

DryPlates, nuevo método patentado para control microbiológico cómodo, rápido y fiable de productos cosméticos

Jorge Sanchis Solera, Cristina Aijón Correa y Eva Sánchez Pozuelo
Laboratorios MICROKIT. Apartado de Correos 44, 28210-Valdemorillo (Madrid)

Hasta ahora el control de calidad microbiológico requería el uso de medios deshidratados en polvo, gránulos o tabletas (el analista debía pesarlo, hidratarlo, ajustar su pH, calentarlo, homogeneizarlo, autoclavarlo y enfriarlo a 45°C, total 1-3 horas), medios preparados en tubos o frascos hidratados (el analista debía calentarlo a 100°C y enfriarlo a 45°C, total, 30-60 minutos) o bien placas preparadas hidratadas (cuyo problema es su escasísima caducidad, su labilidad a la temperatura ambiente, y el peor: que al ir perdiendo agua, cada día que pasa desde su fabricación son menos eficaces). Con este nuevo método patentado con placas preparadas de medio deshidratado para control microbiológico de aguas, alimentos y cosméticos, se consiguen unas ventajas que están revolucionando los laboratorios de control.

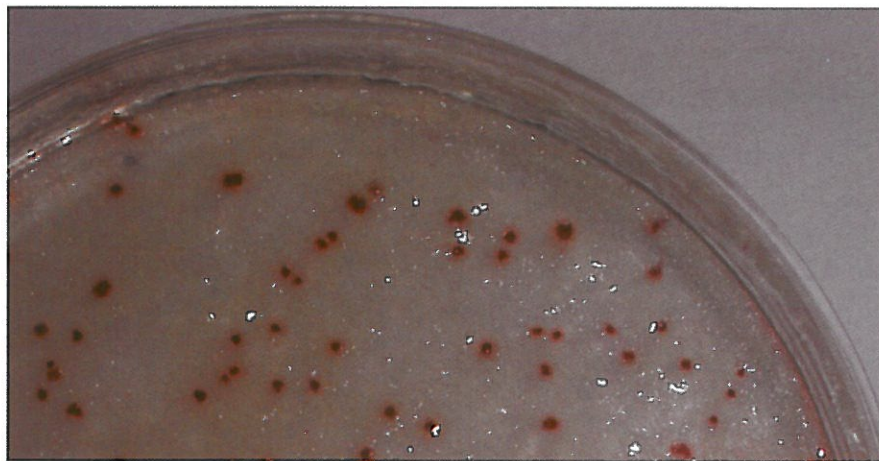
Las nuevas placas preparadas se diferencian de las anteriores porque contienen medio deshidratado, con las ventajas que eso supone en cuanto a caducidad y estabilidad. Y para gelificar, además del clásico agar-agar, contienen un hidragar, un gelificante de uso en frío que permite mezclar directamente la muestra con el medio de cultivo en el momento de la siembra. Estas dos características las hacen únicas en el mundo. Existen otras dos fábricas en el mundo, una en USA y otra en Japón, además de Microkit en España capaces de desarrollar una tecnología parecida, pero sólo en el tema de un gelificante en frío que sustituye al agar-agar, no en el de empleo de medios deshidratados con él.

Ventajas de las nuevas placas

1. La ventaja más importante de todas, es que estas placas permiten sembrar por inclusión en masa 1 ml de muestra sin perder el tiempo en calentar, fundir y enfriar medios de cultivo. Esta tarea y tiempo, debidos a la tremenda diferencia entre el punto de fusión y el punto de gelificación del agar-agar, es el caballo de batalla de los laboratorios de microbiología desde hace dos siglos y lo que les hace perder más tiempo en su trabajo diario; usen medios deshidratados clásicos, usen tubos o frascos preparados para fundir los medios agarizados. De modo que desde ahora, el recuento de aerobios en 1 g ó ml de cosmético se ahorra el punto más crítico de la microbiología: la adición de agares a 45°C; la cual reducía drásticamente

la detección de muchos microorganismos presentes en la muestra, células letárgicas pero vivas que hasta se les asignó el nombre de “no cultivables” a causa de su carácter termolábil.

