

Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004)

Medio cromogénico selectivo para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes*.

Sinónimos: Aloa, Agar - Agar Listeria Ottaviani & Agosti

Fundamento

Medio selectivo para el aislamiento e identificación presuntiva de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* recomendado en la ISO 11290-1 para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* en alimentos.

Es utilizado después de enriquecer Caldo Fraser 1/2.

El nitrógeno, vitaminas, aminoácidos y minerales son proporcionados por la Peptona de Carne y la Triptona. El Extracto de Levadura proporciona las vitaminas B. El cloruro de Sodio da equilibrio osmótico. Mientras que el Piruvato de Sodio actúa como fuente de energía y revivifica las bacterias. Este medio incorpora como hidrato de carbono fermentable la glucosa. El Cloruro de Litio, Deftazidima, Polimixina, Ácido nalidíxico y Cicloheximida proporcionan selectividad al medio.

El sustrato cromogénico detecta el enzima β -glucosidasa, común en todas las especies de *Listeria* virando sus colonias a color azul. Otros organismos que poseen esta enzima, por ejemplo los Enterococos, son inhibidos por los agentes selectivos presentes en el medio. El sustrato Lipasa C es el responsable del halo color blanco opaco que rodea de forma característica a las *Listeria monocytogenes*. El halo de opalescencia caracteriza a las *Listeria monocytogenes* del resto de *Listerias* spp. Con la sola excepción, hasta ahora detectada, de la *Listeria ivanovii* (patógeno de animales).

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Peptona de Carne.....	18,00
Litio Cloruro.....	10,00
Extracto de Levadura.....	10,00
Triptona.....	6,00
Sodio Cloruro.....	5,00
di-Sodio Hidrógeno Fosfato anhidro.....	2,50
Glucosa.....	2,00
Sodio Piruvato.....	2,00
Magnesio Glicerofosfato.....	1,00
Magnesio Sulfato.....	0,50
X-Glucosido.....	0,05
Agar Bacteriológico.....	13,50

pH: 7,2±0,2

Preparación:

Suspender 35,275 gramos en 500 ml de agua destilada. Calentar y agitar hasta ebullición y disolución total. Hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45 - 50°C. Añadir, asépticamente, 1 vial de Lipasa C, Suplemento (Cód: 416893) y un vial de Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento (Cód: 416894). Homogeneizar y distribuir en placa de petri estéril.

Precaución: el Suplemento Cromogénico para Listeria contiene Cicloheximida y es muy tóxico si se ingiere, inhala o entra en contacto con la piel. Usense guantes y protección para los ojos-la cara.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Modo de empleo

Para método de detección:

1. Preparar una solución madre inicial con 25 g o 25 ml de muestra a analizar y 225 ml de Fraser 1/2 Caldo (códigos: 416112 Listeria según Fraser Caldo + 416114 Listeria, suplemento de enriquecimiento selectivo según 1/2 Fraser; Frascos preparados: 496269).
2. Homogeneizar completamente la solución.
3. Incubar a 30°C durante 24 ± 3 horas.
4. Sembrar esta primera solución enriquecida de la muestra sobre:
 - a. placas de Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004) (código. 416891 Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004) + Lipasa C, Suplemento (Cód: 416893) + Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento (Cód: 416894); placa preparada: 456891.0952) e incubar a 30°C, 35°C o 37°C durante 24-48 horas
 - b. tubo con 10 ml de Fraser Caldo (códigos: 416112 Listeria según Fraser Caldo + 416113 Listeria, suplemento para enriquecimiento selectivo según Fraser; tubos preparados: 466268). Se siembra a razón de 0,1 ml de la solución enriquecida de la muestra. Incubar a 30°C, 35°C o 37°C durante 24-48± 3 horas.
5. Pasados los tiempos de incubación sobre los tubos sembrados en Caldo Fraser completo, se usarán éstos para inocular, por agotamiento, placa de Listeria Agar cromogénico (ISO 11290- 1:2004). Incubar a 30°C, 35°C o 37°C durante 24-48± 3 horas.
6. La aparición de colonias sospechosas en las placas sembradas, tanto en la muestra simple enriquecida como doble enriquecida, se deberán confirmar con pruebas bioquímicas y serológicas.

Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004)

Para método de enumeración:

1. Preparar una solución madre inicial proporción 1:10 de muestra a analizar y Agua de peptona tamponada (cód. medios deshidratado: 413795; cód. frasco preparado 493795).
2. Homogeneizar completamente la solución.
3. Sembrar 0,1 ml sobre placa de Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004) (cód. 416891 Listeria, Agar Cromogénico (ISO 11290-1:2004) + Lipasa C, Suplemento (Cód: 416893) +, Selectivo Cromogénico Suplemento (Cód: 416894); placa preparada: 456891.0952).
4. Incubar 24 ± 3 horas a 37°C . En caso de no detectar crecimiento alargar la incubación otras 24 ± 3 horas.

Interpretación de resultados

Listeria monocytogenes crecen de color azul-verdoso con halo opalescente. Se han detectado algunos falsos positivos como *Listeria ivanovii* y alguna bacteria bacilar.

Reactivos auxiliares

Lipasa C, Suplemento (Cód: 416893) / Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento (Cód: 416894).

Bibliografía

Ottaviani, F., Ottaviani, M. and Agosti, M (1987) Quimper Froid Symposium Proceedings, P6 A.D.R.I.A. Quimper (F) 16-18 June • ISO 11290-1:2004 Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 1: Detection Method.

