



Instrucciones para el catálogo n.º 083A WasteWatR™ Coliform MicrobE™ - SM9221

Revisión 090119

Descripción:

- Este estándar consta de dos viales de vidrio, cada uno de los cuales contiene una tableta de gelatina y una bolsita de desecador (muestras A y B). Las bacterias están contenidas en las tabletas de gelatina. También se suministran dos frascos de 100 ml de líquido hidratante estéril. La muestra A contiene una cantidad certificada tanto de unidades formadoras de colonias (UFC) como del índice del número más probable (NMP), y la muestra B no contiene microorganismos.
- Este estándar no tiene conservantes.
- Los viales de vidrio que contienen las bacterias deben almacenarse a 4 ± 2 °C.
- El líquido hidratante se puede almacenar a temperatura ambiente.
- Este producto está diseñado para usarse como control de calidad, para comprobar todo el proceso de análisis de los analitos/matriz incluidos en el estándar para SM 9221 o los métodos equivalentes de fermentación en varios tubos.
- ERA sugiere que cuando se tomen submuestras de este producto antes del análisis se use un tamaño de muestra mínimo de 50 ml. Un tamaño de muestra más pequeño podría invalidar el valor asignado o la incertidumbre mostrada en el certificado de análisis.
- Los valores certificados se aplican a la muestra diluida después de seguir las instrucciones de dilución indicadas.

Consejos útiles:

- Las bacterias están en forma liofilizada en las tabletas de gelatina y cada muestra debe hidratarse siguiendo las instrucciones que aparecen a continuación antes del análisis.
- ERA recomienda que se sigan los lineamientos de control de calidad incluidos en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, sección 9020B para determinar si los medios son aceptables antes del análisis.
- “EPA recomienda especialmente que los laboratorios evalúen las tasas de falsos positivos y falsos negativos de los métodos que se usen para controlar la cantidad total de coliformes. . . . de manera que si las tasas de resultados falsos positivos o falsos negativos son inaceptables en el método elegido, se pueda utilizar otro método”. – 40 CFR 141.21 f.3.12
- Para evitar reportar resultados de falsos positivos, siga los pasos de verificación de coliformes tal como se indican en el método que está usando.
- Este estándar contiene microorganismos viables y debe analizarse **inmediatamente** después de su hidratación.
- Cuando se lleve a cabo un ensayo de fermentación en varios tubos, se debe usar una serie de tubos que den un resultado consistente con el intervalo de fabricación de 20 a 2400 de índice NMP/100 ml.

Instrucciones:

1. Extraer los viales de la refrigeración y esperar a que se equilibren a la temperatura ambiente.
2. Abrir con cuidado el líquido hidratante almacenado a temperatura ambiente.
3. Abrir los viales de muestra bacteriana de uno en uno y transferir asépticamente la tableta de gelatina al líquido hidratante.
4. Desechar adecuadamente los viales de vidrio vacíos y las bolsitas de desecador.
5. Volver a tapar herméticamente los frascos, que ahora contienen la muestra bacteriana.
6. Con el frasco bien cerrado, agitar la muestra durante unos segundos. Observar la muestra para confirmar que se ha disuelto la tableta de gelatina. Si la tableta no se ha disuelto completamente, agitar durante unos segundos más.
7. Analizar las muestras inoculadas siguiendo el procedimiento normal.

Seguridad:

- Los productos de ERA pueden ser peligrosos y están diseñados para ser usados por profesionales de laboratorio capacitados para la manipulación competente de estos materiales. El uso seguro de estos productos es responsabilidad exclusiva del comprador y del usuario. Las hojas de datos de seguridad (SDS) de todos los productos ERA están disponibles en nuestro sitio web www.eraqc.com.
- **Los estándares microbiológicos de ERA contienen microorganismos vivos** y solo deben ser utilizados por personas que hayan recibido capacitación bacteriológica.
- Desinfectar adecuadamente cualquier derrame y esterilizar los recipientes usados en autoclave antes de desecharlos.

