

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 Neutralización de conservantes y aditivos en producto final, para minimizar falsos negativos en microbiología de alimentos. Otras soluciones.

El hecho de ser, a la vez, creadores de medios de cultivo y coordinadores y evaluadores del servicio intercomparativo Seilalimentos desde 1998, nos ha colocado en una posición privilegiada en el mundo de los proveedores de medios de cultivo y kits de análisis microbiológicos de alimentos, al haber ido constatando durante estos 24 años cuáles eran los parámetros más conflictivos para los que tuvimos que ofrecer soluciones (si no conoces un problema, nunca intentarás solucionarlo): *Staphylococcus aureus*, recuento de Enterobacterias, recuento de Acidolácticas, recuento de hongos, detección de *Listeria monocytogenes*, detección/recuento de *B.cereus*, detección/recuento de clostridios sulfito-reductores, incongruencia de encontrar *E.coli* e informar ausencia (o recuento 0) de Enterobacterias o Coliformes... Resultaron mucho más robustos parámetros como *Salmonella spp*, *E.coli* y recuento de aerobios. Pero sobre todo, descubrimos un problema enquistado en microbiología de alimentos que ninguna ISO parece atreverse siquiera a comentar, y que ha obtenido el nombre etéreo (sin solución aparente) y más generalizado de “Efecto matriz”:

La ausencia de neutralización de los conservantes de la muestra (empleando de inicio simple Agua de Peptona Tamponada, en el mejor de los casos), que es lo que constatamos provoca más resultados falsamente negativos en todo tipo de laboratorios, se empleen después las técnicas o los medios de cultivo que se empleen. Alguna Norma ISO moderna habla ya de emulsionar las grasas con polisorbato 80, pero esto está muy lejos de solucionar el grave problema al que se enfrentan los laboratorios alimentarios, sobre todo los multidisciplinares que trabajan con diferentes tipos de matrices



(lácteos, cárnicos, pescados, mariscos, legumbres, frutas, ovoproductos, mezclas dietéticas, papillas infantiles...), que suelen incorporar conservantes naturales (especies) y ya nadie recuerda que no se incorporan para dar sabor o picor, sino que precisamente los hombres prehistóricos los fueron seleccionando empíricamente para eliminar patógenos (miel, azúcar, sal, ajo, cebolla, pimentón, pimienta, ají-guindilla, cúrcuma, canela,

clavo, mostaza, jengibre, cardamomo, perejil, cilantro, apio, azafrán, clavo, comino, anís, plantas aromáticas como romero, tomillo, orégano... es decir, especias en general). Si no los neutralizamos, estén o no declarados dentro de la fórmula del alimento, es muy probable que los análisis que hagamos no sirvan para nada más que para tirar nuestro tiempo y dinero, al menos de vez en cuando y para ciertos microorganismos.

Nos toca humildemente, en microbiología de alimentos, aprender de otros sectores de la microbiología que, aunque nacieran después, sí que tienen rigurosamente en cuenta este hecho. Por ejemplo en aguas de consumo, a nadie se le ocurre hacer un análisis microbiológico sin neutralizar antes el cloro con Tiosulfato (problema mayor son los municipios o situaciones en los que se emplean Flúor o Iodo); o en cosméticos, a nadie se le ocurre analizar una muestra sin antes inactivar el pool de conservantes de su fórmula con caldos especiales, como Letheen, Eugon, D/E o LPT Neutralizing Broth.



