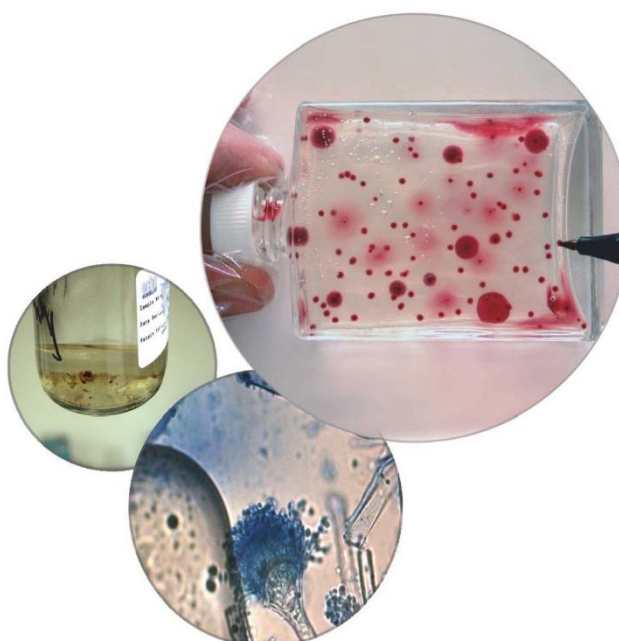


MICROBMONITOR[®] 2

Para la detección y enumeración de microbios
contaminantes en combustibles, lubricantes y agua

Instrucciones de uso



Aviso importante

Lea las instrucciones de uso detenidamente antes de someter las pruebas a ensayo.

El kit de ensayo solamente deberá utilizarse como parte de un proceso de investigación sobre la contaminación de los derivados del petróleo y del agua asociada. El kit de ensayo debe utilizarse estrictamente de acuerdo con estas instrucciones y/o con el método de ensayo normalizado IP613 o ASTM D7978, o según otras instrucciones autorizadas por ECHA Microbiology Ltd. Los resultados se refieren únicamente a la porción de muestra sobre la que se ha realizado en ensayo, y no necesariamente a otros derivados del petróleo presentes en el sistema. Si bien el usuario puede buscar orientación acerca de la toma de muestras y la interpretación de los resultados, la responsabilidad de llevar a cabo la toma de muestras y los procedimientos de ensayo de forma correcta corresponderá al usuario final, y no a ECHA Microbiology Ltd. El kit de ensayo está diseñado para detectar un grupo de microorganismos conocido de relevancia a nivel industrial, pero la propia naturaleza de la microbiología hace que algunos de los microorganismos presentes no sean detectados por el procedimiento. ECHA Microbiology Ltd no se responsabiliza de ninguna decisión o valoración derivada de los resultados obtenidos.

ECHA, Sig Test(s), Sig Sulphide y **MicrobMonitor** son marcas registradas de ECHA Microbiology Ltd. en el Reino Unido, y pueden ser marcas registradas o no registradas en determinadas regiones del resto del mundo.

ECHA Microbiology Ltd, Units 22 & 23 Willowbrook Technology Park, Llandogo Road, St Mellons, Cardiff, Reino Unido, CF3 0EF
Tel: + 44 (0) 2920 365930 Fax: +44 (0) 2920 361195 sales@echamicrobiology.com

¿QUÉ ES EL ENSAYO MICROBMONITOR[®]2?

MicrobMonitor2 es un kit de ensayo sencillo y fácil de usar que permite una evaluación cuantitativa del contenido microbiano viable en productos derivados del petróleo incluyendo combustibles líquidos, aceites y agua asociada. **MicrobMonitor2** le permite realizar ensayos *in situ* o en su laboratorio de conformidad con los respectivos métodos normalizados ASTM D7978 e IP613 - *Determinación del contenido en microorganismos aeróbicos viables en combustibles y en el agua asociada* - Método de cultivo de geles tixotrópicos. **MicrobMonitor2** está recomendado por la IATA en su *Material de orientación sobre la contaminación microbiológica en depósitos de combustible de aeronaves para la monitorización* de la contaminación microbiana en depósitos de combustible de aeronaves, y aparece listado en los manuales de mantenimiento de las aeronaves de Airbus, Boeing, BAE Systems y otros fabricantes de primera línea. El ensayo se utiliza en una amplia gama de aplicaciones militares para la monitorización de la contaminación en los sectores de la aviación, marino y combustibles para vehículos terrestres, y está codificado por la OTAN (6640-99-834-3573).

MicrobMonitor2 proporciona un recuento global de las unidades formadoras de colonias (UFC) microbianas. El número de UFC es la unidad de medida convencional empleada para determinar la contaminación microbiana, y se utiliza en un gran número de industrias. **MicrobMonitor2** detecta las bacterias, levaduras y mohos más importantes que pueden contaminar los derivados del petróleo, incluyendo las especies *Hoimoconis resinae*, *Aspergillus*, *Candida* y *Pseudomonas*.

El ensayo **MicrobMonitor2** consiste en una botella con tapón de rosca que contiene un gel nutriente tixotrópico. La muestra se añade al gel utilizando un asa bacteriológica o una jeringuilla de plástico estéril (se incluye). La botella se agita y el gel se licua, y la muestra y todo microorganismo contenido en ella se dispersan. El gel se vuelve a depositar formando una capa lisa, y la botella se pone a incubar en un lugar oscuro. El contiene componentes que favorecen el crecimiento de los microorganismos viables, y la propia muestra aporta nutrientes adicionales. Los microorganismos viables presentes en la muestra crecen hasta convertirse en unos puntos visibles que se conocen como «colonias», y un componente reactivo hace que el color de estas colonias pase a ser rojo o morado, de modo que se puedan ver con facilidad.

