

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

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

HRS RAPID CROMOGENIC AGAR (BASE + Supl)

La presencia de esporas altamente resistentes al calor de *Bacillus sporothermodurans* en leche pasteurizada por el método Ultra High Temperature (UHT) se ha convertido en un problema importante en la industria láctea. Su presencia se considera indeseable, ya que obstaculizan los requisitos de esterilidad comercial. En un estudio (APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Mar. 2005, p. 1480–1494), se han evaluado, mediante el uso de un selectivo tratamiento térmico de 30 minutos a 100°C, la presencia, fuentes, y naturaleza de las esporas potencialmente muy resistentes al calor en la leche cruda. Se detectaron altos números de estas esporas en la tela del filtro del equipo de ordeño y en muestras de cultivos y forrajes verdes. Se aislaron aproximadamente 700 cepas después del calentamiento selectivo. La colección de cepas mostró una notable diversidad, con representantes de siete géneros que forman esporas aerobias. Las más frecuentes esporas aisladas de leche UHT han sido *Bacillus sporothermodurans* (aerobio facultativamente anaerobio), *Brevibacillus borstelensis*, *Paenibacillus lactis*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus licheniformis*, y *Brevibacillus brevis*. El 23% de las 603 cepas formadoras de esporas pertenecen a 18 nuevas especies. La reducción de esta carga de esporas por buenas medidas higiénicas durante el ordeño probablemente podría reducir aún más el nivel de contaminación de la leche cruda, y de esta manera reducir al mínimo el recuento aeróbico de formadores de esporas de bacterias que podrían conducir al deterioro de la leche y los productos lácteos.

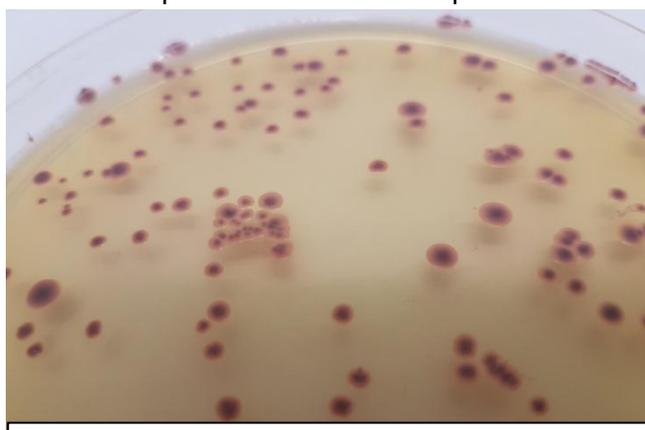
Las HRS (Heat Resistant Spores) o más coloquialmente “termorresistentes”, aparecen en muestras de leche UHT, sobre todo si el método de tratamiento térmico es “indirecto” (intercambiador de calor). Los métodos “directos” con inyección de vapor sobrecalentado son más eficaces, pero estas esporas también aparecen de vez en cuando. No son un problema para la salud (son microorganismos de riesgo biológico 1: sin riesgo para la salud) y aparentemente no alteran la leche, de modo que nos hemos acostumbrado a beber leche contaminada por estos microorganismos. El problema no es para el consumidor sino para la imagen de la industria.

MICROKIT ha desarrollado un nuevo medio de cultivo cromogénico, **HRS RAPID Cromogenic Agar** derivado del HRS Cromogenic Agar, con un nuevo factor “doping” adicional, que permite, de forma muy rápida (en sólo 36h en vez de las 72 h propias del Agar HRS), la visión de estas esporas germinadas, en forma de colonias, que suelen ser grandes, con forma de volcán y rojas, gracias a un cromógeno termoestable. Este medio no es selectivo para *B. sporothermodurans*, de modo que también crecen en el mismo *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sphaericus* (otras esporas termorresistentes o HRS) y los demás esporulados, así como otros alterativos de la leche UHT: Por eso debe

emplearse en leche UHT o en leche cruda o pasteurizada a la que sometamos previamente a un calentamiento UHT o similar que elimine los acompañantes no esporulados.