2. Las nuevas placas también son el sustituto ideal de la placa preparada: primero, porque ésta no deja sembrar 1 ml en su superficie (normalmente 0,1 ml y a lo sumo las Normas ISO aceptan 0,33 ml), por lo que la el nuevo método multiplica por 3-10 el límite inferior de cuantificación. Esto es de máxima importancia en productos cosméticos, donde la legislación exige productos con menos de 100-1000 ufc/g, de modo que sembrando en placa clásica 0,1 ml de la primera dilución (es decir, 1-10 ufc/placa en el límite legislado) estamos muy por debajo del límite inferior de cuantificación



DryPlates TC, siembra en masa en frío de 1 ml de cosmético para recuento de colonias de aerobios, que crecen rojas.

en placa (que son 15 ufc). Segundo, porque para sembrar membranas de filtración (necesarias en los recuentos en aguas), ofrecen un excelente periodo de vida útil, ya que suben la caducidad de las placas preparadas de un máximo de 3 meses desde su fabricación (y que en algunos proveedores llegan al laboratorio con dos o tres semanas de caducidad) a más de 1 año desde su fabricación. Además, no hay posibilidad de contaminaciones durante el transporte, como ocurre en las placas clásicas, ya que las nuevas placas van herméticamente cerradas en su bolsa de Aluminio autosellable y están deshidratadas.

3. Estas placas suponen la gran diferencia entre la necesidad de que los analistas del laboratorio estén entre 1 y 4 horas al día trabajando en un tema que no es análisis (la preparación de los medios de cultivo) y el hecho de poder decir “de la muestra a la estufa en 10 segundos”, lo que les permite multiplicar por factores de incluso 2-10 veces el número de análisis a lo largo del día; y

dedicarse a otras tareas del laboratorio más propias de su profesión y de los estudios que han realizado.

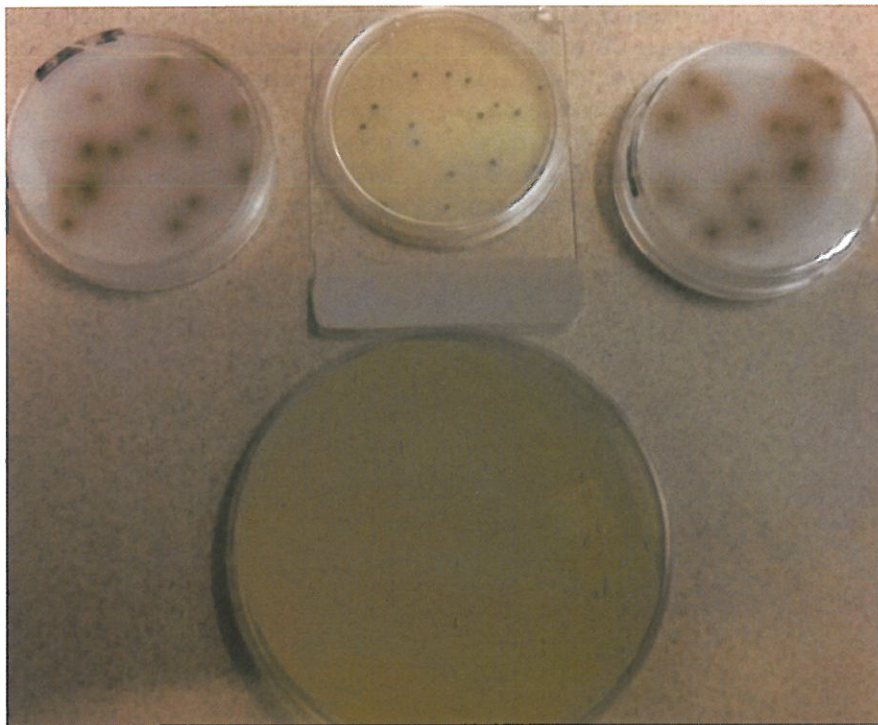
4. En sus validaciones, las nuevas placas obtienen recuentos significativamente superiores a los de los medios preparados en formatos clásicos, principalmente porque el punto más crítico de la microbiología clásica es la adición de agares calientes a la muestra para la siembra en masa. Y por excelente que sea el agar-agar empleado, al menos hay que añadirlo a 45-46°C, temperatura en la que Microkit ha demostrado en estas validaciones que hace inviable a una buena proporción de la flora microbiana, que de este modo no crece en los medios clásicos, pero sí lo hace en las nuevas placas.