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino

Solubilidad: total

Color: Ámbar claro.

pH: $7,2 \pm 0,2$

Control microbiológico:

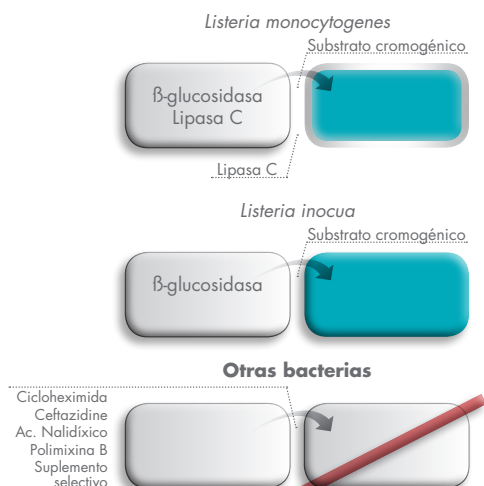
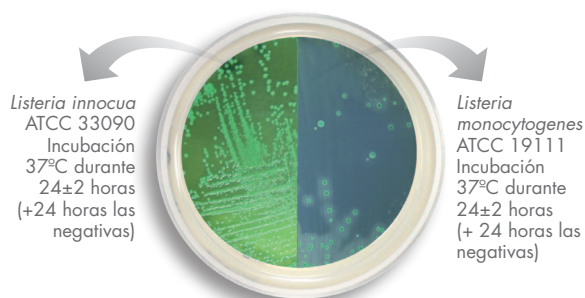
Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo al medio 1 vial de Lipasa C, Suplemento cód. 416893 y 1 vial de Listeria, Selectivo cromogénico Suplemento cód. 416894 por 500 ml de Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) cód. 416891) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Incubar durante 24 ± 2 horas más las placas negativas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Color colonia (Colony color)	Halo (Halo)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	Bueno (Good)	Azul (Blue)	+
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	Bueno (Good)	Azul (Blue)	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido (Inhibited)	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido (Inhibited)	-	-

Presentaciones

Código	Envase
416891.1210	500 g
456891.0952	10 placas de 90 mm de diámetro

INTERPRETACION DE RESULTADOS



Glutamato mineral (modificado), Caldo (MMGB) (ISO 16649-3)

Caldo usado para identificación presuntiva de coliformes en agua.

Fundamento

Su formulación es recomendada como caldo alternativo en la identificación presuntiva de coliformes en agua. La Lactosa es la fuente de hidrato de carbono. Las vitaminas, aminoácidos e iones de magnesio favorecen la fermentación. Y el hierro amonio citrato permite aumentar la producción de gas. El púrpura de bromocresol actúa de indicador de pH.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):	
Sodio L-Glutamato	6,4
Lactosa	10,00
Sodio Formiato	0,25
L-Cistina	0,02
Acido L-Aspártico	0,024
L-Arginina	0,02
Tiamina	0,001
Acido Nicotínico	0,001
Acido Pantoténico	0,001
Magnesio Sulfato 7-hidrato	0,10
Amonio Hierro(III) Citrato	0,01
Calcio Cloruro 2-hidrato	0,01
di-Potasio Hidrógeno Fosfato	0,90
Púrpura de Bromocresol	0,01
pH 6,7±0,1	

Preparación:

Suspender 17,7g de medio deshidratado en 1l de agua destilada. Añadir 2,5g de Amonio Cloruro. Mezclar bien y agitar con frecuencia. Hervir durante 1 minuto hasta completa disolución. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar a 115-116°C durante 10 minutos.

Modo de empleo

Según ISO 16649-3 preparar una solución madre 1:10 con Agua de peptona salina (416265) e inocular los tubos que se usarán para la técnica de Número Más Probable. Incubación de los tubos a 37°C durante 24 ± 2 horas. Se consideran presuntos positivos los tubos acidificados (amarillos). Resembrar los tubos positivos en medio TBX Agar (416220). Incubación a 44°C durante 20-24 horas. Las colonias β-glucuronidasa positivas aparecen de color azul o verde-azulado.

Reactivos auxiliares:

Amonio Cloruro (Cód:131121).

Bibliografía

ISO 16649-3 • P.H.L.S. Standing Committee on the Bacteriological Examination of Water Supplies (1968) J. Hyg., Camb. 65:67 • Joint Committee of the P.H.L.S. Standing Committee on Analysts (1980) J. Hyg., Camb. 85:35 • Abbis, Wilson, Blood and Jarvis (1981) J. Appl. Bact. 51:121 • Departments of the Environment, Health & Social Security, and P.H.L.S. (1982) The bacteriological examination of drinking water supplies. Report on public Health and Medical Subjects No. 71, H.M.S.O., London, England.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino.

Solubilidad: Ligeramente opalescente.