El número de colonias formadas sirve para estimar de forma directa el número de partículas microbianas viables (UFC) presentes en la muestra. El número real de colonias se calcula por recuento o por estimación a partir de las referencias que aparecen en el Gráfico de Resultados de Ensayo (Test Results Chart) de la página 9. El volumen sobre el que se realiza el ensayo puede ser de 0,01 ml (empleando un dispensador de asa bacteriológica) o bien entre 0,1 ml y 0,5 ml (empleando una jeringuilla estéril). Se considera el número de colonias formadas con relación al volumen de muestra añadido al ensayo, expresado como UFC/litro de combustible, o UFC/ml de aceite o agua asociada al combustible.

MicrobMonitor2 está disponible en paquetes de 5 y de 50 ensayos; cada uno de ellos contiene todo lo necesario para llevar a cabo el ensayo:

- Botellas de ensayo **MicrobMonitor2**
- Jeringuillas estériles*
- Dispensadores de asa bacteriológica estériles*
- Etiquetas para la botella
- Este folleto de instrucciones.

*El paquete de 50 está disponible con o sin jeringuillas estériles y dispensadores de asa bacteriológica.

MicrobMonitor2 ha sido desarrollado y patentado por ECHA Microbiology Ltd., y está comercializado en todo el mundo por ECHA y sus distribuidores.

¿PARA QUÉ SE USA EL ENSAYO MICROBMONITOR[®]2?

El **MicrobMonitor2** se usa para comprobar si existe contaminación microbiana en combustibles y derivados del petróleo, y para monitorizar el crecimiento microbiano en depósitos de almacenamiento y en plantas de abastecimiento. **MicrobMonitor2** puede emplearse como herramienta rutinaria de monitorización, para asegurarse de que la calidad de un producto se mantiene, para la investigación de incidentes y para confirmar la eficacia de medidas adoptadas para evitar o paliar la contaminación y el crecimiento microbiano.

Este folleto de instrucciones proporciona indicaciones generales para el uso de **MicrobMonitor2**. Si desea consultar documentación técnica más detallada sobre la utilización de **MicrobMonitor2** en aplicaciones específicas, la podrá encontrar en los folletos técnicos de aplicación que se enumeran a continuación (puede descargarlos de forma gratuita en www.echamicrobiology.com). Estos folletos incluyen recomendaciones sobre la toma y preparación de las muestras, la interpretación de los resultados del ensayo y las acciones adecuadas si se detecta contaminación:

- EP096 *Cómo interpretar los resultados del ensayo MicrobMonitor2 de acuerdo con las Directrices de la IATA para la toma de muestras de aeronaves.*
- EP119 *Monitorización rutinaria de los combustibles de aviación en las plantas de suministro y distribución, de los depósitos de los aeropuertos y de las operaciones realizadas en el interior de los aviones con MicrobMonitor2.*
- EP132 *Monitorización rutinaria de los depósitos de combustible diésel y los sistemas de distribución con MicrobMonitor2.*
- EP166 *Monitorización rutinaria del diésel para uso marino en embarcaciones e instalaciones en alta mar con MicrobMonitor2.*
- EP157 *Asistencia técnica para la lectura de los resultados del MicrobMonitor2.*

PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

Consideraciones respecto a la toma de muestras

La toma de muestras deberá llevarse a cabo de forma limpia y homogénea que evite la introducción de contaminación de fondo en la muestra. Una vez se hayan tomado las muestras de combustible, los microbios presentes irán muriendo poco a poco, por lo que es importante realizar el ensayo a la mayor brevedad. Si el ensayo se realiza transcurridas más de 24 horas desde la toma de la muestra, es posible que los resultados no reflejen el contenido microbiano viable presente en el momento de la toma de dicha muestra. Para evitar esta circunstancia, parte o todo el procedimiento de ensayo **MicrobMonitor2** puede llevarse a cabo en el mismo lugar de la recogida de la muestra.

Tipo de muestra y volúmenes de ensayo recomendados

MicrobMonitor2 puede utilizarse para realizar ensayos con una gran variedad de derivados del petróleo y con el agua asociada. El volumen de muestra que debe utilizarse para el ensayo dependerá del tipo de muestra. Consulte la tabla que se muestra a continuación para determinar el volumen apropiado de la muestra para realizar el ensayo y el dispositivo de medida que se debe utilizar.

Tabla 1

Muestra	Volumen de ensayo recomendado	Dispositivo de medida
Queroseno para aviación	0,5 ml	Jeringuilla
Otros combustibles procedentes de destilados medios (p.ej. diésel, gasóleo para uso marino, gasóleo para calefacciones), biocombustibles y gasolina	0,25 ml	
Fase acuosa procedente del drenaje de depósitos de combustible de aeronaves	0,1 ml	
Combustibles pesados y residuales	0,01 ml	Asa bacteriológica
Aceites lubricantes, hidráulicos o de otros tipos	0,01 ml	
Fase acuosa de los depósitos de almacenamiento de combustible	0,01 ml	

El volumen de la muestra que será sometido al ensayo puede variar con el fin de aumentar o disminuir el nivel de detección del ensayo. Sin embargo, unos volúmenes de muestra mayores que los recomendados anteriormente podrían hacer que, en algunos casos, las cifras de microbios obtenidas estén por debajo del valor real.

