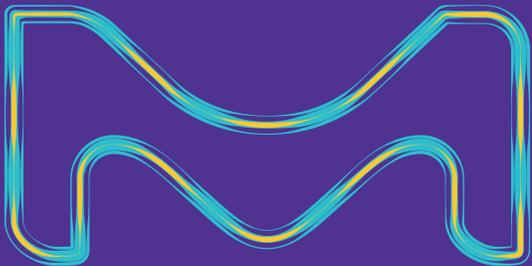


# MICROBIOLOGÍA APLICADA

**Segmento Farmacéutico y alimentos Merck**

Catalina Quintero  
Sales Application Specialist VeCo



**MERCK**

# CATALINA QUINTERO B

*Sales Application Specialist*

*Bogota, Colombia*

*[Catalina.quintero@external.merckgroup.com](mailto:Catalina.quintero@external.merckgroup.com)*

*I enjoy to travel spend time with my family and friends .*

*I enjoy outdoor activities*

*Sharing new experiences and cultures*

*Lettering*



*GMP ICONTEC*

*Internal auditor ISO 9001, 18001, 14001 ICONTEC*

*-Bachelor at Industrial Microbiology*

*-Pontificia Universidad Javeriana, Bogota Colombia*

*2020 Sales Application Specialist VeCo*

*2019 Sales Application Specialist Colombia*

*2018 - 2019 Sales Support Analyst Merck*

*2018 Quality Control Analyst Microbiology Laboratory at Tecmol Farmaceútica*

*2017 Quality Control Analyst Microbiology Laboratory at AQM*



# Medios de Cultivo

# MICROBIOLOGIA - Biomonitoring

## Principios Básicos

### Microbiología:

es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos.

### Microorganismo:

Son seres vivos muy pequeños no visibles al ojo humano



### Medio de cultivo:

Es una mezcla de **nutrientes** necesarios para permitir, el crecimiento de Bacterias, mohos, levaduras, virus, células, tejidos, etc.

Según lo que se quiera hacer crecer, el medio requerirá unas u otras condiciones.

Generalmente se presentan desecados en forma de polvo fino o granular antes de ser preparados; ya preparados pueden encontrarse en estado gel, semisólido o líquido.

# Medios de cultivo Granulados!



[http://www.merckmillipore.com/DE/en/20140331\\_132033](http://www.merckmillipore.com/DE/en/20140331_132033)



## Pictogramas Comunes en Medios de Cultivo



**Irritante:** Pueden producir inflamaciones en caso de contacto breve, prolongado o repetido con la piel o las mucosas. Peligro de sensibilización en caso de contacto con la piel



**Tóxico:** La inhalación, la ingestión o la absorción cutánea (por absorción única, repetida o prolongada).  
en pequeña cantidad, pueden conducir a daños para la salud de magnitud considerable. Efectos **cancerígenos, mutagénicos y tóxicos** para la reproducción.



**Peligros por aspiración:** Sustancias y preparaciones que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden implicar riesgos a la salud graves o agudos. Como cáncer.

# Medios de cultivo Granulados!

## SEGURIDAD

Minimiza contacto con los polvos de los componentes tóxicos y alérgenos que contaminan el laboratorio

Un granulo es una pequeña partícula de un medio pulverizado comprimido.

Estos gránulos están unidos firmemente pero son fáciles de disolver.

# 2

# 1

## PRECISIÓN Y CONFIABILIDAD

Evita la separación de los componentes y la formación de gránulos incluso en condiciones de alta humedad y Temperatura.

Distribución homogénea de los ingredientes.

Rápido

Fácil

## Precisión y Confiabilidad



Contaminación  
partículas

Endurecimiento

Pobre  
solubilidad

Separación de  
componentes

# CERTIFICADO DE CALIDAD

**heipha** Dr. Müller GmbH  
P.O. Box 12 53  
D-89209 Eppelheim, Germany



## Certificate of Analysis

Date of issue: 23.08.2013 Page 1/3

Material number: 1.46527.0200 Article Number: 146527  
Material description: Tr. Soy Cont. A. + LTHTh-ICR+ 820-200p  
Batch: 124166

Date of manufacture: 12.08.2013  
Expiry date: 09.05.2014 Temp. Cond.: + 15°C to + 25°C

Batch status: Accepted

### Typical composition per l:

Casein Peptone: 15 g      Tween 80: 5 g  
Soy Peptone: 5 g          Lecithin: 0.7 g  
NaCl: 5 g                    Histidine: 0.5 g  
Agar: 15 g                    Na-Thiosulfate: 0.5 g

This medium can be adjusted and/or supplemented according to the performance criteria required.

Growth Promotion Test according to EP/JP/USP

Test	Specification	Result
Appearance	clear, yellowish	Conforms
pH-value	7,1 to 7,5	7,4
Filling Volume	17g + 2/ -1g	Conforms
Gel strength	min. 3,0 N/cm <sup>2</sup>	Conforms
Dose of Irradiation	9-20 kGy	Conforms
Inoculum, Incubation conditions	10-100 CFU, 20-24h, 30-35°C	Conforms
Staphylococcus aureus ATCC 6538: Reference	10 to 100 CFU	59 CFU
Staphylococcus aureus ATCC 6538: Recovery rate	70 to 200 %	105 %
Escherichia coli ATCC 8739: Reference	10 to 100 CFU	32 CFU

Composición del medio

Especificaciones físicas

Fecha GPT

Cuba mayo 2019



# SEGMENTO FARMA



- Armonizados Farmacopeas
- Cumplen con formulaciones
- Granulados
- Cumplen con aseguramiento de la calidad
- Certificados de calidad seguros

MEDIOS DE CULTIVO GRANULADOS

# SEGMENTO ALIMENTOS



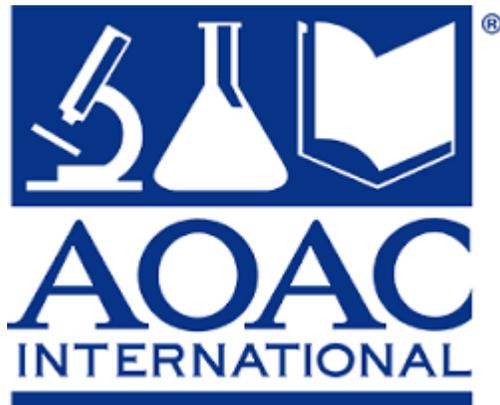
- Armonizados ISO
- Cumplen con formulaciones
- Granulados
- Cumplen con aseguramiento de la calidad
- Certificados de calidad seguros

MEDIOS DE CULTIVO GRANULADOS

# SEGMENTO ALIMENTOS

01

# NORMATIVIDAD



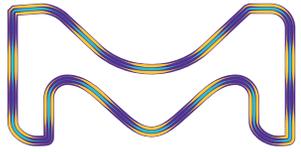
# SEGMENTO ALIMENTOS



- ✓ Sistema para Monitoreo y Gestión de los Programas de Higiene por la técnica de Bioluminescencia de ATP
- ✓ Además es un multiparámetro
- ✓ Herramienta para el HACCP

MVP ICON

## Procedimiento:



1



- Hacer el hisopado de la superficie

2



Pressionar la parte superior para activar

3



Insetar el hisopo del de la camara de lectura del equipo MVP ICON

4



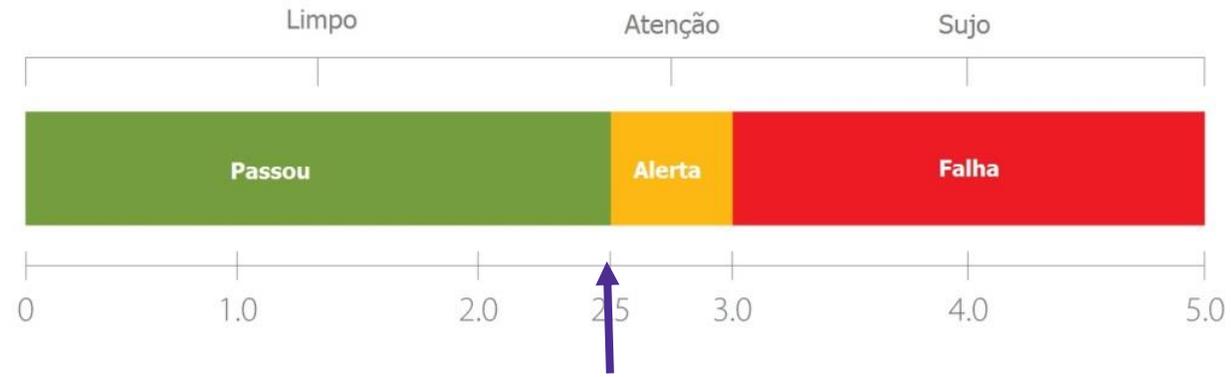
Seleccionar el Plan de Muestreo y el Punto de Prueba. O Prueba Rapida

5

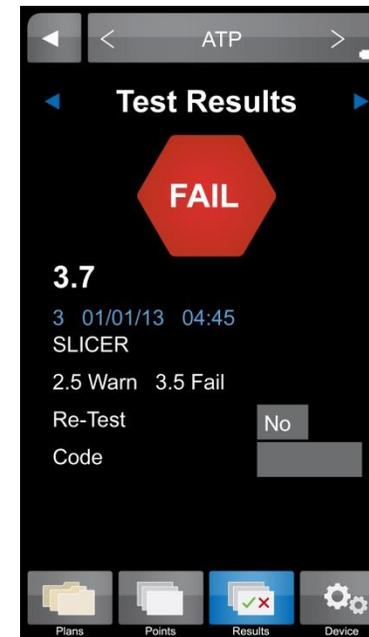
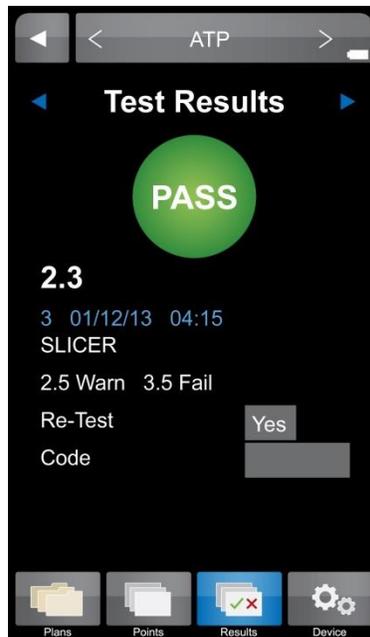


Visualizar el resultado

# Lectura de ATP – Resultados



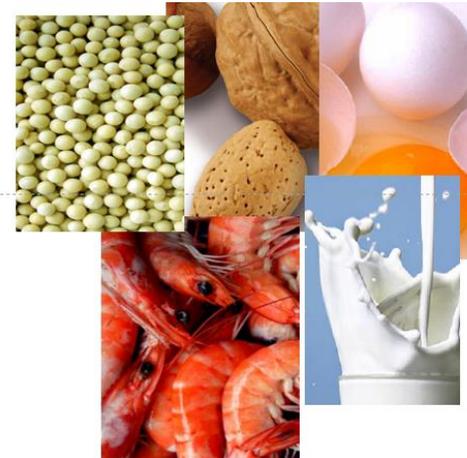
0.000000000015g ATP



# SEGMENTO ALIMENTOS

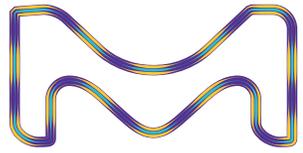


✓ Prueba para detección de proteínas totales en superficies, como indicador de posible presencia de alergénicos



## FLASH

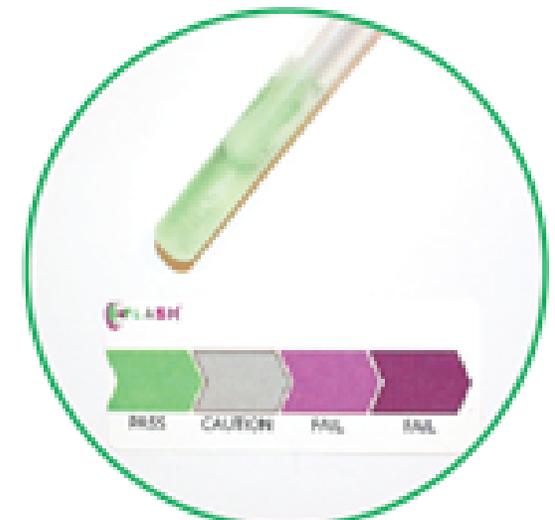
# Procedimiento del Flash:



1. Hisopar la superficie

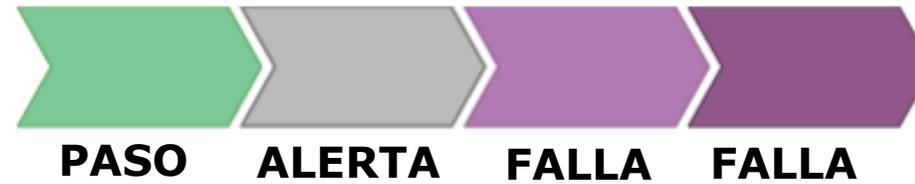


2. Activar el Swab y agitar 5 segundos



3. Leer el resultado (Paso/ Alerta/ Falla)

# Resultados del Flash



Lectura en 10 minutos

Sensibilidad:

- Temperatura ambiente: 20  $\mu\text{g}$
- Calentamiento a 70  $^{\circ}\text{C}$ : 3  $\mu\text{g}$



## Microorganismos Indicadores

- Recuento Aeróbico Total
- Coliformes Totales
- *E.coli*
- Hongos y levaduras

## Microorganismos Patógenos

- *Salmonella*
- *Listeria monocytogenes*
- *E.coli* 0157:H7
- *Staph. aureus*
- *Bacillus cereus*
- *Costr. perfringens*
- *Campylobacter*
- *Yersinia enterocol.*



Que buscamos?

