

Apartado de Correos / P.O. Box 44 28210-Valdemorillo (Madrid, Spain) **2** (34) 91 897 46 16 Fax: (34) 91 897 46 41

> E-mail: microkit@microkit.es Web: http://www.microkit.es Blog: www.medioscultivo.com

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A CRIOTECA® **PLAQUIS®** M-IDENT® **NEOGRAM**

COSMETIKIT® CHROMOSALM KITPRO-PLUS **SEILAGUA® ENVIROCOUNT**

DRY PLATES® **DESINFECTEST® CCCNT CROMOKIT® SALMOQUICK**

MUGPLUS MBS AIRESANO

M-CP AGAR (BASE)

Medio base para el aislamiento y recuento selectivo de Clostridium perfringens y sus esporas, según Directiva 98/83 CE 3/XI/1998 sobre aguas destinadas al consumo humano, según Real Decreto 1074 18/X/2002 sobre aguas de bebida envasadas y según Real Decreto 140 7/II/2003 sobre calidad de las aguas de consumo humano.

COMPOSICIÓN

Triptosa	30,0 g	En vial pinchable aparte 100 ml (cócktel de suplementos MICROKIT S.	MT001):
Extracto de levadura	20,0 g	D-Cicloserina	400 mg
Sacarosa	5,00 g	Sulfato de Polimixina B	25 mg
Hidrocloruro de L-Cysteina	1,00 g	∃-D-Glucosuro de indoxilo (previamente disuelto en 8 ml de agua estéril)	60 mg
Sulfato Magnésico.7 hidrato	0,10 g	Solución Difosfato de fenolftaleína al 0,5 %, esterilizada por filtración	20 ml
Púrpura de bromocresol	0,04 g	Cloruro Férrico.6 hidrato al 4,5%, esterilizada por filtración	2 ml
Agar-Agar	15,0 g	(Fórmula por litro final de medio)	
(Fórmula por litro) pH final: 7.6 ± 0.2			

PREPARACIÓN

Disolver 7,1 g de medio en 100 ml de agua destilada. Calentar agitando hasta ebullición. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.

Enfriar a 45°C aproximadamente y añadir, pinchando asépticamente, 10 ml del cócktel de suplementos (MICROKIT SMT001).

Si el medio, violeta, ha virado a verdoso o amarillento durante su almacenamiento o fusión, por acidificación atmosférica, es imprescindible ajustar ahora el pH con NaOH 0,1 N hasta que el medio esté violeta.

Agitar bien y verter sobre placas Petri estériles. Dejar solidificar y una vez frío voltear las placas para que el agua de condensación no barra la superficie del medio. Cerrar con cinta de sellado (Ref. MICROKIT: PARAFIL). Las placas que no se vayan a usar en el día se guardan en nevera (8-15°C) y en total oscuridad hasta su utilización (máximo una semana, aunque la oxigenación puede provocar letalidad). De todas formas se recomienda la siembra de la membrana en profundidad antes de añadir el medio a la placa, por lo que es mejor preparar sólo las cantidades de medio que se vayan a consumir en el momento, de ahí el interés de presentar el cócktel de suplementos en vial pinchable.

MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. MANTENGA EL MEDIO PREPARADO BASE A 15-21°C; Y EL MEDIO COMPLETO Y EL SUPLEMENTO A 8-15°C, EN TOTAL OSCURIDAD.

PRESENTACIÓN: DESHIDRATADO CODIGO: DMT052 Y SUPLEMENTO CÓCKTEL LÍOUIDO PREPARADO EN FRASCO 100 ml, CÓDIGO SMT001

MEDIO COMPLETO PREPARADO EN PLAQUITAS HERMÉTICAS MF, CÓDIGO PPL910. MEDIO COMPLETO PREPARADO EN VERSIÓN LÍQUIDA PARA MF, AMPOLLAS 2 ml, CODIGO FPL602; VIALES PINCHABLES 100ml, CÓDIGO RPL048.

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 el laboratorio, tras conservar a alta T^a por fallos de refrigeración, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de su etiqueta...)

DESHIDRATADO: Polvo gris-violáceo.

PREPARADO: Agar **violeta**, homogéneo, traslúcido. Suplemento **rojizo**, translúcido, puede contener precipitados por su elevada concentración, que se disuelven tras agitar y añadir al medio base.

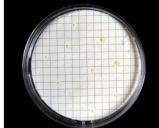
CONTROL DE CRECIMIENTO 24-48 h a 44°C aproximadamente, en anaerobiosis:

Clostridium perfringens WDCM 00007 y WDCM 00080, Bueno, Colonias amarillas, opacas, viran a lila tras exponer a vapores de hidróxido amónico. Con respecto a Schaedler estandarizado, recuento 90-115%, pero de forma selectiva. Incertidumbre debida a la cepa y a las diferentes proporciones de flora acompañante.

Clostridium sporogenes WDCM 00008, Bueno, Colonias amarillas, opacas, no viran. Con respecto a Schaedler estandarizado, recuento 80-112%, pero de forma selectiva. Incertidumbre debida a la cepa y a las diferentes proporciones de flora acompañante.

Bacillus subtilis WDCM00003, Inhibido. Staphylococcus aureus WDCM00034, Inhibido.

E. coli WDCM 00012, Inhibido.



Clostridium perfringens en M-CP Agar: Colonias amarillas crecidas en anaerobiosis.

MODO DE EMPLEO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Sembrar la membrana filtrada evitando la formación de burbujas entre el filtro y el medio. Incubar en estricta ANAerobiosis, 24 horas a 44±1°C. Para detectar las esporas, duplicar la muestra, realizando sobre el duplicado un shock térmico de 5-10 minutos a unos 86 °C previo a la incubación, a fin de conseguir su germinación.

Medio altamente selectivo para el género Clostridium, y diferencial para *Cl.perfringens*: sólo *Cl.perfringens* crece con colonias amarillo-verdosas que, según la bibliografía, viran a rosa tras 30 segundos de exposición a vapores de hidróxido amónico. Hemos comprobado que este viraje a rosa a veces es a azulado o verdoso, en función del nivel de acidificación que provoque la cepa de *Cl.perfringens* y del ajuste del pH del medio. Sin embargo, una muy superior recuperación se consigue con los medios TSC y TSN (6 TSN+C). Además los vapores de amonio son tóxicos tanto para el usuario como para la cepa, por lo que es mejor confirmar con Lactose Sulfite Broth (DMT140 Medio deshidratado, TPL018 Tubos con campana Durham) s/ UNE EN 13401, o mejor aún con el cómodo M-Ident *Clostridium perfringens* (KMT008) según ISO/CD 6461-2:2002 de aguas.

El usuario final es el único responsable de eliminar los microorganismos de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Autoclavar o inundar en lejía antes de desechar a la basura.

Medio fabricado en la UE por MICROKIT desde 1998, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en Marzo-2020