Cómo decidir si se realizará el ensayo del combustible/aceite o de la fase acuosa

Dependiendo del sistema que se haya muestreado y de la localización de la muestra, esta podrá contener combustible/aceite y/o fase acuosa. **MicrobMonitor2** puede usarse tanto para realizar ensayos con combustible/aceite o con el agua asociada. La fase acuosa normalmente contiene muchos más microorganismos que los presentes en la fase del combustible o el aceite, por lo que normalmente se emplea un volumen menor para el ensayo. Puesto que no siempre será posible recuperar la fase acuosa libre de las muestras, para garantizar la homogeneidad a la hora de realizar una monitorización microbiológica regular, suele recomendarse que se realice el ensayo a la fase de combustible o aceite por encima de cualquier fase acuosa libre. No obstante, en algunos casos se recomienda hacer un ensayo adicional a la fase acuosa (p.ej. muestras de depósitos de combustible de aeronaves, o cuando se investigue el presumible desarrollo microbiano en las instalaciones). Dispone de información adicional en los documentos técnicos enumerados en la página 2.

Para determinar si la muestra contiene agua libre, examínala visualmente al trasluz. Puede resultar de ayuda agitar suavemente la muestra hasta crear un vórtice. Con el fin de posibilitar el acceso a la muestra con los dispositivos de medida proporcionados, podría ser necesario transferir algo de muestra a un recipiente más pequeño limpio, después de agitarla.

Preparación de las botellas de ensayo **MICROBMONITOR®2**

Si se han almacenado las botellas de ensayo **MicrobMonitor2** refrigeradas, deje que alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlas. Retire el sello del tapón de la botella antes de usar los ensayos **MicrobMonitor2**. Evite exponer las botellas de ensayo **MicrobMonitor2** de forma prolongada a la luz solar o a cualquier otro tipo de luz intensa durante la preparación, incubación y examen de los ensayos.

Limpieza durante la realización de los ensayos

Los ensayos **MicrobMonitor2** pueden realizarse *in situ*, en una oficina o en un laboratorio. No obstante, hay que adoptar ciertas precauciones para garantizar que los ensayos se realizan en una zona razonablemente limpia para evitar la contaminación de la muestra y del ensayo con microorganismos diferentes a los que están presentes en la muestra. Lávese las manos antes de realizar el ensayo. Durante el ensayo, utilice guantes limpios de nitrilo, vinilo o polietileno. Evite tocar las zonas de la jeringuilla o del dispensador de asa bacteriológica que entren en contacto directo con la muestra, y evite tocar el interior del tapón o el cuello de la botella de ensayo **MicrobMonitor2** al añadir la muestra.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

A. Añada la muestra a la botella de ensayo MICROBMONITOR[®]2.

Siga los pasos correspondientes, que se indican a continuación, para añadir combustible destilado o biocombustible (A.1), aceite o combustible pesado/residual (A.2), agua (A.3) o depósitos superficiales (A.4) a la botella de ensayo MicrobMonitor2.

A.1 Queroseno para aviación, otros combustibles procedentes de destilados medios y gasolina.

A.1.1 Inmediatamente antes de realizar el ensayo, agite la muestra durante 30 segundos. Si las muestras de combustible contienen agua libre visible, deberá dejar que la muestra repose durante 12 minutos para permitir que el agua se separe de la muestra que va a utilizarse para el ensayo. Para una mayor homogeneidad, es recomendable aplicar este tiempo de reposo a todas las muestras de combustible, incluso aunque no se observe agua.



A.1.2 Retire el tapón de la botella del ensayo MicrobMonitor2 con cuidado de no tocar su interior y colóquelo sobre una superficie limpia.



A.1.3 Abra el paquete que contiene la jeringuilla tomándola por el extremo de aplicación y extráigala con cuidado de no tocar la parte del extremo del cilindro ni la boquilla.



A.1.4 Utilizando la jeringuilla, extraiga combustible de unos 3 cm por debajo de la superficie de la muestra. Si la fase de combustible es de unos 6 cm de espesor, tome la muestra aproximadamente de la mitad de dicha fase. Evite transferir partículas procedentes de la interfase, gotas de agua o emulsión a la alícuota que se empleará para el ensayo.



A.1.5 Extraiga combustible con la jeringuilla hasta que esté más de la mitad llena, y a continuación, con la boquilla de la jeringuilla hacia arriba totalmente vertical, presione el émbolo para extraer todo el aire. Expulse el combustible en exceso hasta que el émbolo coincida con la marca que indica el volumen de muestra necesario (consulte la tabla 1).



A.1.6 Introduzca la punta de la jeringuilla en el cuello de la botella de ensayo MicrobMonitor2 y añada la muestra apretando el émbolo hasta el final.



A.1.7 Vuelva a colocar el tapón en la botella de MicrobMonitor2 y apriételo. Registre los detalles de la muestra y la fecha de ensayo en la etiqueta que se suministra y péguela en uno de los laterales de la botella. Proceda con el paso B.

A.2 Aceites y combustibles pesados y residuales.

A.2.1 Inmediatamente antes de realizar el ensayo, agite la muestra durante 30 segundos.

A.2.2 Retire el tapón de la botella del ensayo **MicrobMonitor2**test y colóquelo sobre una superficie limpia.

A.2.3 Abra el paquete que contiene el dispensador de asa bacteriológica y extráigalo con cuidado de no tocar el extremo del asa bacteriológica ni la parte inferior del dispensador.

A.2.4 Sumerja el extremo del asa bacteriológica en el combustible/aceite unos 3 cm por debajo de la superficie de la muestra o, si hay menos de 6 cm de fase de combustible/aceite, hasta la mitad de esta. Extraiga el asa bacteriológica de la muestra y deje gotear el combustible en exceso; asegúrese de que dentro del asa bacteriológica queda atrapada una película de combustible/aceite.

A.2.5 Introduzca el asa bacteriológica en el cuello de la botella de ensayo **MicrobMonitor2**, pínchela en el gel y agítela brevemente para transferir la muestra.

A.2.6 Vuelva a colocar el tapón en la botella de **MicrobMonitor2** y apriételo. Registre los detalles de la muestra y la fecha de ensayo en la etiqueta que se suministra y péguela en uno de los laterales de la botella. Proceda con el paso B.

