



LABORATORIOS
MICROKIT, S.L.



1

Optimizando la Sensibilidad en el Recuento de Superficies

Estudio interlaboratorio realizado entre Septiembre/2000 y Septiembre/2001, patrocinado y coordinado por Laboratorios MICROKIT, y con 14 participantes, uno de los cuales prefiere permanecer en el anonimato:

- 1-Empresa de desinfección.
- 2-Laboratorio de Salud Pública de León, Dra. A.Funes Vico
- 3-Dpto.Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Dra. Carmen de la Rosa Jorge
- 4-SACIM, Catí (Castellón), D. Juan Gozalbo Gómez
- 5-Asesoría Alimentaria, Fuenlabrada (Madrid), Dña.Carmen Humbrias/ Dña.Ainhoa Carballeda
- 6-COSMHOGAR, Rubí (Barcelona), Dña. Rosalina Sala
- 7-C.M.A. Otte-López, Majadahonda (Madrid), Dra.López Sánchez
- 8-Laboratorios VIÑAS, Barcelona, D^{ña} Esther Jubert Gómez
- 9-BIONORMA, Madrid, Dr. A.Fernández
- 10-Laboratorio COBREROS, San Sebastián (Guipúzcoa), Dra.Teresa Cobreros
- 11-PROCSA, Vigo (Pontevedra), D. Alberto Portela Vázquez
- 12-HOCHLAND ESPAÑOLA, Viladecans (Barcelona), D^{ña} Carme Soriano
- 13-Lab.BIOCONTROL, Bollulos de la Mitación (Sevilla), D^{ña} Ana Vázquez Gordillo
- 14-Lab.MICROKIT, Valdemorillo (Madrid), D. Jorge Sanchis Solera