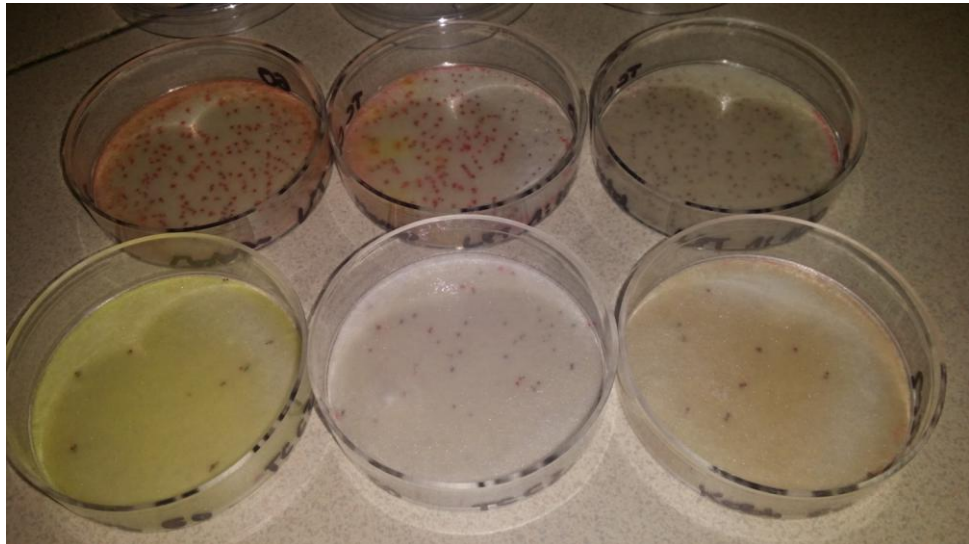
Dada nuestra posición privilegiada de conocer los problemas del día a día gracias al inter Seilalimentos, y a la vez ser diseñadores de medios, en las últimas décadas hemos tenido el honor de resolver muchos de estos problemas (como se manifiesta con la excelencia de resultados de los participantes veteranos con respecto a las calificaciones mediocres o deficientes de los participantes noveles que todavía no conocían estos problemas). A menudo un simple cambio de medio de cultivo ha resuelto la situación (por ejemplo el paso generalizado en Listeria de Oxford y Palcam a Ottaviani & Agosti Agar, en estafilococos de Baird Parker a XStaph, etc). Y en otras ha habido que cambiar el protocolo entero. Pero uno de los cambios más notables fue el cambio del Agua de Peptona Tamponada por un caldo que, además, neutralizase los conservantes (conocidos o no) del alimento.

Y así fue como creamos el medio Buffered Peptone Neutralizing Water que tan excelentes resultados proporciona a los laboratorios que lo sustituyen por la clásica Agua de Peptona Tamponada (Buffered Peptone Water) para la solución madre del alimento, ya que este nuevo medio inactiva todos los conservantes alimentarios típicos (salvo algunas excepciones de gran carga como son las fábricas de los propios conservantes, donde ha tocado a veces considerar que el elevado poder inhibitorio intrínseco de, por ejemplo, la pimienta, permite no realizarle análisis de Listeria, ya que haya la cantidad que haya del microorganismo, no se va a poder manifestar). Este medio está proporcionando las más elevadas calificaciones del rendimiento a los laboratorios que ya los han sustituido en Seilalimentos; tanto en los recuentos como en la detección sin errores de los patógenos alimentarios en todo tipo de matrices. Al menos ya se empieza a hablar en alimentos, como se lleva haciendo toda la vida en cosméticos, de muestras con “elevado poder inhibitorio intrínseco”. Nos congratula ver como proveedores de muestreadores microbiológicos para fábricas de alimentos de USA han llegado a la misma conclusión que nosotros y han creado el que ellos llaman “FDA Broth”.

Pero los resultados comparados entre usar o no usar estos caldos neutralizantes no arrojaron un 100% de correlación con la excelencia de resultados, de modo que había otro

factor que no se tenía en cuenta y se nos escapaba. Hasta que tuvimos la iluminación de emplear como matriz una salmuera y los fatales resultados generales se repitieron al emplear como matriz una jalea (ambas tenían en común gran cantidad de sales o de azúcares que provocaban un choque osmótico letal en la solución madre) y también al emplear como matriz directamente especias. En el histórico de Seilalimentos, los laboratorios que fueron capaces de conseguir las máximas calificaciones de rendimiento (detectar el máximo número de microorganismos inoculados) en este tipo de matrices muy inhibitorias, tenían algo en común: partían no sólo de la dilución madre (-1) en Buffered Peptone Neutralizing Water, sino además, duplicando todo el ensayo desde su dilución (-2). En la foto observamos esta paradoja de

obtener mayores recuentos a mayores diluciones que han quebrado la lógica de más de un microbiólogo de alimentos, hasta el punto de “decidir” que había marcado al revés las placas.



Paradoja del poder inhibitorio intrínseco de algunos alimentos: Abajo, madre (-1) con 10 veces menos colonias que arriba, dilución -2

Otro aspecto interesante que descubrimos junto a todos los estimados participantes en Seilalimentos, es el por qué de los recuentos tan dispares entre unos y otros laboratorios en el parámetro de recuento de hongos. Y lo descubrimos al observar lo que se ve en esta foto de una solución de *Aspergillus niger*, donde se ve claramente como las esporas negras de mohos flotan en cuestión de segundos. Si no tenemos esta verdad en cuenta y no agitamos cada vez inmediatamente antes de tomar cada alícuota en las diluciones y en el paso a placa, al tomar la muestra del centro del tubo o frasco, estaremos tomando muchísimas menos esporas de mohos que las que hay en realidad y obtendremos recuentos muy bajos, o incluso un resultado falsamente negativo.



