



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		

**MICROKIT® MUG PLUS CROMOGENIC AGAR
CCA (ISO 9308-1:2014) AGAR CROMOGENICO
COLIFORMES Y E.COLI S/BOE 31-MARZO-2009**

Agar selectivo para la detección simultánea confirmativa de coliformes totales/fecales y *E.coli* en aguas y alimentos. Medio diseñado por MICROKIT desde 1995, oficial por B.O.E. desde 2009 y por ISO desde 2014.

INTRODUCCION

Los substratos cromogénicos desarrollados desde los años 90 por los laboratorios BIOSYNTH AG, en concreto Salmon-Gal, X-Glucuronido e IPTG, permiten la detección simultánea de coliformes (colonias rojas) y *E.coli* (colonias azules) en el mismo medio de cultivo.

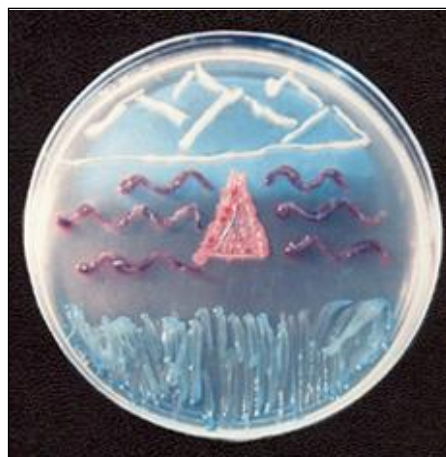
La acción simultánea de las peptonas seleccionadas en el medio, del piruvato y de los tampones fosfato, garantiza un rápido crecimiento colonial, incluso para los coliformes en estado subletal. El crecimiento de la flora acompañante Gram positiva, queda inhibido gracias al tergitol y a la mezcla de antibióticos Cefsulodina + Vancomicina.

El enzima Beta-D-galactosidasa, característica de los coliformes, actúa sobre el Salmon-GAL provocando la pigmentación roja o rosada en las colonias de coliformes.

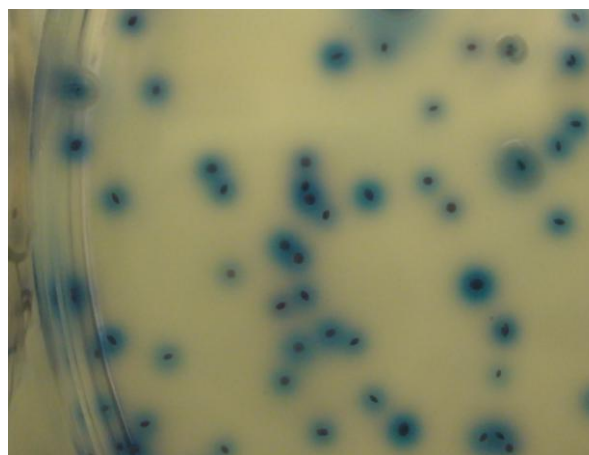
E.coli, coliforme Beta-D-glucuronidasa positivo, actúa sobre el Salmon-GAL y sobre el X-Glucuronido (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl Beta-D-glucuronido) de modo que sus colonias crecen de color azul.

COMPOSICION (g/l)

Digerido Enzimático de Caseína	1'0
Extracto de levadura	2,0
Cloruro Sódico.....	5'0
Dihidrógeno Fosfato Sódico.2H ₂ O.....	2'2
Hidrógeno Fosfato Disódico.....	2'7
Piruvato Sódico.....	1'0
Sorbitol	1'0
Triptófano	1'0
Tergitol 7	0'15
Salmon-beta-D-Galactósido	0,2
X-beta-G-Glucuronido CHX sal	0'1
IPTG	0,1
Agar-Agar E libre de inhibidores	10'0
pH Final: 6'8 ± 0'2	



MICROKIT® MUGPLUS:
Agar cromogénico para *E. coli* (colonias azules -olas-) y demás coliformes (colonias rosas -surf-). *Campylobacter* y *Shigella* crecen con colonias verdes (hierba) y otros Gram negativos con colonias crema (*Pseudomonas* -montañas-).



