

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

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

## MONOGRAFÍA Métodos alternativos en control microbiológico de aguas

Antes de la actual legislación en microbiología de aguas de consumo humano y aguas envasadas, se empleaban medios muy clásicos (Endo, mFC, MacConkey Broth, Tergitol TTC, KF Enterococcus Agar, Nutrient Agar...) y aún antes, el sistema oficial de recuento era el **Número Más Probable (NMP, MPN)** con 9 ó 15 tubos de caldo Lauryl Sulfato, Lactose Broth Purple, EVA-Litsky, Azide Dextrose-Rothe... en vez de la **Filtración de membrana (MF)**.

Si nos remontamos más en el tiempo, descubrimos el **método Presencia/Ausencia (P/A)** que diseñaron los aliados en la segunda guerra mundial para que los soldados no murieran por beber aguas contaminadas en los campos de batalla; y que se sigue empleando en el tercer mundo para verificar la

calidad del agua de los pozos. Nuestro estimado amigo y cliente ya fallecido, Juanjo Marcén de Zaragoza, nos introdujo apasionado en 1994 en el tema P/A por una publicación de USA que demostraba que este método había sido retomado por dos grandes multinacionales de allá porque era capaz de encontrar un 33% más de positivos reales que la Filtración de membrana en coliformes-*E.coli*. Y de ahí surgió nuestro primer kit P/A cuando MICROKIT cumplía 5 años de



Actual Colicult-MCC, en la foto empleado en frasco tomamuestras.  
Izda: Coliformes (azul). Dcha: negativo, sin viraje a azul.

edad, el Colicult, que en aquellos tiempos era caldo MacConkey púrpura y concentrado, en frasco de 125 ml, con campanas Durham largas que nos fabricaba especialmente un vidriero para que sirviesen en frasco para analizar 100 mL de agua. El también amigo Juan Pablo de León nos ayudó a mejorar estos kits con la adición de TiosNa para neutralizar el cloro. Más adelante, con la creación de los medios cromogénicos, profundizamos en este campo, dimos el salto al actual Colicult-MCC y ampliamos la gama P/A a todos los microorganismos de interés, aparte de los coliformes-*E.coli*: Enterococos fecales, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Aeromonas spp*, *Burkholderia cepacia*, *Vibrio parahaemolyticus*, Hongos, Microalgas, Cianobacterias, Bacterias del hierro, *Salmonella-Shigella*, *Campylobacter* y *E.coli* O157. La gama más completa de este

planeta de kits de análisis microbiológicos de agua por el sistema P/A. Y en 3 formatos diferentes: Frascos tomamuestras, viales pre-pesados y botes de polvo estéril con dosificador.



*Diversos medios P/A para todos los parámetros del agua, empleados en muestras de agua analizadas en bolsas stand-up*

Más adelante, la ortodoxia normativa impuso la necesidad de buscar recuento para exigir ausencia es decir, había que **“contar ceros”**; todo un absurdo, porque la legislación exige “0 ufc/100 mL”, es decir, ausencia en 100 mL, pero para demostrarlo hay que usar métodos de recuento sólo porque alguien escribió un “0” en vez de poner “ausente”. Da igual que haya 2, o que haya 5.000 ufc: si no hay 0, la muestra no es aceptable. Desde entonces, muchos laboratorios del mundo pierden su tiempo en contar, para demostrar que hay cero (ninguna colonia o ningún tubo P/A). Una de las grandes multinacionales que comentábamos antes, cerró su completa gama de kits P/A por este motivo: ¡ya nadie le compraba kits P/A! La otra, y nosotros, apostamos por no discontinuarla y nadar contra corriente. Tuvimos que convertir, para muchos clientes, a regañadientes de todos, los métodos P/A en métodos NMP, nosotros



*Prueba de que el método P/A es más sensible que el NMP: Una misma muestra de 100 mL, en los 55,5 ml del NMP (5 pocillos de 10 ml, 5 de 1 ml y 5 de 0,1 ml) da todos negativos, mientras los restantes 44,5 ml de la cubeta grande (P/A) da positivo para Pseudomonas aeruginosa con Pseudocult de MICROKIT: ¡Recuento 0 pero presencia! Esta foto es la bofetada que merece la actual normativa, por obligar a perder tiempo contando, para buscar legislativamente 0 ufc/100ml.*