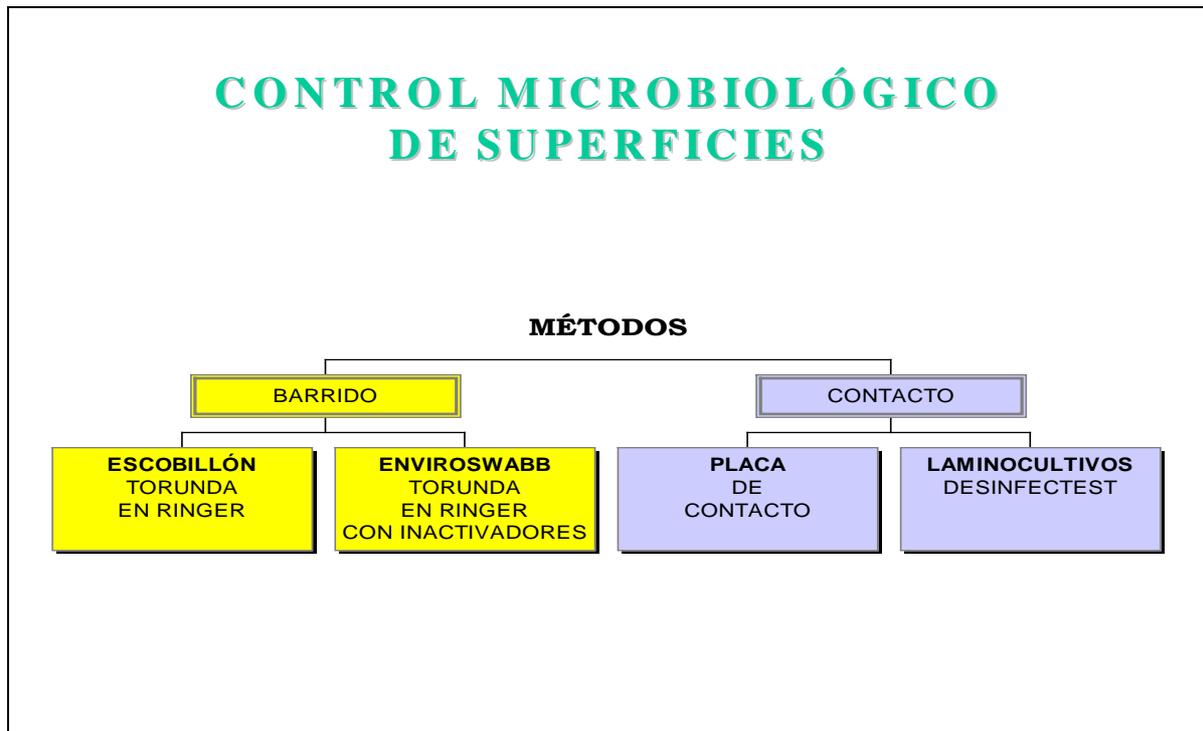
RESUMEN

Se ha realizado un muestreo comparativo entre los diferentes métodos de control microbiológico de superficies:

- a)-Barrido con escobillón y posterior siembra en placa Petri (dos versiones, torundas en Ringer y ENVIROSWABBS -torundas en Ringer con inactivadores-) y
- b)-Contacto directo del medio de cultivo con la superficie (dos versiones, placas de Contacto y laminocultivos DESINFECTEST).

Se detecta una mayor sensibilidad para el método de contacto y una mayor idoneidad del método de barrido en superficies poco accesibles y/o muy sucias.

Se aprovecha para comparar no sólo los dos métodos y los cuatro submétodos, sino también los medios de cultivo de recuento general utilizados (Agar Neutralizing MICROKIT, Agar Neutralizing DIFCO, Total Charcoal Agar MICROKIT y PCA de diversas marcas), así como la mayor o menor idoneidad de la lectura de resultados en el 2º, 3º y/o 5º día de incubación.



El material necesario para este estudio ha sido íntegramente cedido a los participantes por Laboratorios MICROKIT. El número de muestras ha sido de 10 por participante: total 140 muestras comparadas, mediante 130 escobillones, 110 ENVIROSWABBS, 260 tubos de Agar Neutralizing MICROKIT, 400 Placas de Contacto de Agar Neutralizing MICROKIT y 1.100 laminocultivos DESINFECTEST con una cara de Agar Neutralizing DIFCO y otra de Total Charcoal MICROKIT.

Con el fin de minimizar variables, la temperatura de incubación ha sido constante para cada muestra comparada, y cada participante ha actuado sobre 10 muestras similares, aunque las muestras entre diferentes participantes no tienen nada que ver:

- 1-Suelos de un supermercado,
- 2-Laboratorio de la Administración,
- 3-Laboratorio de la Universidad,
- 4-Fábrica de embutidos,
- 5-Sala de elaboración aves y pescados,
- 6-Laboratorio cosmético,
- 7-Cocinas,
- 8-Dependencias de un Laboratorio Farmacéutico,
- 9-Imprenta,
- 10-Canales de Vacuno,
- 11-Empresa de productos congelados,
- 12-Fábrica de queso,
- 13-Muestras desconocidas
- 14-Laboratorio de Industria microbiológica.

Por eso se tratan los resultados por separado para cada participante, aunque luego se trata de llegar a conclusiones conjuntas.

Corregimos los valores registrados como **A**superiores a las clásicas 300 ufc/placa Petri, a las 120 ufc/placa de Contacto y a las 48 ufc/cara de laminocultivo **@**que equivalen, en todos los casos, a 480 ufc/100 cm². De modo que todo valor recibido que sea superior a 480 ufc/100 cm² se considera exactamente 480 ufc/100 cm², como regla nemotécnica 5 ufc/cm². De este modo se evita la distorsión de resultados provocada por una varianza excesivamente alta, que anularía la validez del estudio. Además, así han podido incluirse en las hojas de cálculo los valores superiores a 480 ufc/100 cm², que no han sido señalados como **A**contables **@**sino con un número concreto, en vez de despreciarlos.

