

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		

CROMOKIT® UNIVERSAL PATHOCHROM AGAR (CUP12A)

Agar cromogénico universal para aislamiento selectivo de los patógenos más típicos en cosméticos

INTRODUCCIÓN

El Reglamento CE N° 1223/2009 y las GMP (ISO 22716) exigen la “inocuidad del cosmético”, es decir: la ausencia de patógenos. Hacía falta un medio que reuniese la mayoría de patógenos que provocan de forma habitual retiradas de mercado de productos cosméticos (son 14, no sólo 4), con la consecuente pérdida económica y de imagen mediática de las marcas implicadas. Y MICROKIT lo ha conseguido: CUP-12 Agar detecta 2 de los 4 patógenos para los que se han escrito Normas ISO (*E.coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, no *Staphylococcus aureus* ni *Candida albicans*) y ADEMÁS, detecta todos los demás (10) patógenos que más retiradas de mercado provocan a nivel Universal: *Aspergillus spp*, *Burkholderia cepacia* complex, Coliformes patógenos (*Pluralibacter gergoviae*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*...), Enterobacterias patógenas (*Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Serratia marcescens*...) Enterococos fecales y *Pseudomonas putida*. Total, 12 de los 14 patógenos más típicos en cosméticos. Hacía falta detectar todos, como ya indicamos a la industria cosmética en nuestro mailing impreso del 12-1-2021: inocuidad/seguridad.



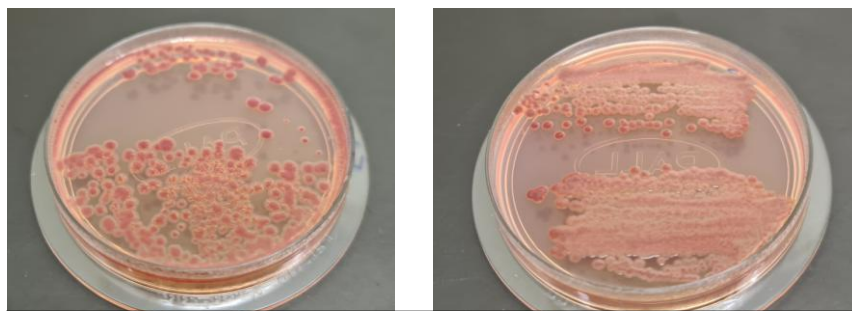
Los 10 patógenos cosméticos más típicos, detectados en 36 horas por estría directa del caldo de enriquecimiento en CUP12A. Arriba, de Izda a Dcha: *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *C.albicans*, *B.cepacia*. Abajo, de Izda a Dcha: *Pluralibacter gergoviae*, *Klebsiella spp.pl*, *Enterococcus spp.pl*, *Aspergillus spp.pl*, *Salmonella spp.pl*. Otros 28 microorganismos no típicos en cosméticos, no crecen en este medio. No es un medio diferencial de colores espectaculares, pero si crece alguna colonia rojiza, es sumamente probable que se trate de un patógeno típico de cosméticos: sólo hay que confirmarla!

De este modo, **con solo un medio de aislamiento** (CUP12A) tras el enriquecimiento selectivo, cualquier laboratorio **puede detectar específicamente 12 de los 14 patógenos** que no detectaría nunca con sólo los 4 medios “ISO”. Pero si las autoridades sanitarias le controlasen una muestra, tendría altas probabilidades de encontrarse con una problemática retirada de mercado de su lote, al haberlo lanzado al mercado sin analizar más que los 4-5 patógenos más famosos (pero no más frecuentes) e ignorando los demás. Aparte de su valor como detector adicional de los 10 patógenos más típicos de cosméticos que actualmente no está buscando, imagine la cantidad de **tiempo, dinero, trabajo, espacio, estufas, residuos... que se va a ahorrar** cuando sustituya 2 de los 4 medios para *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, por uno solo: CUP12A.

