



Apartado de Correos / P.O. Box 44
28210-Valdemorillo (Madrid, Spain)
☎ (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	COSMETIKIT®	DRY PLATES®	MUGPLUS
CRIOTECA®	CHROMOSALM	DESINFECTEST®	CCCNT
PLAQUIS®	KITPRO-PLUS	CROMOKIT®	MBS
M-IDENT®	SEILAGUA®	SALMOQUICK	AIREANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

ANTIBIOTIC MICROKIT® TEST

Detección de residuos de inhibidores
COMODIDAD-ECONOMIA-PRECISIÓN

Introducción

La **leche**, la **carne**, los **piensos**, los **productos de acuicultura** y otros productos procedentes de animales enfermos y tratados con antibióticos, sulfamidas u otros biocidas, quedan contaminadas por los mismos. Dicha leche no es utilizable para la elaboración de quesos, yogures y otros productos que necesiten transformaciones microbianas. El Real Decreto 1749/1998 del 31/7/98 regula la detección de residuos de sustancias antibacterianas en tejidos animales, ya que los alimentos con inhibidores presentan un importante riesgo para personas alérgicas a los mismos, además de crear resistencias microbianas de difícil solución en la guerra contra los patógenos. En los Laboratorios Farmacéuticos que fabrican o manipulan antibióticos, éstos pueden contaminar, por mecanismo ambiental, **medicamentos** que no deben llevarlos, incrementando los riesgos antedichos.

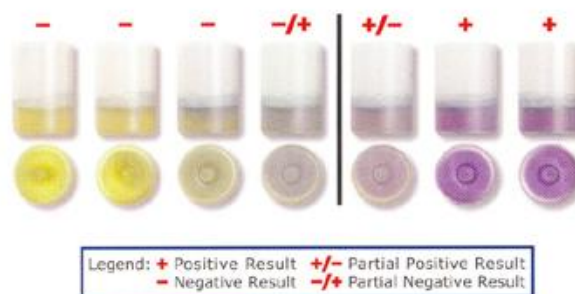
Consciente de estos problemas a gran escala, MICROKIT desarrolló hace varios años un **kit**, para la detección de inhibidores en general en la leche, carne, medicamentos, superficies, pescados, sangre, orina, etc. Se trata de un test de **screening** primario que ahorrará mucho trabajo a cientos de laboratorios de industrias y Sanidad, al detectar todo tipo de inhibidores: antibióticos (excepto polimixina); sulfamidas, residuos de desinfectantes, agua oxigenada y eliminar posteriores investigaciones en todas las muestras que resulten negativas. Ver también método de las 3-5 placas (medios DMT200, DMT201, DMT202).

Ventajas del kit

El método empleado en el **MICROKIT ANTIBIOTIC TEST** (Cajas de 100 test, Referencia KAA025) es el reconocido internacionalmente por organismos oficiales. Se trata de un medio especial preparado para test cualitativos que contiene altas concentraciones de esporas de Bacillus stearothermophilus var. calidolactis y un indicador de pH. Al germinar las esporas, la acidificación consecuente al metabolismo produce un claro viraje del lila al amarillo. En presencia de inhibidores, la espora no germina y el medio continua de color lila.

El kit se presenta en tubos **individuales** que no obligan a realizar varias pruebas a la vez, a diferencia de otros kits. Otra ventaja es la sencillez de manipulación. Cualquier persona no especialista en técnicas de laboratorio puede realizarlo. La **sensibilidad** del test es excelente (ver tabla). El test es sensible a la gran mayoría de antibióticos existentes en el Mercado y a otros muchos inhibidores del crecimiento microbiano. La **caducidad** es de 1 año desde fabricación mientras se guarde a 4-8 °C.

El kit contiene **100 tubos** con el medio, el indicador y las esporas ya inoculadas en el mismo. Puede utilizar como control positivo un colirio con penicilina y, como negativo, leche certificada como exenta de inhibidores (Skim Milk DMT114). ¡No sirve como control negativo una incubación sin añadir líquido!



Sensibilidad	
ANTIBIOTICOS	
Benzilpenicilina	0,002 UI/ml
Ampicilina	0,002 µg/ml
Cloxacilina	0,015 µg/ml
Nafcilina	0,006 µg/ml
Tetraciclina –HCl	0,10 µg/ml
Clortetraciclina	0,20 µg/ml
Oxitetraciclina	0,15 µg/ml
Cloranfenicol	7,0 µg/ml
Dihidroestreptomicina	4,0 µg/ml
Neomicina	1,0 µg/ml
Kanamicina	9,0 µg/ml
Bacitracina	0,06 UI/ml
Eritromicina	1,0 µg/ml
Gentamicina	0,15 µg/ml
Cefapirina	0,008 µg/ml
Rifamicina	0,01 µg/ml
SULFAMIDAS	
Diafenilsulfon	0,01 µg/ml
Sulfametacina, Sulfadimidina	0,05 µg/ml

Modo de empleo y lectura de resultados

1) Extracción e Inoculación:

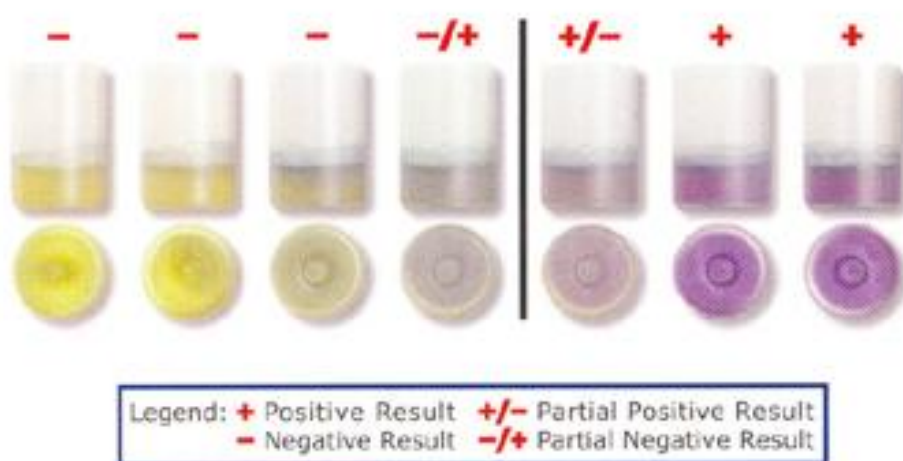
- 1 En leche y otros líquidos. Añadir tres gotas de muestra en un tubo del kit. La adición accidental de una gota extra no afecta el resultado final. Evite las contaminaciones cruzadas utilizando una pipeta distinta para cada muestra. Si el pH del líquido no está entre 6 y 7, ajústelo previamente.
- 2 En alimentos y otros sólidos. Mezclar 10 gramos de la muestra triturada con 40 ml de tampón fosfato al 1% y a pH $6\pm 0,1$ (8 g fosfato potásico monobásico, 2 g fosfato potásico dibásico en 1 litro de agua destilada). Macerar agitando con perlas de vidrio durante 20-45 minutos. El material debe estar totalmente libre de residuos inhibidores (detergente, alcohol...). Decantar, filtrar y utilizar directamente el extracto claro, añadiendo tres gotas en el tubo del kit. La puesta a punto de la técnica para cada tipo de muestra puede diferir (por color/pH de la muestra) y el cliente deberá optimizarla.
- 3 En superficies. Para detectar residuos de antibióticos, desinfectantes, etc., barrer una superficie cuadrada de tamaño definido con un escobillón humectado en tampón al 1 % y a pH $6\pm 0,1$. Introducir la torunda en 3 gotas de dicho tampón, agitar bien y añadir las 3 gotas en el tubo del kit.

2) Incubación:

Conviene atemperar los tubos desde la nevera, a 55-64 °C durante un instante. Cerrar el tubo del kit con una etiqueta adhesiva e incubarlo, mejor en un Baño María, a **64±1 °C** durante 2-5 horas. Si preincubamos 1 hora a 55-64 °C, podemos acortar el tiempo de incubación real del kit una vez añadida la muestra a 1-4 horas. Es fundamental evitar variaciones de temperatura: No utilizar estufas de cultivo, sino Baños María; no curiosear los tubos antes de las tres horas ni mucho menos sacarlos del baño: Invalidaríamos la prueba, ya que el resultado se retrasaría extraordinariamente y el tiempo de lectura debe ser estrictamente de 2-5 horas ±15 minutos. Resulta interesante el uso de una lámina flotante de porexpán agujereada con los tubos del kit, pues sirve como gradilla, evita la entrada de agua en el tubo y mantiene el fondo de cada tubo sumergido en el baño caliente.

3) Lectura de resultados:

Analizar bajo luz intensa cuál es el color final del tubo. Los tubos que permanecen de color lila ● son positivos: Había inhibidores en la muestra, las esporas no han germinado, no han acidificado el medio y no se ha producido viraje de color. Los tubos que aparecen de color crema o con zonas claramente amarillas ● son negativos: No había inhibidores en la muestra, las esporas han germinado, al crecer han acidificado el medio y lo han hecho virar de lila a amarillo. Normalmente el viraje comienza por la parte superior del tubo (zona de contacto muestra-medio) y se va extendiendo hacia abajo. Cambios de color posteriores a las cinco horas y media no son indicativos de prueba negativa y, de hecho, tras largas incubaciones todos los tubos acaban virando por inactivación del inhibidor. Los virajes a verdoso invalidan el análisis. Los virajes nada más añadir la muestra indican que ésta es demasiado ácida para el método: ¡tamponar antes!



Precaución: No almacene la caja del kit en posición invertida ni vertical. ¡El medio ha de quedar abajo para que no pierda concentración de esporas en el agua de condensación!. No utilice viales que estén amarillos o verdosos antes de su utilización (exceso de calor durante el transporte). Destruya los viales utilizados mediante autoclavado a 121°C durante 15 minutos.

El usuario es el único responsable de la destrucción de los microorganismos generados en el interior del kit durante su uso, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Sumerja en lejía o alcohol, o mejor autoclávelos, antes de desecharlos a la basura. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Fabricado en la UE por MICROKIT desde 1994 bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, y subcontratado en la UE desde 10/1999. Revisado en Mayo-2020