COMPOSICIÓN

Triptona	5,0 g
Extracto de Levadura	2,5 g
Glucosa	1,0 g
Factores doping MICROKIT	35,5 g
Agar-agar	12,0 g
Cromógeno en frasco anexo	c.s.
(Fórmula por litro)	
pH final: 6,8 ± 0,2	



Obsérvese el aspecto vulcaniforme de *B. sporothermodurans* en este medio rápido y cromogénico, en sólo 36-48 h a 35-37°C

PREPARACIÓN

Disolver 56 g de medio en 1 litro de agua destilada.

Calentar hasta ebullición, agitando para su completa disolución.

Repartir en tubos o frascos. Autoclavar a 121 °C durante 15 min o preferiblemente a 116°C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50°C y añadir asépticamente 2 ml pinchados del suplemento estéril anexo (MIXCROM). No refundir. El color final del medio es blanco-crema. A veces, por sobrecalentamiento, adquiere un tono rosado que retorna al crema cuando se plaquea, lo cual no afecta los resultados. Si lo desea, puede añadir trazas de vitamina B12 cuando el medio se está enfriando a 47-50°C, aunque ya están incorporadas en el medio deshidratado, dentro del extracto de levadura. Si desea una cierta selectividad en leche cruda, añada a 1 L de medio, cuando se está enfriando a 47-50°C, 10 ml de un frasco pinchable de polimixina B (MICROKIT SMS009), para eliminar la mayor parte de la flora acompañante Gram negativa. O mejor aún, someta a la leche cruda a un calentamiento (ej: UHT), para eliminar toda la flora acompañante no esporulada y que crezcan solo las esporas termoresistentes (HRS).

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

DESHIDRATADO CODIGO: **DMT534**

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 Tª, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta,...). DESHIDRATADO: Polvo grueso, Crema PREPARADO: Estéril, Crema

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO [ISO/TS 11133-2](#), 36-48 h a 37-55 °C o bien a 35-37°C, aplicando el método ISO 4833, ISO 2293, o el indicado en el Manual MICROKIT:

Bacillus sporothermodurans MKTD 10599, Excelente, colonias rojas o fucsia, redondas, con forma de volcán (boina), **PR >90%** de colonias respecto al TSA.

Bacillus subtilis WDCM 00003, Excelente, colonias grandes, rojas o rosas, lobuladas, **PR >90%** de colonias respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en TSA.

Bacillus cereus WDCM 00001, Excelente, colonias céreas, fucsia, enormes, lobuladas, **PR >90%** de colonias respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en TSA.

Enterococcus faecalis WDCM 00009, Excelente, colonias pequeñas, rojas, redondas, con márgenes incoloros, PR >90% de colonias respecto al TSA.

Staphylococcus aureus WDCM 00032, Excelente, colonias rojo burdeos, grandes, redondas, mucosas, PR >90% de colonias respecto al TSA.

Las colecciones TIPO prohíben el uso de su referencia, por lo que indicamos la Universal WDCM según ISO 11133-2:2014 y la Colección de Cepas Nativas Tropicales.

PRESENTACIÓN: MEDIO DESHIDRATADO (100 g, 500 g, 5 Kg).

Recuento total de bacterias esporuladas en leche UHT y otros alimentos UHT (lácteos, gelatina, forraje...). Las colonias crecen en distintos tonos del rojo: rosa, naranja, púrpura, burdeos.... sobre el tono crema del medio (excepto ciertos acidolácticos y ciertas levaduras, que crecen con colonias blancas, sin viraje, por lo que este medio los distingue de los aerobios). El color de las colonias no afecta a las pruebas de identificación posteriores que desee realizar.

MODO DE EMPLEO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Inocular 1 ml de muestra de leche UHT y su serie de diluciones decimales, en masa, para detectar precozmente la posible contaminación del lote por esporas de este microorganismo (o bien estriar en superficie muestras ya alteradas).