NOTA IMPORTANTE: las Normas ISO 18416, ISO 22717, ISO 21150 e ISO 22718, NO SON de obligado cumplimiento por la legislación española ni europea, al no estar publicadas en el DOUE ni en el BOE, al contrario que la obligada ISO 22716 de BPF; tan sólo son un resumen de lo que se ha estado haciendo hasta ahora por la mayoría de laboratorios. Pero diferentes servicios intercomparativos bien diseñados de microbiología de cosméticos están demostrando, desde antes de que nacieran dichas Normas Técnicas, que eran métodos muy poco robustos, que no estaban realmente diseñados para matrices inhibitorias con microbiota letárgica, como son los cosméticos (y no unos sucedáneos sin conservantes), y por eso provocaban numerosos falsos negativos. Y por tanto NADIE puede pedirle a su laboratorio que se ancle en un pasado obsoleto, siguiendo dichas Normas ISO. Aparte de que ignoran los 10 patógenos emergentes que más retiradas de mercado están provocando en el mundo cosmético; porque las autoridades sanitarias sí que siguen la legislación y buscan la inocuidad y seguridad que dicta la legislación.

COMPOSICIÓN

Factores nutritivos	16,0
Sales diversas	7,10 g
Agar-agar	15,0 g
Mix de agentes selectivos	c.s.
Mezcla cromogénica (Fórmula por litro)	c.s.
pH final: ajustar a	7,2 ± 0.2



Izda: *Pseudomonas putida* en 18 h y Dcha: *Burkholderia cepacia* en 18-36h en CUP12A

PREPARACIÓN

Disolver 38,5 g de medio en 1 L de agua bidestilada. Remover para homogeneizar, calentando hasta ebullición sin parar de remover. AUTOCLAVAR a 121°C durante 15 minutos. Enfriar rápidamente en un baño a 45-50°C, agitando suavemente. No volver a fundir, dispensar en placas Petri estériles y dejar solidificar. El color del medio es suavemente anaranjado. Las placas, si están bien cerradas en bolsas autosellables para evitar su deshidratación y contaminación, pueden almacenarse hasta un mes fuera de nevera, en la oscuridad, las plaquis herméticas de MICROKIT hasta 6 meses ¡no congelar!

PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. AGITE EL BOTE DE POLVO ANTES DE USAR PARA HOMOGENEIZAR LOS GRADIENTES DE DENSIDAD DE LOS DIFERENTES COMPONENTES, POSIBLEMENTE FORMADOS DURANTE SU ALMACENAMIENTO. MANTENGA EL BOTE Y LAS DRYPLATES BIEN CERRADOS, EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. MANTENGA LAS PLAQUIS, TUBOS Y FRASCOS PREPARADOS FUERA DE LA NEVERA, EN COMPLETA OSCURIDAD.

PRESENTACIÓN

- MEDIO DESHIDRATADO 500g Ref: [DMT518](#)
- DryPlates®-CUP12A Ref: [DPPCUP12](#)
- Plaquetas herméticas y apilables 55 mm (PLAQUIS ®) Ref: [PPL944](#)
- Placas de 90 mm Ref: [ECOP08](#)
- Tubos preparados 18 mL para preparar una placa de 90 mm o 2-3 plaquis de 55 mm con cada tubo Ref: [TPL518](#)
- Frascos preparados 100 mL para preparar 5 placas de 90 mm o 10-15 plaquis de 55 mm con cada frasco Ref: [RPL518](#)

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 crema ligeramente rosado

PREPARADO: Estéril, levemente anaranjado

CONTROL DE CRECIMIENTO 48 h a 35°C aproximadamente y **pre-identificación inmediata:**

Aspergillus niger brasiliensis WDCM 00053, Correcto, colonias algodonosas

Burkholderia cepacia MKTA 25416, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa positivas, ADH negativas

Candida albicans WDCM 00054, Correcto, colonias rojizas, olor a levadura, células enormes al microscopio, con yemas y filamentos

Enterobacter aerogenes WDCM 00175, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol negativas

Enterococcus faecalis WDCM 00087, Correcto, colonias rojizas, Neogram positivas, catalasa negativas

Escherichia coli WDCM 00012, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol positivas

Klebsiella pneumoniae WDCM 00206, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol negativas

Pluralibacter gergoviae MKTD 9245, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol negativas

Proteus mirabilis WDCM 00023 Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol negativas

Pseudomonas aeruginosa WDCM 00025, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa +, acetamida +, ADH +

Pseudomonas putida WDCM 00117, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa positivas

Salmonella enterica typhimurium WDCM 00031, Correcto, colonias rojizas, Neogram negativas, oxidasa negativas, indol negativas

Staphylococcus aureus WDCM 00131, Correcto, colonias rojizas, Neogram positivas, catalasa positivas, coagulasa positivas

Solicite el informe de VALIDACIÓN con 20 COSMÉTICOS diferentes y vea la tabla de resultados con más cepas de patógenos típicos en cosméticos en la página siguiente. Además, en 9 meses analizando cosméticos, no hemos encontrado en CUP12Agar ni un solo falso positivo que nos hiciese perder tiempo de confirmaciones.

