

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

<b>MCC P/A</b>	<b>COSMETIKIT®</b>	<b>DRY PLATES®</b>	<b>MUGPLUS</b>
<b>CRIOTECA®</b>	<b>CHROMOSALM</b>	<b>DESINFECTEST®</b>	<b>CCCNT</b>
<b>PLAQUIS®</b>	<b>KITPRO-PLUS</b>	<b>CROMOKIT®</b>	<b>MBS</b>
<b>M-IDENT®</b>	<b>SEILAGUA®</b>	<b>SALMOQUICK</b>	<b>AIRESANO</b>
<b>NEOGRAM</b>	<b>ENVIROCOUNT</b>		

## **COSMETIKIT®-ISO**

100% ACORDE A LAS NORMAS ISO SOBRE MICROBIOLOGÍA COSMÉTICA, PARA SUS SEGUIDORES VOLUNTARIOS (ESAS NORMAS ISO NO SON DE OBLIGADO CUMPLIMIENTO)

### **INTRODUCCION**

Referencia: KMT460.

Con este kit y la simple ayuda de un Baño María y una estufa de cultivos, toda industria cosmética puede realizar el análisis microbiológico completo en 20 muestras diferentes, de la forma oficial (Normas ISO cosméticas). Si desea unos resultados óptimos y la máxima comodidad, utilice nuestro COSMETIKIT-EASYPLUS (ref: KMT448).

Si desea controlar también el agua, utilice nuestro COSMETIKIT-WATER (ref: KMT450). Si desea controlar también las superficies de trabajo, recipientes, etc, utilice nuestros laminocultivos DESINFECTEST® (Ej.ref: MBN407) y para las manos de operarios nuestros KITS PARA MANIPULADORES (ref: KMT020).

### **CONTENIDO (CADUCIDAD APROX. 1 AÑO DESDE FABRICACION)**



- \*20 Jeringas 20ml estériles (sin aguja)
- \*20 Pipetas Pasteur estériles.
- \*2 x 10 Frascos 90ml c/perlas para tratamiento de la muestra (Eugon LT100 Broth ISO 21148, ref: RPL026P).
- \*20 Tubos para recuento total (TSA ISO 21149, ref: TPL077).
- \*20 Tubos para levaduras y mohos (SDA Caf. ISO 16212 ref: TPL073).
- \*20 Tubos para *Pseudomonas aeruginosa* (Cetrimide Agar ISO 22717 ref: TPL100).
- \*20 Tubos para *E.coli* y demás Coliformes (EMB Agar ISO 21150 ref: TPL088).
- \*20 Tubos para *Staphylococcus aureus* (Mannitol Salt Agar ISO 22718 ref: TPL066).
- \*20 Tubos inclinados para *Candida albicans* (Biggy Agar ISO 18416 ref: TPL062).
- \*20 Tubos para *Burkholderia cepacia* (BCPT Agar ISO 22717 ref: TPL005)
- \*120 Placas Petri estériles de 90 mm.

### **MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO**

- Estufa a 35-37 °C (Ej: SIL12AR),
- Zona aséptica: Lámpara de alcohol (VLM068) o Portabunsen (ME2195+ME2196) y Envirostéril (VJM002) si no se dispone de cabina de flujo laminar.
- Test confirmativos de colonias sospechosas (todos disponibles consultando en MICROKIT).
- Cepas de referencia, de trabajo o cuantitativas para validar los reactivos una vez llegados a fábrica o tras almacenamientos prolongados o inadecuados (Ver lentículas cuantitativas estables de MICROKIT)
- Participar en servicios intercomparativos como SEILA-PARFUM para validar procedimientos y analistas.

### **MODO DE EMPLEO** (Seguir al pie de la letra para obtener resultados correctos y validados)

1.- Añadir con una jeringa estéril, asepticamente, 10 gramos o 10 ml de muestra a un Frasco 90ml Eugon LT100 Broth con perlas. Cerrar el tapón. Mezclar agitando y dejar actuar no menos de 20 ni más de 30

minutos a 21-25°C aproximados. Así se obtiene la solución madre (muestra tratada).