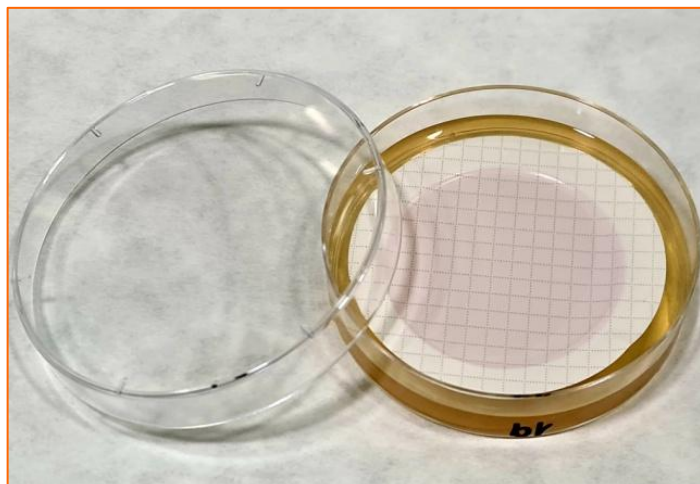
con las **cubetas NMP-Racks**, japonesas y reutilizables, que seguimos comercializando y ellos con unos blisters desechables que requieren un aparato especial. Nos alejábamos así ambas entidades de la parafernalia de los tubos múltiples y facilitábamos, cada uno a su manera, el trabajo de miles de laboratorios. La diferencia es que la multinacional consiguió hasta una Norma ISO que la apoyó en este tema. Las pymes no tenemos esa opción, aunque nuestra solución sea exactamente igual de válida.

Más adelante en MICROKIT también inventamos otro método alternativo que recuenta sin necesidad de filtración de membrana y sin necesidad de NMP, gracias a nuestro gelificante en frío “hidragar” que nos costó 23 años crear: Las **Quanti-P/A (QPA)**, de máximo interés en *Clostridium perfringens* y en Clostridios sulfito-reductores, porque demuestra ser el único método de recuento que funciona para anaerobios estrictos: La filtración obtiene entre el 45 y el 100% de falsos negativos y unos recuentos entre 1 y 3 log por debajo del valor inóculo o real, mientras QPA demuestra un 0% de falsos negativos y unos recuentos tremendamente exactos con respecto al valor inóculo o real. Además QPA-TSC y QPA-SPS no necesitan incubación en atmósfera de anaerobiosis.



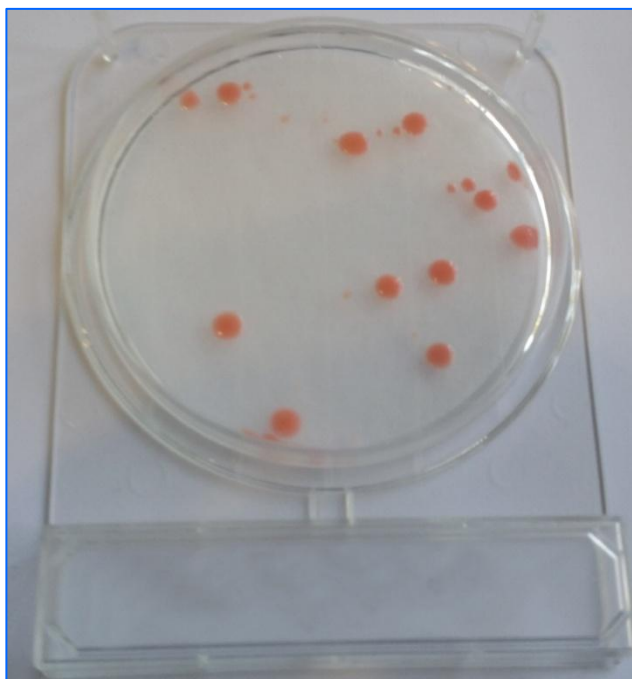
*QPA-TSC: detección y recuento FIABLES de Clostridium perfringens en 100 mL de muestra de agua*

Porque ¿de qué sirve incubar en atmósfera de anaerobiosis, cuando durante la filtración ya nos hemos cargado las células diana a causa de la oxigenación extrema que ese método produce? Tampoco las cubetas del NMP son válidas para anaerobios (la multinacional ni siquiera ha encontrado una solución para este parámetro). Pero como decíamos antes, somos una pyme sin recursos para convertir este fantástico método en Norma ISO, como merecería la humanidad.



*Residuo rojo de FTM (resazurina oxidada) por hiper-oxigenación durante la filtración de membrana, lo cual destruye las células de anaerobios estrictos como Clostridium perfringens, de ahí semejante proporción de falsos negativos de este parámetro en los laboratorios de todo el mundo, como muy bien saben los participantes en servicios intercomparativos de microbiología de aguas*

La solución para el **recuento de aerobios** fue anterior a las QPA, de hecho éstas derivan de dicha solución (gracias a una ampliación mental del tema hidragar, nuestro gelificante tridimensional en frío). En el caso de los aerobios había que encontrar un método de siembra en masa de sólo 1 ml de agua, en vez de 100 mL (ó 250 mL en aguas envasadas) que requieren los demás parámetros. Y ahorrar a todos los laboratorios del mundo el tener que seguir calentando y enfriando agares (uno de los puntos más críticos de cuantos hemos encontrado en microbiología, ya que muchas cepas no resisten el calentamiento a 47°C de la inclusión en masa en agar-agar, y se hacen inviables: falsos negativos). Cuando inventamos las DryPlates, hace ya 10 años, el parámetro que más nos costó conseguir fue precisamente este de recuento de aerobios. Hubo que sumar un año más a los 23 que nos había costado conseguir el hidragar y por tanto las DryPlates, para conseguir las DryPlates-TC con PCA. Y aún más (hasta 2017) para conseguirlas con los diferentes agares de recuento de aerobios: las **DryPlates-TC Water** con YEA (PCA oligotrófico para aguas según ISO 6222), con R2A (medio oligotrófico farmacopea) y con TSA (normal y cromogénico). Todo laboratorio de aguas que ha probado