A.3 Fase acuosa asociada al combustible/aceite.

A.3.1 Si hay que realizar el ensayo con una fase acuosa, deje que la muestra repose hasta que el agua libre se haya asentado en el fondo de la botella. Se recomienda realizar el ensayo de la fase acuosa después de haber realizado el ensayo con el combustible/aceite. El procedimiento de ensayo es básicamente el mismo que el descrito anteriormente, aunque hay que emplear una técnica adecuada para separar/eliminar el agua de la muestra.

A.3.2 Según resulte más apropiado en función del volumen de muestra sobre el que vaya a realizar el ensayo (consulte la tabla 1), utilice el dispensador de asa microbiológica o la jeringuilla para medir el volumen de agua requerido.

a) Para utilizar 0.1 ml de agua utilizando la jeringuilla;

La fase de agua puede extraerse directamente del fondo de la muestra y añadirse a la botella de ensayo **MicrobMonitor2**. Para permitir un fácil acceso al agua, puede ser necesario decantar en primer lugar parte del combustible de la muestra y/o transferir la fase acuosa a un recipiente pequeño independiente esterilizado empleando una jeringuilla o una pipeta larga esterilizada (se suministra por separado). Mezcle suavemente dándole vueltas, pero evite que las capas de combustible y agua se mezclen entre sí.

Abra el paquete que contiene la jeringuilla tomándola por el extremo de aplicación y extráigala con cuidado de no tocar la parte del extremo del cilindro ni la boquilla. Introduzca el cuerpo de la jeringuilla en la muestra hasta que la boquilla esté en la fase acuosa. Extraiga agua con la jeringuilla, retírela de la muestra y, a continuación, con la boquilla de la jeringuilla hacia arriba en posición vertical, expulse el aire. Expulse el agua en exceso hasta que el émbolo coincida con la marca de 0,1 ml. Introduzca la punta de la jeringuilla en el cuello de la botella de ensayo **MicrobMonitor2** y añada la muestra apretando el émbolo hasta el final. Vuelva a colocar el tapón en la botella de **MicrobMonitor2** y apriételo. Registre los detalles de la muestra y la fecha de ensayo en la etiqueta que se suministra y péguela en uno de los laterales de la botella. Proceda con el paso B.

b) Para utilizar 0.01 ml de agua utilizando el dispensador de asa bacteriológica;

Se puede emplear una jeringuilla para extraer agua del fondo de la muestra y colocar una gota de agua en el asa bacteriológica, posteriormente añadida a la botella de ensayo **MicrobMonitor2**. De forma alternativa, transfiera la fase acuosa a un recipiente esterilizado utilizando una jeringuilla o una pipeta larga esterilizada (se suministra por separado). Evite la transferencia de combustible. Dé la vuelta al recipiente con el agua separada tres veces para mezclar su contenido.

Retire el tapón de la botella del ensayo **MicrobMonitor2** y colóquelo sobre una superficie limpia. Abra el paquete que contiene el dispensador de asa bacteriológica y extráigalo con cuidado de no tocar el extremo del asa bacteriológica ni la parte inferior del dispensador. Sumerja el extremo del asa bacteriológica en el agua separada o llénela con una gota de agua empleando una jeringuilla. Deje que gotee el agua en exceso, pero asegúrese de que el círculo del asa bacteriológica siga conteniendo agua; tenga en cuenta que, si hay residuo del combustible presente, esto podría impedir que el asa bacteriológica se llenase de agua. Introduzca el asa bacteriológica en el cuello de la botella de ensayo **MicrobMonitor2**, pínchela en el gel y agítela brevemente para transferir la muestra. Vuelva a colocar el tapón en la botella de **MicrobMonitor2** y apriételo. Registre los detalles de la muestra y la fecha de ensayo en la etiqueta que se suministra y péguela en uno de los laterales de la botella. Proceda con el paso B.

Nota El kit de muestreo **MicrobMonitor** (que se suministra por separado) es una botella de muestra con un sifón lateral y una cámara de recogida de agua que permite una fácil separación de agua de las muestras de combustible.

A.4 Ensayo en superficies.

A.4.1 MicrobMonitor2 puede utilizarse para realizar ensayos de contaminación microbiana en superficies, es decir, para la detección de depósitos sobre superficies de filtros o tanques de combustible. Deben emplearse bastoncillos estériles (disponibles por separado) para extraer la contaminación superficial y transferirla a una botella de ensayo de MicrobMonitor2.

A.4.2 Abra el paquete que contiene un bastoncillo en el extremo del asa y retire el bastoncillo, con cuidado de no tocar el extremo de algodón del bastoncillo ni la zona del asa que está cerca del extremo con el algodón.

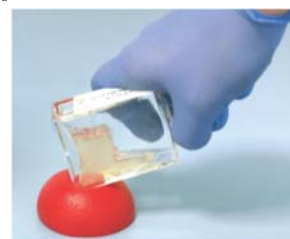
A.4.3 Frote la superficie sobre la que se quiera realizar el ensayo utilizando el extremo del bastoncillo con el algodón, girando el asa del bastoncillo de manera que toda la superficie del algodón entre en contacto con la superficie. Si es posible, frote una superficie conocida.

A.4.4 Introduzca el extremo del algodón en el cuello de la botella de ensayo MicrobMonitor2 y pínchelo en el gel, agitándolo durante unos 15 segundos, extrayéndolo y desechándolo a continuación.

A.4.5 Vuelva a colocar el tapón en la botella de MicrobMonitor2 y apriételo. Registre los detalles de la muestra y la fecha de ensayo en la etiqueta que se suministra y péguela en uno de los laterales de la botella. Proceda con el paso B.

B Agite la muestra para dispersarla en el gel MICROBMONITOR[®]2.