MODO DE EMPLEO Y LECTURA DE RESULTADOS

Sembrar en superficie sobre la placa preparada, el caldo enriquecido (Ej: LPT Neutralizing Broth, Eugon New Broth, Lethen Modif Broth...). Si lo desea, puede hacer una estría en media placa con asa de 10 µL y otra en la otra media placa con asa de 1 µL para aumentar la probabilidad de aislar colonias puras. O mejor, una estría desde la dilución (-1) y otra desde la (-2). Generalmente tras 36-48 h de enriquecimiento en los caldos mencionados, se detecta bien cualquier contaminante con asa de 10 µL.

Incubar a 35°C durante 36-48h.

Buscar estrías o colonias típicas (rojizas: rosa, naranja, fucsia, púrpura...), que serán casi siempre de patógenos típicamente cosméticos, por lo que el medio sirve de alerta previa. Si se desea, se puede confirmar con test adecuados **inmediatos** (Neogram KIN001, Oxidasa KOT050, Catalasa KMT299, Indol SBH056, ADH TPLADH, Acetamida TPL113 + Nessler SMT007, Coagulasa KWD094) y, una vez orientados con éstos sobre el grupo al que pertenecen las colonias, usar galerías u otros test adicionales. También se puede usar, en sólo 18h, Cromokit ID Agar (DMT523). Lógicamente buscar 14 patógenos en vez de 4, dará más trabajo de confirmación, pero podremos asegurar lo que realmente nos pide la legislación: la ausencia de patógenos propios de los cosméticos. Sobre todo si enriquecemos en LPT Neutralizing Broth de MICROKIT, según se ha demostrado en intercomparación.

RESULTADOS de patógenos en CUP-12 AGAR tras pasar cada cepa por cosméticos y 48h en LPT Broth a 35°C, a diferentes tiempos (12-48h)		12 h a 35°C	18h a 35°C	36 h a 35°C	48h a 35°C
WDCM 00053	<i>Aspergillus niger brasiliensis</i>	+	+	+	+
DSMZ 50181	<i>Burkholderia cepacia</i>			+	+
ATCC 25416	<i>Burkholderia cepacia</i>	+	+	+	+
ATCC BAA-245	<i>Burkholderia cenocepacia</i>		+	+	+
ATCC BAA-247	<i>Burkholderia multivorans</i>		+	+	+
WDCM 00054	<i>Candida albicans</i>		+	+	+
WDCM 00006	<i>Citrobacter freundii</i>		+	+	+
WDCM 00175	<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	+
WDCM 00087	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	+
WDCM 178	<i>Enterococcus faecium</i>		+	+	+
DSMZ 20160	<i>Enterococcus hirae</i>		+	+	+
WDCM 00013	<i>Escherichia coli</i>				+
WDCM 00196	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+
WDCM 00090	<i>Escherichia coli</i>				+
WDCM 00012	<i>Escherichia coli</i>		+	+	+
WDCM 00097	<i>Klebsiella aerogenes (Raoultella planticola)</i>	+	+	+	+
DSMZ 5175	<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	+
WDCM 00206	<i>Klebsiella pneumoniae (K.variicola)</i>	+	+	+	+
MKTS-BCN1	<i>Pantoea agglomerans salvaje</i>			+	+
DSMZ 9245	<i>Pluralibacter gergoviae</i>	+	+	+	+
WDCM 00023	<i>Proteus mirabilis</i>		+	+	+
WDCM 00025	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+
WDCM 00117	<i>Pseudomonas putida</i>		+	+	+
WDCM 00030	<i>Salmonella enterica ssp enteritidis</i>		+	+	+
WDCM 00031	<i>Salmonella enterica ssp typhimurium</i>				+
DSMZ 30121	<i>Serratia marcescens</i>				+
MKTS-SH01	<i>Shigella flexneri salvaje</i>				+
WDCM 00034	<i>Staphylococcus aureus</i>				+
WDCM 00131	<i>Staphylococcus aureus.</i>	+	+	+	+
WDCM 00032	<i>Staphylococcus aureus *</i>				-
PECJIT	<i>Staphylococcus hominis salvaje</i>		+	+	+