LICENCIA DE ETIQUETA DE USO LIMITADO

LEER ESTE ACUERDO.

ESTE ACUERDO DE LICENCIA DE ETIQUETA DE USO LIMITADO ("LULL") SE REALIZA ENTRE ENVIRONMENTAL RESOURCE ASSOCIATES, INC. ("ERA") Y USTED (EL "USUARIO FINAL"). ESTE LULL ESTABLECE LOS TÉRMINOS EN LOS CUALES EL USUARIO FINAL PUEDE ADQUIRIR U OBTENER DE ALGUNA OTRA MANERA LOS PRODUCTOS ("PRODUCTOS") DE ERA SEGÚN ESTE LULL. LOS PRODUCTOS INCLUYEN ALGUNOS MATERIALES PROPIEDAD DE UN TERCERO ("LICENCIATARIO"), QUE HA CONCEDIDO A ERA UNA LICENCIA PARA LOS FINES DE ESTE LULL. ERA ESTÁ DISPUESTO A CONCEDER A LOS USUARIOS EL DERECHO A ADQUIRIR Y USAR LOS PRODUCTOS ÚNICAMENTE SI EL USUARIO FINAL ACEPTA TODOS LOS TÉRMINOS DE ESTE LULL.

SI USTED ACTÚA EN REPRESENTACIÓN DE UNA CORPORACIÓN U OTRA ENTIDAD, DECLARA QUE TIENE LA AUTORIDAD PARA FIRMAR ESTE LULL EN NOMBRE DE DICHA CORPORACIÓN O ENTIDAD. EN ESE CASO, "USTED" SE REFIERE A LA CORPORACIÓN O ENTIDAD. AL ACCEDER A ESTOS PRODUCTOS Y USARLOS, EL USUARIO FINAL RECONOCE QUE HA LEÍDO Y COMPRENDIDO ESTE LULL, Y ACEPTA QUEDAR VINCULADO POR EL MISMO. SI EL USUARIO FINAL NO ACEPTA CUALQUIERA DE LOS TÉRMINOS DE ESTE LULL, NO DEBERÁ UTILIZAR LOS PRODUCTOS.