B.1 Rompa y disuelva el gel de la botella de MicrobMonitor2 que contiene la mezcla dispersa golpeando la botella firmemente contra la palma de la mano o contra un tapón de goma o «tope» («Bumper») MicrobMonitor (disponible por separado).



B.2 Agite la botella enérgicamente durante unos 30 segundos para licuar el gel y dispersar la muestra. La botella del ensayo puede golpearse durante 30 segundos de forma repetida contra un «Bumper» MicrobMonitor para una mejor agitación. Una vez agitado, el gel deberá presentar un aspecto ligeramente viscoso pero sin grumos, y tener una consistencia y claridad uniformes. La presencia de burbujas en el gel es normal, y no afectará al ensayo.



B.3 Deje de agitar la botella con el gel de forma repentina, para que el gel se deposite en el fondo de la botella. Proceda inmediatamente con B4.



B.4 Golpee la botella contra la palma de la mano hasta que el gel forme una capa lisa en uno de los lados planos. Asegúrese de que se obtiene una capa uniforme que llega a las cuatro esquinas.

**Notas sobre el transporte de ensayos**

Es preferible realizar los ensayos *in situ* para evitar errores debidos a cambios en el contenido microbiano de las muestras durante el transporte. Si se sospecha que puede haber retrasos de más de 24 horas en el transporte de las muestras hasta un centro de análisis, dichos errores pueden evitarse realizando las primeras etapas del procedimiento de ensayo MicrobMonitor2 (hasta el paso B, incluido) *in situ* en el lugar de la toma de muestra, enviando a continuación el ensayo MicrobMonitor2 al centro de análisis para completar la incubación (paso C). La botellas de ensayo deberá mantenerse en posición horizontal durante el transporte, no deberá agitarse en exceso y deberá llevarse al centro de análisis en el transcurso de 4 días. Consulte la nota referente a la incubación de los ensayos (paso C) relativa al correcto ajuste del tiempo de incubación.

De forma alternativa, las botellas de ensayo MicrobMonitor2 pueden transportarse al centro de análisis una vez se ha añadido la muestra (paso A), antes de agitarla; el ensayo podrá entonces agitarse (paso B) en el propio centro de análisis. La incubación (paso C) deberá iniciarse durante las 6 horas siguientes a la adición de la muestra a la botella de ensayo (o durante los 2 días siguientes si los ensayos se conservan en frío, entre 2 y 8 °C). Si se transportan los ensayos a un centro de análisis antes de su agitado, no será necesario mantenerlos en posición horizontal durante el transporte, y una agitación moderada no influirá en el resultado final.

C Incubación del ensayo MICROBMONITOR®2.

Transfiera la botellas de ensayo **MicrobMonitor2** a un lugar cálido y oscuro o a una incubadora para mantener una temperatura nominal de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. En circunstancias normales, el gel debería incubarse durante 4 días. Evite la exposición a la luz durante la incubación.

Al cabo de unas horas, el gel se habrá asentado firmemente. Mantenga el gel en la superficie inferior de la botella y evite una agitación excesiva o una inclinación prolongada de la botella durante la incubación, examen y transporte de cualquier tipo.

Notas sobre la incubación de los ensayos.

Una oscilación ocasional de la temperatura (por ejemplo, durante la noche) por debajo del rango especificado no afectará al número de colonias que se desarrollan, y no afectará de forma crítica a los resultados del ensayo; sin embargo, las colonias microbianas podrían tardar más tiempo en hacerse visibles, lo que supondría tener que ampliar el tiempo de incubación especificado. Si la temperatura cayese por debajo del rango especificado durante la incubación, el tiempo de incubación deberá ampliarse por un tiempo equivalente al tiempo total durante el que se estima que la temperatura ha estado por debajo de dicho rango especificado. Si la temperatura de incubación cayese por debajo del rango especificado durante un periodo total de 4 días o más, la contaminación microbiana estimada será inferior a la real, y los resultados no podrán considerarse válidos. No debe permitirse que la temperatura baje de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante la incubación.

Una incubación del medio de cultivo por encima del rango de temperatura especificado podría perjudicar la capacidad para detectar ciertos tipos de microorganismos. Sin embargo, allí donde la contaminación microbiana se produce en depósitos o en sistemas donde su contenido está a una temperatura mayor de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, los microorganismos contaminantes tendrán generalmente preferencia por crecer a temperaturas más altas; en estos casos, podría ser apropiado incubar el ensayo a una temperatura similar a la del sistema del que se ha extraído la muestra.

Cuando se utiliza **MicrobMonitor2** para verificar el cumplimiento de una norma industrial específica (p.ej. los límites de contaminación de la IATA mostrados en la tabla 2 de la página 8), si los resultados del ensayo muestran una contaminación en la categoría más alta (es decir, Alto - «Heavy») antes de 4 días, se suele aceptar la anotación y comunicación del resultado sin continuar con la incubación.

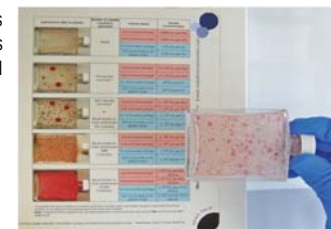


D Examen del ensayo MICROBMONITOR®2.

D.1 Si es posible, examine el ensayo a diario durante la incubación. Como mínimo, examínelo una vez cada uno de los 3 primeros días y otra vez el último día de la incubación. Para examinar el ensayo, sujételo al contraluz y cuente el número de colonias de color morado visibles. Puede ayudarse de una lupa de aumento para identificar y contar las pequeñas colonias. Deberán contarse todas las colonias de color morado de cualquier parte de la botella, incluidas aquellas que estén en el gel que no forme parte de la capa lisa. Una vez contada una colonia, no vuelva a contarla aunque se haga más grande: lo importante es el número de colonias, y no su tamaño. Se recomienda marcar las colonias en la botella con un rotulador para asegurarse de no contarlas dos veces. Ignore las burbujas de aire que puedan formarse en el gel.