## Microorganismos indicadores

### Bacterias

- Conteo Total de Mesófilos
- Coliformes Totales
- E Coli
- Pseudomonas

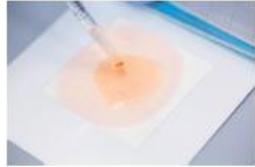
### Hongos y Levaduras

- Conteo total de Hongos y Levaduras

# Microorganismos Indicadores MERCK



- Medios de cultivo granulados



- Mc Media Pad



- Filtración por Membrana

# Microorganismos patógenos MERCK



- Medios de Cultivo



- Singlepath



- 1,2-TEST



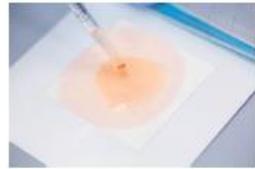
- GDS

# Indicadores

# Microorganismos Indicadores MERCK



- Medios de cultivo granulados



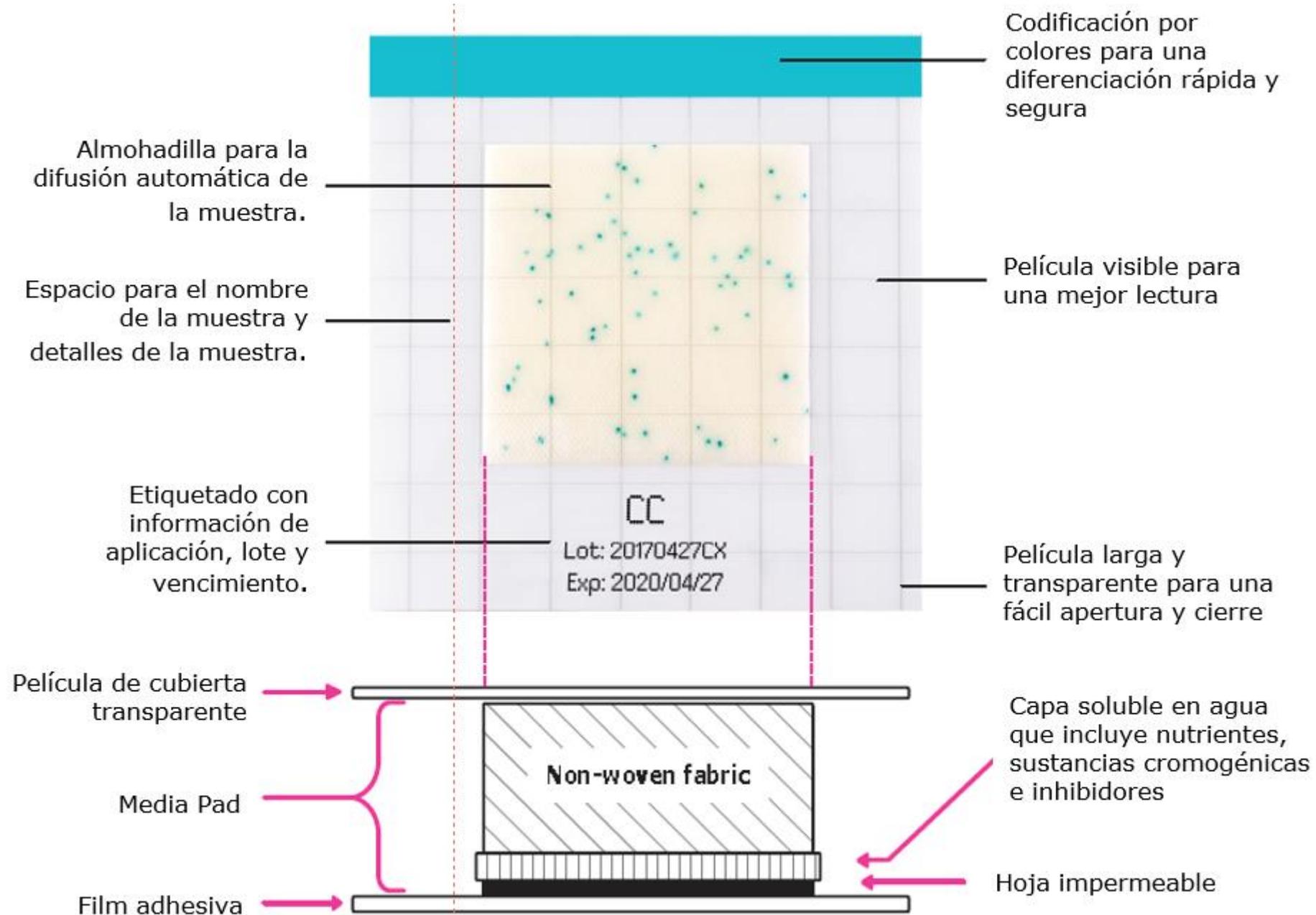
- Mc Media Pad



- Filtración por Membrana



**Mc media pad**





35 ° C, 24 horas.

Todas las colonias cultivadas desarrollan un **color rojizo**.



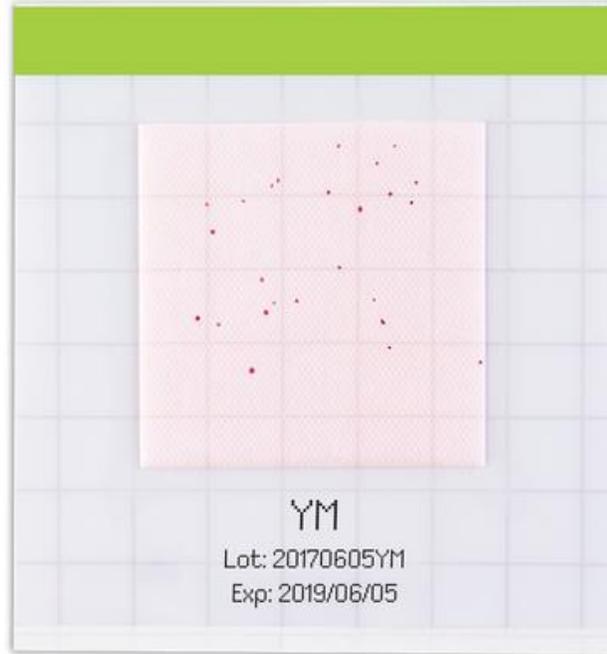
35 ° C, 24 horas.

Las **coliformes** forman colonias de color azul / azul-verde, ***E. coli*** producirá colonias de color índigo a púrpura .



35 ° C, 24 horas.

Los **coliformes** producen colonias de color azul / azul-verde. Las bacterias gramnegativas no coliformes forman colonias incoloras



25 ° C, 48 horas.  
Todas las colonias  
desarrolladas desarrollarán un  
**color rojizo.** . .

# PATOGENOS



## Microorganismos Indicadores

- Recuento Aeróbico Total
- Coliformes Totales
- *E.coli*
- Hongos y levaduras

## Microorganismos Patógenos

- *Salmonella*
- *Listeria monocytogenes*
- *E.coli* 0157:H7
- *Staph. aureus*
- *Bacillus cereus*
- *Costr. perfringens*
- *Campylobacter*
- *Yersinia enterocol.*



# SEGMENTO ALIMENTOS

## DILUCULT Y HOMOGENIZADOR DE MUESTRAS



EQUIPO PREPARACIÓN MUESTRAS

# Microorganismos patógenos MERCK





Singlepath

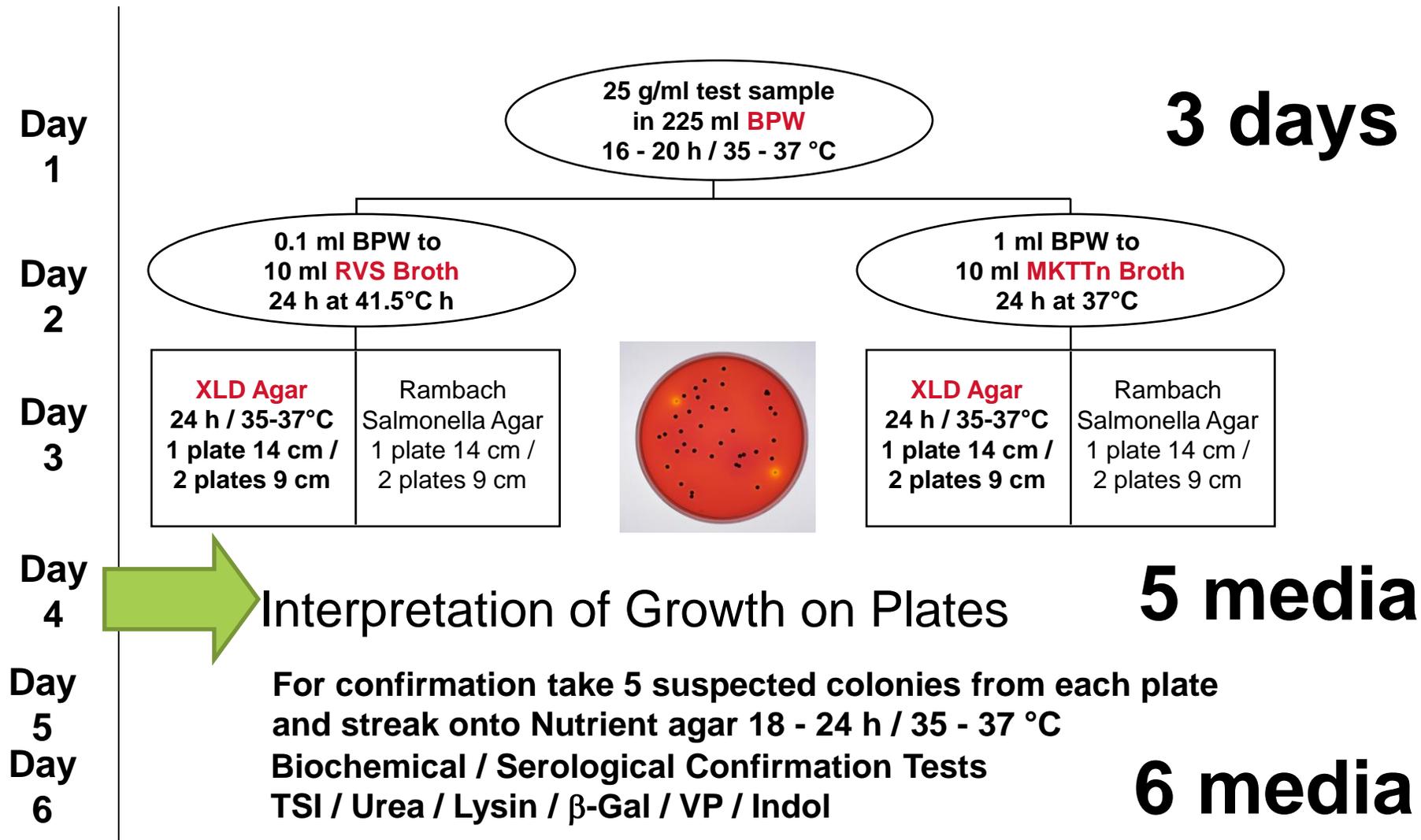
# Metodo Tradicional

En el método tradicional se puede tardar un aproximado de **hasta 7 días** en dar resultados de *Listeria spp.*, *L. monocytogenes* y *Salmonella*.



# Metodo Tradicional

## ISO Standard 6579 for Detection of Salmonella



# SINGLEPATH

## Rapid Testing – Singlepath® *Salmonella* - Screening - AOAC

Día 1

25 g de mx + 225ml Agua Peptonada 37°C 24h

Día 2

0,1 ml a 10 ml Caldo RVS 42°C por 21 - 24 h

Día 3

150µl



Sal  
PRI



S  
NO NTE

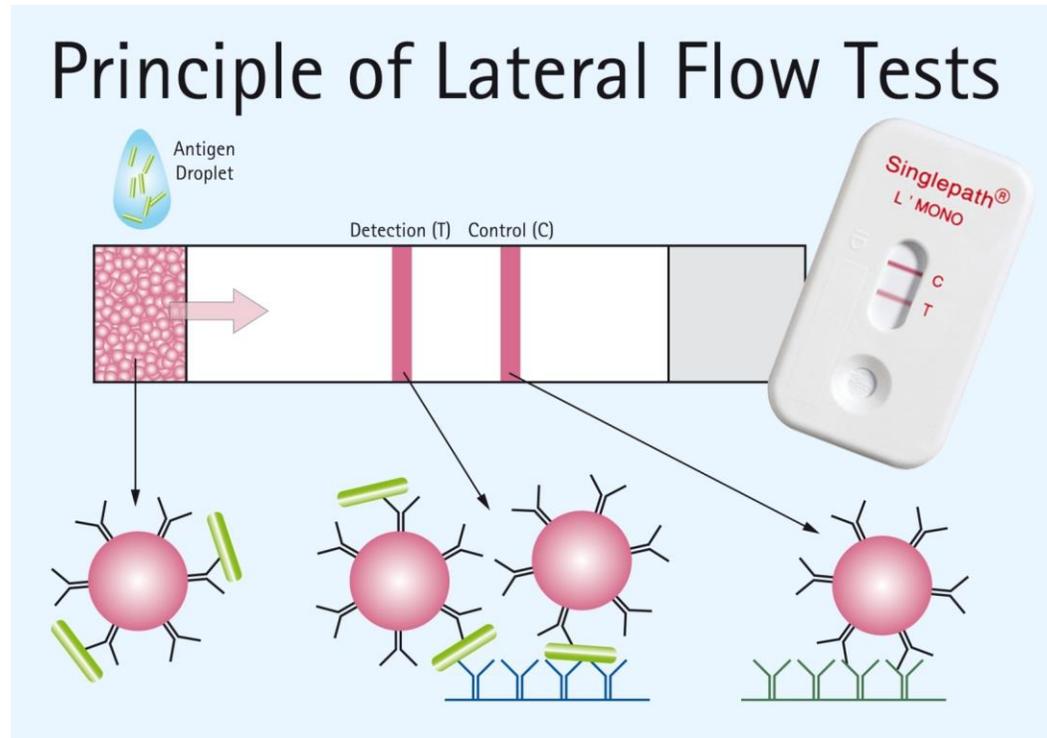


RAMBARCH  
37°C for 24 - 48h

CONFIRMACIÓN

## Principio de la Prueba

La prueba de Singlepath® es una prueba rápida de inmunocromatografía diseñada para ser utilizada en laboratorios de microbiología que analizan alimentos en los cuales se sospecha la presencia de patógenos, para la detección cualitativa de estos en distintas matrices alimentarias tales como carnes (carne molida cruda y pavo molido crudo), especias (pimienta negra), lácteos (leche desnatada), alimentos secos (coco) y mariscos (gambas cocidas, peladas y congeladas).