5. Las colonias crecen con aspecto idéntico al de los formatos clásicos, a diferencia de lo que ocurre con las placas japonesas (la segunda fábrica del mundo de las antes mencionadas que son capaces de desarrollar tecnologías similares).

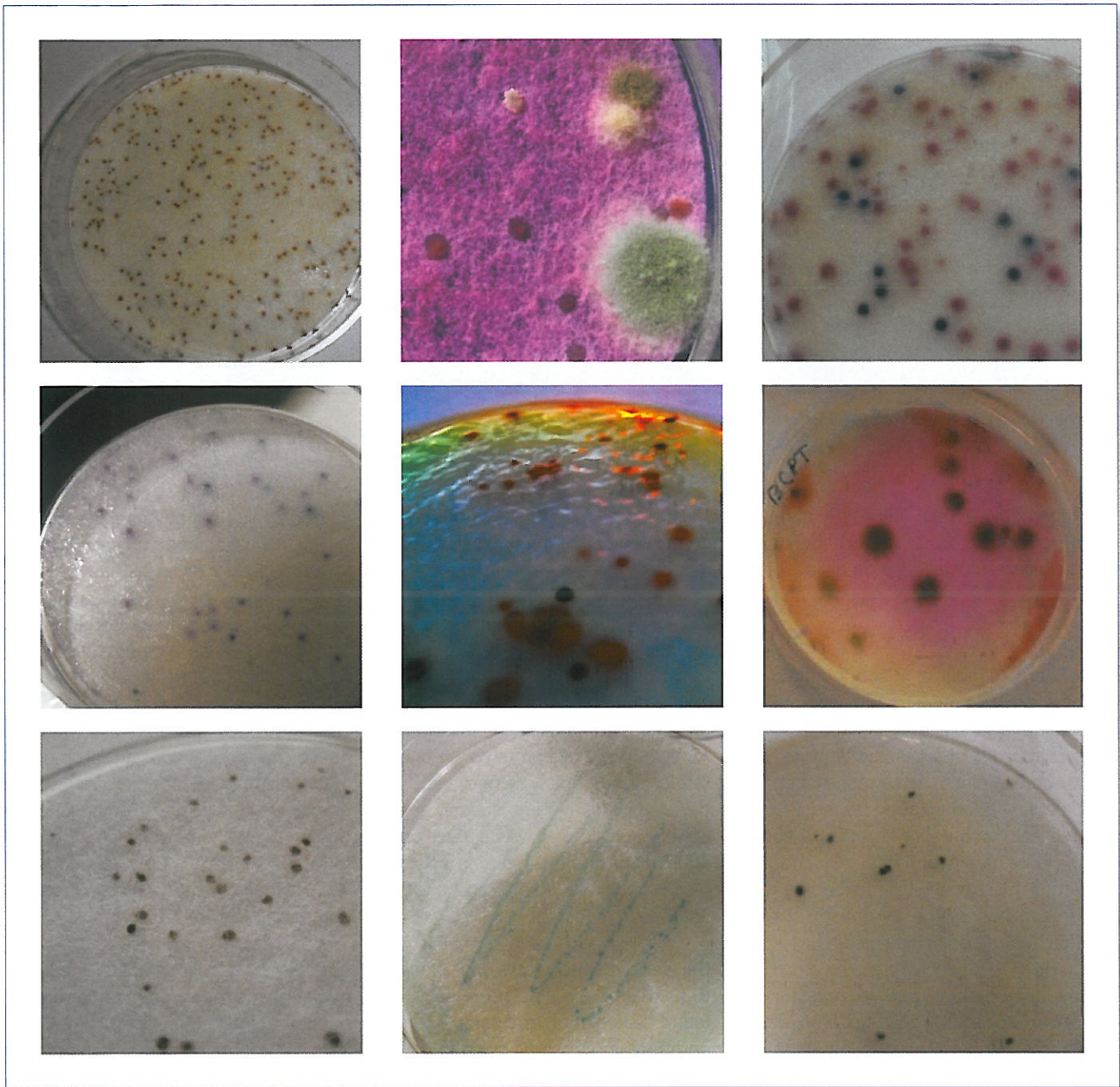
6. El precio es más competitivo que con otros sistemas de gelificación en frío, como el citado en el punto anterior, debido al ahorro en costes de transporte intercontinental.

