo activo de bacterias lácticas (LAB) <ul style="list-style-type: none"> • Agregue 11 g de producto a 99ml de diluyente calentado a 40-45°C y mezcle/homogenice • Agregue 1 mL de solución de bisulfito de sodio, incluido en kit, a la mezcla y homogenice. • Alternativamente, disuelva 0.2 gm de bisulfito de sodia en 99 ml de diluyente calentado a 40-45°C, agregue 11 g de producto y mezcle/homogenice. • Para leche en polvo y evaporada/condensada, reconstituya 11 g con diluyente calentado a 40-45°C y deje reposar (no mas de 3 minutos). • Quesos (Parmesando, Provolone, Suizo, Romano, Cheddar, etc) que producen un fondo rojo requieren un método de Peel Plate diferente (EC-C-HV).
<p>Hisopo Ambiental</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Consulte el Adendo de Preparación de Muestras para Peel Plate.
<p>Agua Embotellada y Filtrada</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 5 mL de muestra de agua pueden ser analizadas directamente sin ninguna preparación ó luego de neutralizar el desinfectante con una tableta de tiosulfato. • Para volúmenes más altos de agua filtrada consulte el manual de Peel Plate para Agua Filtrada.

Procedimiento de Prueba



Paso 1

- Identifique la placa en el lado claro
- Invierta y 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 2

- Dispense rápidamente 5.0 mL de muestra, ó dilución de la muestra en el centro de la placa, manteniendo la pipeta vertical. Expela el contenido de la pipeta en 2 a 3 segundos.



Paso 3

- La muestra se difundirá a los bordes de la placa. De lo contrario, levante la placa de la superficie y rótelas para permitir la muestra distribuirse a la orilla de la placa.
- Re-aplique la cubierta.
- Déjela reposar por 60 segundos antes de moverla.



Paso 4

- Incube las placas con la cubierta adhesiva hacia abajo.
 - > Incube a 32 ± 1 °C por 24 ± 2 horas para leche y productos lácteos. Yogurt requiere 24 horas adicionales de incubación.
 - > Incube a 35 ± 1 °C para agua, hisopo ambiental y productos no lácteos.
- Se pueden colocar hasta 6 placas una sobre otra sin afectar la transferencia de calor.

Análisis de Resultados

- Al final del período de incubación, observe las colonias través del lado claro de la placa.
- Cada punto coloreado, azul y rojo representa 1 UFC de coliformes. La suma de estos puntos se reporta como el UFC de coliformes totales/5 ml de la muestra diluída.
- Sume de resultados de una placa de 5 mL de una muestra diluída 1:5 (ó dos placas de 5 mL de una muestra diluída 1:10) para calcular UFC/mL ó UFC/gramo de muestra original.
- *E. coli* es un miembro del grupo coliformes y se diferencia colorimétricamente por colonias color azul, púrpura o verdoso a 35°C. Otros coliformes presentarán colonias rojas (salmón).
- En caso de bacterias propagándose por la caja, marque una UFC por cada punto definido. Colonias mezcladas o propagadas se anotan como una UFC.
- Censos de 1 a 154 UFC/placa se consideran contables. Resultados fuera de este rango son considerados estimaciones. Muestras fuera del rango contable (>154UFC/ml) deben ser diluídas y re-analizadas.
- Muestras de productos cultivados conteniendo LAB activo, e.g. yogurts, pueden presentar un fondo rojizo y requieren incubación adicional de 24 horas. Las colonias distintivas rojo oscuro y azul/púrpura deben contarse como coliformes. Quesos duros que producen un fondo rojo, tales como Parmesano, Romano, Suizo y Provolone, requieren una formulación diferente de Peel Plate (EC-C-HV).

Interpretación de Resultados

- En estudios de inclusividad y exclusividad, 57 de 58 aislamientos fueron detectados correctamente, incluyendo las 17 cepas de *E. coli*. La cepa no detectada fue *Escherichia blattae*, ATCC 29907. Seis de los 17 aislamientos de *E. coli* produjeron colonias rojas en lugar de las típicas colonias azul/púrpura/verde. Esto puede ser debido a que son productores débiles o no producen glucuronidasa que es producida por la mayoría de cepas genéricas de *E. coli*. Dos de éstas cepas, O157:H7 y O145, son *E. coli* tipo shiga, conocidos por no producir enzima. De las 32 cepas de exclusividad evaluadas, 31 fueron correctamente excluídas. La cepa detectada como coliforme fue *Shigella sonnei*, ATCC 9290. Incubación de productos lácteos a 32°C no induce de forma fiable la enzima β -glucuronidase en todas las cepas de *E. coli* y pueden producir color rojo solamente. La ausencia de colonias azules no debe ser interpretado como ausencia de *E. coli*.
- Peel Plate EC HV se ha evaluado en los productos descritos, pero no ha sido evaluada en todos lo productos, procesos o protocolos posibles, ni con todas las cepas posibles.
- Se ha evaluado agua embotellada, pero el método no ha sido evaluado para agua municipal de acuerdo con la Regla de Coliformes Totales de la EPA.

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 5.0 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. Enfrie a 4°C y analice 5.0 mL para verificar la ausencia de coliformes en el Control Negativo.
- **Control Positivo:** Contamine una muestra con un cultivo conocido de coliformes. Diluya la muestra a un rango de 1 a 154 UFC/mL y analice 5.0 mL para verificar detección después de la incubación.

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

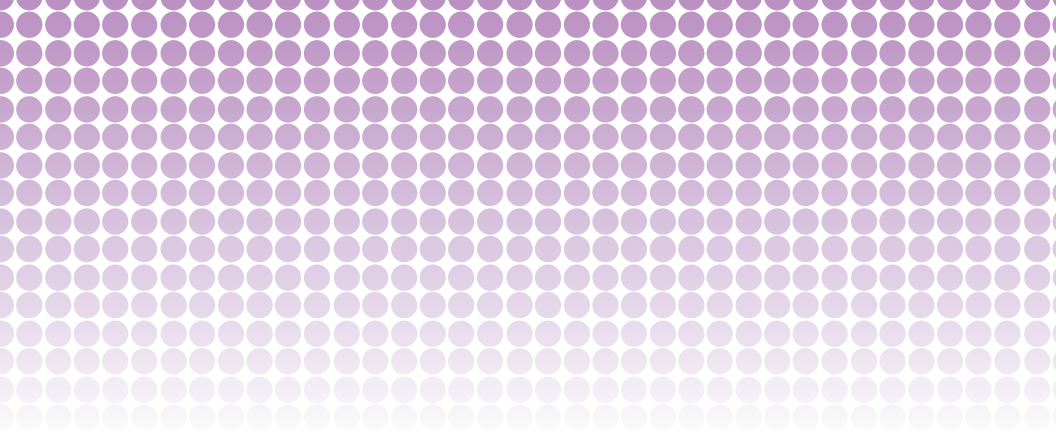
Descripción	Cantidad	Código del Kit
Peel Plate EC HV	25	PP-ECHV-25K
	100	PP-ECHV-100K

Hay disponibilidad de Pruebas Peel Plate de Alto Volumen para bacterias aeróbicas, *E. coli* coliformes, enterobacteriaceae, levaduras y mohos y bacterias 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, COMERCIALIZACIÓN 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 autorizado, 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-703-002



NOTHING WORKS LIKE A CHARM

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-703-002 (EV OM-629-003) Mar-2019