**1. Caldo nutritivo**



**2. Agrega la muestra**



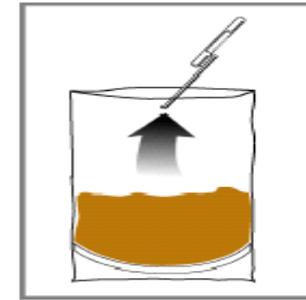
**3. Mezcla**



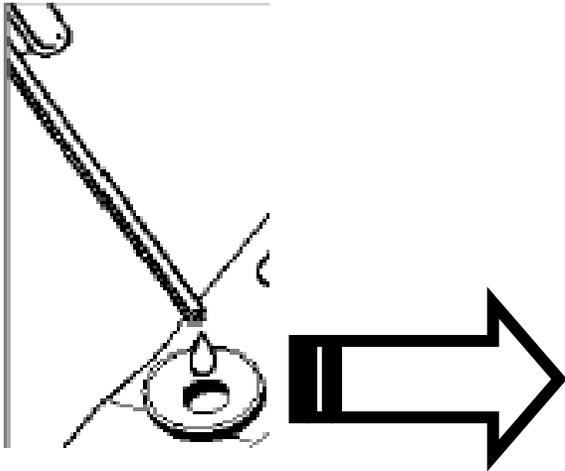
**4. Incuba**



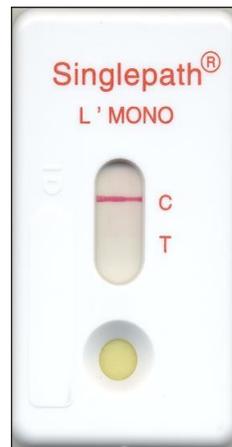
**5. Pipetea la mx**



**6. Coloca la mx**



**NEGATIVO**

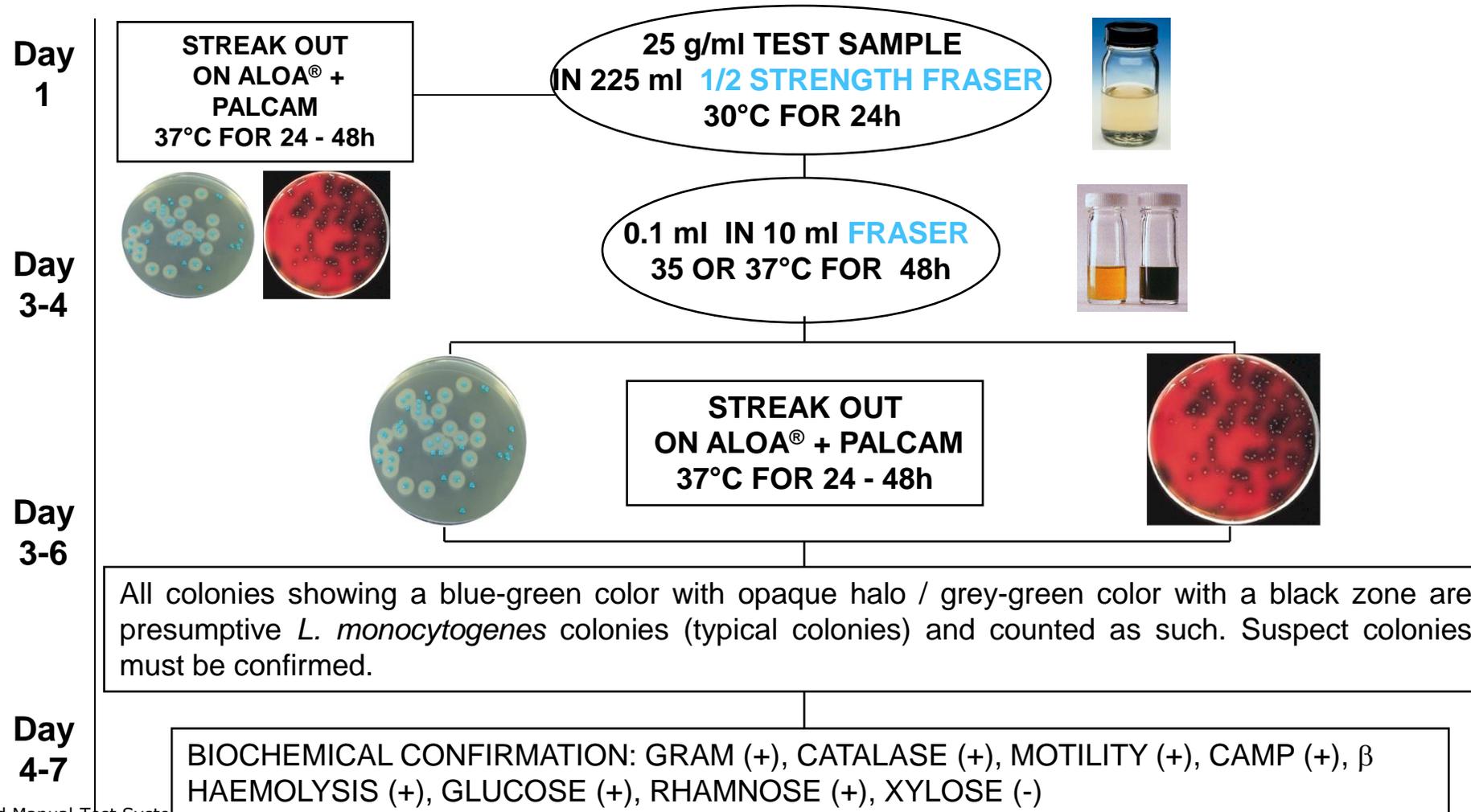


**POSITIVO**



Lee  
después de  
20 -25  
min

# ISO Standard 11290-2004 for testing of *Listeria* in Food and Animal feeds



# Rapid Testing – Singlepath® L' mono - Screening

Día 1

Esponja + 100ml de DEMI FRASER o  
LEB 37°C 24h

Día 2

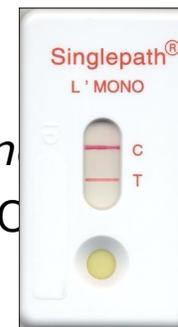
0,1 ml a 10 ml Fraser  
42°C por 21 - 24 h

Día 3

150µl



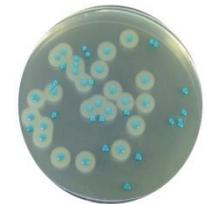
*L. monocytogenes*  
PR



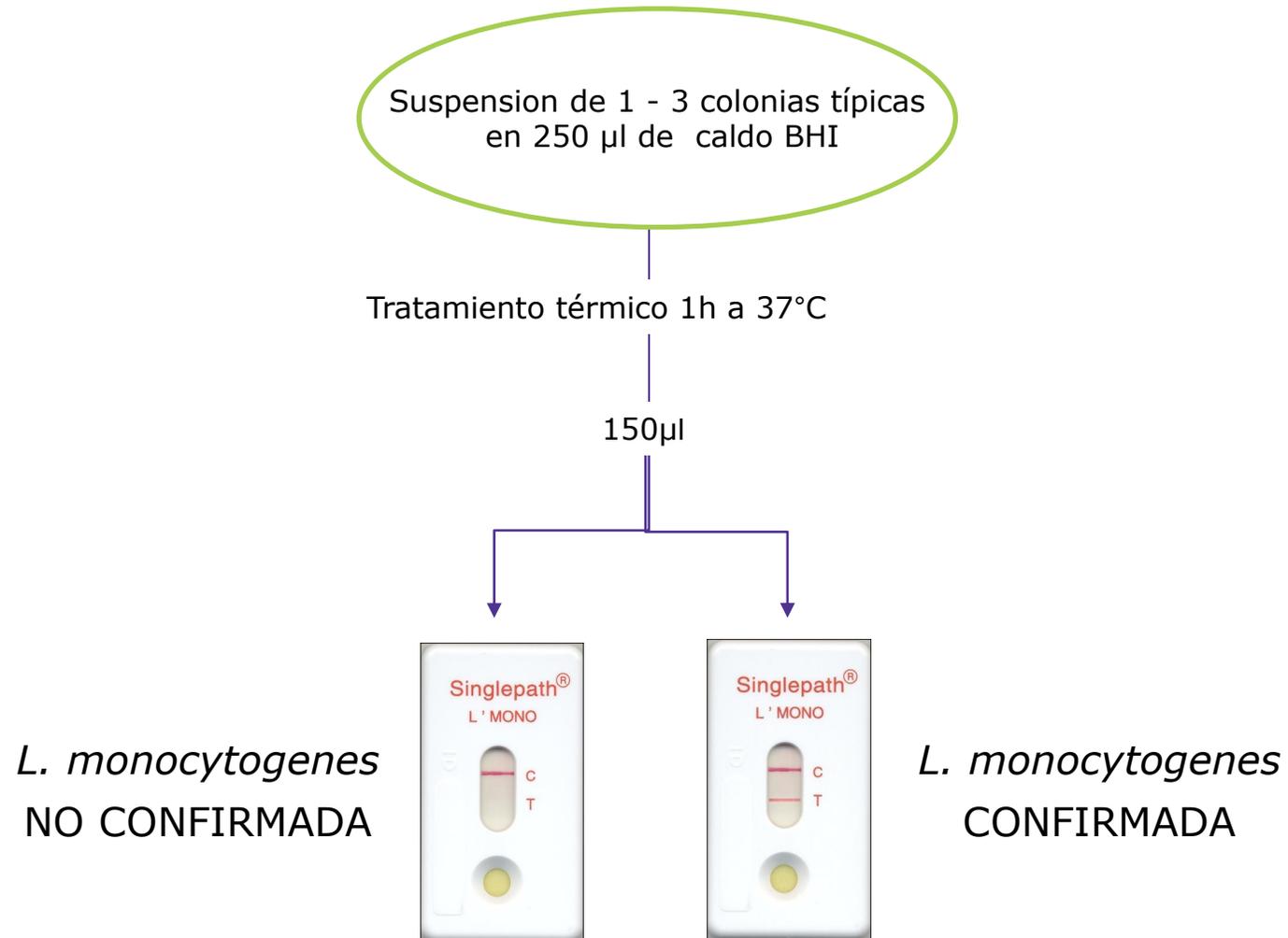
*L. monocytogenes*  
NO

Chromocult Listeria®  
37°C for 24 - 48h

CONFIRMACIÓN



# Rapid Testing – Singlepath® L' mono - Confirmation



# 1,2 - TEST

# 1-2 Test<sup>®</sup> *Salmonella*

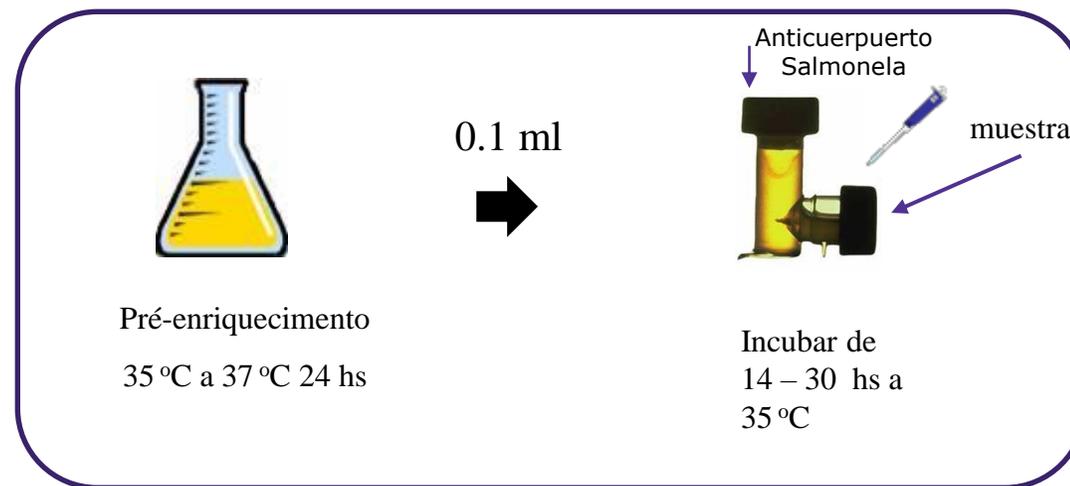


- ➔ Metodo Rápido para Detección de *Salmonella spp.*
- ➔ Prueba de Inmuno Inmovilización
- ➔ **Método Oficial AOAC OMA 989.13**
- ➔ Empaque:
  - ✓ Bandeja con 12 unidades (10107-12)
  - ✓ Caja con 72 unidades (10107-72)