Esporas de moho concentradas en la superficie del caldo en sólo 30 segundos; si no agitamos entre cada dos siembras, los recuentos de inóculos tomados a media altura serán ínfimos respecto a la realidad, o incluso no detectaremos.

Otra conclusión muy importante de los inters Seilalimentos es que a menudo, no es el método alternativo el que falla o deja de fallar, sino su implantación en los diferentes laboratorios, en algunos de los cuales falta un entrenamiento adecuado del método y en otros obtienen mejores resultados que el método clásico. Casi todos los métodos alternativos que

están en el mercado actual funcionan al menos igual de bien que el método estándar, estén o no validados internacionalmente.

Y por supuesto, hemos aprendido que el hecho de participar en estos inters proporciona a los laboratorios participantes una herramienta excepcional para la mejora de la calidad de sus análisis; de modo que la carencia de participación de algunos laboratorios en inters, los enquista en el siglo pasado, por muy a rajatabla que sigan protocolos "ISO" y por mucho que demuestren seguirlos a la perfección. Porque ningún método ISO es infalible para todo tipo de matrices y si no lo sabemos, nunca lo solucionaremos.

No se puede resumir en un simple monográfico todo lo que hemos aprendido en 24 años de intercomparación, pero hemos intentado esbozar los problemas más generalizados en control microbiológico de alimentos y las soluciones que ya están al alcance de la mano de cualquier laboratorio que prefiera cambiar todos sus protocolos en su primer paso (solución madre), a arriesgarse y seguir obteniendo resultados con inmensa incertidumbre a causa de problemas que hasta ahora probablemente le eran completamente desconocidos, pero ahora ya sabe no sólo que existen, sino además que los puede solucionar.

Esperamos, mediante estos 22 monográficos, haber ayudado a los analistas que creen en lo que ven, más que en lo que leen, es decir, a los auténticos científicos. Cuando se habla de la impredecibilidad de la microbiología, en realidad estamos reconociendo que nos faltan premisas para tomar las decisiones correctas, como ha sucedido a lo largo de toda la historia de la ciencia, cuando "verdades irrefutables" se desmoronaban a la luz de una nueva premisa que había pasado desapercibida hasta entonces.

Confiamos que estas nuevas premisas que les regalamos hoy en este monográfico (efecto matriz por conservantes desconocidos, inefectividad de la solución madre en salmueras, jaleas y especias, necesidad de agitación inmediata en mohos, incongruencias en la expresión de resultados *E.coli*-Coliformes-Enterobacterias, parámetros microbiológicos menos robustos...), sumadas a otras innumerables premisas que le hemos ido aportando en los anteriores monográficos, le ayuden a disminuir la incertidumbre de sus resultados (sin intentar calcular el valor de dicha incertidumbre, por favor). A nosotros nos llegó gratuitamente su conocimiento gracias a estar en una posición privilegiada como coordinadores de intercomparativos y, a la vez, diseñadores de medios y métodos. Justo es que ahora regalemos estos conocimientos a nuestros estimados clientes y también a nuestros posibles futuros clientes y en general, a nuestros colegas de la ciencia.

En esta última monografía no hay promoción de productos relacionados, pero háganos directamente (sin distribuidores intermediarios) un pedido superior a 500 € de productos MICROKIT y solicite de regalo el libro en pdf que reúne todas estas 22 monografías (hemos eliminado las ofertas promocionales de cada una de ellas)

Agradecemos sus pedidos, única fuente de nuestros ingresos, como pago voluntario que permitió el desarrollo de estos monográficos de formación.

Promoción válida para cualquier pedido directo (sin intervención de intermediarios) recibido antes del 31 de Marzo de 2022 en la que indique estos precios especiales.

Portes pagados para envíos superiores a 120 € en Península y Baleares. Enviado el 07/03/2022

El 3 de Noviembre de 2022 MICROKIT cumplirá 33 años ¡Felicidades, MICROKIT!

¡Nuestra fabricación de cepas en lenticulas cuantitativas ha cumplido 10 años! Aparte de los innumerables clientes que las eligen año tras año en 2 continentes, ya hay 3 servicios intercomparativos (aparte de nuestros SEILAs) que las han elegido como las cepas más adecuadas para sus inóculos, trabajando uno de dichos servicios bajo ISO 17025. De hecho, en 2021 las ventas de nuestras cepas en lenticula se han multiplicado por 2 respecto a 2020.