Color: Blanco-beige claro

pH: 6,7±0,1

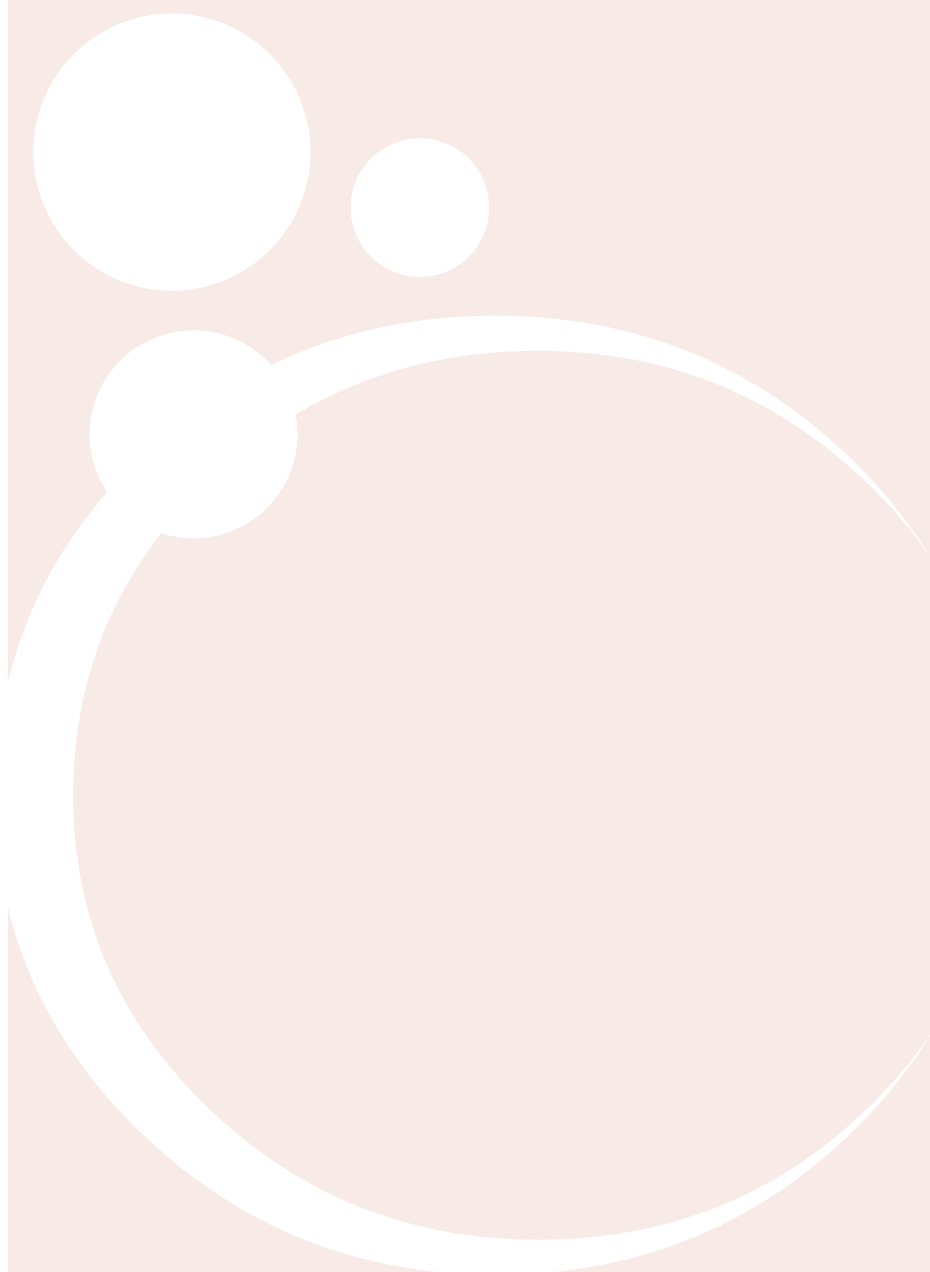
Control microbiológico:

Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo al medio 2.5 g de Amonio Cloruro por litro) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18-48 horas.

Microorganismos	Desarrollo	(Producción acidez: Amarillo)
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Satisfactorio (+)	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido (-)	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Satisfactorio (+)	+
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Satisfactorio (-)	-

Presentaciones

Código	Envase
416895.1210	500 g



Lipasa C, Suplemento

Suplemento Selectivo para el aislamiento de Listeria.

Preparación:

Asépticamente añadir 1 vial a 500 ml de Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) (cód.: 416891) autoclavado y atemperado a 50°C suplementado con 1 vial de Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento (cód.: 416894) previamente reconstituido con 5 ml con una solución de agua destilada:acetona 1:1. Mezclar bien y distribuir en Placas de Petri estériles.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Composición (por vial)

Lipasa C Substrato 1000 mg

Reactivos auxiliares:

Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) cód.: 416891

Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento cód.: 416894

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino

Solubilidad: total

Color: Ámbar claro.

pH: 7,2±0,2

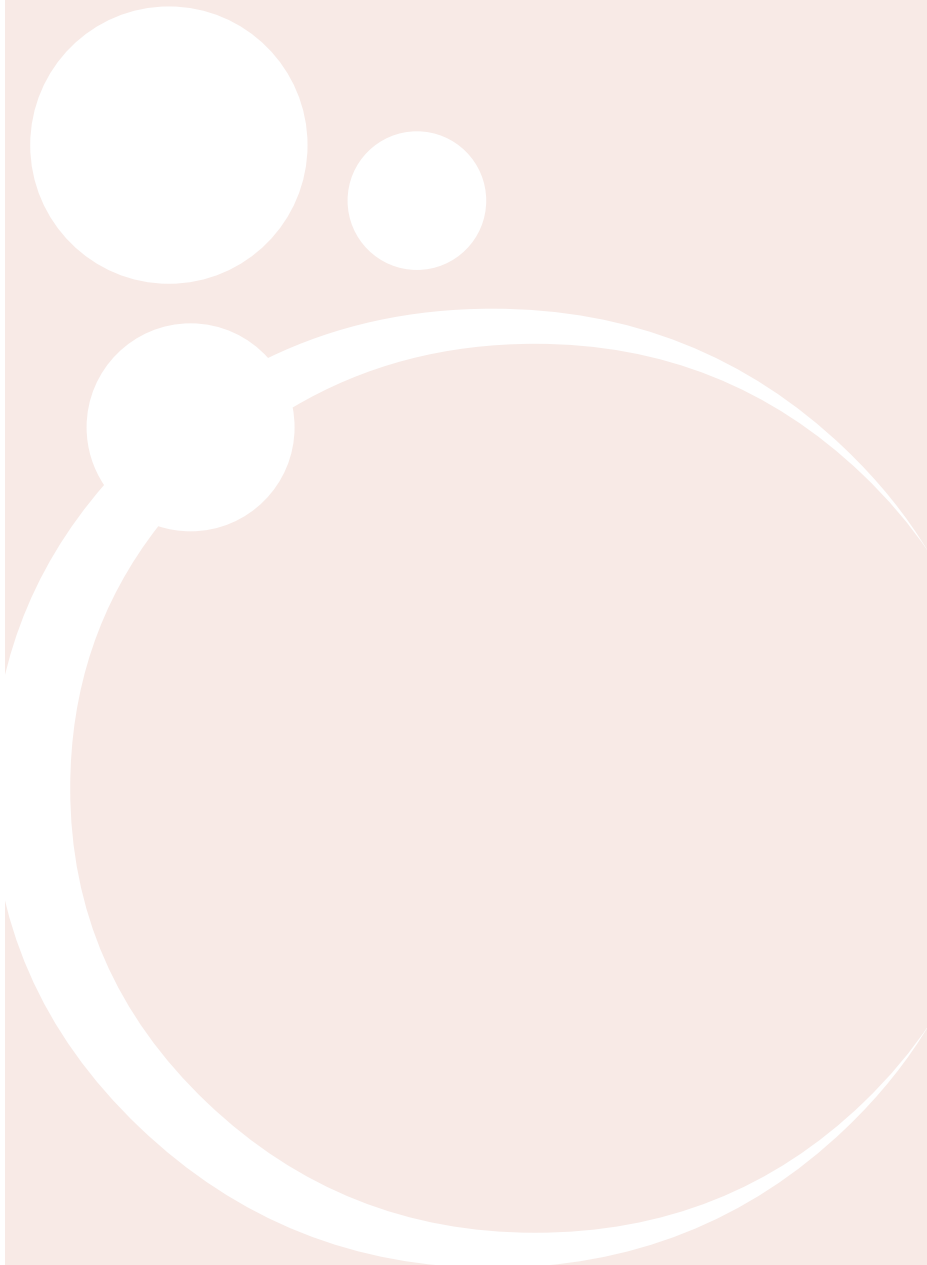
Control microbiológico:

Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo al medio 1 vial de Lipasa C, Suplemento cód. 416893 y 1 vial de Listeria, Selectivo cromogénico Suplemento cód. 416894 por 500 ml de Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) cód. 416891) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de 35 ± 2°C durante 24 ± 2 horas. Incubar durante 24± 2 horas más las placas negativas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Color colonia (Colony color)	Halo (Halo)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 1911	Bueno (Good)	Azul (Blue)	+
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	Bueno (Good)	Azul (Blue)	+
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	Bueno (Good)	Azul (Blue)	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido (Inhibited)	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido (Inhibited)	-	-

Presentaciones

Código	Envase
416893.02132	10 viales



CCA Coliformes, Agar Cromogénico

Medio cromogénico selectivo para la detección de coliformes totales y *E.coli*.

Historia

Este medio se ha propuesto como alternativa al medio Tergitol Agar en el control de *Escherichia coli* y coliformes según Orden SCO/778/2009, de 17 de marzo, sobre métodos alternativos para el análisis microbiológico del agua de consumo humano

Fundamento

La presencia en la fórmula de ingredientes como la peptona, sorbitol, tampón fosfato favorece el desarrollo rápido hasta de aquellos coliformes infecciosos. A su vez la incorporación de Tergitol 7 permite inhibir el crecimiento tanto de bacterias Gram-positivas como de algunos microorganismos Gram-negativos no coliformes. El Sodio Cloruro permite mantener el balance osmótico y el agar bacteriológico actúa como agente gelificante.

La adición de dos sustratos cromogénicos tales como Salmon-Gal y X-glucuronido nos permite diferenciar coliformes y *E.coli* del resto de bacterias entéricas y no entéricas. El enzima característico de todos los coliformes es la β -D-galactosidasa, que rompe el sustrato Salmon-GAL, provocando la aparición de colonias de color salmón a rojo. A su vez el sustrato X-glucuronido, es usado para la detección de la β -D-glucuronidasa, enzima característico de *E.coli* (a excepción de *E.coli* O157:H7) y de alguna *Shigella* y cuyo producto de la escisión produce una coloración azul de las colonias positivas *E.coli*, al romper tanto Salmon-GAL como X-glucuronido, generan colonias de color azul oscuro a violáceas.

La incorporación de triptófano en la formulación del medio permite la determinación de la reacción del indol, prueba confirmativa adicional para *E.coli*.

Fórmula (por litro)

Peptona	3,0
Sodio Cloruro.....	5,0
Monosodio Fosfato.....	2,2
di-Sodio Fosfato.....	2,7
Sodio Piruvato	1,0
L-Triptófano.....	1,0
Sorbitol.....	1,0
2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazoilo Cloruro.....	0,15
Cefsulodina.....	0,005
Vancomicina	0,005
Substrato Cromogénico β -GLU.....	0,2
Substrato Cromogénico Salmon GAL.....	0,2
Agar	10,0
pH: 6,8 \pm 0,2	

Procedimiento:

Filtrar el volumen de muestra adecuado, a través de una membrana de 47 mm de diámetro y 0,45 μ m de poro, bajo vacío. Dispensar el filtro sobre el agar de la placa Petri. Incubar a 36 \pm 2°C durante 21 \pm 3 horas.

Enumerar las colonias tal y como se describe:

- Magenta, rosa asalmonada a rojo β -galactosidasa positivas y β -glucuronidasa negativas (Colonias Coliformes no *Escherichia coli*).
- Púrpura, azul oscuro a violeta: β -galactosidasa positivas y β -glucuronidasa positivas (*Escherichia coli*).
- Incoloras, azul claro a turquesa: Otras Gram-negativas

Expresar los resultados como ufc/100 ml

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Bibliografía

Orden SCO/778/2009, de 17 de marzo, sobre métodos alternativos para el análisis microbiológico del agua de consumo humano • FRAMPTON, E.W., RESTAINO, L.A., BLASZKO, L.: Evaluation of β -glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indole- β -D-glucuronide • (X-GLUC) in 24 hour direct plating method for *Escherichia coli*. J.Food Protection, 51; 402-404 (1988) • KILIAN, M.A.BÜLOW, P.: Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. -Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B 84; 245-251 (1976) • MANAFI, M. a. KNEIFEL, W.: A combined chromogenic-fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and *E.coli* in water. Zentralabl. Hyg. 189; 225-234 (1989) •

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Satisfactorio.