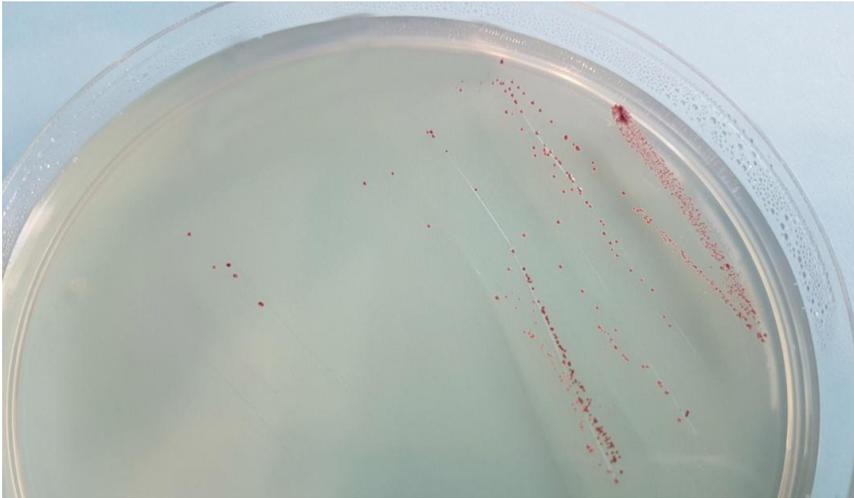
Si se desea analizar la leche antes de la UHT, añada a cada L de medio 10 ml de Polimixina B (frascos pinchables MICROKIT SMS009), cuando está enfriándose a 47-50°C, para eliminar buena parte de la flora acompañante. La polimixina es un antibiótico polipeptídico producido por una cepa de *Bacillus polymyxa*, activo frente a la mayoría de Gram negativos, ya que rompe violentamente su membrana plasmática. Atención: los iones Ca⁺⁺ inhiben su acción. Pero el mejor agente selectivo es el calor UHT, y de este modo buscar con este medio (sin suplementos de antibióticos), sólo los supervivientes al calentamiento de la muestra. De modo que para analizar leche cruda, es mejor someterla a un calentamiento similar a UHT antes de sembrarla en el medio de cultivo, a fin de eliminar la flora acompañante no esporulada (tanto G- como G+).

Incubar una placa a 30 °C aproximadamente durante 36-48 horas, e incubar otra placa a 37 y/o 55 °C aproximadamente, durante 36-48 horas. Buscar las colonias rojas y vulcaniformes de *B.sporothermodurans*, aunque cualquier otro tipo de colonia que aparezca, también demuestra una UHT deficiente. La recuperación supera un 528% en el rango bajo de recuento en placa, un 145% en el rango medio y un 116% en el rango alto, aquella conseguida por el HRS Agar (DMT532), gracias a un tercer factor doping descubierto y agregado por MICROKIT. Esta fórmula, con menos agar, aumenta la sensibilidad del medio frente a los aerobios más lábiles, al permitir una mejor oxigenación del fondo de la placa. Este medio está diseñado para siembra en masa de productos que han sufrido esterilización UHT, de modo que los resultados no son concluyentes en productos no-UHT, con numerosos falsos positivos (sobre todo si no se añade polimixina B). Si desea sembrar en superficie, utilice 70 g/l de este mismo medio, en lugar de 56 g/l. Para minimizar la desecación en muestreos de aire y superficies, o para siembra en Spiral, añadir 2 gotas de antiburbujas (MICROKIT SBL001) por cada litro de agua, antes de añadir el medio y antes de autoclavar.

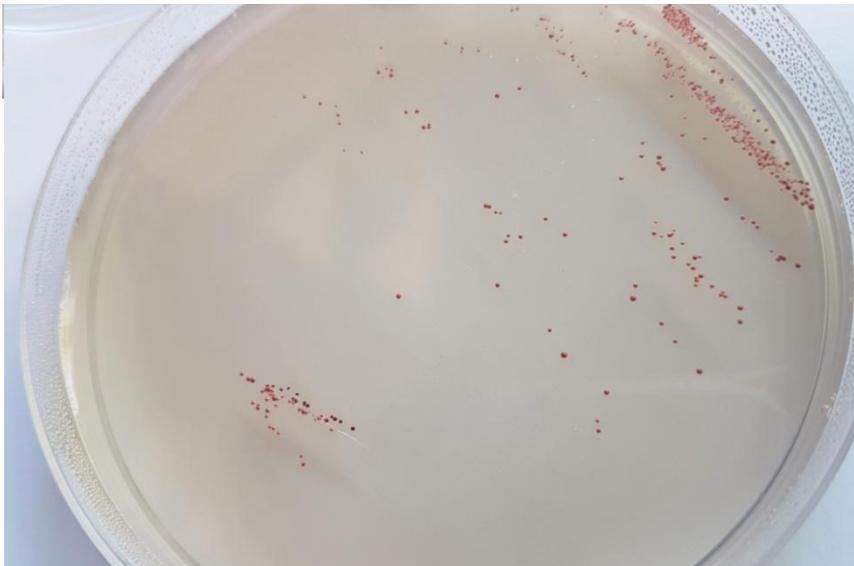
El usuario es el único responsable de la eliminación de los microorganismos según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar a la basura.