Desde Septiembre de 2021, además, distribuimos en toda España (excepto Cataluña y Andalucía, donde ya había distribuidor previo) **cepas de referencia** (controladas por un laboratorio ISO 17025), **cepas de referencia certificadas** (controladas por una red de laboratorios ISO 17025) y **cepas de referencia acreditadas por ENAC**, fabricadas todas ellas en España bajo Norma ISO 17043. Consúltenos si necesita este tipo de cepas para evaluar el sesgo, la exactitud y la precisión de sus validaciones, así como para emplear cepas que nosotros no fabricamos (Legionella, Campylobacter, Cronobacter, Rhodococcus, Yersinia...) y para la línea **Pharmacopea**; consulte su catálogo completo aquí: <https://www.medioscultivo.com/wp-content/uploads/2021/09/Catalogo-Materiales-de-Referencia-ielab-2021.pdf>

Si nadie le exige este tipo de cepas, puede seguir con nuestras cómodas y longevas lenticulas para el control de calidad cuantitativo de los medios de cultivo, control de proceso, gráficos de control, Challenge Test...

Desde 2022 desaparecen Seilaparfum y Seilambiente. Pasamos el relevo a ielab, que organizan ejercicios similares desde entonces. Consúlteles en www.ielab.es. Mantenemos Seilalimentos (y Seilasuperficies por el tema Listeria).

¡Nuestras DryPlates cumplen ya 10 años en 2022! Cientos de miles de DryPlates han sido ya implantadas en numerosos laboratorios por el extraordinario ahorro de tiempo que implican, ya que son las únicas placas deshidratadas estériles que ofrecen la gama completa necesaria y además pueden sembrarse en masa y también en superficie (membranas, estría, Digralsky). De hecho, hace ya años que el moldista de plástico no puede servirnos ni siquiera la mitad de las cassettes necesarias y tenemos que enviar el resto con placas de 55 mm vulgares.

Aquí terminan los monográficos de MICROKIT. Hemos estado un año entero enviando periódicamente a toda nuestra base de datos (5.000 laboratorios de toda España) estos 22 documentos de conocimiento. Elegimos esta opción durante la pandemia en vez de los típicos webinars, porque queremos ser diferentes, incluso en esto. Lo dramático es que a raíz de esta iniciativa ha habido más laboratorios que se han dado de baja de nuestros correos (2%) que laboratorios que hayan hecho pedidos (0,3%). Por eso le pedimos por ultima vez su ayuda, con un pedido de cualquier producto MICROKIT, y para animarle, añadimos el siguiente resumen de lo que opinan de nosotros quienes mejor nos conocen: nuestros clientes, para que quienes siguen sin serlo, conozcan las ventajas que nos hacen ser mejor opción que otros proveedores:

¿POR QUÉ MICROKIT?

ESTAS SON LAS RESPUESTAS DE NUESTROS AMABLES CLIENTES A LA ENCUESTA DE 2021. RESPUESTAS QUE RESALTAN NUESTROS VALORES AÑADIDOS Y PUEDEN SUMARSE A LO INDICADO EN LETRA VIOLETA BAJO LA FIRMA DE NUESTROS EMAILS

- Tenéis soluciones ingeniosas para muchos problemas.
- Sois el mejor proveedor para implantar nuevos parámetros.
- Sois mis favoritos en el 90% de las cosas.
- Entendéis los problemas y ofrecéis soluciones adecuadas.
- Aportáis nuevas tecnologías en microbiología.
- Sois una empresa fiable y tenéis productos de confianza.
- Sois de gran ayuda para el laboratorio de microbiología.
- Dáis una atención rápida y personalizada.
- Tenéis un trato estupendo, humano y cordial.
- Enviáis mucha información útil.
- Ofrecéis un amplio catálogo.
- Habéis destacado en la pandemia con vuestros Monográficos gratis, me han sido muy útiles.
- Contestáis muy rápido las consultas.
- Dáis un buen asesoramiento.
- Transmitís conocimientos muy elevados de lo que contratamos.
- Sois un soporte importante y de calidad.
- Siempre estáis disponibles para ayudar en dudas técnicas.
- Ofrecéis buena calidad
- Sois rápidos en el suministro, tenéis buenos plazos de entrega
- Tenéis un potente espíritu crítico que nos hace ver otras realidades muy interesantes.
- Aportáis mayor seguridad en la calidad de nuestros fabricados.

SI SUS PROVEEDORES CARECEN DE ALGUNAS DE ESTAS VENTAJAS...

¡YA ES HORA DE PROBARNOS! LLEVAMOS 32 AÑOS A SU SERVICIO