* Algunas cepas de *St.aureus* y de *Candida albicans* no crecen bien en CUP-12 Agar: no sustituya los medios para estos dos patógenos por este medio casi universal, pero sí puede sustituir los otros medios que usa para los demás patógenos y así además podrá aumentar definitivamente la gama de patógenos detectados

Añada CUP-12A a los 4-5 medios que ya usa para los patógenos más clásicos (o al menos a los medios de estafilococos y de Candida), y así podrá detectar también los patógenos emergentes que hasta ahora no buscaba y la legislación le exige buscar.

DOBLE BENEFICIO: DETECTE TODOS LOS PATÓGENOS TÍPICOS DE COSMÉTICOS Y AHÓRRESE 2-3 MEDIOS DE CULTIVO ADICIONALES, más el tiempo, dinero, trabajo, espacio, estufas, residuos... que eso le cuesta. **Ventaja adicional:** CUP-12 Agar es mucho más económico que pedir por separado los medios que sustituye para *E.coli*, *Ps.aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*, incluso de las marcas más baratas. Y sólo se necesitan 38,5 g/L, por lo que 1 bote de 500 g cunde para elaborar 13 L, es decir, 722-867 placas de 90mm, 1.083 placas de 55mm o bien nada menos que 2.167 PLAQUIS® herméticas y apilables de MICROKIT (Ref: VDA002).

¿12 de los 14 patógenos cosméticos en un solo medio? ¡CUP-12 AGAR es casi un milagro! todo un homenaje a la creatividad cuando se reúnen varios expertos multidisciplinares con el objetivo común de ayudar a cumplir la auténtica legislación. ¡Haga volar a su laboratorio al Siglo XXI!

La concordancia entre los resultados de los distintos medios para patógenos y el CUP12A es espectacular (99,17% de eficiencia) tanto en su componente sensibilidad como en su componente especificidad, es decir: prácticamente no hay falsos positivos que nos hagan perder tiempo en confirmar microorganismos no-patógenos, ni tampoco falsos negativos que nos hagan perder la fé en el CUP12A.

El usuario final es el único responsable de la destrucción de los organismos que se hayan desarrollado durante su análisis, según la legislación medioambiental vigente: Autoclavar antes de desechar en la basura.

Medio diseñado por MICROKIT entre 2-2021 y 2-2022, en colaboración con otra entidad que prefiere permanecer en el anonimato. Dado que dicha entidad se lleva el 50% del margen comercial de las ventas de este medio, no podemos ofrecer este medio en ninguno de sus formatos a través de distribuidores, al menos no para su reventa a precio de lista.

Fabricado en la UE en exclusiva por MICROKIT, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde el 14 de Febrero de 2022. Revisado el 30 de Noviembre de 2022.

Clave dicotómica para orientarse en la confirmación de colonias de CUP-12A

Patógenos típicos de retiradas de mercado de productos cosméticos distinguibles desde CUP-12A con solo 6 reactivos:

Colonia algodonosa: posible *Aspergillus fumigatus* (verde), *A.flavus* (amarilla) u otro *Aspergillus* patógeno

Colonia SIN esas características: ↷

Colonia grande y blanca en SDA, parda en Biggy, rosa en RB, que emite olor a levadura: posible *Candida albicans*

Colonia SIN esas características: ↷

Colonia Neogram positiva (no filamenta):

Catalasa negativa (no burbujea): probable *Enterococcus faecalis*,

Catalasa positiva (burbujea), coagulasa positiva: muy probable *Staphylococcus aureus*

Colonia Neogram negativa (filamenta):