Cada muestra de superficie fue de 100 cm², porque habíamos comprobado con anterioridad (ESPONERA, A.& Co., Estudio comparativo entre diferentes medios de cultivo en placa de contacto para control microbiológico -recuento total- de superficies. Técnicas de Laboratorio, Junio 1992) que los microorganismos en superficies de ambientes humanos, sufren una distribución no homogénea, sino contagiosa (junto a las partículas de materia orgánica), de modo que muestras de menor tamaño no resultan representativas y distorsionan los resultados del estudio.

Se tabularon los resultados obtenidos, siempre en valores de ufc/100 cm², de modo que la comparativa fuese más fácil a golpe de vista. Se obtuvieron así un total de 1.234 datos comparables. Se extrajeron las medias y varianzas para cada participante. Se exponen las comparaciones de todos los métodos y submétodos utilizados por cada participante: (**Ver Tabla Resumen**)

En el **participante 1**), suelos, encontramos una media de 48,17 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 50,5 ufc/100 cm², una similitud muy patente entre los métodos de contacto y de barrido (1,07 veces más recuento mediante contacto que mediante barrido), y una similitud muy evidente entre los submétodos de escobillón y ENVIROSWABBS (1,05 veces más recuento con escobillón seco que con ENVIROSWABBS). El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,03 veces; el del 5º al 3º día es de 1,05 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,08 veces, lo que parece indicar que en estas muestras no había flora de crecimiento lento y que no vale la pena esperar a los recuentos del 3 día, ni mucho menos a los del 5º.

En el **participante 2**), laboratorio, encontramos una media de 37,45 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 48,77 ufc/100 cm², una gran similitud entre el método de contacto y el de barrido (1,05 veces más recuento mediante contacto que mediante barrido), y una mayor sensibilidad (1,26 veces más recuento) del submétodo de barrido con ENVIROSWABBS con respecto al de contacto con placa de Contacto. El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 4,91 veces; el del 5º al 3º día es de 1,50 veces; y el del 5º al 2º día es de 7,36 veces, lo que indica la conveniencia de la espera de la lectura hasta el 5º día.

En el **participante 3**), laboratorio, encontramos una media de 10,85 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 17,62 ufc/100 cm², una enorme diferencia entre el método de contacto y el de barrido (4,91 veces más recuento con el primero que con el segundo), una impresionante diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 21,34 veces más recuento que ENVIROSWABBS), 3,91 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO, y 1,36 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar MICROKIT (2,87 veces más recuento con Neutralizing MICROKIT que con Neutralizing DIFCO). No procede comparar la placa de Contacto con el laminocultivo, al tratarse de medios diferentes en todos los casos. El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,13 veces; el del 5º al 3º día es de 1,02 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,15 veces, por lo que probablemente el incremento entre el 5º y el 2º día no justifica la espera hasta el 5º día, ni probablemente del 2º al 3º.

En el **participante 4**), embutidos, encontramos una media de 167,19 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 254,36 ufc/100 cm², una importante diferencia entre el método de contacto y el de barrido (2,06 veces más recuento con el primero que con el segundo), y una cierta diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 1,36 veces más recuento que ENVIROSWABBS). El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,31 veces; el del 5º al 3º día es de 1,19 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,56 veces, que debe considerarse significativamente superior, lo que justifica la espera, sobre todo del 2º al 3º.



LABORATORIOS

MICROKIT S.L.



5

En el **participante 5**), aves y pescados, encontramos una media de 15,53 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 36,97 ufc/100 cm², una importante diferencia entre el método de contacto y el de barrido (3,77 veces más recuento con el primero que con el segundo), y una impresionante diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 55,09 veces más recuento que ENVIROSWABBS). El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,01 veces; el del 5º al 3º día es de 1,09 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,10 veces, lo que parece indicar que en estas muestras no había flora de crecimiento lento y que la espera del 2º al 5º día no se justifica mucho, y menos aún del 2º al 3º.