1. **ALCANCE DEL USO.** *Los productos suministrados únicamente pueden utilizarse con la finalidad de realizar un programa de pruebas de aptitud en su laboratorio.* Los productos no están destinados a utilizarse en seres humanos. El usuario final reconoce que los productos designados con un nivel de bioseguridad 2 o 3 son patógenos conocidos, y que otros productos no designados con este nivel de seguridad también pueden ser patógenos en determinadas condiciones. El usuario final asume todo el riesgo y la responsabilidad en relación con la recepción, manipulación, almacenamiento, eliminación, transferencia y uso de los productos, incluida, sin limitaciones, la adopción de todas las medidas de seguridad y precauciones de manipulación para minimizar el riesgo para la salud o el medio ambiente. El usuario final acepta que toda actividad realizada con los productos se lleve a cabo de conformidad con todos los lineamientos, leyes y reglamentos.
2. **RESTRICCIONES.** El usuario final no puede usar, copiar, modificar ni transferir los productos a otras personas, ya sea en parte o en su totalidad, salvo en la medida en que esté expresamente estipulado en este LULL. Los productos contienen secretos de marca y propiedad intelectual de ERA y del licenciatario, y el usuario final no puede realizar operaciones de ingeniería inversa, replicar, alterar ni adulterar los productos, ni autorizar a un tercero para que lleve a cabo cualquiera de estas acciones. Los derechos concedidos en este documento al usuario final son personales para el usuario final, y cualquier intento de este de transferir cualquiera de los derechos, deberes u obligaciones aquí mencionados se considerará nulo y será motivo de rescisión de este LULL. El usuario final no puede rentar, financiar, prestar, revender para obtener un beneficio económico ni distribuir los productos o cualquier parte de los mismos, de ninguna manera.
3. **PROPIEDAD.** Los productos son propiedad de ERA. Los productos se entregan al usuario final para ser usados únicamente según los términos de este LULL, y ERA y el licenciatario se reservan todos los derechos que no se hayan otorgado expresamente al usuario final.
4. **RESCISIÓN.** Este LULL se rescindirá de inmediato, sin previo aviso al usuario final si este incumple un término de este LULL o si el usuario final no paga a ERA cualquier cantidad que le adeude. Además, en caso de que algún acuerdo entre ERA y el licenciatario sobre la totalidad o parte de los productos termine o expire, es posible que también termine o expire el derecho del usuario final a acceder y usar los productos.
5. **RENUNCIA SOBRE LA GARANTÍA.** LOS PRODUCTOS ESTARÁN CUBIERTOS POR LA GARANTÍA ESTÁNDAR APLICABLE, UNA COPIA DE LA CUAL PUEDE SUMINISTRARSE CON LOS PRODUCTOS SI SE SOLICITA. NI ERA NI EL LICENCIATARIO OFRECEN NINGUNA OTRA GARANTÍA DE NINGÚN TIPO, YA SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUIDAS SIN LIMITACIONES LAS GARANTÍAS IMPLÍCITAS DE COMERCIABILIDAD, IDONEIDAD PARA UN FIN DETERMINADO, TIPICIDAD, SEGURIDAD, EXACTITUD Y NO INCUMPLIMIENTO. SEGÚN LA GARANTÍA DE ERA, LAS SUBSANACIONES A LAS QUE TIENE ACCESO EL USUARIO FINAL SE LIMITAN A LA REPARACIÓN O SUSTITUCIÓN DEL PRODUCTO QUE NO HA CUMPLIDO CON LA GARANTÍA ESTÁNDAR APLICABLE DE ERA, SIEMPRE QUE DICHO FALLO SE HAYA REPORTADO A ERA EN LOS CINCO DÍAS LABORABLES SIGUIENTES A LA RECEPCIÓN DEL PRODUCTO POR PARTE DEL USUARIO FINAL.
6. **CUMPLIMIENTO DE LA LEY.** EL USUARIO FINAL ES EL ÚNICO RESPONSABLE DE CUMPLIR CON TODOS LOS ESTATUTOS, ORDENANZAS Y REGLAMENTOS LOCALES, REGIONALES Y NACIONALES, EXTRANJEROS Y DEL PAÍS.
7. **LEYES DE EXPORTACIÓN.** Los productos están sujetos a las leyes de control de la exportación de los Estados Unidos, y pueden estar sujetos a regulaciones de importación y exportación en otros países. El usuario final no debe exportar los productos bajo ninguna circunstancia. En cualquier caso, el usuario final indemnizará y eximirá de toda responsabilidad a ERA, sus compañías filiales y al licenciatario ante cualquier reclamación, pérdida, responsabilidad, daño, multa, penalización, costo y gastos (incluidos los honorarios de los abogados) derivados o relacionados con cualquier incumplimiento del usuario final o de sus obligaciones según esta sección.
8. **GARANTÍA DE CUALIFICACIÓN DEL LABORATORIO.** Los microorganismos derivados de los productos y su crecimiento posterior en medios de cultivo se consideran biopeligrosos. Los organismos gubernamentales regulan la eliminación de estos materiales. Al firmar este LULL, el usuario final confirma que sus procedimientos de laboratorio cumplen con la manipulación y eliminación de estos materiales biopeligrosos, y que el personal del laboratorio del usuario final está calificado y debidamente capacitado para recibir, procesar y almacenar microorganismos liofilizados. El usuario final reconoce que los microorganismos liofilizados son exclusivamente para uso in vitro y deben utilizarse de acuerdo con su uso previsto.