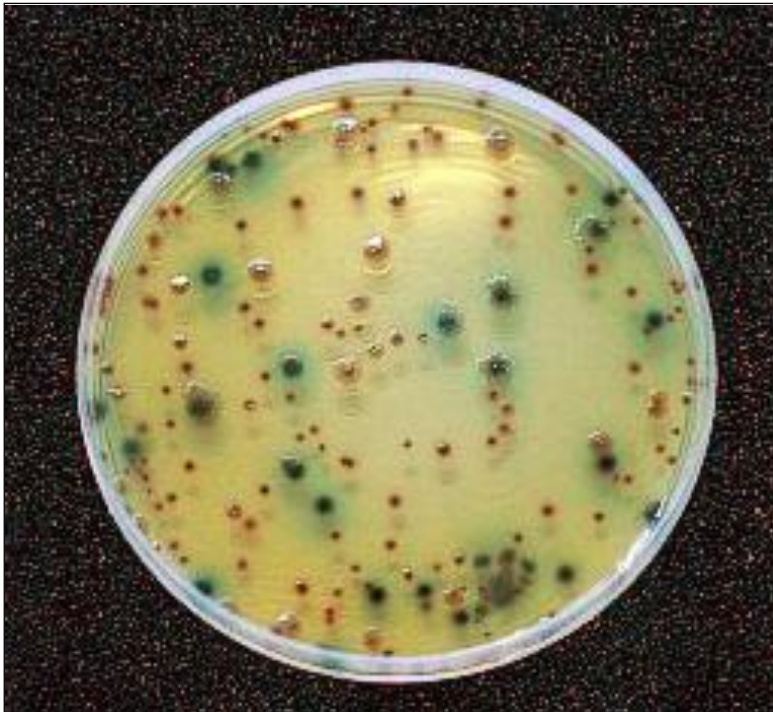
Inconfundibles colonias añil, las más típicas de la mayoría de cepas de E.coli

MODO DE EMPLEO

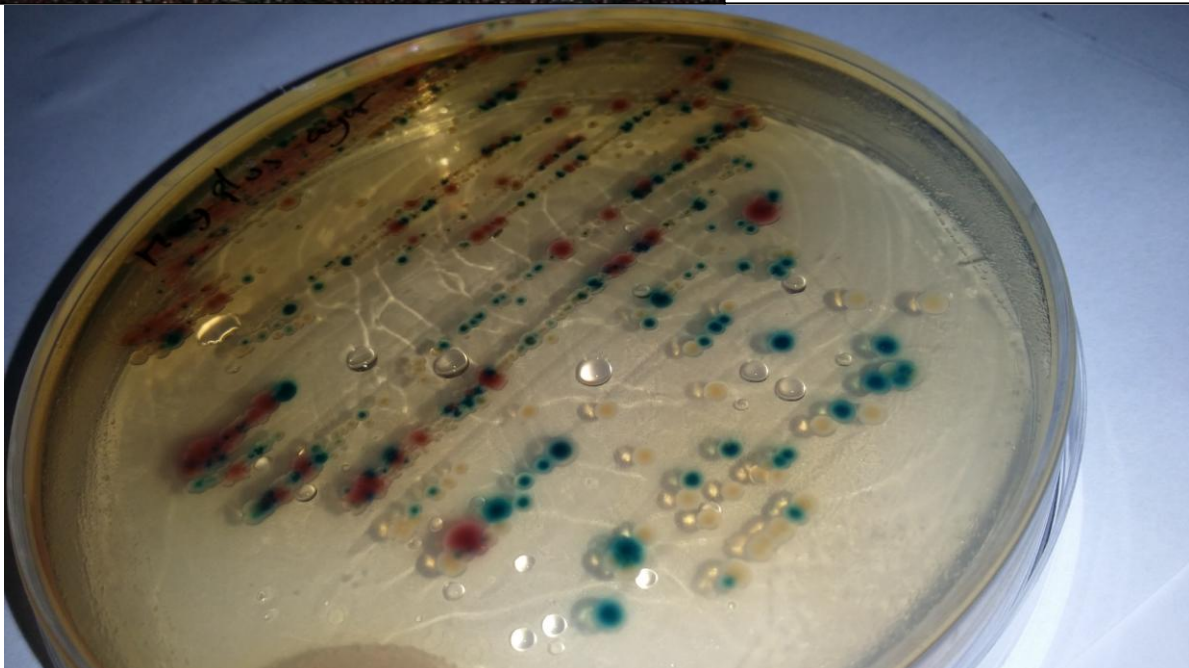
Agitar el bote. Disolver 26,5 g en 1 litro de agua destilada, calentando hasta ebullición. Mantener durante 1 minuto. Agitar hasta su completa disolución. Si se desea, por contar con flora acompañante abundante, para convertir el CCA (ISO 9308-1:2014) en Agar cromogénico para coliformes (BOE 31-3-2009) añadir aseptícamente, cuando el medio se haya enfriado a 55 °C, 5 mg de Cefsulodina + 5 mg de Vancomicina (total 5 ml de solución estéril MICROKIT SMS400) para aumentar la selectividad del medio y eliminar la flora acompañante Gram positiva. No autoclavar. El medio final es blanquecino. No refundir más de una vez.

