

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		

TSC AGAR (BASE) TRIPTONA-SULFITO-CICLOSERINA Y MUP

Detección y recuento de *Clostridium perfringens* (UNE EN 13401:2000, UNE-EN 26461-2:1995, ISO/CD 6461-2:2002, EN ISO 14189)

COMPOSICIÓN

Triptosa	15.00 g
Peptona papáinica de soja	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Citrato férrico amoniacal	1.0 g
Metabisulfito sódico	1.0 g
Agar-agar	18.0 g
(Fórmula por litro)	
pH final: 7.6 ± 0.2	



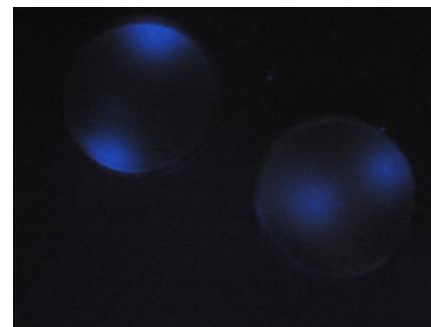
Clostridium perfringens en TSC. Abajo, en TSC con MUP

PREPARACIÓN

Disolver 45 g de medio en 1 l de agua bidestilada. Calentar, agitando, hasta ebullición, para su total homogeneización. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos o mejor a 116 °C, 15 minutos. El color final del medio es crema. Enfriar a 50 °C y añadir asepticamente 400 mg de D- Cicloserina estéril (4 viales de 100 mg de SMS252). Verter de inmediato en placas y no recalentar. Utilizar de inmediato a su preparación para evitar la letal oxigenación.

NOTA 1: Para mejorar el desarrollo de colonias negras de Clostridios, añada 1 vial del suplemento estéril VMT136 a cada 100-1000 ml de medio estéril, hervido para desoxigenarlo y una vez enfriado a 45-50 °C.

NOTA 2: Para seguir la ultima Norma ISO 14189, mejorada, puede añadir también a cada 500 ml de medio enfriado a 50°C, 65-125 mg (depende de la vista del observador) de **MUP (Metil-Umbeliferil Phosphate, Ref: MICROKIT SMT009)**, que reacciona con las colonias de *Cl.perfringens* emitiendo fluorescencia (amarilla o azul) bajo luz UVA de 366 nm (linterna MICROKIT VMT050).



PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. DESHIDRATADO CODIGO: **DMT175**, placas preparadas **PPLM29**, tubos preparados **TPL137**. Modificación del TSN más selectiva y con menor difusión del ennegrecimiento.

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, Amarillo PREPARADO: Estéril, Beige

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO ISO/TS 11133-2 20-48 h a 37-44 °C en anaerobiosis, aplicando el método ISO 7937 ó ISO/CD 6461-2: 2002 o el indicado en el Manual MICROKIT actualizado:

Clostridium perfringens WDCM00007 y WDCM 00080, Colonias negras, pardas o grises. **PR > 0,7** respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en otro lote validado de TSC. Con respecto a Schaedler, recuento 75-112%, pero de forma selectiva y diferencial; esta variabilidad de la productividad depende de la composición y carga de la flora acompañante inoculada. **Si se añadió MUP, colonias que emiten fluorescencia azul bajo luz UVA de 366 nm.**

E.coli WDCM00013, Inhibición completa: **Ni una sola colonia.** O a lo sumo inhibido con colonias blancas.

Bacillus subtilis WDCM00003, Inhibido.

Staphylococcus aureus WDCM00033, Inhibido, a lo sumo colonias blancas.

PRESENTACIÓN: MEDIO DESHIDRATADO (BASE) y SUPLEMENTO. También hay **tubos preparados, PLACAS MF 90mm con o sin MUP y frascotes 200 ml parafinados** para recuento en 100 ml de muestra). **En versión líquida, viales MF y viales pinchables. Y suplemento MUP en polvo (vial 1 g ó tubote 10 g).**

MODO DE EMPLEO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En **ALIMENTOS**, sembrar en superficie 0'1 ml de muestra y su serie de diluciones decimales, añadiendo una segunda capa de medio. O bien sembrar en profundidad 1 ml incluso en tubo o 100 ml en frascote parafinado, fundidos en agua hirviendo y atemperados a 45-47°C justo antes de solidificar. Incubar 18-20 horas a 44-46 °C aproximadamente, en anaerobiosis (no hace falta en tubos ni frascos) y contar como *Clostridium perfringens* toda colonia negra. La Temperatura selectiva de 46°C a menudo es excesiva e inhibe también el crecimiento de algunas cepas diana. Las colonias blancas o grises son presuntivas si la anaerobiosis no es correcta; incluso las colonias negras pueden virar a incoloras después de sacarlas de la atmósfera de anaerobiosis. Resulta más recomendable sembrar 1 ml sobre un tubo (TPL137) hervido y enfriado a 75°C (para detectar y enumerar esporas) o a 45°C (para detectar y enumerar formas vegetativas), cerrar, voltear sin agitar para mezclar sin oxigenar, incubar vertical (ahorrando las jarras y los generadores de anaerobiosis) y contar directamente en el tubo las colonias negras, que crecen en anaerobiosis en toda su altura (por debajo de los 3-5 mm oxigenados de la superficie).