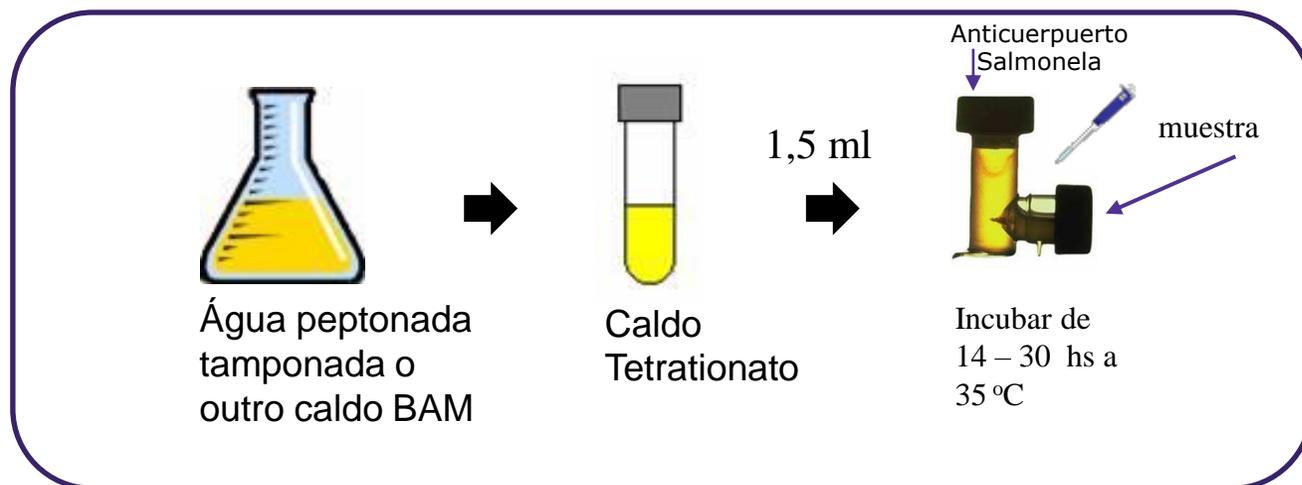


# Procedimiento 1-2 Test

muestras de alimentos Procesados

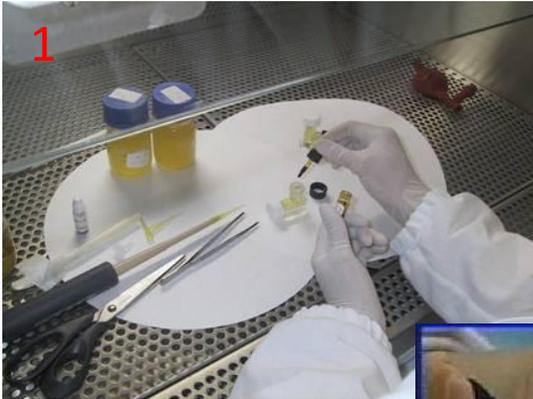


muestras Altamente contaminadas

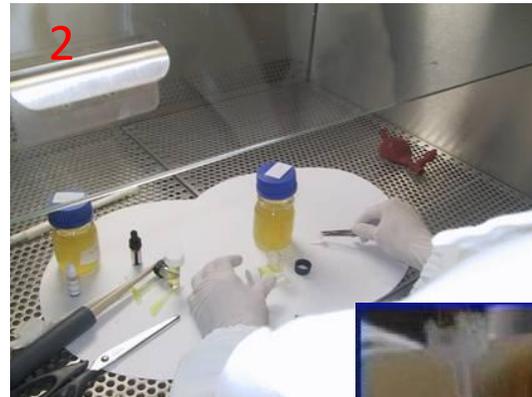


Ver Manual del producto para  
detalles del procedimiento

# Procedimiento 1-2 Test



**1**  
Adicionar 1 gota del reactivo Iodo-Ioduro en la camara con tapa negra



**2**  
Sacar el plug plastic de la camara de tapa negra.



**3**  
Adicionar la Muestra en la camara de tapa negra



**4**  
Cortar la Tapa blanca con tijera flambeada.

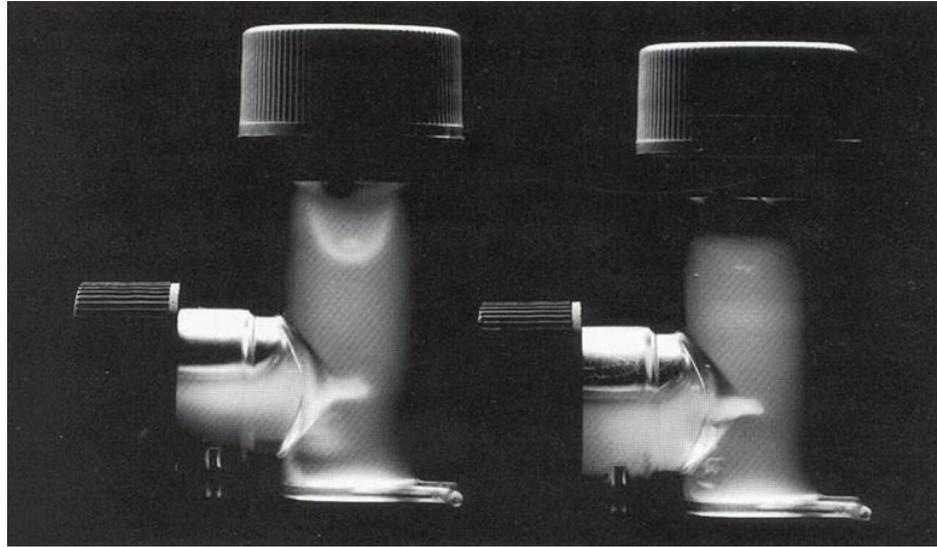


**5**  
Adicionar 1 gota del Anticuerpo. Cerrar el kit. Esta listo para incubar.



Incubar  
35 °C / 14 hs

# Resultados del 1-2 Test



**Positivo**

**Negativo**



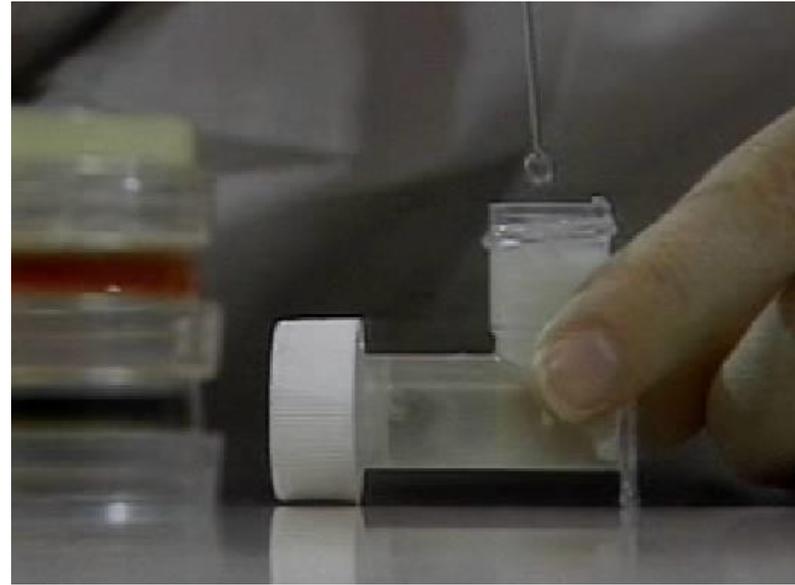
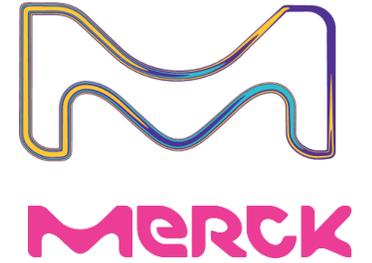
**Negativo**

**Positivo**

Banda  
positiva de  
Salmonella



# Confirmación de los Resultados



**Los resultados positivos pueden ser confirmados transferiendo del caldo tetrionato de la cámara de tapa negra para las placas de agar selectivo para *Salmonella*.**



GDS

# Genetics Detection System GDS

Utiliza los últimos desarrollos en tecnología para lograr los mejores tiempos para resultados y precisión

1. Preparación de la muestra basada en IMS



1. Sondas y primers altamente específicos



2. Innovativa plataforma del instrumento giratoria



## Proceso de 3 etapas

Enriquecimiento



Preparación de  
la muestra



Análisis  
PCR



# Enriquecimiento

Preparación permite que la bacteria crezca hasta un nivel detectable



Muestras es enviada al lab



Agrega a la muestra caldo de enriquecimiento



Homogeniza



Incuba

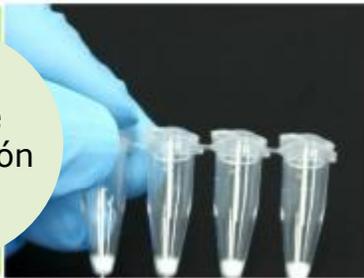
Se utilizan 25g de alimento + 225 caldo de enriquecimiento

## Preparación de la muestra para PCR

Preparación de la muestra para que el microorganismo objetivo esté listo para la PCR



De muestra incubada

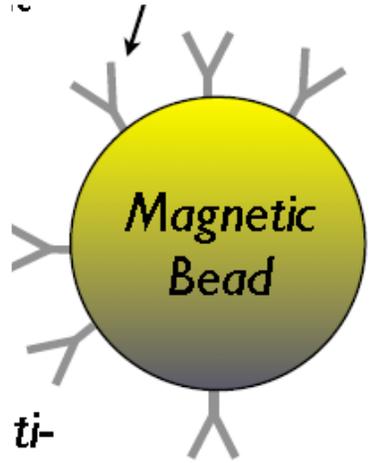


Tubos de amplificación

Pero, ¿cómo se prepara la muestra para PCR?

# Inmunoseparación

Anticuerpo específico



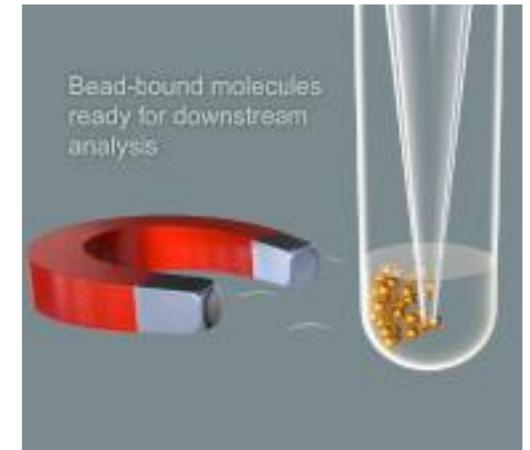
Los Antígenos están en la muestra de Alimentos



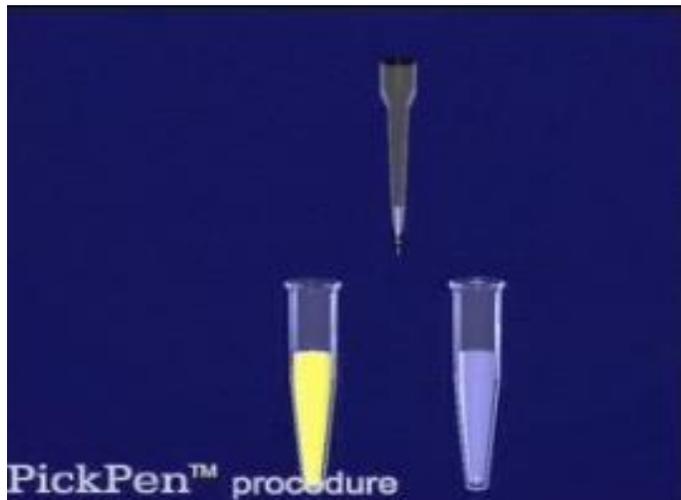
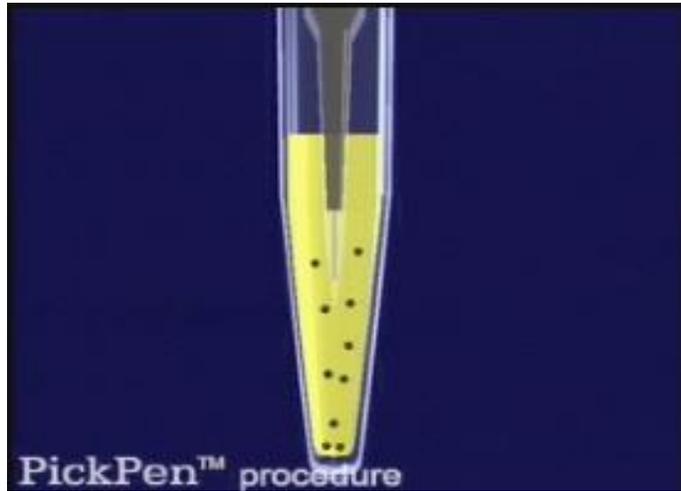
El imán Atrae las Perlas magnéticas y las separa de la muestra



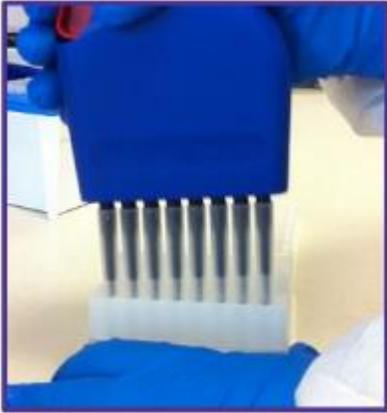
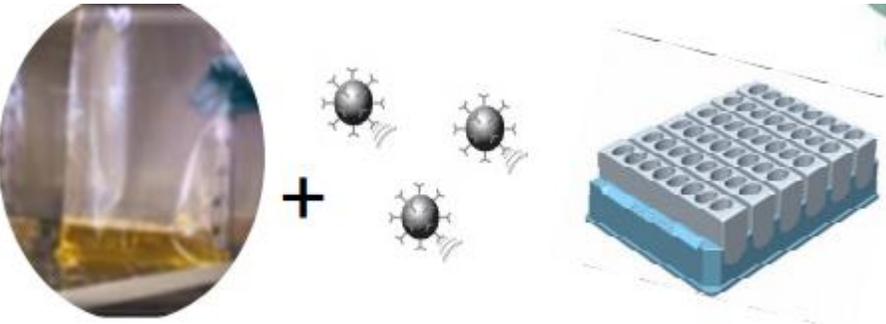
Captura Antígeno MOO. Reacción Antígeno-Anticuerpo



# Separación Inmunomagnética



# CONCENTRACIÓN



# Separación Inmunomagnética

## IMS

### 1 Mejora la pureza de la muestra:

- Reduce la cantidad de MOO que compiten por el alimento.
  - Aumento la especificidad
  - Mejora el aislamiento del Microorganismo target
  - Mejora la selectividad de los enriquecimientos.