9. **INDEMNIZACIÓN.** El usuario final acepta indemnizar, defender y eximir de toda responsabilidad a ERA, sus compañías filiales y al licenciario ante cualquier reclamación, pérdida, gasto o daños de un tercero (incluidos los honorarios razonables de los abogados), derivados o relacionados con el uso, la recepción, la manipulación, el almacenamiento, la transferencia, la eliminación u otras actividades relacionadas con los productos. Cualquier resolución de una reclamación sujeta a este acuerdo de indemnización estará sujeta al consentimiento por escrito de ERA.
10. **LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD.** EN NINGÚN CASO ERA O EL LICENCIATARIO SE HARÁN RESPONSABLES DE CUALQUIER DAÑO INDIRECTO, ESPECIAL, INCIDENTAL, PUNITIVO, EJEMPLAR O EMERGENTE DE CUALQUIER TIPO, RELACIONADO O DERIVADO DE ESTE LULL O DE LOS PRODUCTOS (YA SEA POR CONTRATO, AGRAVIO, NEGLIGENCIA, OBLIGACIÓN ESTRICTA, ESTATUTO O DE OTRO MODO), INCLUSO EN EL CASO DE QUE ERA O EL LICENCIATARIO HUBIERAN TENIDO CONOCIMIENTO DE LA POSIBILIDAD DE DICHOS DAÑOS. EN NINGÚN CASO LA RESPONSABILIDAD ACUMULADA DE ERA Y EL LICENCIATARIO EXCEDERÁ EL MONTO PAGADO POR EL USUARIO FINAL SEGÚN ESTE LULL DURANTE EL PERIODO DE DOCE (12) MESES ANTERIOR A LA SITUACIÓN QUE DIO LUGAR A LA RECLAMACIÓN. El usuario final acepta que la limitación de la responsabilidad establecida en este LULL se aplicará incluso en el caso de que una subsanación limitada según este acuerdo no cumpla su propósito esencial.
11. **PROPIEDAD INTELECTUAL.** ERA y el licenciario conservarán la propiedad de sus respectivos derechos, prerrogativas e intereses sobre los productos. Los productos están sujetos a las restricciones indicadas en la sección "Alcance del uso" anterior. El usuario final reconoce expresamente que ERA conserva todos los derechos, prerrogativas e intereses sobre cualquier marca comercial registrada o propiedad de ERA, el nombre comercial de ERA y las marcas de catálogo de ERA. El usuario final acepta expresamente no usar ninguna marca comercial, nombre comercial o marca de catálogo de ERA, de ninguna manera, sin la autorización previa por escrito de ERA.
12. **LEGISLACIÓN APLICABLE.** Para todos los fines, este LULL se regirá e interpretará según las leyes del Estado de Colorado.
13. **RENUNCIA.** El hecho de que en un momento dado no se obligue a cumplir cualquier término de este LULL no constituye una renuncia a hacer cumplir dicho término en el futuro.
14. **ASIGNACIÓN.** Ni este LULL ni ninguno de los derechos u obligaciones del usuario final que le otorga este LULL pueden ser asignados por el usuario final sin la aprobación previa por escrito de ERA. Cualquier otro intento de asignación se considerará nulo y sin efecto.
15. **DIVISIBILIDAD.** Si cualquier parte de este LULL se considera, por cualquier motivo, no válido, ilegal o no aplicable, la validez, legalidad y aplicabilidad del resto de las disposiciones de este LULL no se verán afectadas.
16. **ACUERDO COMPLETO.** Este LULL constituye la declaración completa y exclusiva del acuerdo entre ERA y el usuario final, y sustituye a cualquier propuesta o acuerdo previo, oral o escrito, y a cualquier otra comunicación entre las partes en relación con el asunto principal de este LULL. Ninguna renuncia, alteración o modificación de este LULL será válida a menos que se haga por escrito y esté firmada por ERA.