D.2 En general pueden llegar a contarse hasta 250 colonias. Si el número de colonias es demasiado numeroso para contarlo, compare visualmente el ensayo con el gráfico de resultados de ensayo (consulte la página 9) colocando el ensayo delante de un fondo de color blanco. El gráfico proporciona una estimación del recuento de colonias.



Notas sobre el examen de los ensayos

Las colonias suelen ser circulares, aunque sus bordes pueden ser irregulares. Diferentes tipos de microorganismos pueden crecer a diferentes velocidades en el gel de cultivo, y por tanto las colonias pueden presentar tamaños diferentes. A la temperatura de incubación recomendada, las colonias de bacterias y levaduras suelen desarrollarse al cabo de 1-2 días, y generalmente son de pequeño tamaño. Los mohos se desarrollan más lentamente, pero producen finalmente grandes colonias que pueden presentar un aspecto pulverulento o «confuso». En general, cuantas más colonias haya en la botella de ensayo, más pequeñas serán. Ignore las colonias microbianas que se desarrollen una vez completado el periodo de incubación especificado (alguna colonia aumentará debido a una caída de temperatura por debajo del rango especificado). El ensayo puede cambiar de aspecto si se incuba durante demasiado tiempo: en ese caso se rechazará. Las colonias tendrán tendencia a volverse visibles más rápidamente en muestras con mayor contenido microbiano viable.

En ocasiones, algunos aditivos antioxidantes presentes en los combustibles pueden interferir con el compuesto indicador del crecimiento del ensayo y generar un ligero color melocotón o naranja uniforme en el gel (generalmente al cabo de 12 horas). Este cambio de color no interferirá con el crecimiento de ningún microorganismo, y en la mayoría de los casos las colonias microbianas podrán contarse o estimarse ignorando el color de fondo. En casos excepcionales, la interferencia podría ser tan fuerte que el usuario tendría dificultades a la hora de distinguir esa interferencia de color de un recuento estimado de 10.000 colonias. En esos casos, se debe repetir el ensayo al combustible empleando un volumen de ensayo menor (por ejemplo 0,01 ml) para que el efecto de la interferencia se diluya; si el resultado original se debía realmente a una contaminación microbiana fuerte, cabrá esperar que la repetición del ensayo muestre un número distinguible de colonias rojas/moradas, siendo el color de fondo menos intenso.

Algunas bacterias pueden, si se les somete a una incubación prolongada, extenderse por todo el gel generando una colonia grande con una forma irregular, formando una veta o mancha de color rojo o morado en el gel. Estas bacterias generalmente crecen de forma rápida, por lo que si se examinan los ensayos mientras las colonias aún son pequeñas (p.ej. tras 1 o 2 días de incubación), se podrán contar más fácilmente. El centro de cada veta o mancha se contará como una sola colonia. Continúe con la incubación y cuente cualquier nueva colonia que se desarrolle.

Consulte el folleto técnico EP157 *Asistencia técnica para la lectura de los resultados del MicrobMonitor2* para obtener más información sobre la lectura e interpretación de ensayos con aspecto poco normal o atípico.

E Cálculo del número de UFC microbianas en la muestra.

- En los ensayos con un combustible, el número de microbios se expresa generalmente en número de UFC por **litro**.
- En los ensayos con una fase acuosa o aceite, el número de microbios se expresa generalmente en número de UFC por **ml**.

a) Resultados del ensayo de una muestra con una fase combustible:

Si se ha ensayado con 0,5 ml de combustible, multiplique el número de colonias contabilizadas o estimadas por 2000 para obtener el número de UFC microbianas por litro de combustible. Si no hay colonias a la conclusión del tiempo de incubación especificado, habrá menos de 2000 UFC microbianas por litro de combustible.

Si se ha ensayado con 0,25 ml de combustible, multiplique el número de colonias contabilizadas o estimadas por 4000 para obtener el número de UFC microbianas por litro de combustible. Si no hay colonias a la conclusión del tiempo de incubación especificado, habrá menos de 4000 UFC microbianas por litro de combustible.

Si se ha ensayado con un volumen diferente de combustible, se podrá calcular de la siguiente manera:

$$\text{Número de UFC microbianas por litro} = \frac{\text{Número de colonias contadas o estimadas} \times 1000}{\text{Volumen de combustible (ml)}}$$

b) Resultados del ensayo de una muestra acuosa o de aceite:

Si se ha ensayado con 0,1 ml de combustible, multiplique el número de colonias contabilizadas o estimadas por 10 para obtener el número de UFC microbianas por ml de agua. Si no hay colonias a la conclusión del tiempo de incubación especificado, habrá menos de 10 UFC microbianas por ml de agua.

Si se ha ensayado con 0,01 ml de combustible, multiplique el número de colonias contabilizadas o estimadas por 100 para obtener el número de UFC microbianas por ml de agua o aceite. Si no hay colonias a la conclusión del tiempo de incubación especificado, habrá menos de 100 UFC microbianas por ml de agua o aceite.

