

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

<b>MCC P/A</b>	<b>COSMETIKIT®</b>	<b>DRY PLATES®</b>	<b>MUGPLUS</b>
<b>CRIOTECA®</b>	<b>CHROMOSALM</b>	<b>DESINFECTEST®</b>	<b>CCCNT</b>
<b>PLAQUIS®</b>	<b>KITPRO-PLUS</b>	<b>CROMOKIT®</b>	<b>MBS</b>
<b>M-IDENT®</b>	<b>SEILAGUA®</b>	<b>SALMOQUICK</b>	<b>AIRESANO</b>
<b>NEOGRAM</b>	<b>ENVIROCOUNT</b>		

## CROMOKIT C.PERFRINGENS AGAR

Agar cromogénico para aislamiento selectivo y diferencial de *Clostridium perfringens* en aguas, alimentos y muestras clínicas.

### COMPOSICIÓN

Polipeptona bacteriológica	15.00 g
Extracto de levadura	9.00 g
Sales mix	6.00 g
Agar-agar	15.0 g
Mezcla cromogénica	1.40 g
Mezcla selectiva	3.50 g

(Fórmula por litro)

pH final: ajustar a  $7.6 \pm 0.2$

Atención: Bote de 100 g (para elaborar 2 litros de medio) y 2 suplementos adjuntos (se añadirán en frío 2 g/L del suplemento 1 y 0,12 g/L del suplemento 2)

### PREPARACIÓN

Disolver 50,0 g de medio en 1 L de agua bidestilada. Remover para homogeneizar, calentando hasta ebullición sin parar de remover. AUTOCLAVAR a 121°C durante 15 minutos. Enfriar rápidamente en un baño a 45-50°C, agitando suavemente.

Añadir 2 g del suplemento 1 en 20 mL de agua bidestilada que no esté fría. Agitar hasta su total disolución. Esterilizar por filtración con filtro de 0,45 µm (por ejemplo con jeringa y filtro de carcasa VHU237). El color final de esta solución es marrón.

Añadir 0,12 g del suplemento 2 en 1 mL de agua bidestilada que no esté fría. Agitar hasta su total disolución. Esterilizar por filtración con filtro de 0,45 µm (por ejemplo con jeringa y filtro de carcasa VHU237).

Añadir los 20 mL de la solución estéril del suplemento 1 y el 1 mL de la solución estéril del suplemento 2 al 1L de medio enfriado a 45-50°C. Remover para homogeneizar.

Dispensar en placas Petri estériles y dejar solidificar. Las placas pueden almacenarse hasta un mes en nevera ¡no congelar! si están bien cerradas en bolsas autosellables, para evitar su deshidratación y contaminación.

PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO, EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO.

DESHIDRATADO CÓDIGO: **DMT565-** (bote de 100 g), incluye anexo suplementos selectivo + cromogénico

MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO, EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. Y EL SUPLEMENTO REFRIGERADO A 4-8°C. PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO.

### NOTAS

*Clostridium perfringens* no es solo un patógeno de por sí (el agente causal más frecuente de la gangrena gaseosa, además responsable de numerosas toxiinfecciones alimentarias -enteritis necrótica- a causa de sus toxinas); es además el indicador de contaminación por aguas naturales, ya que su hábitat es el barro del fondo de los lagos y el intestino de los animales de sangre caliente, incluido el hombre y con especial concentración en el perro. Y la presencia de sus esporas demuestra la probable presencia de enterovirus y quistes de protozoos (Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba...)

*Recuperación 100% en Cromokit C.perfringens Agar (Izda) frente a un 20% del TSC Agar oficial (Dcha). Obsérvese el gran tamaño colonial y su color naranja, que no desaparece como el negro en TSC al oxigenarse el medio tras la incubación en anaerobiosis.*



Los medios diseñados hasta ahora se basaban en reacciones bioquímicas muy poco específicas: m-CP por cambios de pH, TSC/TSN por reducción del hierro a sulfuro, que también pueden hacer muchas Enterobacterias...y además revierte a colonias grises o blancas cuando se agota la atmósfera de anaerobiosis. Hacía falta un medio enzimático que subiera la especificidad por encima del 95% y mantuviera las colonias del color diferencial incluso después de agotarse la atmósfera anaerobia y tras sacar las placas de la jarra/bolsa de anaerobiosis; y MICROKIT lo ha conseguido.

## CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO

Realizado en nuestro laboratorio; es prudente repetirlo en su laboratorio siempre que varíen las condiciones (más de 3 meses sin usar, tras desinfectar laboratorio, tras conservar a alta T<sup>a</sup>, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta,...).

DESHIDRATADO: Polvo crema

PREPARADO: Estéril, crema

CONTROL DE CRECIMIENTO 24 h a 37°C aproximadamente:

*Clostridium perfringens* WDCM 00007, Colonias naranjas. PR > 0,7 respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en TSC.

*Clostridium perfringens* WDCM 00174, Colonias naranjas. PR > 0,7 respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en TSC.

*Clostridium sporogenes* WDCM 00008, Colonias azul oscuro

*Clostridium bifermentans* WDCM 00079, Inhibido

*Enterococcus faecalis* WDCM 00009, Inhibición completa: Ni una sola colonia.

*E.coli* WDCM 00013, Inhibición completa: Ni una sola colonia.

Artefactos: pueden aparecer grumos, que no afectan a rendimiento del medio.

Pueden aparecer falsos positivos de *Clostridium sordelii*, que se distinguen fácilmente con el indol o la prolina

## MODO DE EMPLEO Y LECTURA DE RESULTADOS

Sembrar en superficie sobre la placa preparada:

- La membrana filtrada en el caso de aguas y bebidas. No emplear membranas de acetato de celulosa, de polietersulfona o de policarbonato; úselas de nitrato de celulosa, ésteres de celulosa o nylon.
- Las diluciones decimales de la muestra de alimento, repartidas con asa de Digrafsky
- La muestra clínica por estría

Como en todos los medios para anaerobios, es muy necesario, inmediatamente después de la siembra, añadir encima una segunda capa de agar-agar bacteriológico tipo E y exento de inhibidores (BCB006) autoclavado y enfriado a 45-50°C, para evitar el contacto del inóculo con el oxígeno del aire, hasta que la atmósfera de anaerobiosis generada alcance el nivel óptimo. Y añadir 100 mL de caldo tioglicolato (RPL066) a los 100 mL de agua para que la filtración sea menos estresante para este anaerobio estricto.

Si la placa ha sido mantenida en la nevera, debe dejarse atemperar antes de la siembra.

Si se buscan esporas en vez de formas vegetativas, según UNE-EN 26461-2, calentar la muestra de 100 ml de agua 15 minutos a 70-80 °C, enfriar y filtrar después

Incubar a 37°C durante 24h en atmósfera de anaerobiosis (KKT001 en bolsas ó KKM036 en jarras) y controlar la correcta anaerobiosis con Anaerotest KKM039).

Confirmar las colonias típicas (naranjas) con M-Ident-*C.perfringens* (KMT008). La flora acompañante crece con colonias azules, incoloras o no crece.

## PRESENTACIÓN

MEDIO DESHIDRATADO 100g (DMT565-) y suplementos 1 y 2 anexos; c.s.p.2 L de medio final.

Plaquetas semiherméticas 55 mm en cassettes, referencia PPL965 (en cassettes entra la anaerobiosis y sale el oxígeno del aire, pero se retrasa la desecación del medio, lo que aumenta enormemente su caducidad)

**NOTA IMPORTANTE:** En anaerobios estrictos es fundamental minimizar el tiempo de exposición al aire durante el análisis, ya que el oxígeno destruye las células y reduce la carga real hasta 3 log en solo unos minutos. Actúe con la misma prisa que actuaría si estuviera Ud. en una atmósfera de anaerobiosis. *C.perfringens* puede incubarse a 44°C si se desean menos acompañantes, ya que muchos facultativos dan falso positivo a 37°C

El usuario final es el único responsable de la destrucción de los organismos que se hayan desarrollado, según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar en la basura.

Fabricado en la UE en deshidratado y en PLACAS por MICROKIT, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde Septiembre de 2018, actualizado en 11/2024