Guía técnica microbiológica para hacerlo bien a la primera

Introducción:

Antes de empezar el análisis cuantitativo de la muestra de control de calidad para coliformes WasteWatR™ (cat. n.º 083A), se debe leer esta guía en su totalidad. Este documento tiene como finalidad guiar al usuario por todos los pasos importantes y hacer las preguntas adecuadas para asegurarse de que la técnica y los procedimientos sean correctos. Esta guía no pretende sustituir a ningún plan de garantía de calidad o control de calidad específico del método que se esté utilizando. Solo es un suplemento pensado para que el usuario reflexione sobre cómo lleva a cabo el método y para señalar aspectos del proceso que ERA ha observado que pueden ser la causa de un mal funcionamiento del método. En caso de necesitar ayuda en cualquiera de los pasos, llamar a ERA al 1-800-372-0122 ó al 1-303-431-8454 para solicitar asistencia técnica. ¡Nuestro equipo de microbiología está para ayudar!

Control de calidad general:

Comprobaciones de esterilidad: Los laboratorios deben comprobar la esterilidad en el procedimiento que usen. Para los procedimientos con filtros de membrana, comprobar la esterilidad de los medios, los filtros de membrana, el agua para dilución tamponada, las pipetas, los matraces y las placas, así como de todo el equipo, tanto al principio como al final de cada serie de muestras, usando agua para dilución tamponada como muestra. Para los procedimientos con varios tubos, comprobar la esterilidad de los medios, el agua para dilución tamponada y el material de vidrio. Se debe comprobar cada lote nuevo de los materiales antes mencionados antes de usarlos.

Controles positivos: Para cada lote nuevo de medio y el aparato del método, comprobar el procedimiento analítico analizando un control positivo para confirmar que el medio produce la reacción esperada al microorganismo evaluado. Para asegurar la identidad y la trazabilidad, los cultivos de referencia usados para los controles positivos deben proceder de una organización o colección nacional reconocida, o de un fabricante reconocido por una autoridad de acreditación. Estos cultivos pueden ser una preparación de un solo uso o cultivos mantenidos por medio de procedimientos que aseguren la pureza y la viabilidad continuas del microorganismo.

Controles negativos: Para cada lote nuevo de medio y el aparato del método, comprobar el procedimiento analítico analizando un control negativo para confirmar que el medio no produce la reacción positiva típica del microorganismo objetivo. Para asegurar la identidad y la trazabilidad, los cultivos de referencia usados para los controles negativos deben proceder de una organización o colección nacional reconocida, o de un fabricante reconocido por una autoridad de acreditación. Estos cultivos pueden ser una preparación de un solo uso o cultivos mantenidos por medio de procedimientos que aseguren la pureza y la viabilidad continuas del microorganismo.

Evaluación del método: Antes de usarlos por primera vez, se debe evaluar la capacidad para producir resultados aceptables de todos los métodos que se usen en el laboratorio. Para los métodos cuantitativos de microbiología, esto se puede hacer a través de la participación en un programa de pruebas de aptitud o por medio del análisis de una muestra de control de calidad.

Hidratación del pellet: La hidratación inicial de la tableta de gelatina suministrada con las muestras de ERA debe llevarse a cabo siguiendo las instrucciones suministradas. No debe haber desviaciones de las instrucciones, ya que los valores certificados y los intervalos de aceptación se basan en los datos del cliente, y las desviaciones podrían dar lugar a un resultado incorrecto.

Una vez terminada la hidratación del pellet, realizar inmediatamente el análisis. Un retraso de más de 30 minutos en la realización del análisis puede afectar a los resultados. Agitar suavemente la muestra antes de tomar las alícuotas para el análisis.

Medios de cultivo: La calidad de los medios de cultivo es crítica. Los medios nunca deben prepararse desde cero si se dispone de una fuente de medio deshidratado. Si se va a preparar un medio deshidratado, seguir las instrucciones al pie de la letra. Comprobar siempre el pH y realizar los ajustes necesarios. Evaluar siempre los medios antes del primer uso. No usar nunca los medios después de su fecha de vencimiento ni usar medios que no se hayan almacenado siguiendo las especificaciones del fabricante. Confirmar que los medios preparados, así como los ingredientes y proporciones de los medios deshidratados, se ajustan a las especificaciones del método que se está utilizando.