Si se ha ensayado con un volumen diferente de agua o de aceite, se podrá calcular de la siguiente manera:

$$\text{Número de UFC microbianas por ml} = \frac{\text{Número de colonias contadas o estimadas}}{\text{Volumen de agua o aceite (ml)}}$$

Nota

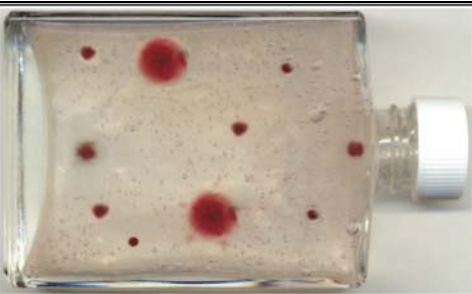
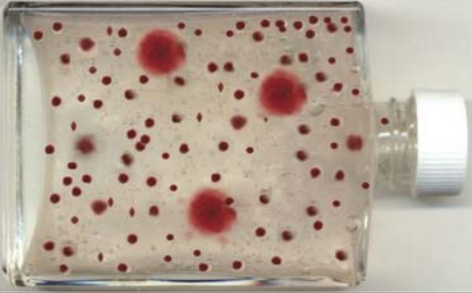
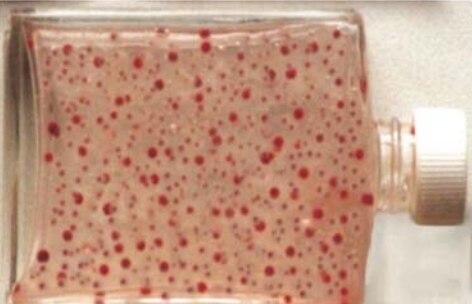
Si el número de colonias es demasiado alto para contarlas y se ha realizado el ensayo sobre un volumen de muestra de 0,5 o 0,25 ml de combustible, o sobre 0,1 o 0,01 ml de agua o aceite, el gráfico de resultados de ensayo se puede usar directamente para determinar el número aproximado de UFC microbianas por litro de combustible o por ml de agua o aceite.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ENSAYO

No existen unos límites o especificaciones aceptados universalmente para la contaminación microbiológica en combustibles o aceites. El número de UFC microbianas que definen niveles de concentración moderados o altos dependerá de una serie de factores que incluyen el tipo de combustible y su uso previsto, la ubicación de la muestra, si la muestra se toma en instalaciones de abastecimiento y distribución o en puntos de utilización final, el tiempo que se desee tener almacenado el combustible y las circunstancias operativas específicas. En la Tabla 2 que se muestra a continuación se indican algunos límites orientativos. Estos límites tienen la finalidad de indicar de forma precoz que está teniendo lugar el crecimiento microbiano en las instalaciones de las que se ha tomado la muestra. Normalmente se requieren unos niveles de contaminación más altos para que comiencen a manifestarse problemas operativos o cualquier otro defecto nocivo en el combustible de cara a su correcto uso. Para obtener más información, consulte la guía técnica que se muestra en la página 2.

Tabla 2

Muestra	Moderado	Alto	Comentario
Combustible procedente del drenaje de un depósito de combustible de aviación	de 4000 a 20.000 UFC / litro	>20.000 UFC / litro	Límites de contaminación de la IATA
Agua procedente del drenaje de un depósito de combustible de aviación	de 1000 a 10.000 UFC / ml	>10.000 UFC / ml	
Muestra de combustible a granel representativa procedente del suministro y distribución	de 4000 a 20.000 UFC / litro	>20.000 UFC / ml	p.ej., combustible de aviación, diésel, gasóleo marino
Combustible del fondo / drenaje del depósito de suministro y distribución / filtro	de 10.000 a 100.000 UFC / litro	>100.000 UFC / litro	
Fase acuosa del fondo / drenaje del depósito de combustible de suministro y distribución / filtro	de 100.000 a 1.000.000 UFC / ml	>1.000.000 UFC / ml	
Lubricación / aceite hidráulico en circulación	de 100 a 10.000 UFC / ml	>10.000 UFC / ml	
Lubricación / sumidero de aceite hidráulico	de 1000 a 10.000 UFC / ml	>10.000 UFC / ml	

Aspecto tras la incubación	Número de colonias en la botella de ensayo (contadas o estimadas)	Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo	Contenido microbiano de la muestra
	Ninguna	0,5 ml de combustible (jeringuilla)	< 2000 UFC por litro
		0,25 ml de combustible (jeringuilla)	< 4000 UFC por litro
		0,1 ml de agua (jeringuilla)	< 10 UFC por ml
		0,01 ml de agua o aceite (dispensador de asa bacteriológica)	< 100 CFU por ml
	10 colonias Si es posible, cuente el número exacto de colonias y calcule el número real de UFC presentes en la muestra	0,5 ml de combustible (jeringuilla)	2×10^4 UFC por litro
		0,25 ml de combustible (jeringuilla)	4×10^4 UFC por litro
		0,1 ml de agua (jeringuilla)	100 UFC por ml
		0,01 ml de agua o aceite (dispensador de asa bacteriológica)	1000 UFC por ml
	100 colonias Si es posible, cuente el número exacto de colonias y calcule el número real de UFC presentes en la muestra o Estime 100 colonias si el resultado es similar al de la imagen	0,5 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^5 UFC por litro
		0,25 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^5 UFC por litro
		0,1 ml de agua (jeringuilla)	c. 10^3 UFC por ml
		0,01 ml de agua o aceite (dispensador de asa bacteriológica)	c. 10^4 UFC por ml
	Estime 1000 colonias si el resultado es similar al de la imagen	0,5 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^6 UFC por litro
		0,25 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^6 UFC por litro
		0,1 ml de agua (jeringuilla)	c. 10^4 UFC por ml
		0,01 ml de agua o aceite (dispensador de asa bacteriológica)	c. 10^5 UFC por ml
	Estime 10.000 colonias o más si el resultado es similar a la imagen	0,5 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^7 UFC por litro o por encima
		0,25 ml de combustible (jeringuilla)	c. 10^7 UFC por litro o por encima
		0,1 ml de agua (jeringuilla)	c. 10^5 UFC por ml o por encima
		0,01 ml de agua o aceite (dispensador de asa bacteriológica)	c. 10^6 UFC por ml o por encima

ELIMINACIÓN

Utilice guantes y evite tocar el interior de la botella o del tapón, y lávese las manos después de manipular una botella de ensayo de ensayo **MicrobMonitor2** que presente crecimiento bacteriano. Antes de su eliminación, desinfecte todas las botellas de ensayo **MicrobMonitor2** que presenten crecimiento bacteriano mediante sumergiéndolas abiertas en una solución desinfectante fuerte (p.ej. lejía de uso doméstico) durante toda la noche, incinerándolas o utilizando pastillas liberadoras de cloro (disponibles por separado).