Oxidasa positiva (vira a azul): No fermentadores

ADH negativa (amarillo o naranja): probable *Burkholderia cepacia*,

ADH positiva (vira a rojo): *Pseudomonas aeruginosa* (además es Acetamida + y fluorescente en KingB)

Oxidasa negativa (NO vira a azul): Fermentadores

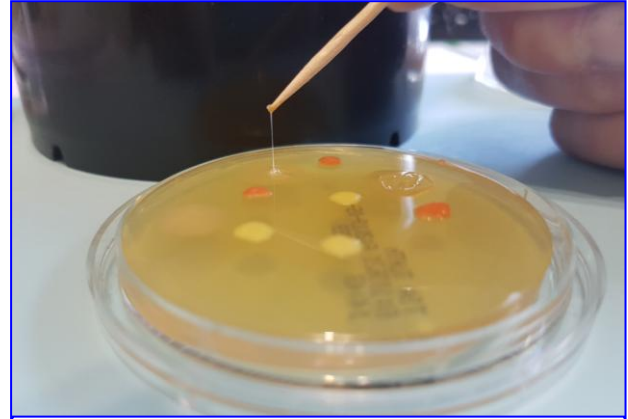
Indol positiva a 44°C: *Escherichia coli*

Indol positiva a 37°C: *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*.

Indol negativa: ↷

Enterobacterias no coliformes (no fermentan la lactosa): *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Pantoea spp*, *Shigella spp*

Coliformes (fermentan la lactosa): *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Pluralibacter gergoviae*, *Salmonella spp*, *Serratia spp*, *Citrobacter spp*.



Neogram: Filamenta (Gram negativo); si no: Gram positivo

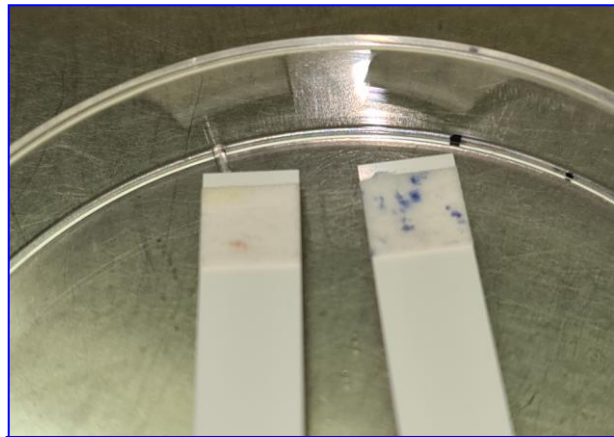
TEST INDICADOS Y TIEMPO DE DECISIÓN:

INMEDIATOS:

Neogram (Ref: KIN001)	20 segundos
Catalasa (Ref: KMT299)	5 segundos
Oxidasa (Ref: KOT050)	30 segundos
Coagulasa (Ref: KWD094)	2 minutos

NO INMEDIATOS:

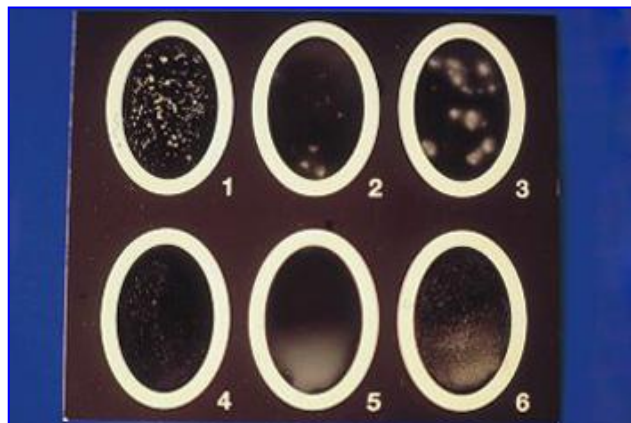
ADH (Ref: TPLADH)	18 horas
Indol Kovacs (Ref: SBH056) en	
Agua Triptófano (Ref: TPL034)	18 horas
Lactosa c/D (Ref: TPL020)	18 horas



Izda: Oxidasa negativa Dcha: Oxidasa positiva: azul



Catalasa positivo: la colonia burbujea



1, 4: Coagulasa + fuerte y débil; 2,3: grumos de colonias mal disueltas; 5,6:fondo lechoso, coagulasa -