En el **participante 6**), cosmética, encontramos una media de 17,53 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 32,62 ufc/100 cm², una gran diferencia entre el método de contacto y el de barrido (2,24 veces más recuento con el primero que con el segundo), una cierta diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 1,23 veces más recuento que ENVIROSWABBS), 1,36 veces más recuento con Neutralizing Agar MICROKIT que con Total Charcoal Agar, 2,62 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO (3,57 veces más recuento con Neutralizing MICROKIT que con Neutralizing DIFCO). El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,05 veces; el del 5º al 3º día es de 1,06 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,12 veces, lo que probablemente no justifica la espera del 2º al 5º día, ni siquiera del 2º al 3º.

En el **participante 7**), cocinas, encontramos una media de 133,54 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 312,11 ufc/100 cm², una gran diferencia entre el método de contacto y el de barrido (1,91 veces más recuento con el primero que con el segundo), ninguna diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 1,00 veces igual recuento que ENVIROSWABBS), y nada menos que 8,09 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO. El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,51 veces; el del 5º al 3º día es de 1,18 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,78 veces, lo que justifica la espera hasta el 5º día y del 2º al 3º día.

En el **participante 8**), cosmética, encontramos una media de 42,09 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 80,76 ufc/100 cm², una importante diferencia entre el método de contacto y el de barrido (3,55 veces más recuento con el primero que con el segundo), y una escasa diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 1,09 veces más recuento que ENVIROSWABBS). Este participante además, aporta la conclusión de que la variabilidad de morfologías coloniales es más acusada con el método de contacto que con el de barrido. El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,09 veces; el del 5º al 3º día es de 1,05 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,14 veces, lo que probablemente no justifica la espera del 2º al 3º día ni mucho menos la del 3º al 5º.

En el **participante 9**), imprenta, encontramos una media de 146,74 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 319,23 ufc/100 cm², una gran diferencia entre el método de contacto y el de barrido (3,50 veces más recuento con el primero que con el segundo), 2,66 veces más recuento con Neutralizing Agar MICROKIT que con Total Charcoal Agar, 1,25 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO (3,31 veces más recuento con Neutralizing MICROKIT que con Neutralizing DIFCO). El incremento del recuento más sensible, entre el 3º y 2º día es de 1,21 veces; el del 5º al 3º día es de 1,04 veces; y el del 5º al 2º día es de 1,26 veces, lo que justifica la espera del 2º al 3º día pero no la espera del 3º al 5º día.



LABORATORIOS

MICROKIT 10



ISO 9001

6

En el **participante 10**, canales vacunos, encontramos una media muy elevada, de 356,00 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 374,87 ufc/100 cm², una escasa diferencia entre el método de contacto y el de barrido (1,08 veces MENOS recuento con el primero que con el segundo), y 1,09 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO. El incremento del recuento más sensible, entre el 3° y 2° día es de 1,01 veces; el del 5° al 3° día es de 1,25 veces; y el del 5° al 2° día es de 1,27%, por lo que se concluye que en la flora de las canales hay mucho componente de crecimiento lento que probablemente justifique la espera de los resultados al 5° día.

En el **participante 11**), congelados, encontramos una media de 55,70 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 96,00 ufc/100 cm², una cierta diferencia entre el método de contacto y el de barrido (1,38 veces más recuento con el primero que con el segundo), una diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 1,52 veces mayor recuento que ENVIROSWABBS), nada menos que 14,26 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO, 2,77 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con PCA y 5,20 veces más recuento con PCA que con Neutralizing Agar DIFCO. El incremento del recuento más sensible, entre el 3° y 2° día es de 1,26 veces; el del 5° al 3° día es de 1,11 veces; y el del 5° al 2° día es de 1,39 veces, lo que justifica la espera.