En alimentos, la siembra en profundidad elimina los Gram negativos no fermentadores, que en la técnica de Filtración de Membrana para análisis de aguas pueden dar lugar a falsos positivos y además reducir en un 50% la recuperación de los microorganismos diana; para evitarlo, se puede añadir sobre la membrana o sobre la muestra, una segunda capa de medio agarizado, previamente enfriado a 50 °C. Esto no es tan necesario en aguas potables o poco contaminadas por flora acompañante.

LECTURA DE RESULTADOS



E. coli crece en MugPlus Agar con colonias azul oscuro-añil (algunas cepas azul claro-turquesa, foto abajo) y los demás coliformes con colonias rosa-fucsia. No confundir *E. coli* con algunas cepas de *Campylobacter*, *Salmonella* o *Shigella*, que pueden crecer con colonias esmeralda, aunque también son indicadoras de problemas a menudo no detectados con otros medios.



Tras 18-24 horas de incubación a 35-37 °C aproximadamente (ó 44,5 °C aproximadamente para *C. fecales*), los resultados son: *E.coli*: Colonias de azul oscuro a añil, a veces turquesa (Salmon-GAL y X-GLU positivo), que resultan indol positivas. Coliformes: Colonias rosas-rojas (Salmon-GAL positivo) + las azules (*E.coli*). Otras enterobacterias: Colonias incoloras, excepto cepas como las *Salmonella* o *Shigella* Beta-D glucuronidasa positivas, que aparecen de color azul claro a esmeralda. Muchas cepas de *Shigella* y de *Campylobacter* crecen con colonias verdes, pero también es del máximo interés que sean detectados, al ser microorganismos patógenos.

Unas pocas cepas de *Enterococcus durans* crecen con colonias rojas, pero diminutas, y además también indican contaminación fecal del agua. Ciertas cepas de *Staphylococcus aureus* y de *Bacillus* crecen con colonias naranjas, pero nunca rosas-rojas. Otras cepas crecen con colonias crema que tampoco se han de tener en cuenta. Las colonias con colores intermedios (violáceo-lila) proceden de ufc mixtas: diluir y repetir el análisis, o resembrar la colonia para aislar colonias puras, o mirar una placa sembrada con una dilución mayor.

Confirme *E.coli* cubriendo sus colonias con reactivo de Kovacs. Si éste vira de amarillo a rojocereza antes de 1 minuto, la reacción es, definitivamente, confirmativa. De forma más definitiva, repicar una colonia azul en Agua de Triptona con Triptófano (MICROKIT BCD129, tubos preparados TPL034), incubar a 44,5°C durante 6-18h y añadir el reactivo de Kovacs, para confirmar como positivo en caso de viraje de la superficie del tubo a rojo.

CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO

CONTROL FISICO DESHIDRATADO: Gránulos blancos CONTROL FISICO PREPARADO: Estéril, Blanquecino (en lotes anteriores a 2009: crema)

RECuento TOTAL RESPECTO A PCA/g: $\approx 10^3$ SALMONELLA: AUSENCIA E.COLI: AUSENCIA

pH FINAL ANTES ESTERILIZACION: 6,8 El pH (la conductividad máxima recomendada en el agua para elaborar medios de cultivo preparados es de 5 µS; la nuestra tiene: 0,7 µS) certificado con tolerancia $\pm 0,2$, corresponde al día de fabricación y antes de la esterilización. Una atmósfera rica en CO₂ y el autoclavado suelen bajar el pH hasta 0,1-0,4, pero sin llegar a afectar la calidad del medio. Agitar los botes de medio en polvo antes de usar, para asegurar la homogeneización de los eventuales gradientes de densidad de los componentes.