- Remueve los inhibidores potenciales del PCR
  - Residuos de alimento, sanitizantes, medios de cultivo, etc

### 2

Incrementa la cantidad de ADN para el análisis

- Concentra los organismos buscados
  - Provee 1-2 log de aumento en densidad de células post-enriquecimiento
- Mayor cantidad a analizar (1,000  $\mu$ L vs. 5  $\mu$ L)

# Separación Inmunomagnética IMS

## 3 Reduce Tiempos de Enriquecimiento :

Ensayo	Assurance GDS	Típico Método PCR
<i>E. coli</i> O157:H7	6 ½ horas	8-24 hr
<i>Salmonella</i>	18 horas	48-72 hr
<i>Listeria</i> spp.	24-30 horas	48 hr
<i>L. monocytogenes</i>	24-30 horas	48 hr

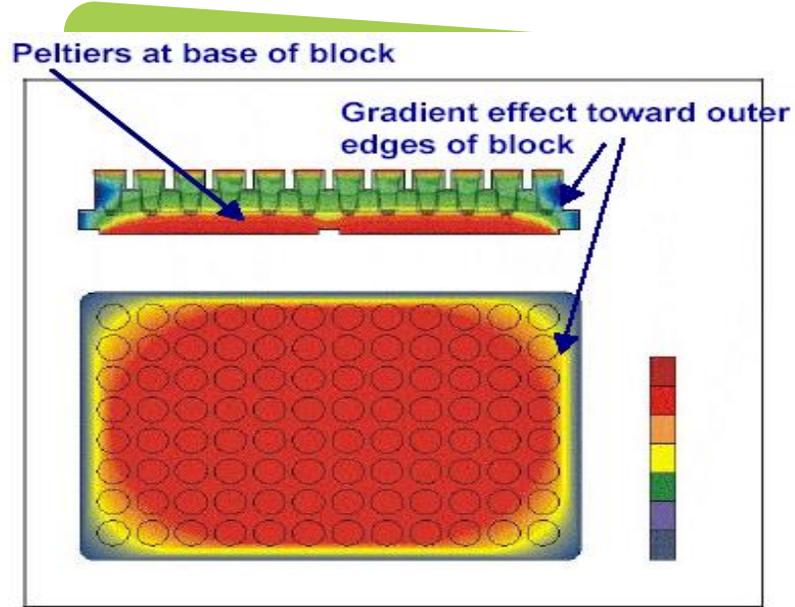
- Reemplaza / reduce los pasos de enriquecimiento selectivo, sin comprometer sensibilidad



# TERMOCICLADOR

FORMATO TRADICIONAL

Bloque de Peltier



Muestras acomodadas en un formato rotativo para calentamiento / enfriamiento directo



Acceso a través de todas las reacciones

Assurance GDS Rotor-Gene™

# Assurance GDS

## Plataforma del Instrumento

Resultados mas rápidos



Paso del PCR	Rotativo	Bloque	Tiempo ahorrado
Tiempo que empieza la desnaturalización	3 min	10 min	7 min
Tiempo típico de un ciclo	<2 min	4 min	--
Tiempo total ciclo (42 ciclos)	70 mins	170 min	100 min
Curva de fusión	0	60 min	60 min
<b>TOTAL</b>	75 min	240 min	<b>&gt;2.5 horas!</b>

# Assurance GDS familia de pruebas

- **E. coli O157:H7 (EHEC)**
- **Shiga Toxin Genes**
- **E. coli Shiga Toxigénica (STEC)**
- **Salmonella**
- **Listeria spp.**
- **Listeria monocytogenes**
- **Cronobacter sakazakii**



20  $\mu$ l IMS reactivo  
concentración + 1ml muestra  
enriquecida



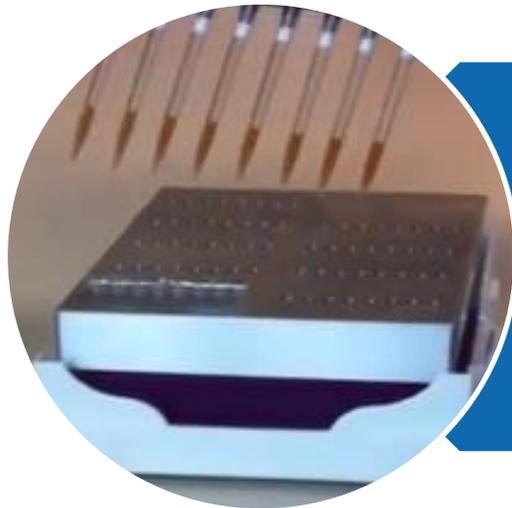
5 minutos agitación en vortex





Transferir la muestra a  
solución de lavado

Transferir muestra a la  
solución de resuspensión



Transferir 30 ul a los tubos de  
amplificación



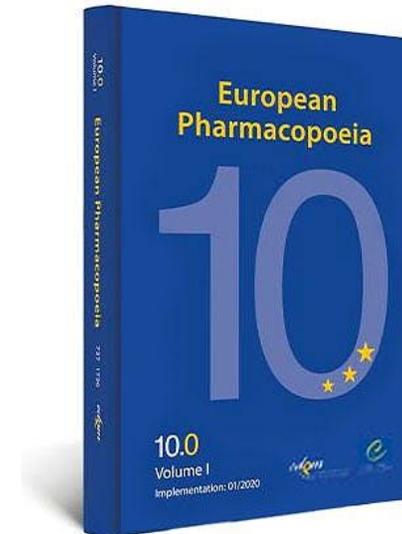
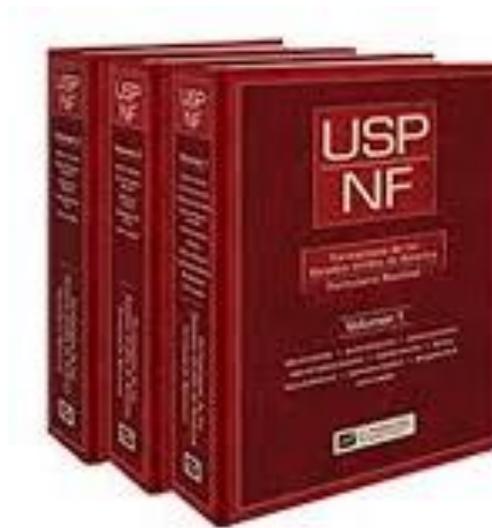
Transferir los tubos de  
amplificación al rotor Gene



# SEGMENTO FARMACEÚTICO

02

# NORMATIVIDAD



International  
Organization for  
Standardization

# SEGMENTO FARMA



1. Ahorro de tiempo
2. Ahorro de Dinero
3. No necesidad de realizar promoción de crecimiento
4. Documentación completa para el paso de auditorías
5. Extraordinarios resultados... alguien más lo hace por mí y me da la seguridad de los que recibo.



- ✓ **Control de calidad de todos los lotes de RtU, y los procesos de producción validados (Merck proporciona ambos: proceso de producción validado + control de calidad específico del lote)**
- ✓ **Opción de medios irradiados y no irradiados**
- ✓ **Fechas de vencimiento cortas**

## MEDIOS DE CULTIVO LISTOS

# Medios de Cultivo RTU

- Posicionamiento de la cartera MA

Aséptico de producción en salas limpias  
A / B



IsoBag™

ICR Swab



ICR/ ICR+ Settle and  
Contact Plates



LI-Settle and RT-Contact Plates

# Seleccione su medio de cultivo para el grado de su sala designada



## Áreas de producción menos críticas como salas limpias de grado C y D.

- Placas de contacto RT (bloqueables y no bloqueables)
- Placas LI-Settle (no bloqueables)
- Portaobjetos de contacto no irradiados
- Tiras de agar no irradiadas

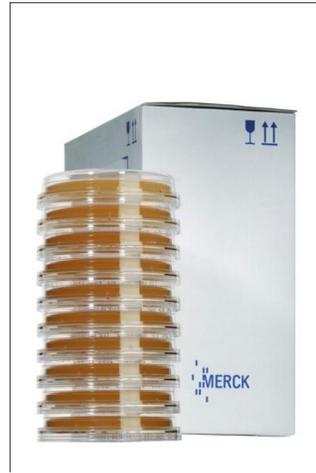


## Áreas críticas de producción aséptica como salas limpias de grado A / B, RABS y aisladores.

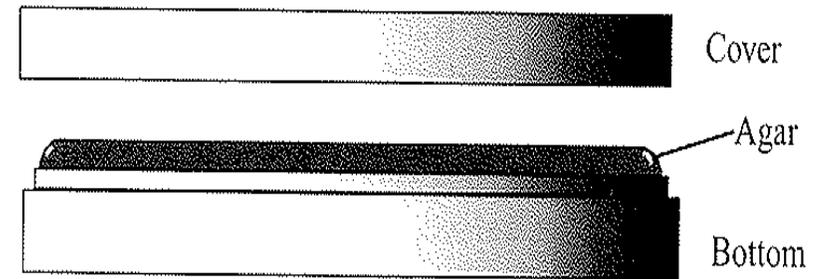
- Placas ICR (bloqueables y no bloqueables)
- Placas de contacto ICR (bloqueables y no bloqueables)
- Hisopos ICR
- Diapositivas de contacto irradiadas y tiras de agar

# Placas RODAC

R eproducir exactamente  
O rganismo  
D irecto  
A gar  
C ontacto



- ✓ Placas de contacto con una superficie en forma de cúpula
- ✓ 55 mm de diámetro ( 25cm<sup>2</sup> )
- ✓ 17 ml de llenado
- ✓ La rejilla en la parte inferior del plato

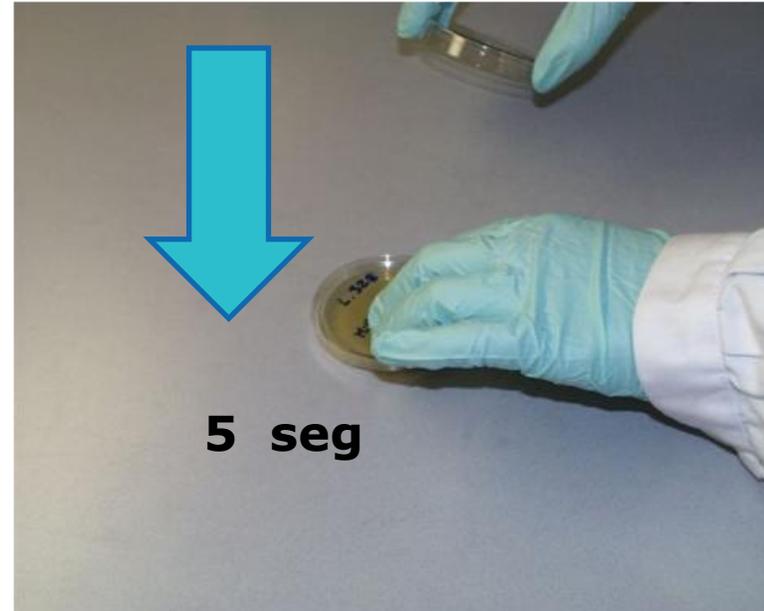
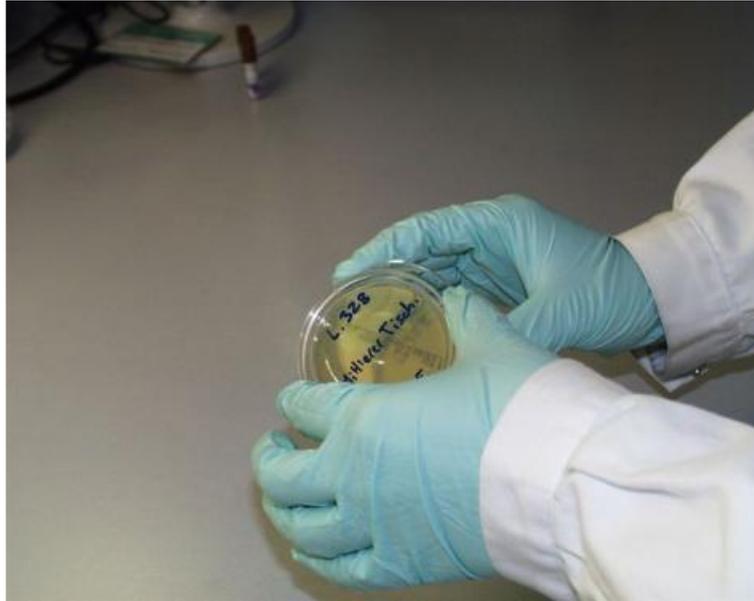


A RODAC plate with agar.