Agua para dilución y para lavado: Para hidratar la tableta de gelatina, usar únicamente el líquido hidratante suministrado por ERA. Para realizar diluciones y lavar el equipo, no usar agua desionizada ni destilada. ERA recomienda usar un tampón de fosfatos o agua con peptonas, ya que con frecuencia, el agua desionizada o destilada tiene efectos inhibidores. Consultar el documento SM 9050C 20^a edición para preparar el agua con amortiguador o con peptonas.

Termómetros: Use termómetros graduados en incrementos adecuados para el análisis que se va a realizar. Comprobar la exactitud de los termómetros dos veces al año, comparándolos con un termómetro certificado por NIST. Usar los factores de corrección, si los hay, mencionados en el Certificado de exactitud trazable del termómetro.

Incubadoras de baño de agua: Verificar que el baño de agua mantiene la temperatura de ensayo deseada, por ejemplo, $44.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Mantener un termómetro adecuado sumergido en el baño de agua, y observar y registrar la temperatura dos veces al día, con una diferencia de al menos 4 horas. La estabilidad y la uniformidad de la temperatura son importantes. Para un funcionamiento óptimo, equipar el baño de agua con una cubierta de dos aguas, usar un circulador de agua y colocar la incubadora en un área en la que la temperatura ambiente se mantenga entre $16\text{-}27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($60\text{-}80\text{ }^{\circ}\text{F}$).

Incubadoras de aire: Verificar que la incubadora mantenga la temperatura de ensayo adecuada; por ejemplo, $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Asimismo, asegurarse de que las muestras frías se incuben a la temperatura de ensayo durante el tiempo necesario. Comprobar y registrar dos veces al día la temperatura de los estantes que estén en uso. El termómetro debe sumergirse en agua o en glicerina. Colocar la incubadora en un área en la que la temperatura ambiente se mantenga entre $16\text{-}27\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($60\text{-}80\text{ }^{\circ}\text{F}$). Al abrir la puerta de una incubadora de aire, la temperatura interior puede cambiar drásticamente y al cerrar la puerta, la temperatura no regresa inmediatamente a la temperatura deseada. El tiempo necesario para regresar a la temperatura de incubación adecuada puede ser considerable, por lo que la incubadora debe abrirse y cerrarse lo menos posible.

Problemas específicos del método – Fermentación en varios tubos:

Fermentación en varios tubos: Los resultados reportados como “> valor” se registrarán como dicho valor. Por lo tanto, es esencial que se realicen las diluciones adecuadas. Se recomienda analizar las muestras de control de calidad (QC) a nivel de diluciones que simulen el escenario de PT.

Plan de dilución: Si se lleva a cabo un ensayo de fermentación en varios tubos, se debe usar una serie de tubos que den un resultado consistente con el intervalo de fabricación de 20 a 2400 de índice NMP/100 ml. Por ejemplo, una serie de 15 tubos en alícuotas de 10 ml, 1 ml y 0.1 ml cubren un intervalo de NMP de <2 a >1600 NMP/100 ml. Si se desea abarcar un intervalo mayor de valores, modificar la serie de diluciones.

Desgasificación del caldo: Para evitar un resultado positivo falso debido al gas disuelto en el caldo de cultivo, se deben precalentar los tubos con caldo de cultivo a temperatura ambiente durante 30 minutos en una incubadora a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y eliminar todo el gas que aparezca en los tubos de fermentación antes de la inoculación. Una pequeña burbuja de gas durante la interpretación de las muestras puede indicar una desgasificación insuficiente antes de la inoculación.

Concentración del caldo: Para un método NMP, confirmar que se está usando un caldo que tenga la concentración correcta, tal como se describe en el método específico que se está usando.

Referencias:

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition.

2003 NELAC Standard, Quality Systems, Appendix D, June 2003.