COMPOSICIÓN y cromógenos acordes a la Norma ISO 9308-1:2014 y RD140/2003

Control realizado en las instalaciones de MICROKIT. Para evitar amplificar problemas, es prudente repetirlo en su laboratorio tras el transporte, tras almacenamientos prolongados, tras desinfecciones del laboratorio, tras fallos en la Tª u oscuridad de almacenamiento, tras adquirir aspectos extraños u otras eventualidades, aunque no haya llegado la fecha de caducidad óptima. Los resultados de este informe son aplicables directamente a la muestra que se ha analizado del producto que se certifica; y, estadísticamente, al resto del medio. LIBRE de materias primas sospechosas de portar el agente BSE.

CRECIMIENTO/INHIBICIÓN DE CEPAS 24-48 h a 37 °C:

(Aplicando el método ISO 9308-1:2014, o el del Manual MICROKIT actualizado, se añade o no suplemento Cefsulodina+Vancomicina SMS400)

Escherichia coli WDCM00013, Excelente, colonias azul-añil-violáceas. Recupera en masa el 200% con respecto a lo que recupera por siembra en superficie. Con respecto a TSA estandarizado*, recuento en superficie 58-125%. Indol + directo.

Citrobacter freundii WDCM 00006, Excelente, colonias rojo-rosa. Con respecto a TSA estandarizado*, recuento en superficie 106%

Klebsiella oxytoca MKTA13182**, Excelente, colonias lilas-granates. Con respecto a TSA estandarizado*, recuento medio en superficie 99%.

Enterobacter cloacae WDCM00083, Excelente, colonias rojo-rosa. Con respecto a TSA estandarizado*, recuento en superficie 58-104%.

Salmonella enteritidis WDCM00030 Excelente, colonias incoloras. Con respecto a TSA estandarizado*, recuento en superficie 29-202%.

Shigella flexneri WDCM00126, Excelente, colonias incoloras en masa, a veces interferencia con crecimiento azul celeste si se siembra en superficie.

Pseudomonas aeruginosa MKTA 10602, Inhibido

Staphylococcus aureus MKTA 6571, Inhibido

*El que cumple con recuperación superior al 92-125 % con respecto a cepas cuantitativas trazables a la cepa tipo. Incertidumbres debidas a las cepas y a las diferentes proporciones de flora acompañante.

**Las colecciones TIPO prohíben el uso de su referencia por lo que indicamos la nuestra, directamente trazable a la colección TIPO.

	Color de la colonia	Salmon-GAL	X-Glucurónido	Indol	Rto. TSA
<i>E.coli</i>	Azul oscuro-añil o turquesa	+	+	+	58-125% *
<i>Citrobacter freundii</i>	Rojo-rosa	+	-	-	98-106%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Lila-Granate	+	-	-	>99%
<i>Enterobacter cloacae</i>	Rojo-rosa	+	-	-	58-104%
<i>Salmonella enteritidis</i>	Incoloro	-	-	-	29-202%
<i>Shigella flexneri</i>	Incoloro (azul en superficie)	-	-	-	
Salmonella MUG+	Azul claro	-	+	-	
<i>E. coli</i> O157 : H7	Rojo-rosa	+	-	+	230%

* En superficie, ya que en masa recupera el 200% más que en superficie

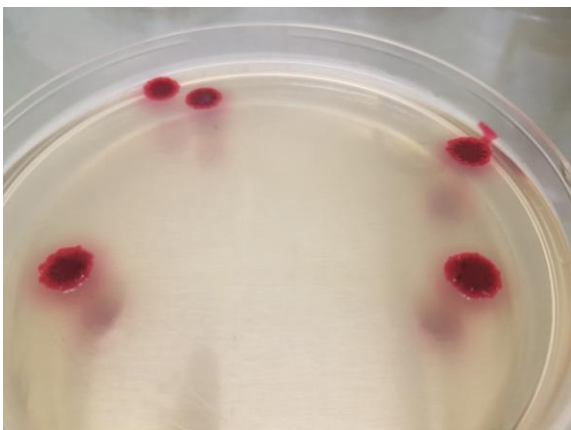
Un estudio comparativo independiente (*) de validación cuantitativa entre este medio, otros cromogénicos, Endo y MFC demuestra que MUG PLUS® es el mejor medio de recuento de *E. coli* en aguas. La validación interna realizada por MICROKIT con centenares de muestras y la revalidación mensual entre Seilagua®, Seilalimentos y Seilaparfum, lo confirman de rutina para agua y para todo tipo de matrices alimentarias y cosméticas, desde 1998.