Superficies previamente **limpiadas y desinfectadas**. áreas No muy contaminadas, porque dará un crecimiento excesivo. Si se desean recuentos de colonias precisos, las placas debería **tener menos de 200 colonias**

# Muestreo

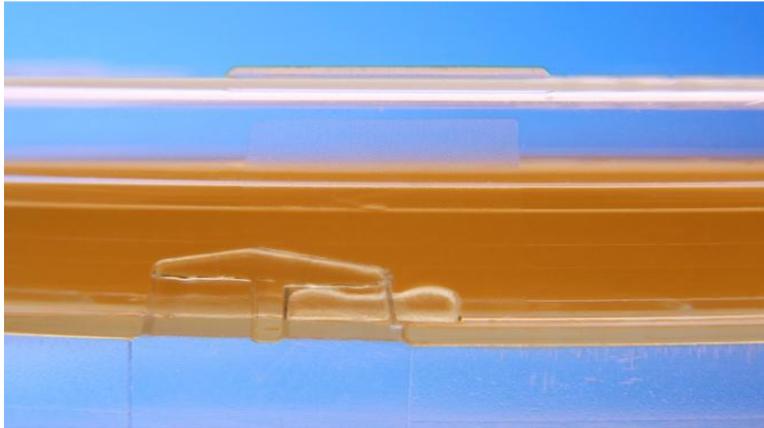
No está destinado a ser utilizado para **grietas o superficies irregulares**



El recuento aerobico total bacteriano puede ser obtenido con una incubación de **30 a 35°C for 48 to 72 horas**. El El conteo combinado de mohos y levaduras generalmente se obtiene con una incubación **20 to 25°C for 5 to 7 days...**



# Ventaja adicional



Mecanismo de cierre proporciona mayor seguridad en el transporte de los medios de cultivo.

Close = **Posición cerrada** para el transporte, e incubación aeróbica.

Incubación contra clockwise = **Posición de Ventilación** para Incubación anaerobica e incubación Microaerofilica.

# Monitoreo Ambiental



# Tecnologías para el Monitoreo Ambiental



La detección de los MOO será posible solamente si se utiliza **un neutralizante** para eliminar el desinfectante residual

Lecitina (L)

- ↳ L-Histidina (H)
- ↳ Tween 80 (T)
- ↳ Sodio tiosulfato (Th)

LT, LTH y LTHTh

Interferencia de los desinfectantes



## Que Neutralizante escoger

Alcohole	Dilution or Tween 80
Aldehyde	Sodiumhydrogensulfit, Glycin, Sodiumthiosulfat
Sodiumhypochlorit	Sodiumthiosulfat
Biguanide (not polyhexamethylene biguanide)	Lecithin
Quaternary Ammonium compounds (QAV)	Tween 80, Lecithin
Phenolish compounds	Tween 80, Lecithin
Parabene	Tween 80, Lecithin
Peracetic acid	Buffer (f.e. Phosphate buffer)
Hydrogenperoxide	Pyruvat, Catalases

# Settle Plates y HYCON® Agar Strips - Características clave

## Placas de sedimentación

- Llenado en salas limpias
- Tamaño estándar de 90 mm para el control activo y pasivo del aire.
- Almacenamiento a temperatura ambiente.
- 10 platos por bolsa
- 30 ml de volumen de llenado (w. Respecto a la deshidratación)
- Fácil de usar
- Código de barras individual para cada plato.

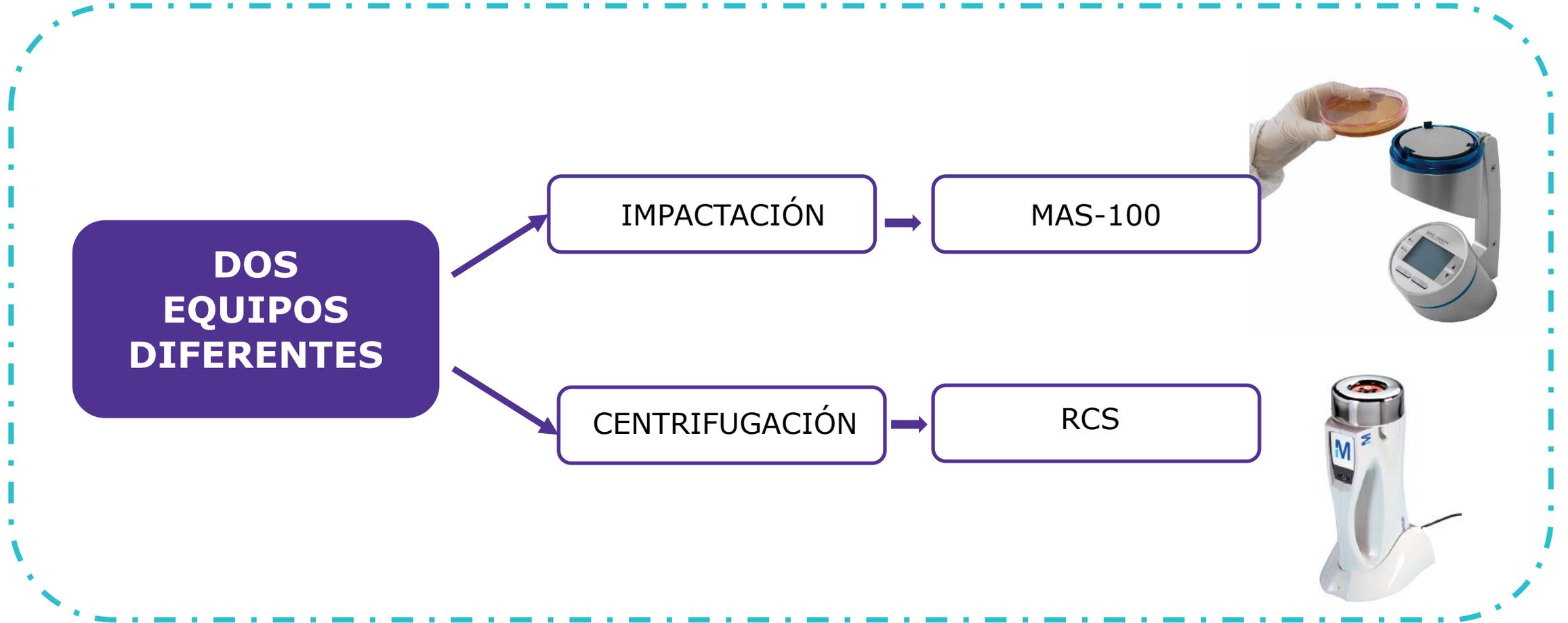


## Tiras de agar HYCON®

- Llenado en salas limpias
- Diseñado para su uso en muestreadores de aire RCS
- Almacenamiento a temperatura ambiente.
- Sellado individualmente
- Manguito re-cerrable (tapa deslizante)



# SEGMENTO FARMA



EQUIPOS MONITOREO AMBIENTAL

## RCS: "Centrifugación"



- Microorganismos en el aire contenidos en el aire son acelerados a través de fuerzas centrífugas y se distribuyen por igual sobre una tira de agar contenida en el rotor.
- Salida de aire se dirige en paralelo al dispositivo

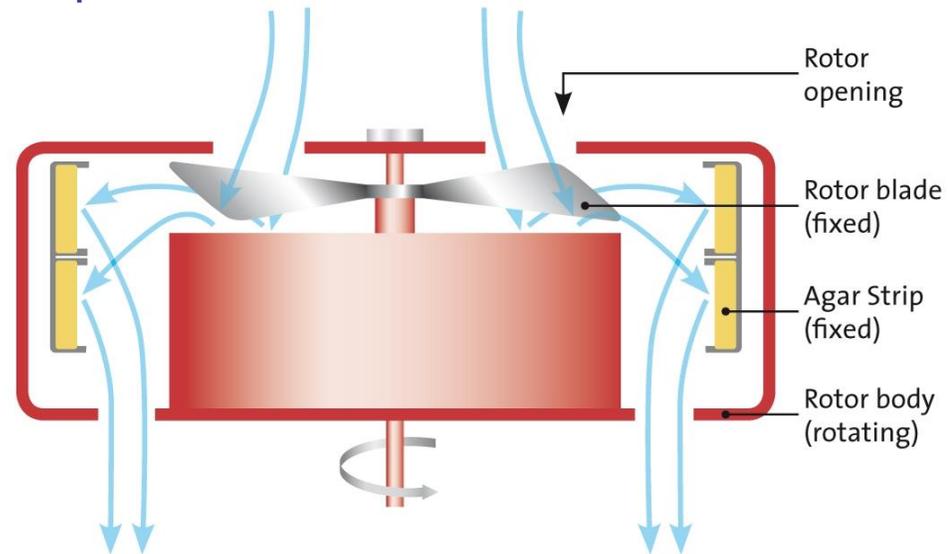


Fig. 1: Illustration of the Reuter Centrifugal Impaction Principle



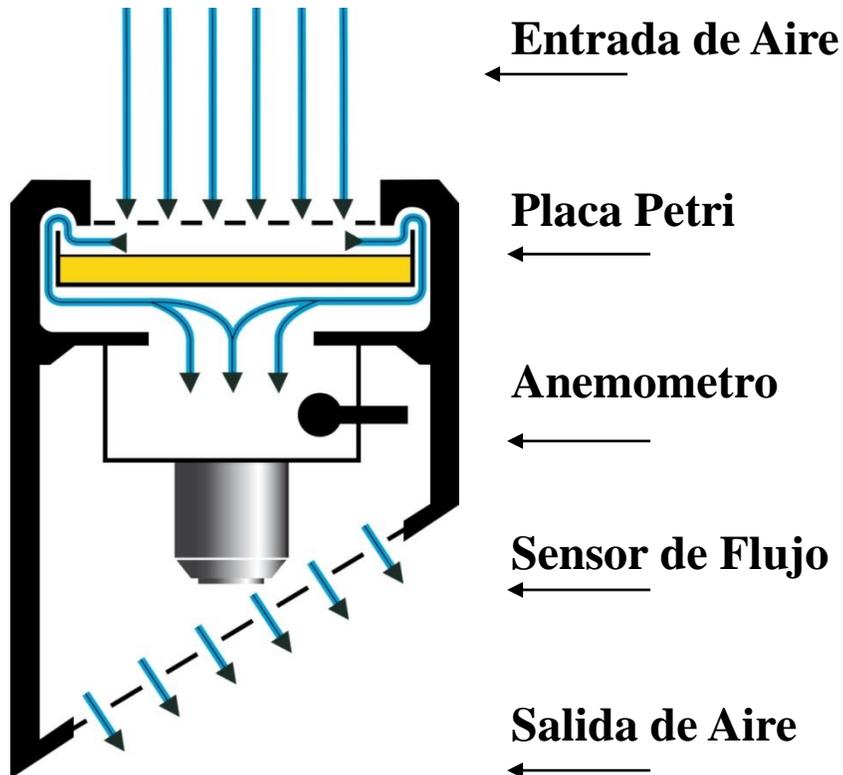
Consumibile obbligatorio la tira  
Merck Millipore

# Monitoreo de Gas Comprimido

- RCS High Flow Touch se utiliza para controlar el aire ambiente y el gas comprimido
- Para la monitorización de gas comprimido se utiliza el adaptador de gas comprimido
- Volumen de muestra recomendado: 1m<sup>3</sup>
- 6 boquillas para cubrir un rango de presión de 0.1 a 7.0 bar Absoluto
- no se requiere un reductor de presión externo (fuente potencial de contaminación)
- El adaptador es autoclave, se puede desinfectar y esterilizar con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Para ser aplicado a todos los gases no inflamables y no tóxicos.



# Familia MAS-100



- Principio: Impactación de Anderson
- El flujo de aire se dirige sobre una placa de agar estándar (90 mm)
- El volumen de aire aspirado se controla y se regula mediante un valor constante de 100 litros / min (de forma continua)
- El sensor de flujo de aire
  - Se adapta a la variación en la capa de agar o en tamaños de cada caja Petri, a la variación del flujo de aire, por ejemplo mediante agujeros bloqueados y regula la presión y la temperatura del medio ambiente
- **Resultados comparables en todo momento**
  - Tabla de factores de corrección (tabla de Feller) en caso de altos títulos

# FAMILIA MAS

Industria farmacéutica?  
Aséptico de producción  
en salas limpias A / B



MAS-100 NT®



MAS-100 VF®

Áreas de producción  
menos críticos en la  
industria farmacéutica y  
de dispositivos médicos,  
fabricantes de  
compuestos  
farmacéuticos



MAS-100 NT®



MAS-100 VF®

las pruebas con gas  
comprimido en Pharma,  
la industria de  
dispositivos médicos,  
alimentos y bebidas.



MAS-100 CG Ex

## SISTEMA STERITEST



### ¿Qué es el dispositivo Steritest™?

Steritest™ es un sistema cerrado diseñado para detectar microorganismos en una muestra líquida mediante filtración por membrana.