Color: Amarillo claro ligeramente opalescente.

pH: 6.8 ± 0.2

Control microbiológico:

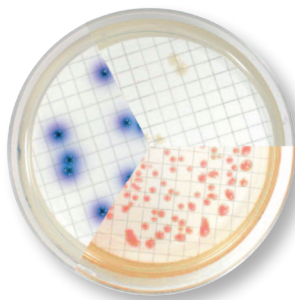
Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 21 ± 3 horas. Incubar durante 24 ± 2 horas más las placas negativas.

Microorganismos	Desarrollo	Color colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	Azul oscuro - Violeta
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bueno	Azul oscuro - Violeta
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	Bueno	Salmón
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Bueno	Incolora
<i>Enterococcus faecalis</i> 19433	Nulo	—

Algunas cepas de *Escherichia coli* como la *E. coli* 0157:H7 no hidrolizan el ácido Glucurónico y parecen como coliformes (rosa-salmón)

Presentaciones

Código	Envase
446910.0922	20 placas x caja



Lethen (modificado), Agar

Medio con neutralizantes para análisis microbiológico de cosméticos.

Historia

El medio Lethen está formulado según las prescripciones de la FDA Bacteriological Analytical Manual para el control microbiológico de cosméticos.

Fundamento

Medio clásico de recuentos bacterianos con un elevado aporte nutritivo por las peptonas y extractos que forman parte de la formulación. El Sodio cloruro mantiene la presión osmótica del medio. La presencia de Tween, Sodio Bisulfito y Lecitina, permite neutralizar la mayor parte de antisépticos, conservantes, derivados fenólicos, aldehídos y amonios cuaternarios. Los extractos y peptona presentes en la formulación aportan el nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácido esenciales. La Glucosa aporta el carbono y la energía necesaria para el crecimiento.

Fórmula (por litro)

Extracto de Carne	3,0
Extracto de Levadura	2,0
Lecitina	1,0
Peptona de Caseína	10,0
Peptona de Carne	10,0
Glucosa	1,0
Sodio Cloruro	5,0
Sodio Bisulfito	0,1
Polisorbato 80	7,0
Agar Bacteriológico	15,0
pH: 7,2±0,2	

Preparación:

Suspender 54,1 g en 1l de agua destilada. Mezclar bien y con agitación frecuente. Hervir no más de 1 minuto. No sobrecalentar. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Dispensar en recipientes adecuados. El medio preparado es de color ámbar, ligeramente opalescente. El medio deshidratado ha de ser homogéneo, sin grumos, de color beige tostado. Si se detecta alguna alteración física, eliminar el medio.

Modo de empleo

Inocular e incubar a 35 ± 2°C durante 18- 24 horas. Alargar incubaciones en caso necesario.

Bibliografía

Bacteriological Analytical Manual. Chapter 23: *Microbiological Methods for Cosmetics*. 8th Ed. FDA. (1995) · Atlas R.M. & Parks L.C., *Handbook of Microbiological Media*, 504(1993)

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino con apariencia húmeda

Solubilidad: Ligeramente opalescente

Color: Beige tostado

pH: 7,2±0,2

Lethen (modificado), Agar

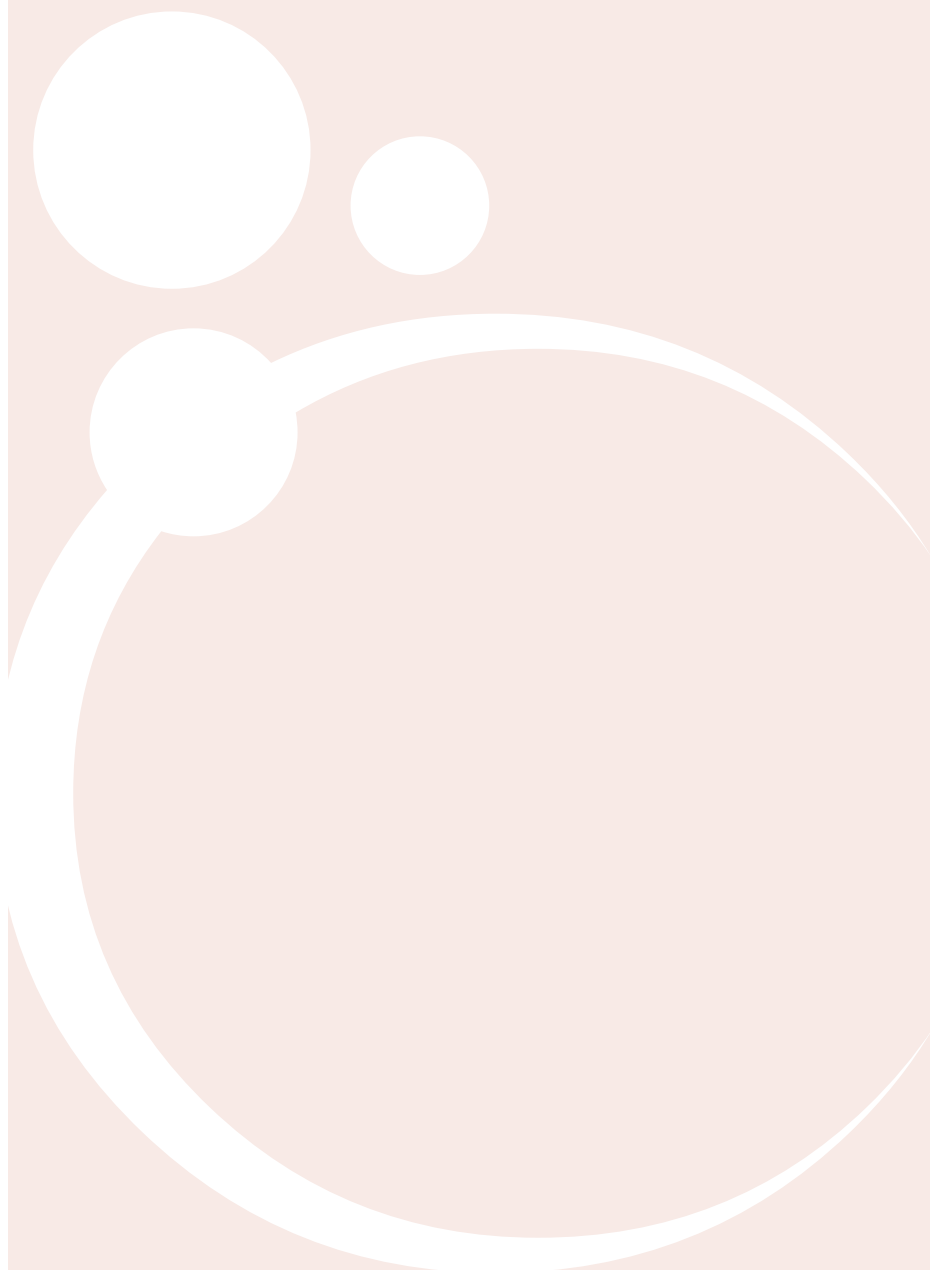
Control microbiológico:

Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18-24 horas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bueno
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bueno

Presentaciones

Código	Envase
415379.1210	500 g
495379.0922	10 frascos x 100 ml



Letheen (modificado), Caldo

Diluyente con agentes neutralizantes para análisis microbiológico de cosméticos.

Historia

El medio Letheen está formulado según las prescripciones de la FDA Bacteriological Analytical Manual para el control microbiológico de cosméticos.

Fundamento

Medio clásico de recuentos bacterianos con un elevado aporte nutritivo por las peptonas y extractos que forman parte de la formulación. El Sodio cloruro mantiene la presión osmótica del medio. La presencia de Tween, Sodio Bisulfito y Lecitina, permite neutralizar la mayor parte de antisépticos, conservantes, derivados fenólicos, aldehídos y amonios cuaternarios.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):	
Extracto de Carne	5,0
Extracto de Levadura	2,0
Lecitina	0,70
Peptona de Caseína	5,0
Peptona de Carne	20,0
Glucosa	1,0
Sodio Cloruro	5,0
Sodio Bisulfito	0,10
Polisorbato 80	5,0
pH: 7,2±0,2	

Preparación:

Suspender 43,8 g en 1l de agua destilada. Mezclar bien y con agitación frecuente. Hervir durante 1 minuto. No sobrecalentar. Dispensar en recipientes adecuados y autoclavar a 121°C durante 15 minutos. Almacenar entre +2 y +8°C. El medio preparado es de color ámbar, ligeramente opalescente. El medio deshidratado ha de ser homogéneo, sin grumos, de color beige tostado. Si se detecta alguna alteración física, eliminar el medio.

Modo de empleo

Utilizar el Caldo en la preparación de la solución madre o como medio de cultivo. Inocular e incubar a 35 ± 2°C durante 18- 24 horas.

Bibliografía

Bacteriological Analytical Manual. Chapter 23: *Microbiological Methods for Cosmetics, Letheen Agar (modified), Letheen Broth (modified)*. 8th Ed. FDA. (1995)

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino con apariencia húmeda

Solubilidad: Ligeramente opalescente

Color: Beige

pH: 7,2±0,2

Lethen (modificado), Caldo

Control microbiológico:

Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Inóculo (ufc)	% Rec.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	$10\text{E}^2\text{-}10\text{E}^3$	≥ 70
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bueno	$10\text{E}^2\text{-}10\text{E}^3$	≥ 70
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno	$10\text{E}^2\text{-}10\text{E}^3$	≥ 70
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bueno	$10\text{E}^2\text{-}10\text{E}^3$	≥ 70
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bueno	$10\text{E}^2\text{-}10\text{E}^3$	≥ 70

Presentaciones

Código	Envase
415382.1210	500 g
465382.0922	20 tubos x 9 ml
495382.0922	10 frascos x 100 ml

Staphylococcus, Agar Base Cromogénico

Medio cromogénico para la determinación de *Staphylococcus aureus* resistentes a la Meticilina.

Historia

Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina (MRSA) son de gran importancia a nivel internacional a consecuencia de su alta virulencia y resistencia a multitud de antibióticos. Esta resistencia es una amenaza muy grave para la salud pública.

Fundamento

Medio diseñado para la detección de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina. El sustrato cromogénico presente en el medio reacciona con la α -glucosidasa producida por *Staphylococcus aureus* generando colonias de color azul. La adición al medio de la cefoxitina inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* sensibles a la metilina.

Fórmula (por litro)

Mezcla de Peptonas	11,0
Factores de crecimiento	78,00
Substrato Cromogénico	1,90
Agar Bacteriológico	12,50
pH: 7,2 \pm 0,2	

Preparación:

Suspender 51,75 gramos en 500 ml de agua destilada. Calentar y agitar hasta ebullición y disolución total. Hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45 - 50°C. Añadir, asépticamente, 1 vial de Cefoxitina. Suplemento (Cód: 416911) reconstituido en 5,0 ml de agua destilada estéril. Homogeneizar y distribuir en Placa de Petri estéril.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Reactivos auxiliares: Cefoxitina, Suplemento cód. 416911

Bibliografía

Hutchison, M.J.Edwards, G.F.S., Morrison, D., Evaluation of chromogenic MRSA Reference Laboratory presented at the 2005 Institute of BioMedical

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino.

Solubilidad: Ligeramente opalescente.