En el **participante 12**), quesos, encontramos una media de 23,42 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 51,53 ufc/100 cm², nada menos que 6,60 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO y 4,71 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar MICROKIT (1,40 veces más recuento con Neutralizing MICROKIT que con Neutralizing DIFCO). El incremento del recuento más sensible, entre el 3° y 2° día es del 2,44 veces; el del 5° al 3° día es de 1,52 veces; y el del 5° al 2° día es de 3,70 veces, lo que justifica de forma importante la espera hasta el 5° día, ya que hay gran proporción de flora de crecimiento lento.

En el **participante 13**), muestras de naturaleza no aportada, encontramos una media de 179,83 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 305,56 ufc/100 cm², una gran diferencia entre el método de contacto y el de barrido (3,29 veces más recuento con el primero que con el segundo), una diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 5,86 veces MENOR recuento que ENVIROSWABBS), y 1,24 veces más recuento con la media de los dos medios de laminocultivo (Total Charcoal Agar y Neutralizing Agar DIFCO) que con PCA, ya que este participante no especifica el recuento de cada cara del laminocultivo sino la media de ambas. Este participante además, aporta la conclusión de que la lectura en placa de Contacto es más evidente que en laminocultivo, y que es más cómodo el método de contacto que el de barrido. Este participante no aporta datos sobre las lecturas a diferentes días.

En el **participante 14**), laboratorio de producción microbiológica, encontramos una media de 15,00 ufc/100 cm², una media en el método más sensible de 18,51 ufc/100 cm², una gran diferencia entre el método de contacto y el de barrido (2,12 veces más recuento con el primero que con el segundo), una diferencia entre los dos submétodos de barrido (escobillón seco 2,37 veces MENOR recuento que ENVIROSWABBS), 4,41 veces más recuento con Total Charcoal Agar que con Neutralizing Agar DIFCO, y 1,13 veces más recuento con Neutralizing Agar MICROKIT que con Total Charcoal Agar (4,98 veces más recuento con Neutralizing MICROKIT que con Neutralizing DIFCO). Este participante además, aporta la conclusión de que la diversidad de aspectos coloniales es muy superior en Neutralizing Agar y en Total



Charcoal Agar que en el Total Charcoal Agar (13%) y en el Neutralizing Agar (2,7%) que en el Total Charcoal Agar (13%). Este participante no aporta datos sobre las lecturas a diferentes días.

TABLA RESUMEN

	TIPO DE MUESTRAS	Media total de los distintos métodos (ufc/100 cm²)	Media método más sensible (ufc/100 cm²)	Proporción Contacto/ Barrido
PARTICIPANTE 1	SUELO	48,17	50,50	1,07
PARTICIPANTE 2	LAB. ADMINISTRACIÓN	37,45	48,77	1,05
PARTICIPANTE 3	LAB. UNIVERSIDAD	10,85	17,62	4,91
PARTICIPANTE 4	FÁBRICA EMBUTIDO	167,19	254,36	2,06
PARTICIPANTE 5	SALA AVES Y PESCADOS	15,53	36,97	3,77
PARTICIPANTE 6	COSMÉTICO	17,53	32,62	2,24
PARTICIPANTE 7	COCINAS	133,54	312,11	1,91
PARTICIPANTE 8	LAB. FARMACÉUTICO	42,09	80,76	3,55
PARTICIPANTE 9	IMPRESA	146,74	319,23	3,50
PARTICIPANTE 10	CANALES DE VACUNO	356,00	374,87	0,92
PARTICIPANTE 11	PROD. CONGELADOS	55,70	96,00	1,38
PARTICIPANTE 12	FÁBRICA DE QUESO	23,42	51,53	
PARTICIPANTE 13	DESCONOCIDAS	179,83	305,56	3,29
PARTICIPANTE 14	LAB. INDUSTRIA MICROB.	15,00	18,51	2,12
	MEDIA:	89,22	142,82	2,44