La siembra en tubo ahorra la incubación en anaerobiosis y permite contar perfectamente las colonias



En **AGUAS**: Una vez invalidado por numerosos laboratorios el medio oficial 2003-2015 “m-CP Agar”, la mejor elección es el Clostricult P/A si no se requiere recuento o si se ha de recontar “0 en 100 ml”, ya que en microbiología 0 ufc es equivalente a ausencia. Para recuento de esporas en aguas, según UNE-EN 26461-2, calentar la muestra de 100 ml de agua 15 minutos a 70-80 °C. Lo lógico es hacer un duplicado para formas vegetativas, sin ese shock térmico. Filtrar 100 ml de agua a través de una membrana de 0,22 µm (ref: VAC022), evitando al máximo la oxigenación del agua y minimizando el tiempo entre el filtrado y la siembra. La industria farmacéutica revitaliza las células de anaerobios filtrando por la misma membrana, cuando se está acabando de filtrar el agua, 100 ml de Tioglicolato alternativo (ref: DMT208) estéril. Así consiguen mejores recuperaciones en estos microorganismos tan difíciles de hacer crecer tras una filtración. De igual forma, si añade a sus 100-250 ml de muestra el contenido de un tubo de caldo Tioglicolato alternativo polvo estéril (MICROKIT DPA047), volteando para su homogeneización antes de filtrar, obtendrá resultados mucho más acordes a la realidad, ya que este medio revitaliza los anaerobios. Una vez filtrada la muestra (y el caldo revitalizante, en su caso) no dejar que la membrana se seque ni un instante en el aparato de filtración, y menos si éste sigue conectado. Añadir la membrana boca abajo en la placa Petri (vacía, o bien con una capa de 15-18 ml de TSC o idealmente con una capa de 15-18 ml de TSC-MUP) y verter sobre ella 15-18 ml de TSC Agar (sin MUP) enfriado a 50 °C (y si se desea, preparado a doble concentración), sin que se formen burbujas. Siguiendo todas estas instrucciones se consiguen las mejores recuperaciones en microorganismos que, como *Clostridium*, no están preparados para soportar la oxigenación que proporciona el contacto con el aire. Para siembra directa (sin filtración) de aguas cloradas, añadir 0,6 g de Tiosulfato sódico para inactivar el cloro. Incubar 16-24 h y 40-48 horas a 36-38 °C aproximadamente o, más selectivamente, a 43-45°C aproximadamente (es un medio más rápido que el SPS), en anaerobiosis sobre todo si no se ha dejado la membrana en profundidad). Si se añadió MUP en la capa inferior, contar sólo las colonias que emitan fluorescencia (azul o amarilla) bajo luz UVA de 366 nm. Las colonias blancas o grises son presuntivas si la anaerobiosis no es correcta; incluso las colonias negras pueden virar a incoloras después de sacarlas de la atmósfera de anaerobiosis. De ahí la importancia del MUP para evitar falsos negativos de colonias que no están negras.

Ver también el kit PPL905A, KIT TSC-ANA - Plaquí TSC con bolsa de anaerobiosis incluida

NOTA IMPORTANTE: La placa pequeña, sea sea Deltalab (no hermética), Pall (hermética) o Falcon (hermética), reduce drásticamente el recuento de *C.perfringens* WDCM 00007. Todas ellas y también las cassettes MICROKIT (semiherméticas), reducen drásticamente el recuento de *C.perfringens* WDCM 00174. No es un tema de hermeticidad que impida la entrada de la atmósfera de anaerobiosis, ya que Deltalab y Microkit no son herméticas y la primera no funciona con ninguna de las dos cepas y la segunda no funciona con una de ellas. Por todo ello, para este microorganismo, es necesario usar placa de 90 mm, además de poner la membrana boca abajo sobre el medio y añadir una segunda capa de medio o de TSC (ideal Tubos TPL137) o de agar-agar. Otra cosa importante es secar muy bien la placa antes de usar, para que no se cree una hermeticidad entre la tapa y la placa, que dificulte la entrada de la atmósfera de anaerobiosis. Aunque los mejores resultados se obtienen analizando los 100 ml de muestra de agua sin pasarla por la oxigenante/estresante filtración: patente de siembra en masa de 100 ml de agua en Quanti-P/A-TSC MICROKIT.

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

Fabricado en la UE por MICROKIT desde 1989, el MUP desde Octubre de 2010, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en Abril-2020