# ANÁLISIS ESTERILIDAD MICR.

# Steritest™ System

## A complete solution for sterility testing

1



- **Sterility Testing Device**

Multiple Steritest™ units with various adapters and membranes

2



- **Hardware & Accessories**

- Steritest™ Symbio Pumps
- Accessories: foot pedal etc

3

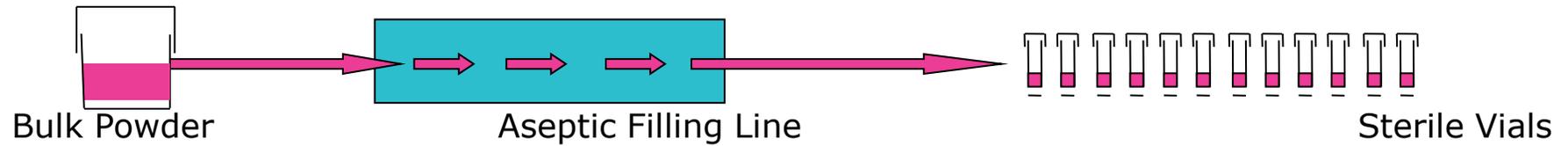


- **Media & Rinse Fluids**

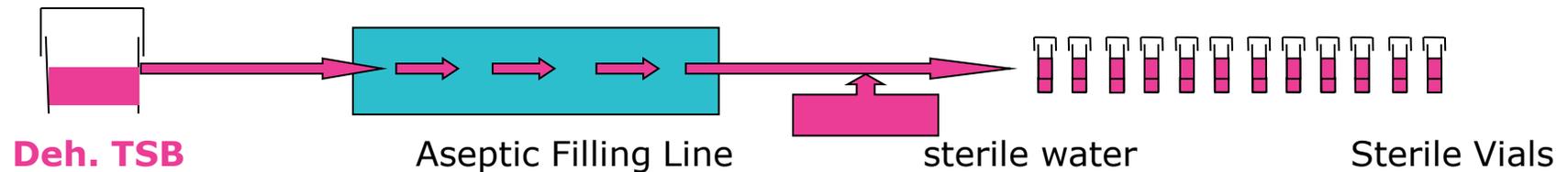
Formulations compliant to regulations

# Media Fill of Powder Filling Line

Production process: :



Media Fill: :



➔ Potential for powdered DCM (more often mannitol or lactose)

# Product line overview



# FILTRACIÓN POR MEMBRANA

03

# SEGMENTO FARMA Y ALIMENTOS



EZ FAMILY

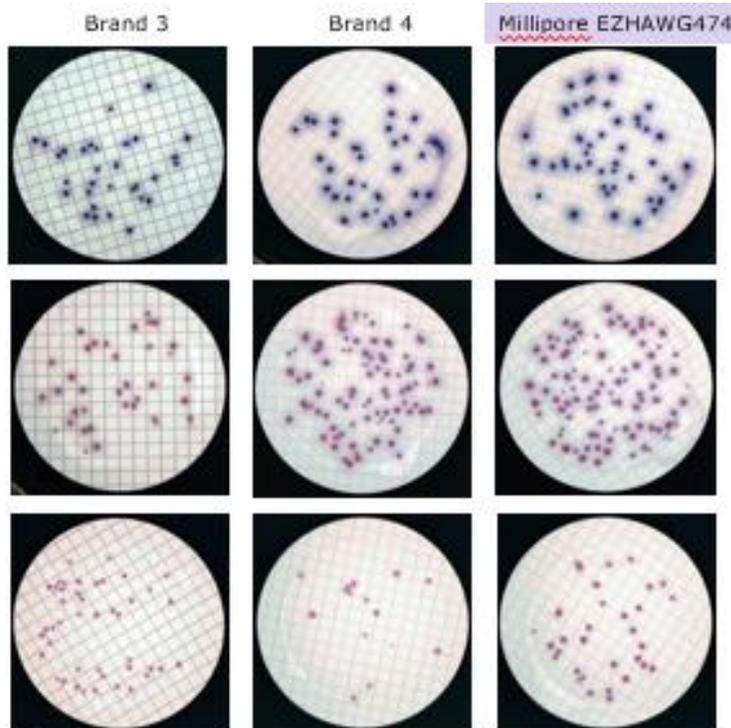
01

# REFERENCIAS NORMATIVAS

# REFERENCIA NORMATIVA

## ISO 9308:2014

## ISO 11133:2014



- Enumeración de *E.coli* y Coliformes en medio cromogénico por filtración por membrana

### 7.3 Testing of culture media used for membrane filtration

The quality of the membrane filters used shall be previously evaluated to demonstrate their suitability for use: use ISO 7704.

To test the performance of a culture medium for use in membrane filtration, use working cultures and inocula as described in 5.4.2. Inoculate the suspension medium e.g. dilution fluid, sterile water, with a suitable inoculum level given in 5.4.2.5.

Filter the liquid according to the requirements of the specific International Standard. Place the membrane on the surface of the agar under test. Inoculate sufficient membranes/plates to obtain a total of approximately 100 cfu for productivity testing. Repeat with a new membrane and place the second membrane on the surface of the reference medium, using dilutions if required for selectivity testing. Incubate the plates according to the specific standard.

Repeat the process each time the batch of membranes changes as well as each new batch of medium.

If necessary, to evaluate the influence of the membrane on the result also spread the test inoculum on to the test medium and reference medium without the membranes.

## REFERENCIAS NORMATIVAS

### **ISO 7704:1984**



- Evaluación de filtros de membrana utilizados en análisis microbiológicos

### **ISO 8199:2018**



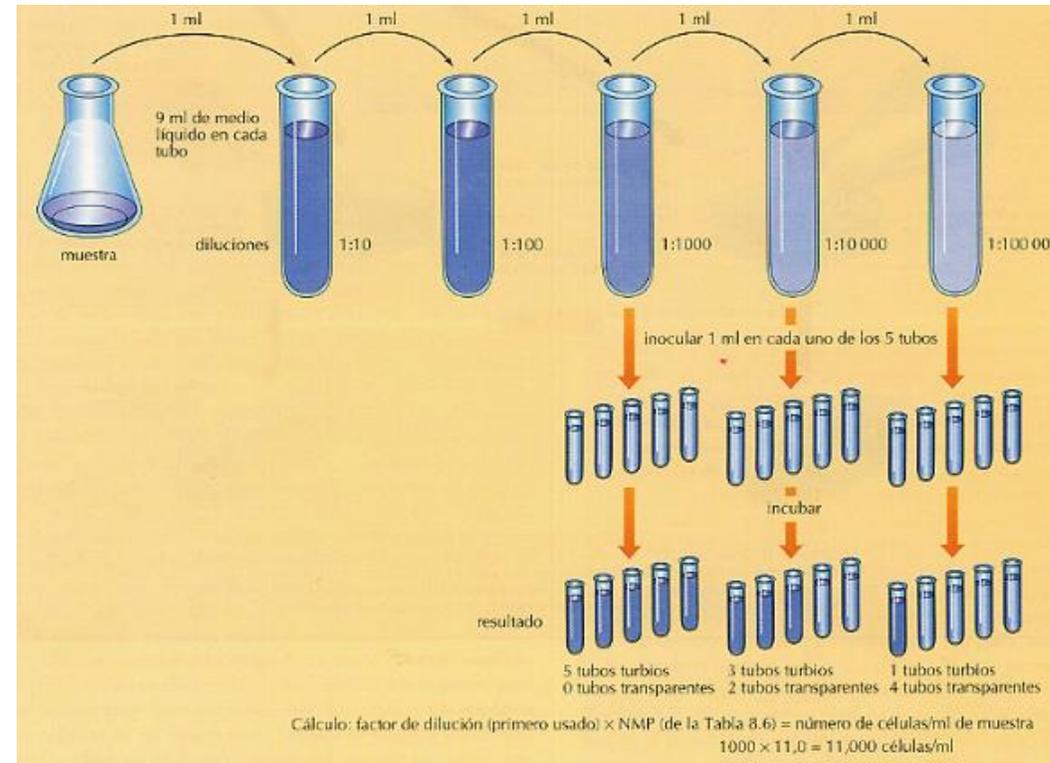
- Calidad del agua: Requisitos generales y orientaciones para análisis microbiológicos

# REFERENCIA NORMATIVA

## ISO 8199 / Estándar Methods

### Water quality – General guidance on the enumeration of microorganism by culture

❖ **Numero Mas Probable:** tubos en donde se realiza la dilución de la muestra.

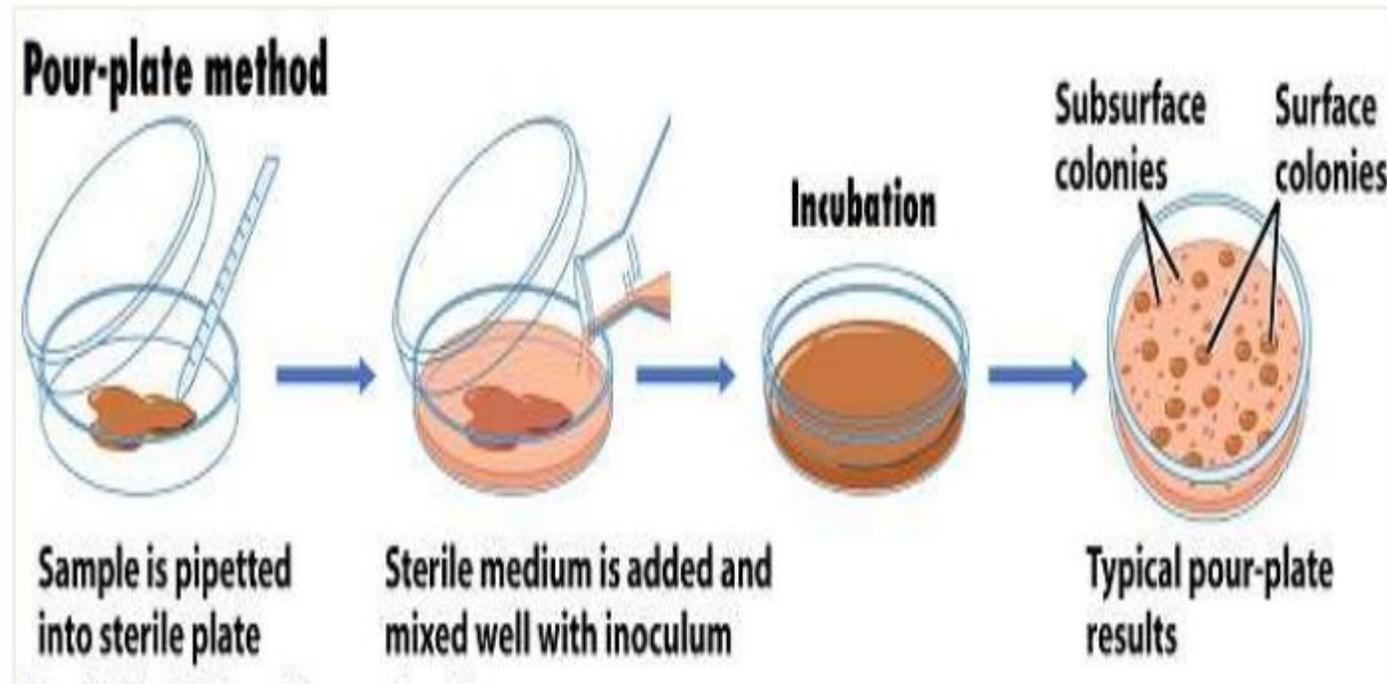


## REFERENCIA NORMATIVA

### ISO 8199 / Estándar Methods

#### Water quality – General guidance on the enumeration of microorganism by culture

- ❖ **Vertido y Esparcido en placa:** La muestra se coloca en la superficie de un medio sólido, después de incubación, las colonias se desarrollaran en la superficie del medio.



## REFERENCIA NORMATIVA

### ISO 8199 / Estándar Methods

#### Water quality – General guidance on the enumeration of microorganism by culture

- ❖ **Filtración por membrana:** La muestra atraviesa un membrana que actúa como filtro, la cual retiene los microorganismos. La membrana es coloca en un medio solido o en una almohadilla absorbente impregnada de un medio líquido.