Los ensayos descontaminados, los que no se hayan utilizado o los que no muestren crecimiento microbiano pueden eliminarse como residuos normales de conformidad con la respectiva normativa local.

ALMACENAMIENTO Y TIEMPO DE CONSERVACIÓN

Almacene los ensayos **MicrobMonitor2** en un lugar oscuro entre 2 y 22 °C. No los exponga a luz demasiado intensa durante su almacenamiento ni su utilización. No congele **MicrobMonitor2**. Una exposición temporal a temperaturas de congelación durante su transporte no afectará negativamente al producto. Podría producirse una ligera decoloración rosa en el gel **MicrobMonitor2** con el paso del tiempo durante su almacenamiento, aunque ello no afectará al funcionamiento del ensayo.

La fecha de caducidad está impresa en la etiqueta con el lote del producto. La fecha de caducidad podrá prolongarse si el producto se almacena sin abrir entre 2 y 8 °C. Si el producto se almacena tal y como está estipulado, la fecha de caducidad se podrá aplicar estrictamente.

DISPONIBLE TAMBIÉN EN ECHA

Para utilizar con MICROBMONITOR[®]2

Los siguientes artículos pueden ayudarle a la hora de realizar el procedimiento de ensayo **MicrobMonitor2**:

- Kit de muestreo **MicrobMonitor**(ECHA16/SB) - Una botella de polipropileno esterilizada para la toma de muestras de sistemas de combustibles, que le permite separar fácilmente la fase acuosa de la fase de combustible; incluye toallitas con alcohol para descontaminar los puntos de toma de muestras.
- Incubadora (ECHA14/IN) - le permite mantener una temperatura óptima en sus ensayos **MicrobMonitor2**; puede alojar hasta 12 botellas de ensayo **MicrobMonitor2**; disponible con alimentación por batería o por corriente eléctrica (110/230 voltios).
- Topes («Bumpers») **MicrobMonitor** (ECHA16/TB) - semiesferas suaves, de material parecido a la goma, que pueden adherirse a la superficie de una mesa y facilitar la agitación y ruptura del gel **MicrobMonitor2**.
- Pastillas liberadoras de cloro (ECHA21/CP) - para desinfectar las botellas de ensayo **MicrobMonitor2** que presenten crecimiento bacteriano, facilitando su eliminación.
- Bastoncillos estériles (ECHA15/SW) - bastoncillos para la toma de muestra de contaminación presente en superficies (p.ej. superficies de depósitos, cartuchos filtrantes etc.).
- Pipetas volumétricas largas esterilizadas (ECHA07/PP/EL23) - para poder extraer el agua del fondo de las muestras.

Otros kits de ensayo y accesorios

- SigTests[®]: Sig Sulphide (ECHA02/SS) — sencillo kit de ensayo para bacterias sulfato-reductoras (BSR) que pueden generar una gran corrosión y la descomposición de los sulfuros en los sistemas de combustibles, aceite y agua. Puede utilizarse *in situ* o en el laboratorio.
- Biocide Rapide (ECHA01/BR) — sencillo kit de ensayo rápido para estimar la presencia y la concentración aproximada de los biocidas más frecuentemente empleados en combustibles y aceites.
- Dispositivos para el muestreo a cualquier altura y en el fondo (ECHA23) — para una toma de muestra segura en depósitos de almacenamiento de combustibles y aceites de conformidad con las normas industriales.
- Para ver toda nuestra gama de kits de ensayo y accesorios, visite www.echamicrobiology.com.

Soporte técnico y servicios

ECHA Microbiology Ltd. ofrece un servicio técnico integral como soporte de nuestra gama completa de productos. ECHA también ofrece ensayos de laboratorio, cursos de formación, asesoramiento y atención *in situ*, realizando auditorías e investigaciones sobre contaminación microbiana y corrosión asociadas a los derivados del petróleo y con el sector del petróleo, marino, de la aviación y cualquier instalación industrial.



Detalles sobre la muestra y el ensayo		Resultados del ensayo MICROBMONITOR®2				
		Colonias contadas Día 1	Colonias contadas Día 2	Colonias contadas Día 3	Colonias contadas Día 4	Colonias contadas Día _____
Ref. de la muestra						
Fecha del ensayo						
Tipo						
Ubicación						
Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo (ml)	0,5/ 0,25/ 0,1 /0,01/ otro _____					
Temp. de incubación (°C)						
Ref. de la muestra						
Fecha del ensayo						
Tipo						
Ubicación						
Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo (ml)	0,5/ 0,25/ 0,1 /0,01/ otro _____					
Temp. de incubación (°C)						
Ref. de la muestra						
Fecha del ensayo						
Tipo						
Ubicación						
Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo (ml)	0,5/ 0,25/ 0,1 /0,01/ otro _____					
Temp. de incubación (°C)						
Ref. de la muestra						
Fecha del ensayo						
Tipo						
Ubicación						
Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo (ml)	0,5/ 0,25/ 0,1 /0,01/ otro _____					
Temp. de incubación (°C)						
Ref. de la muestra						
Fecha del ensayo						
Tipo						
Ubicación						
Volumen sobre el que se ha realizado el ensayo (ml)	0,5/ 0,25/ 0,1 /0,01/ otro _____					
Temp. de incubación (°C)						