Color: Gris.

pH: 7,2 \pm 0,2

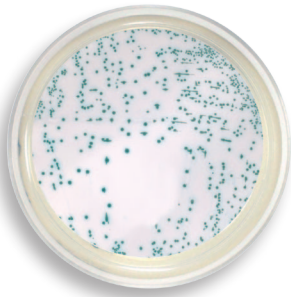
Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo 1 vial de Cefoxitina, Suplemento cód. 416911 por 500 ml de medio Staphylococcus, Agar Base Cromogénico cód.: 416892) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de 37 \pm 2°C durante 24 \pm 2 horas. Alargar 24 \pm 2 horas más la incubación en caso de muestras negativas.

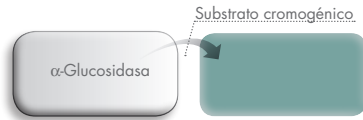
Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Color colonia (Colony colour)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido (Inhibited)	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Bueno (Good)	Azul (Blue)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido (Inhibited)	—

Presentaciones

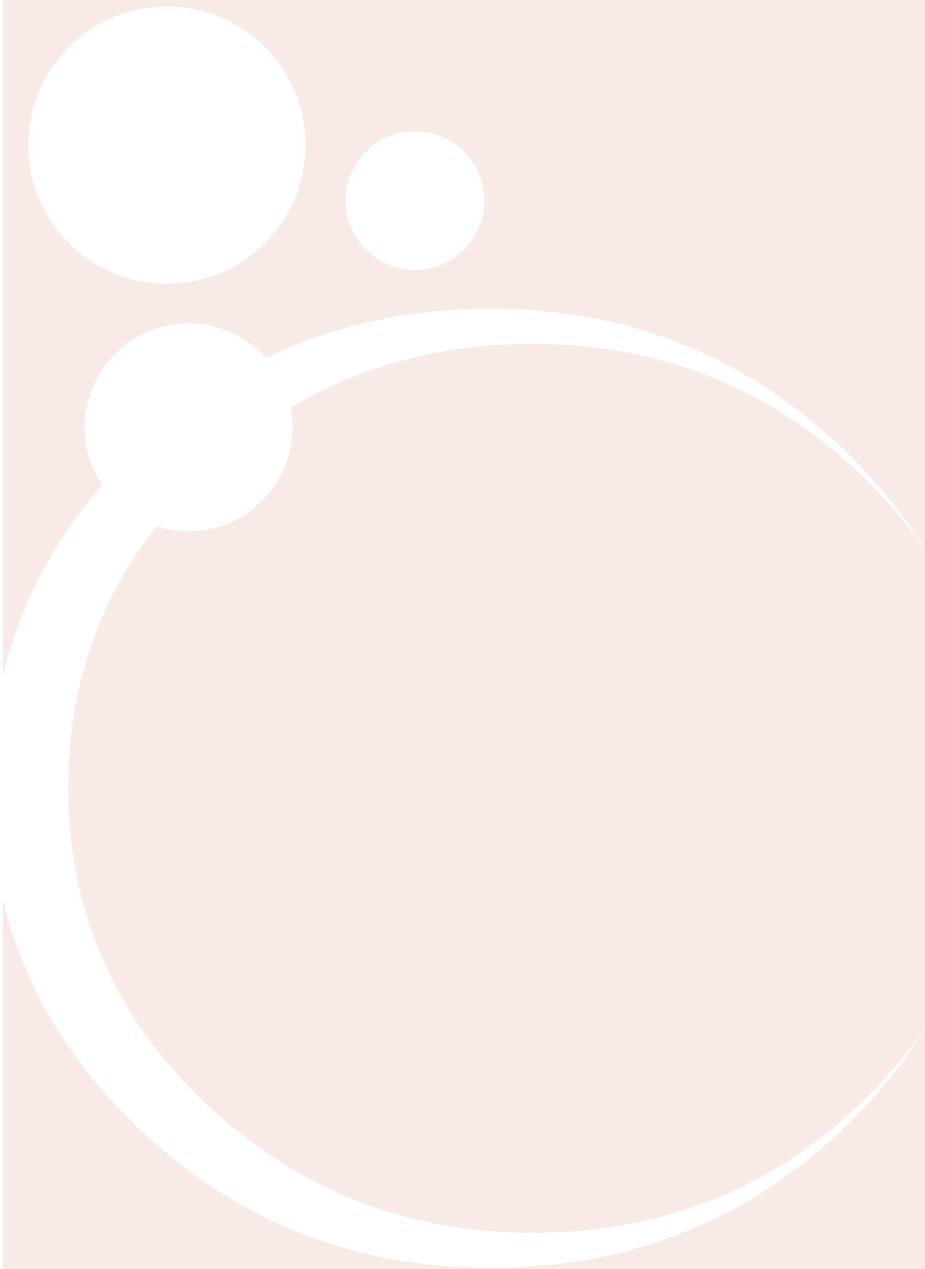
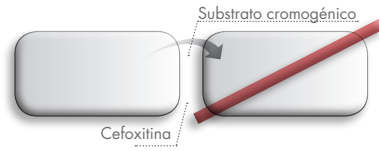
Código	Envase
416892.12133	525 g
456892.0952	10 placas de 90 mm de diámetro



Staphylococcus aureus
resistente a Metilina



Staphylococcus aureus
y otras bacterias



Listeria, Selectivo Cromogénico Suplemento

Aditivo para la preparación de Listeria Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) (código 416891) usado para la determinación de *Listeria monocytogenes*.

Preparación

Asépticamente reconstituir 1 vial con 5 ml de agua destilada estéril / acetona 1:1. Mezclar hasta disolución total y añadir, asépticamente, a 500 ml de Listeria Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) (cód.: 416891) autoclavado y atemperado a 50°C y suplementado con 1 vial Lipasa C, Suplemento (cód.: 416893). Mezclar bien y distribuir en Placas de Petri estériles.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Composición (por vial)

Polimixina B sulfato	38,350 UI
Ceftazidime.....	10 mg
Ácido Nalidíxico	10 mg
Cicloheximida	50 mg

Reactivos auxiliares

Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) cód.: 416891.
Lipasa C, Suplemento cód.: 416893.