Medio diseñado y fabricado en la UE por MICROKIT desde 2018, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en X-2020

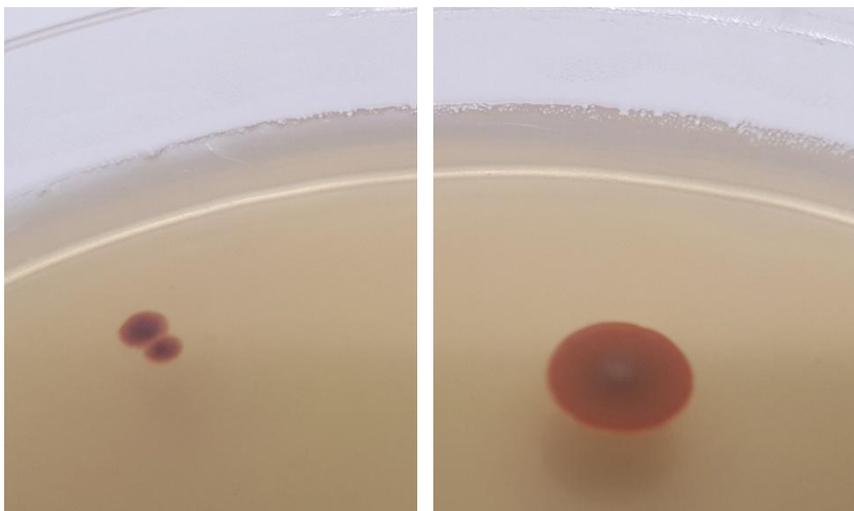
ANEXO FOTOGRÁFICO



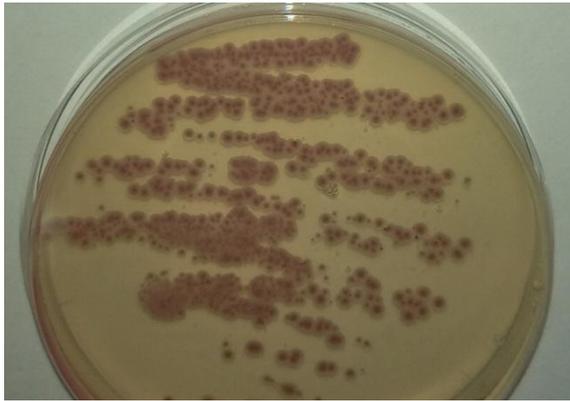
B. sporothermodurans en Maxim Agar Cromogénico (MICROKIT BCD515) en 3 días a 35°C



B. sporothermodurans en HRS cromogénico (MICROKIT DMT532). Obsérvese el mayor tamaño de las colonias en 3 días a 35°C, que con lupa ya muestran su forma de volcán



B. sporothermodurans en HRS cromogénico rápido (MICROKIT DMT534). Obsérvese el espectacular tamaño de las colonias en sólo 36 (izda) y 72h (dcha) a 35°C, que muestran a simple vista su forma de volcán



Pseudomonas aeruginosa en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias rojas con reborde rosado



Bacillus cereus en Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias c reas, enormes, fucsia, lobuladas



Bacillus subtilis en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias grandes, rojo burdeos, lobuladas



Bacillus subtilis en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009) al que hemos añadido 37 g/L de BHI Broth (MICROKIT DMT022): Colonias enormes, fucsia, lobuladas



Enterococcus faecalis en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias pequeñas, redondas, con centro rojo y borde incoloro, aspecto similar a *Listeria monocytogenes*



Listeria monocytogenes en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias pequeñas, redondas, con centro rojo y borde incoloro, aspecto similar a *Enterococcus faecalis*



Staphylococcus aureus en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009): Colonias grandes, rojo burdeos,



Shigella flexneri en HRS Rapid crom Agar con polimixina (MICROKIT DMT534+SMS009):  nica Enterobacteria testada que crece, con colonias enormes, fucsia, lobuladas