## Consideraciones al seleccionar un método de prueba de Carga biológica

### Requisitos

Límites requeridos de microorganismos

Importancia de la detección de organismos objetables

Preparación de muestras

Límite de detección requerido

### Producto

Filtrabilidad

Compatibilidad química

Cantidad de la muestra

Efectos inhibidores

## REFERENCIA NORMATIVA

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Vertido en placa Esparcido en placa	Fácil	Muestras NO mayor a <1ml
	Amplia variedad de medios de siembra	Colonias pequeñas
	Muestras no filtrables	Inhibiciones
NMP	Detección mayor	Necesita una amplia cantidad de repeticiones
Filtración por membrana	Es Posible el lavado de Inhibidores	Aplicable a muestras filtrables
	Cantidad de muestra puede ser hasta por más de 1L	Sólidos pueden tapar la membrana

02

## FILTRACIÓN POR MEMBRANA

# Filtración por membrana

## Cinco pasos

1st

MUESTREO



2nd

FILTRACIÓN



3rd

CULTIVO



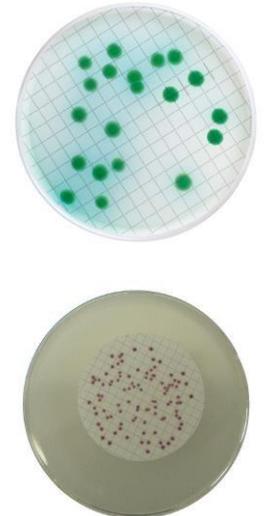
4th

INCUBACIÓN



5th

LECTURA



## Considerar

- ❖ Desinfectar superficies Válvulas y puntos de contacto
- ❖ Recolectar la muestra (10ml,50ml,100ml,250ml...)
- ❖ Sanitizar la válvula

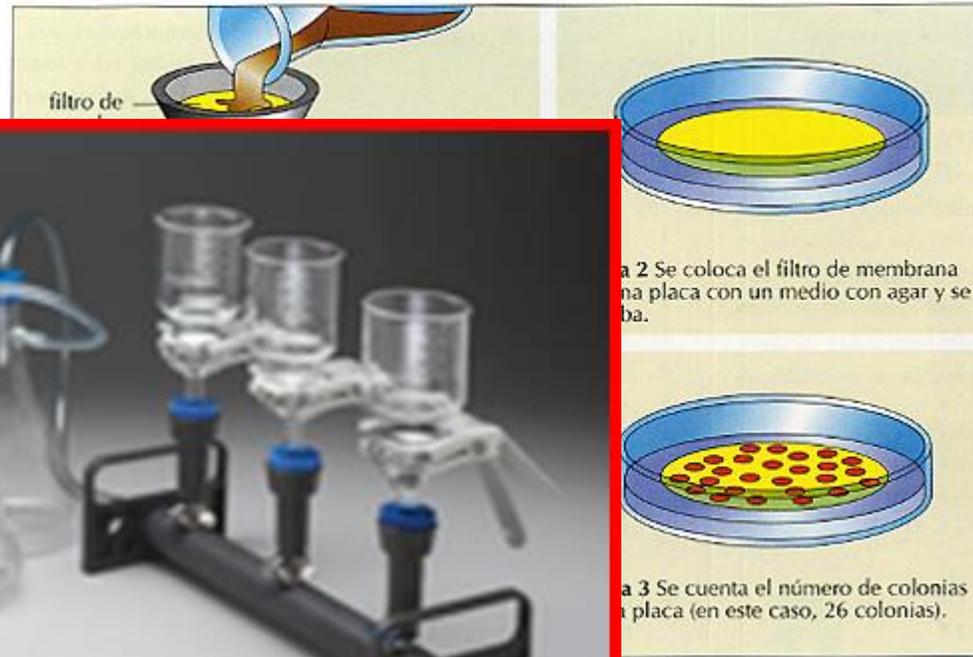
# VÁLVULAS MICROPRESSURE®



# Filtración por Membrana

Quitamos membrana y pasamos a medio de cultivo

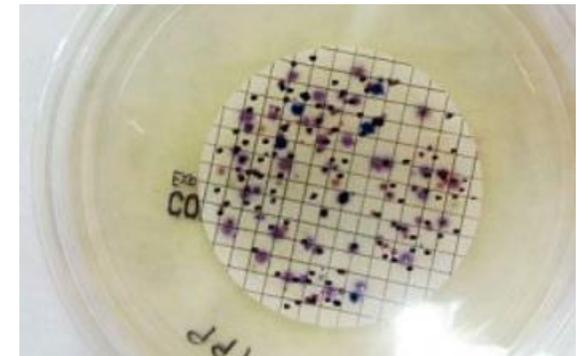
1



2



3



# ISO 8199

## Calidad del agua- Requisitos generales y orientación para exámenes microbiológicos



Conexión directa

Conexión directa  
No requiere trampa ni frasco para  
colectar los filtrados

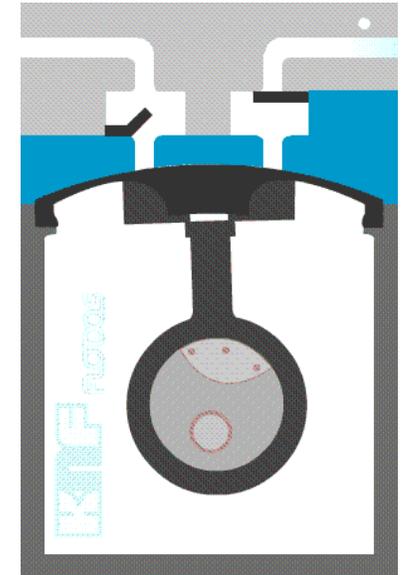
Silenciosa

Cumplimiento ISO 8199 665 Mbar  
700 Mbar Máximo lo recomendado

Flujo: 3 a 4 litros por minuto

Fácil descontaminación

Libre de mantenimiento



## Paso 2

# Filtración por Membrana

### Considerar:

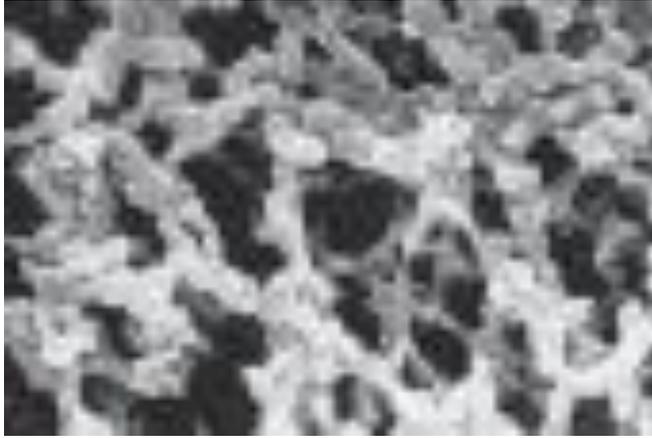
- ❖ Area de trabajo.
- ❖ Manifolds –
  - Cómo aseguramos que no hay contaminación.
- ❖ Embudos –
  - Reusados o de un solo uso
- ❖ Membrana–
  - tipo,
  - Poro, Material y color



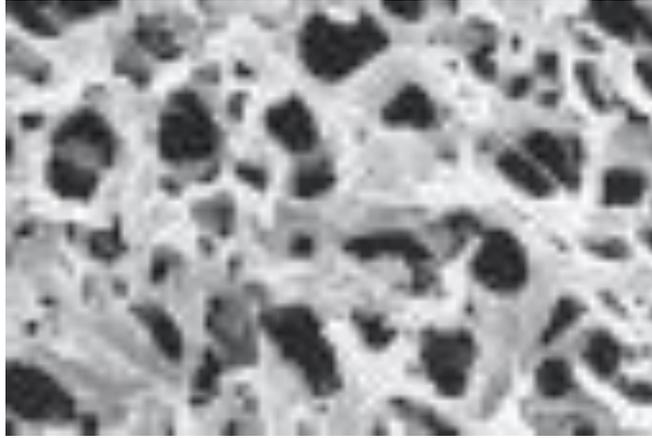
# MANIFOLD EZ-FIT



## Membranas Hidrofilicas / Hidrofobicas



Membrana MEC Millipore™



Membrana PVDF

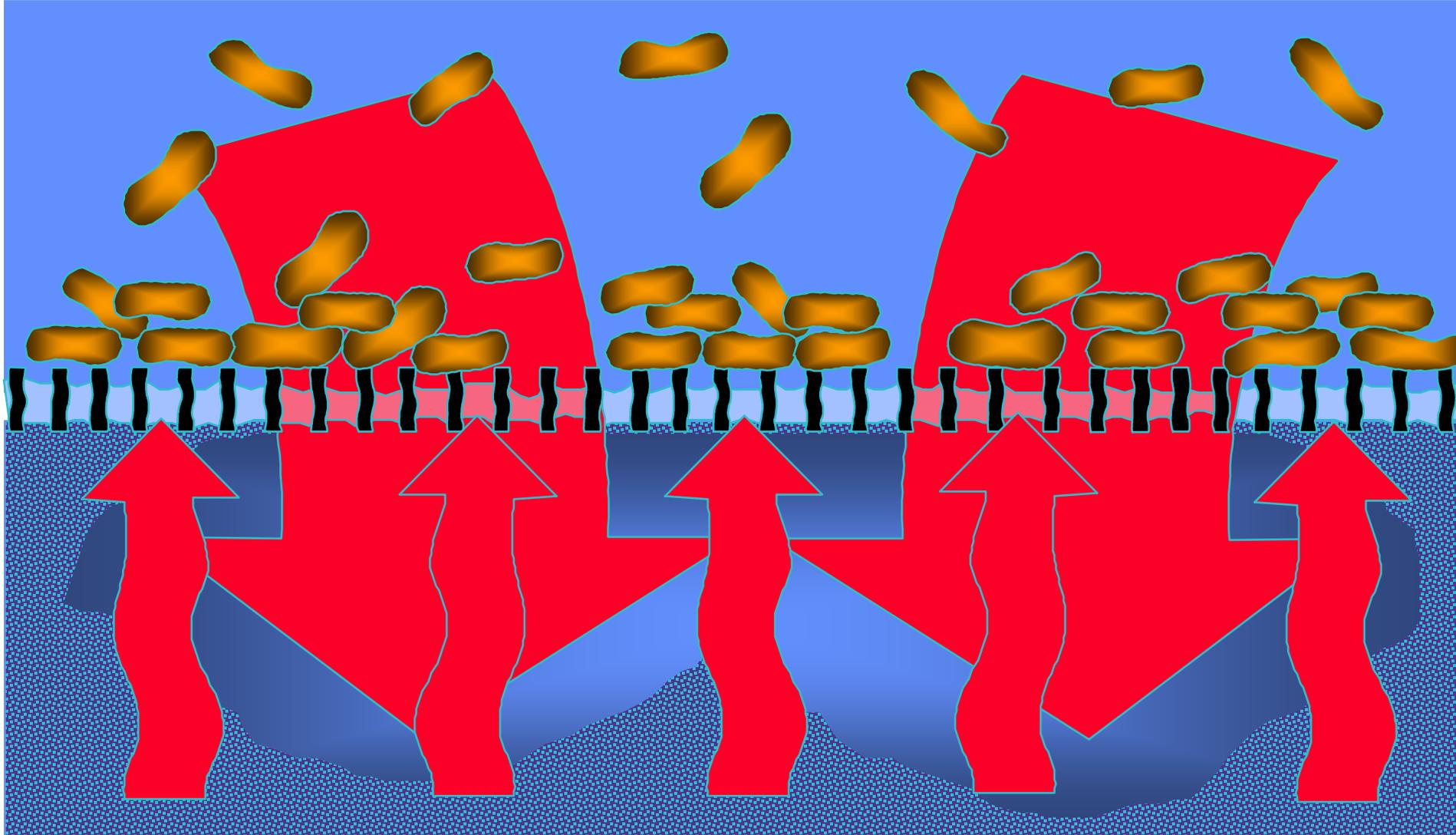
### Importante:

Pre-humectar membrana antes de su uso con la muestra

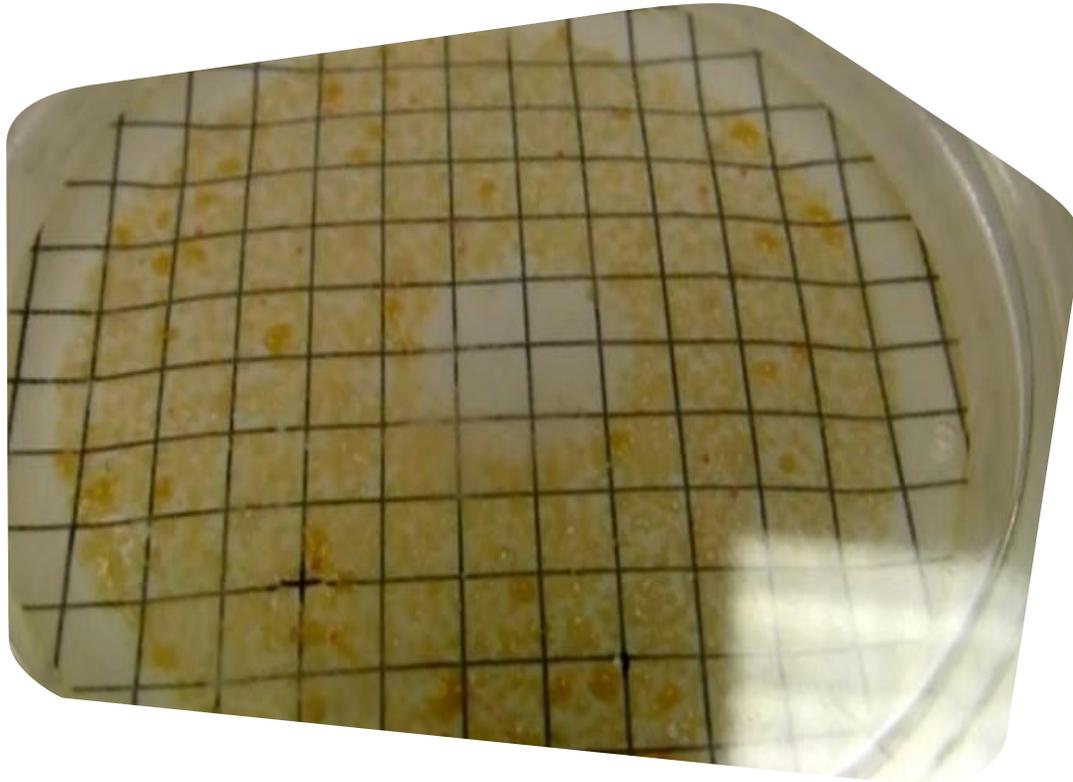
### Evitando:

- Retencion de muestra/ producto en las microcavidades de la membrana

# Filtration Retention Recovery



## The Ez Fit Funnel Explore the Distinction!



**Entonces,  
¿qué pasa  
si la  
membran  
a no esta  
plana en  
el medio?**

- **No hay crecimiento microbiano!!!!**
  - Las burbujas / bolsas de aire niegan la nutrición de microorganismos capturados para crecer



# PREGUNTAS