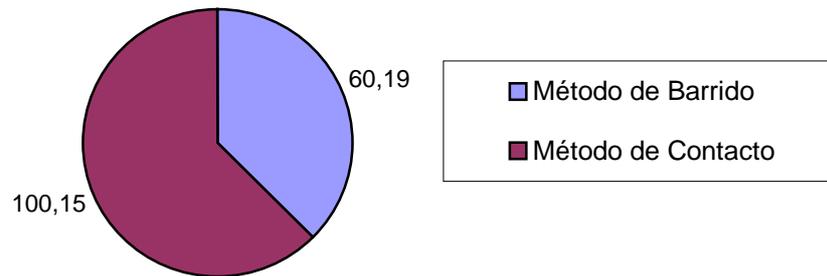


CONCLUSIONES

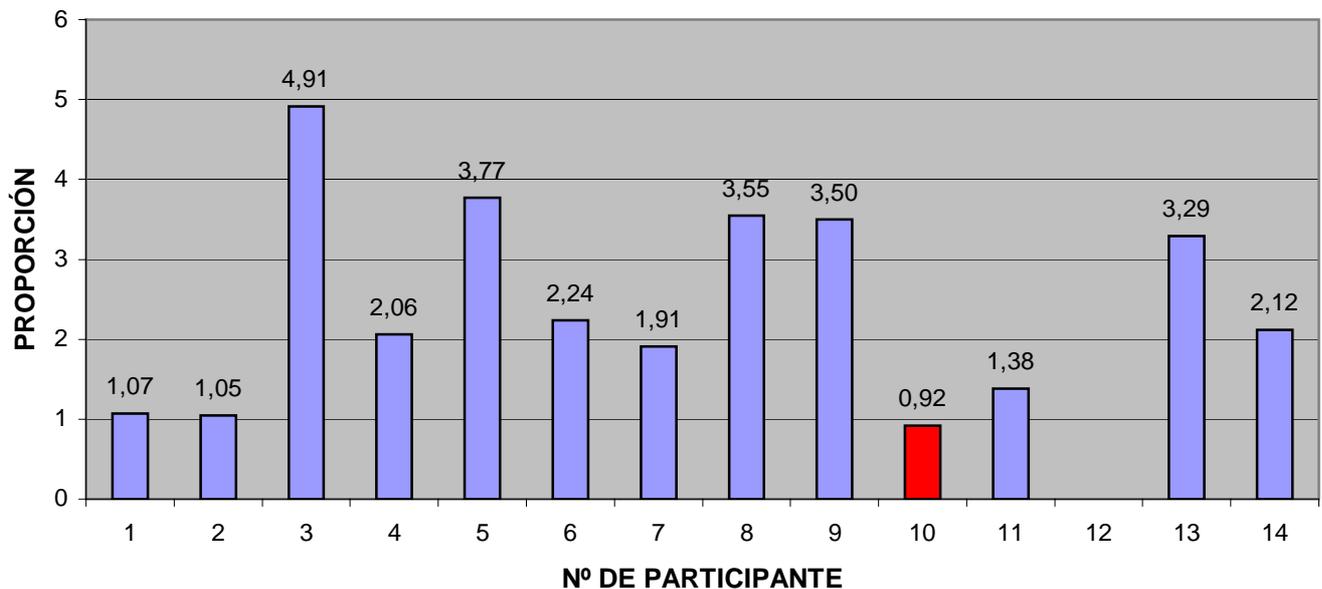
Dada la dispersión de resultados entre unos participantes y otros, resulta conveniente no descartar ningún método de entrada, ya que unos métodos y submétodos parecen óptimos con unas muestras y otros con otras. Sigamos utilizando el contacto como rutina y el barrido en zonas poco accesibles. Sin embargo, podemos generalizar (insistimos, con grandes excepciones), concluyendo que:

- 1- **En control microbiológico de superficies, el método de contacto es más sensible que el de barrido, con una media de 2,29 veces más recuento con el primero que con el segundo (Gráfico 1).** Excepcionalmente encontramos una escasa mayor sensibilidad en el método de barrido que en el de contacto (1,08 veces más en el barrido que en el contacto), en superficies muy contaminadas (participante 10) (Gráfico 2), como canales, como ya apunta la bibliografía (NISKANEN A. & POHJA, M.S., Comparative studies on the sampling and investigation of microbial contamination of surfaces by the contact plate and swab methods, Journal of Applied Bacteriology, 1977, 42. 53-63).