PRESENTACION (PARA TODAS LAS NECESIDADES)

- * Botes de 100 g de medio de cultivo deshidratado en polvo agarizado. Referencia [DMT400-](#)
- * Suplemento voluntario en frasco de 100 ml, con 100 mg de solución estéril de Cefsulodina + Vancomicina, para 20 litros de medio (5 ml/l). Referencia [SMS400](#).
- * Frascos de 100 ml de agar MUG PLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [RPL444](#).
- * Frascos de 200 ml de agar MUG PLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [RPL244](#).
- * Tubos de 20 ml de agar MUG PLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [TPL400](#).
- * Viales 2 ml de caldo MUG PLUS® de MF con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [FPL400](#).
- * Viales pinchables de 100 ml de caldo MUG PLUS® de MF con Cefsulodina+Vancomicina. Ref. [RPL400](#).
- * Plaquetas herméticas de Agar MUGLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [PPL902](#)
- * Placas preparadas de Agar MUGLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [PPLM40](#)
- * Placas Rodac Envirocount preparadas de Agar MUGLUS® preparado con Cefsulodina+Vancomicina. Referencia [PPL511](#)
- * Placas preparadas de medio deshidratado DryPlates-EC con Agar MUGLUS®. Referencia [DPP006](#)

BIBLIOGRAFIA

- Framptom, e.w., Restaino, l., and Blaszczo, n. 1988. evaluation of the b glucoronidase substrate 5 bromo 4 chloro 3 indolyl bd glucuronide (x-gluc) in 24 hour direct plating method for E.coli. j. food prot. 51: 402-404.
- Kilian, m. and Bulow, p. 1976, rapid diagnosis of enterobacteriaceae. i. detection of bacterial glycosidases. acta pathot. microbiol. scand sect. b84: 245-251.
- Le Minor, L., and Ben hamida, f. 1962. Avantages de la recherche de la b-galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bacteriologique des enterobacteriaceae. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 102
- Manafi, M. and Kneifel, W. 1989. A combined chromogenic/fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and *E.coli* in water.zentralbl.hyg. 189: 225-224.
- Santos, C.J., Araujo, M., Gómez, M.J. and Garrido, M.J. evaluación de medios de cultivo para la detección de *Escherichia coli* en aguas. Lab. microbiología, instituto de investigación y análisis alimentarios. Universidad de Santiago de Compostela. 9-1999. “Cuando se evaluaron los parámetros de especificidad, selectividad, eficacia relativa, precisión y exactitud del recuento, el Agar MugPlus resultó ser el más adecuado frente al Endo, m-FC, Colitag y Coli-ID”
- Real decreto sobre aguas de consumo humano, addenda BOE 16 de 19/Enero/2011 y BOE 17 de 20/Nov/2011
- Validación MICROKIT del Agar MUGPLUS en aguas mediante SEILAGUA, 31-Marzo-2009
- Validación MICROKIT del Agar MUGPLUS en alimentos mediante SEILALIMENTOS, 16-07-2009
- Validación MICROKIT del Agar MUGPLUS en cosméticos mediante SEILAPARFUM, 31-Marzo-2009
- Validación MICROKIT del Agar MUGPLUS en placas deshidratadas (DryPlates-EC) en alimentos, aguas, cosméticos, superficies y aire, 6 de Noviembre de 2013
- ISO 9308-1:2014 Calidad del agua. Detección y recuento de *E. coli* y de bacterias Coliformes.



Arriba: Coliforme (*Serratia marcescens*) con sus típicas colonias rojizas en CCA. Dcha: *E.coli* salvaje (turquesa), otros coliformes (malva) y flora acompañante (crema)



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 fabricado en la UE por MICROKIT desde 1995 bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en Marzo-2020