7-Se ha desarrollado la gama más completa de medios para todos los parámetros microbiológicos más normales, de momento 17. Ya están disponibles TODOS los parámetros de microbiología cosmética en este cómodo formato: Recuento de aerobios, recuento de Hongos (levaduras y mohos), detección de *E. coli* (con colonias azules y demás coliformes con colonias rojas), detección de *Staphylococcus aureus*, detección de *Pseudomonas aeruginosa*, detección de la emergente *Burkholderia cepacia*, detección de *Candida albicans*, investigación de *Salmonella spp.* para cosméticos de uso bucal y recuento de Clostridios sulfito-reductores para cosméticos con componentes derivados de plantas o minerales.

8. Finalmente la “ventaja-regalo”, ya que el equipo que desarrollaba las placas no la esperaba y el diseño nunca estuvo enfocado a algo que creían imposible, es que en casi todos los medios en las nuevas placas, los microorganismos crecen mucho más rápido, formando colonias a veces incluso en menos de la mitad de tiempo que en el medio clásico agarizado. Esta ventaja se debe a la absoluta ausencia de inhibidores del hidragar sintético (que además no sufre variaciones entre diferentes lotes, propias de los productos derivados de materias primas naturales, como sucede con el agar-agar) y a la dureza del gel, que en el hidragar es muy inferior a la del agar-agar, lo que permite a los microorganismos expandirse y formar la colonia sin barreras físicas que les opriman. Pero hay algo más en la composición única del hidragar de Microkit, ya que en los otros dos tipos de placas con gelificantes en frío que se fabrican en el mundo, esta ventaja no existe en absoluto.



DryPlates® (arriba, izda y dcha) comparado con placa japonesa (arriba, centro) y con medio clásico (abajo), donde la siembra en masa ha dado un resultado falsamente negativo.



Fotografías por el mismo orden del texto indicado en la ventana 7, de izquierda a derecha y de arriba abajo.

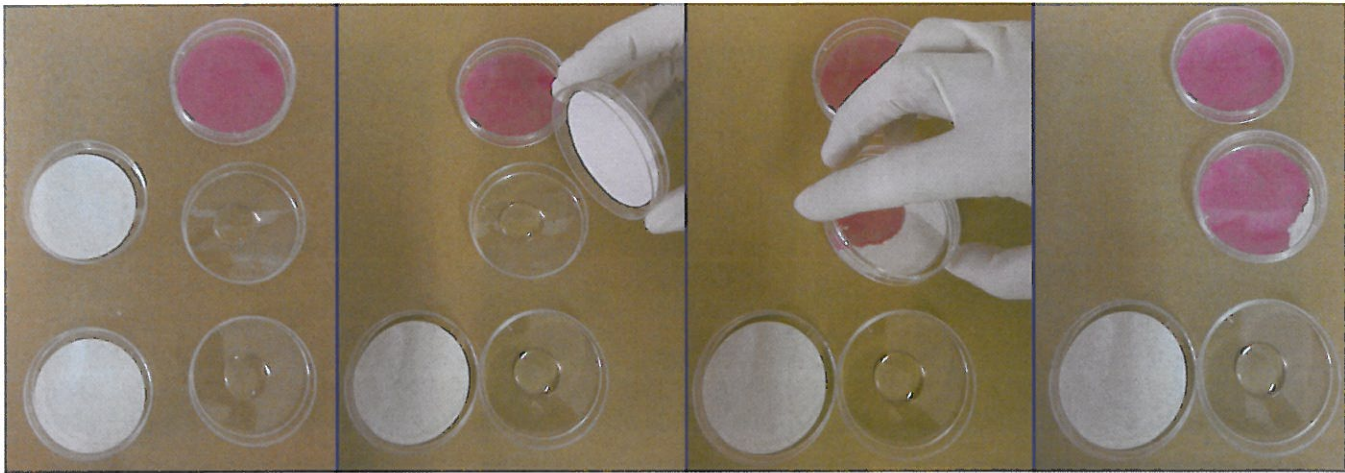
Puntos críticos para el uso correcto de las nuevas placas

En este método no hay desventajas, sólo hay puntos críticos en su modo de empleo, que si el usuario es de los que no se leen las instrucciones de un método nuevo y quieren emplearlo como hacían con el clásico, se estrellan.