RTO. COMPARATIVO (UFC/100 CM²) CONTACTO/ BARRIDO
(GRÁFICO 1)



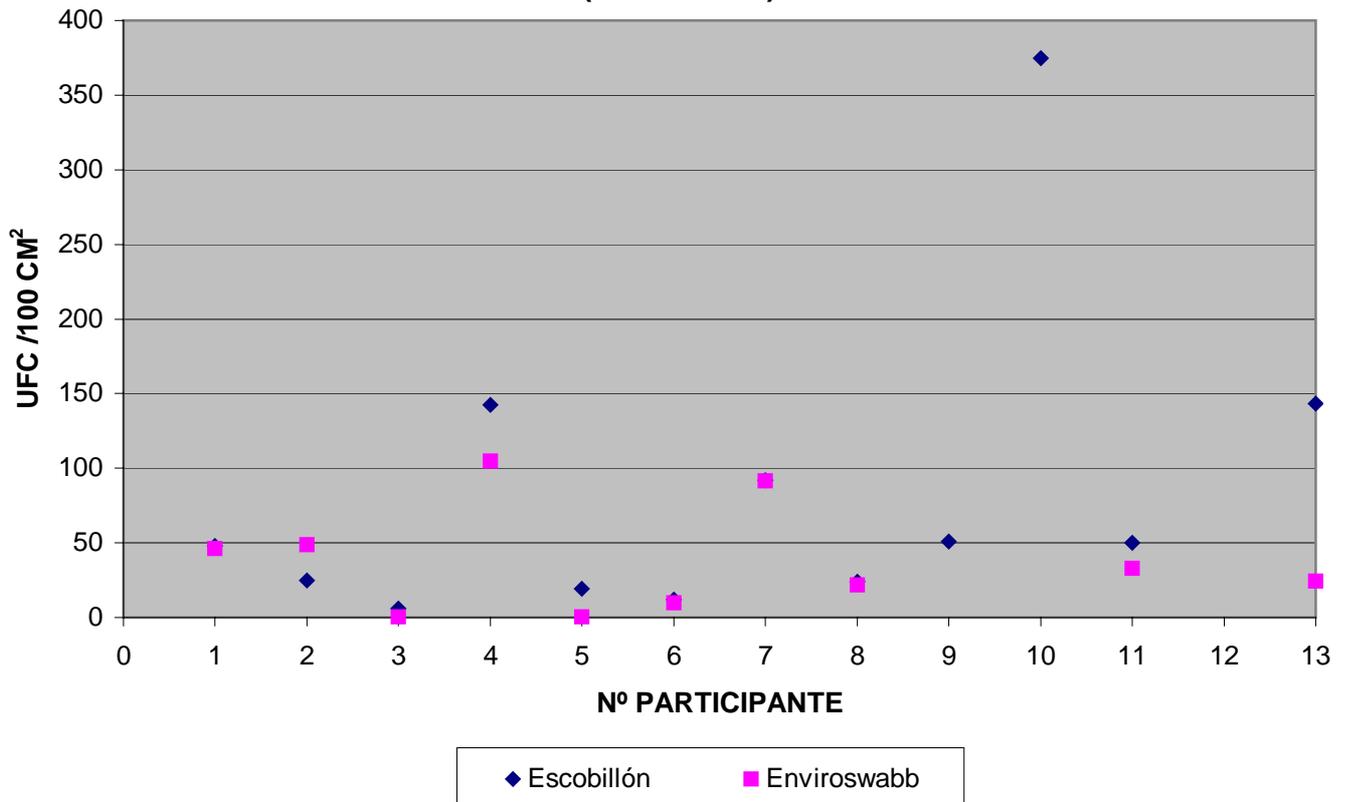
COMPARACIÓN MÉTODOS CONTACTO / BARRIDO (GRÁFICO 2)





- 2- -Entre los dos submétodos de barrido, escobillón y ENVIROSWABBS, la dispersión de resultados (**Gráfico 3**) es tan elevada que no se pueden extraer conclusiones generales, ya que para algunos participantes los resultados con ENVIROSWABBS son aberrantemente bajos, mientras que para otros la sensibilidad con ENVIROSWABBS es extraordinariamente superior a la obtenida con las torundas convencionales.