- 2.- Con la ayuda de una Pipeta Pasteur estéril añadir de inmediato 1 ml de la muestra tratada recién agitada a una placa Petri estéril, en condiciones asépticas. Repetir la operación en otra placa, con la misma pipeta y para la misma muestra. Es conveniente realizar duplicados (Pida más TPL077 y TPL073).
- 3.- Fundir al Baño María un tubo de **TSA** y otro de **SDA Caf.** hasta que estén totalmente licuados (si duplica las placas, funda dos tubos de cada medio por muestra).
- 4.- Cuando se hayan enfriado lo suficiente para no quemar la mano, pero sigan líquidos (45-47°C), añadir cada uno a una placa con el mililitro de muestra tratada. Los mohos también se deberían sembrar en superficie, 0,1-0,33 ml mediante asa de Digrafsky. Mejor sembrar en masa 1ml y en superficie 0,33 ml.
- 5.- Hacer girar las placas sobre la mesa 10 veces en cada sentido para asegurar la mezcla del medio con la muestra, con cuidado para que no rebose el líquido ni llegue a la tapa de la placa. Dejar solidificar sin tocar y sin apilar (si la temperatura ambiente no es elevada, 10-15 minutos serán suficientes).
- 6.- Incubar las placas en posición invertida y en total oscuridad, 3-5 días a 30-35 °C (**TSA**) y (3)-5 días a 20-25 °C (**SDA Caf.**). No apilar más de 8 placas juntas.
- 7.- A la vez que esas placas, incubar el resto de muestra tratada en **Eugon LT100 Broth** durante (24-) 48 h a 30-35°C para obtener la muestra tratada y enriquecida, necesaria para la búsqueda de patógenos. O bien pueden pasarse 10 ml a un frasco TSB (pida ref: RPL043) y 10 ml a un frasco Lactose Broth LB (pida ref: RL017) e incubar éstos, pero entonces la ausencia de patógenos sería sólo en 1 g, no en 10g.
- 8.- Añadir unas gotas (tras enriquecer no hace falta más precisión) de la muestra enriquecida, recién agitada, a un tubo inclinado **Biggy Agar Candida**, con una misma pipeta estéril y repartir, volteando.
- 9.- Añadir unas gotas de muestra tratada enriquecida, recién agitada, a una placa Petri estéril, en condiciones asépticas, que será para el **Mannitol Salt Agar**. Si se enriqueció en TSB y LB, del TSB se inocula en todas las placas menos en la de **EMB Levine Agar**, en la que se inocula desde LB.
- 10.- Fundir al Baño María un tubo de **EMB Levine. Agar**, otro de **Mannitol Salt Agar**, otro de **Cetrimide Agar** y otro de **BCPT Agar** hasta que estén totalmente licuados.
- 11.- Cuando se hayan enfriado lo suficiente para no quemar la mano, pero sigan líquidos, añadir el contenido del **Mannitol Salt Agar** a la placa con las gotas de muestra enriquecida.
- 12.- Hacer girar la placa sobre la mesa 10 veces en cada sentido para asegurar la mezcla del medio con la muestra, con cuidado para que no rebose el líquido ni llegue a la tapa de la placa. Dejar solidificar sin tocar. Esta siembra en masa es imprescindible en estafilococos.
- 13.- Verter el contenido del **EMB**, del **Cetrimida** y del **BCPT** en sendas placas Petri estériles y dejar solidificar. Sembrar en zigzag sobre la superficie de cada una de ellas, una gota de la muestra enriquecida recién agitada.
- 14.- Es una buena práctica sembrar además en otra placa de **TSA**, en zigzag, una gota del enriquecimiento recién agitado para aislar colonias e identificarlas (¡no para contarlas!), a fin de aumentar la sensibilidad para cepas estresadas, que podrían no crecer en los medios selectivos. Pida tubos adicionales de TPL077.
- 15.- Incubar las placas en posición invertida, y los tubos de *Candida albicans* en posición vertical, durante 24-72 horas a 30-35 °C. No apilar más de 8 placas y dejar espacio entre las pilas, y entre éstas y las paredes de la estufa.

## **INTERPRETACION DE RESULTADOS**

El recuento total (placas de **TSA**) no debe ser superior a 100///1000 ufc/ml ó gramo de muestra inicial, según las exigencias (cosmética infantil y de inmunodeprimidos///general). De modo que no deben aparecer más de 10-100 colonias por placa, dada la dilución 1/10 efectuada en la solución madre. Lo mismo para recuento de levaduras (colonias convexas) y mohos (colonias filamentosas) (Placas **SDA Caf.**). De lo contrario, y siempre que no haya patógenos, se puede reprocesar el lote.

No debe aparecer ninguna colonia de *Escherichia coli* (colonias metalizadas en placas de **EMB**; las demás colonias en este medio son indicadoras de coliformes, que sin ser siempre patógenos, ni indicadores exclusivos de contaminación fecal, suelen provocar alteraciones en la muestra), de *Pseudomonas aeruginosa* (colonias amarillas-verdosas o pardo-rojizas en placas de **Cetrimida**), de *Burkholderia cepacia* (colonias blancas o salmón, con medio virado a fucsia, en **BCPT**), ni de *Staphylococcus aureus* (colonias amarillas en placa de **Mannitol**), patógenos procedentes de contaminación fecal, del agua, del biofilm del agua y de operarios-aire, respectivamente.

Si aparece alguna colonia parda (que no provoque viraje de color del medio a pardo-negro) en el tubo de **Biggy**, será de *Candida albicans*, lo que demuestra contaminación por mucosas de operarios portadores. Si aparece cualquiera de los 5 patógenos, hay que destruir el lote.

Para confirmar definitivamente, consúltenos sobre nuestros kits de identificación de colonias sospechosas.