Como en todo método nuevo, hay diferentes variables a tener en cuenta, y en este caso hay 6 puntos críticos que deben salvarse a la hora de emplearlas; y que significan la diferencia entre obtener valores más altos (más cercanos a la realidad, según demostró ya Pasteur con su principio de la “no generación espontánea”) y rápidos, o no encontrar nada, (si por error se siguen las pautas de la microbiología

tradicional, que nada tiene que ver con la de estas nuevas placas):

1. Este nuevo método patentado consiste en placas preparadas, pero con medio de cultivo deshidratado. Por eso pueden almacenarse sin problemas de temperatura, la única precaución es no dejar la bolsa mal cerrada para que no les entre la humedad atmosférica. Y si ésta es



Modo de empleo DryPlates sin necesidad de pinzas.

- exagerada en una ubicación concreta, además se deben almacenar las bolsas autosellables de aluminio en tupperes herméticos rellenos con silicagel.
2. Se debe añadir el disco nutritivo sobre el ml de muestra previamente añadido a la placa Petri, nunca al revés, porque si añadimos la muestra sobre el disco, no se repartirá en el medio y quedará apegotonada. El peso del disco sobre la muestra es suficiente para absorber el ml y ahorrarnos el uso de los aplicadores que son necesarios en uno de los otros dos métodos similares.
 3. Hay que intentar que la muestra quede hecha una sola gota en el centro de la placa (nivelar la cabina o poyata para que no se desplace a un lado) o de lo contrario el reparto será heterogéneo y mucho más lento. Esto no es grave, ya que igualmente saldrán tantas colonias como ufc, pero la placa no quedará homogénea y posiblemente haya zonas de islas secas. Al sembrar se puede dar la paradoja de tener una isla seca en un extremo y una gotita que no se embebe en el otro: podemos ayudar a la DryPlates a homogeneizarse simplemente poniéndola vertical durante unos segundos, con la zona seca abajo, ya que enseguida la gotita que sobra arriba,

bajará por el borde a empapar la zona seca. Y entonces ya se puede incubar.

4. No hay que voltear la placa al meterla en la estufa, ya que a simple vista da la sensación de que el 100% de la muestra se embebe en unos segundos, pero en realidad un 15-30% de la misma tarda un buen rato en absorberse y se perdería si le damos la vuelta (como sucede en el método clásico; la ventaja es que aquí no hay que esperar a que la placa solidifique y/o absorba la totalidad de la muestra).
5. Se debe impedir que las placas toquen el suelo, las paredes y el techo de la estufa, que están a temperaturas mucho más elevadas que el aire interior controlado a 25 ó 35°C. Eso secaría las placas antes de que crecieran las colonias, dando la falsa sensación de que la muestra estaba perfecta, sin contaminación microbiana. Pero este problema se delataría porque la superficie de la placa se vería seca, sin el brillo característico del agar (en este caso del hidragar). Para ello adjuntamos en cada caja un tapón naranja que sirve de podio para ponerle encima la pila de placas. Este es el mayor problema que encontraremos si no seguimos las instrucciones.

6. Por el mismo motivo del punto anterior, hay que añadir un vaso lleno de agua dentro de la estufa y si está muy vacía, varios vasos llenos de agua. Y no sobrepasar el tiempo de lectura, que en este caso suele ser muy anterior al del medio clásico.

Las DryPlates de Microkit, son un nuevo método único en el mundo, 100% diseñado y fabricado en España gracias a la sinergia y amistad entre dos empresas, una madrileña (Laboratorios MICROKIT, S.L.) y otra catalana (BC Aplicaciones Analíticas, S.A.) que comparten la patente.

Además, para cosméticos existe un kit que contiene todos los parámetros que pueden afectarles: el Cosmetikit-Easy-Plus, que permitirá a todas las fábricas realizar de forma extremadamente fácil, rápida y económica sus propios análisis microbiológicos, que además serán de la máxima fiabilidad. ■