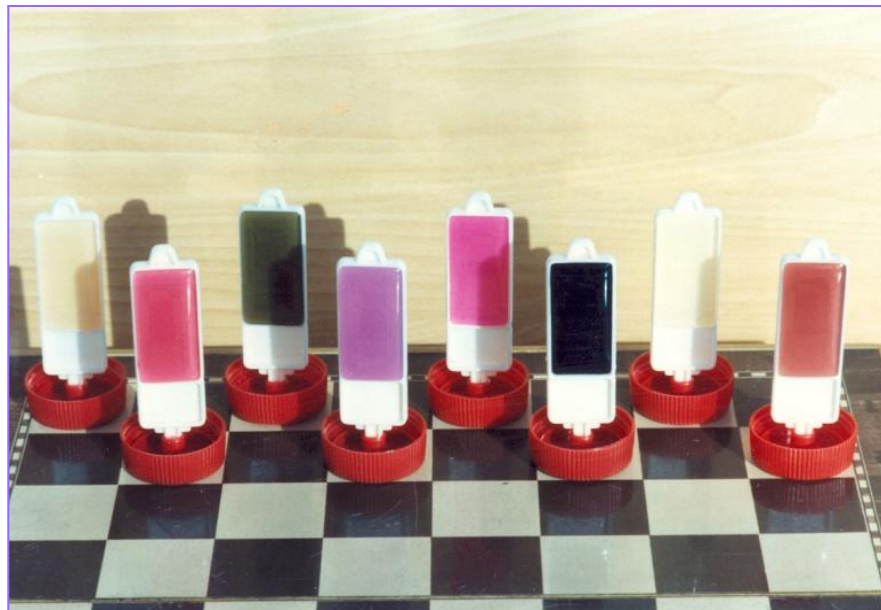


*Recuento en masa de aerobios en 1 mL de agua sin necesidad de calentar-enfriar agares. Crecimiento rápido y con mejor contraste de las colonias rojas de diversos tamaños*

las DryPlates para recuento total de aerobios queda enamorado del método que le ahorra fundir y enfriar agares (de la muestra a la estufa en breves segundos) y encima le permite usar exactamente el medio de cultivo oficial de su sector de trabajo. Dado que las colonias contrastan mucho mejor con el medio que en los medios clásicos, y que crecen más rápido y más pequeñas cuantas más hay (por competencia entre ellas por el sustrato), a pesar del menor diámetro de las placas con DryPlates, se pueden contar desde 1 hasta 200 colonias de aerobios. Para recuentos más altos (muestras más contaminadas), se pueden hacer diluciones o se puede emplear el siguiente método alternativo.

Pero el invento más veterano con el que nació MICROKIT hace ya 33 años son los **DESINFECTEST**. Mossel se quedó prendado cuando vino a España y vió que los **dipslides**, gracias a nosotros, ya tenían nombre en español: **laminocultivos**. Ahora todo el mundo los llama así, pero pocos saben que fuimos nosotros quienes inventamos el nombre. Antes se llamaban urocultivos porque nacieron, con otros medios de cultivo clínicos, para el control de las UTI (Infecciones del Tracto Urinario). Pues bien los laminocultivos de la marca DESINFECTEST (nuestra primera marca registrada) siguen permitiendo a cientos de laboratorios de toda España e Iberoamérica controlar las aguas y otros líquidos con alta carga microbiana (>1.000 ufc/ml), por inmersión. Aparte de su indudable valor como sustitutos de

las placas Rodac en el control de superficies por contacto, sobre todo en superficies curvas y en trabajos donde hay que desplazarse fuera de las instalaciones del laboratorio y las placas Rodac son poco recomendables para transportar.



*Laminocultivos DESINFECTEST, 33 años ayudando a cientos de laboratorios con muestras de alta carga microbiana, a ahorrar diluciones; y a controlar superficies.*

Todos estos métodos ayudan a miles de laboratorios de todo el mundo a hacer su trabajo mejor, más rápido, con mejores resultados y de forma más cómoda. A pesar de los constantes e incongruentes obstáculos que les pone el matrix ISO. Porque hay algo que los ortodoxos nunca van conseguir: aborregar a los analistas que creen en lo que ven, más que en lo que leen, es decir, a los auténticos científicos.



FOTOGRAFIA - JOAQUIN TORNERO