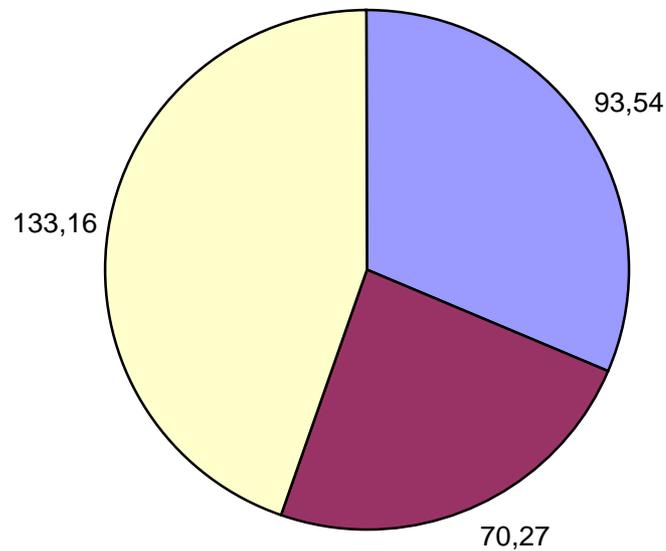
**DISPERSION DE RESULTADOS DE LOS PARTICIPANTES
EN LOS MÉTODOS DE BARRIDO
(GRÁFICO 3)**





- 3- -En cuanto a **medios de cultivo, los más sensibles resultan ser, ambos con medias muy similares, el Total Charcoal Agar (MICROKIT DMT180), y el Neutralizing Agar (MICROKIT DMT066)**, en algunos casos más sensible el primero que el segundo y en otros casos más sensible el segundo que el primero, pero con una media conjunta sin diferencias significativas y con 4,49 veces mayor recuento que el Agar Neutralizing DIFCO (Gráfico 4) y con **2 veces mayor recuento que el PCA.**

**RTO. COMPARATIVO EN UFC/100 CM²
DE LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO DE CONTACTO
(GRÁFICO 4)**



■ Neutralizing Agar MICROKIT Rodac
■ Neutralizing DIFCO Desinfestest
■ Total Charcoal Agar MICROKIT Desinfestest



- 4- -Por fin, se observan diferencias significativas entre los resultados de recuento total obtenidos a los 2, 3 y 5 días de incubación para la mitad de las muestras (laboratorio de la Administración, embutidos, cocinas, imprentas, canales, congelados y quesos, sobre todo), pero para las otras no (**Gráfico 5**); como a priori no se puede conocer la naturaleza de la flora, es mejor realizar los recuentos a los 2 y 3 días, en general, y también esperar a los 5 siempre que se disponga de tiempo. Además, debe tenerse en cuenta que la temperatura de incubación utilizada en todos los participantes (30-37°C) es la que hace crecer a la población asociada al hombre; por ello, estas conclusiones no pueden extrapolarse a la población saprófita que crece a 21-25°C, y que en reiteradas ocasiones nos ha demostrado comportarse de forma muy diferente a la población ligada al hombre. De hecho, en nuestra experiencia, es muy probable que para dicha flora, los resultados leídos a los 5 días sean significativamente muy superiores a los resultados de la lectura a los 2 y 3 días, en todo tipo de muestras.

**COMPARATIVA ENTRE LOS DÍAS DE INCUBACIÓN
(GRÁFICO 5)**