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Polvo fino
Solubilidad: total
Color: Ámbar claro.
pH: 7,2±0,2

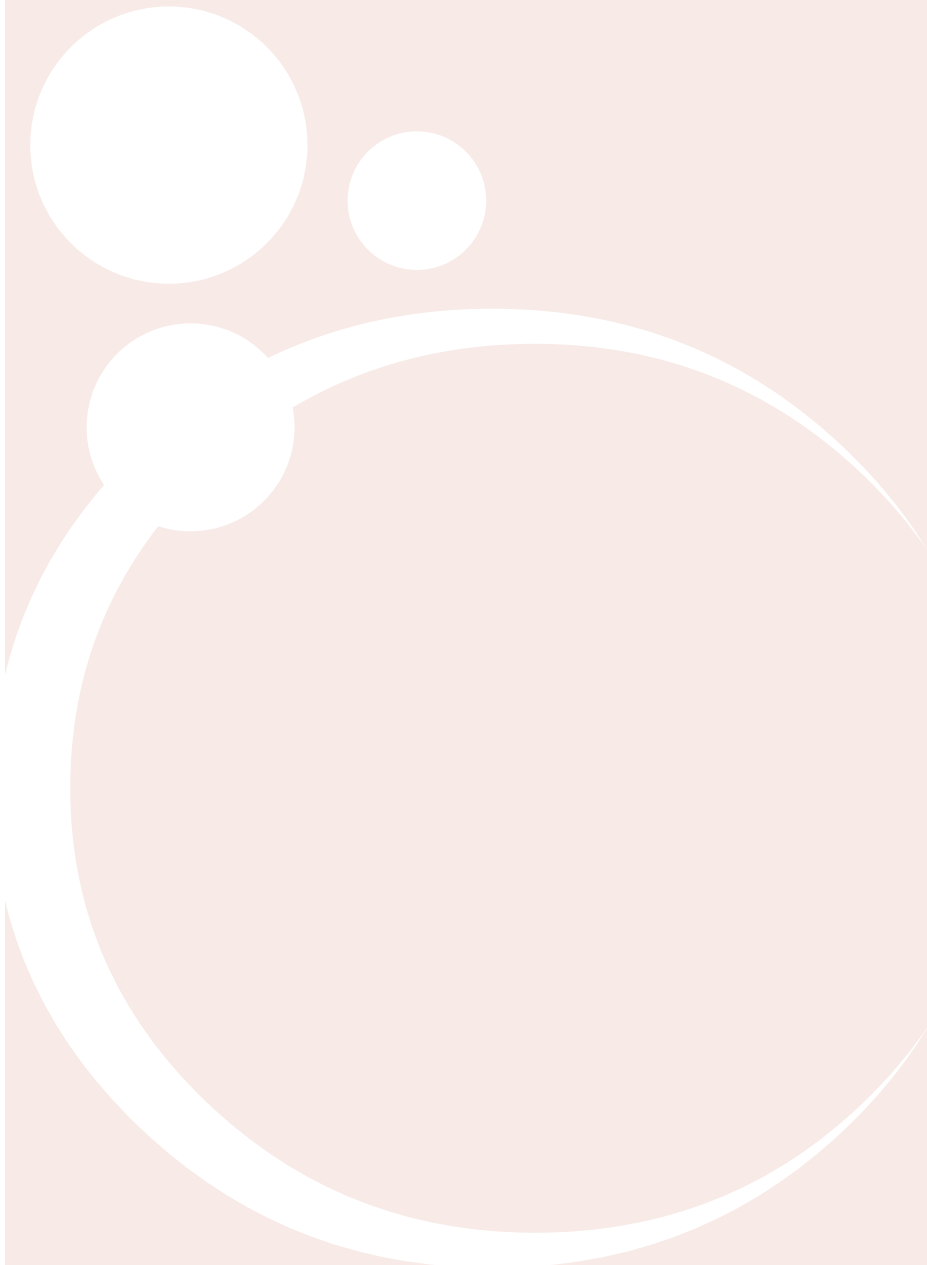
Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo al medio 1 vial de Lipasa C, Suplemento cód. 416893 y 1 vial de Listeria, Selectivo cromogénico Suplemento cód. 416894 por 500 ml de Listeria, Agar Base Cromogénico (ISO 11290:2004) cód. 416891) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de 35 ± 2°C durante 24 ± 2 horas. Incubar durante 24 ± 2 horas más las placas negativas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Color colonia (Colony colour)	Halo (Halo)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 1911	Bueno (Good)	Azul (Blue)	+
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	Bueno (Good)	Azul (Blue)	+
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	Bueno (Good)	Azul (Blue)	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido (Inhibited)	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido (Inhibited)	-	-

Presentaciones

Código	Envase
416894.02132	10 viales



Cefoxitina, Suplemento

Suplemento selectivo para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* resistentes a la Meticilina.

Preparación

Asépticamente reconstituir 1 vial en 5 ml de agua destilada estéril. Mezclar bien hasta completa disolución. Asépticamente añadir a 500 ml de *Staphylococcus*, Agar Base Cromogénico (cód.: 416892) autoclavado y atemperado a 50°C. Mezclar bien y distribuir en Placas de Petri estériles.

Observaciones: Almacenar entre +2 y +8°C, en lugar seco y al abrigo de la luz directa.

Composición (por vial)

Cefoxitina 2 mg

Reactivos auxiliares: *Staphylococcus*, Agar Base Cromogénico cód. 416892

Bibliografía

Hutchison, M.J., Edwards, G.F.S., Morrison, D., Evaluation of chromogenic MRSA Reference Laboratory presented at the 2005 Institute of BioMedical

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: Satisfactorio.

Color: Beige-blanco.

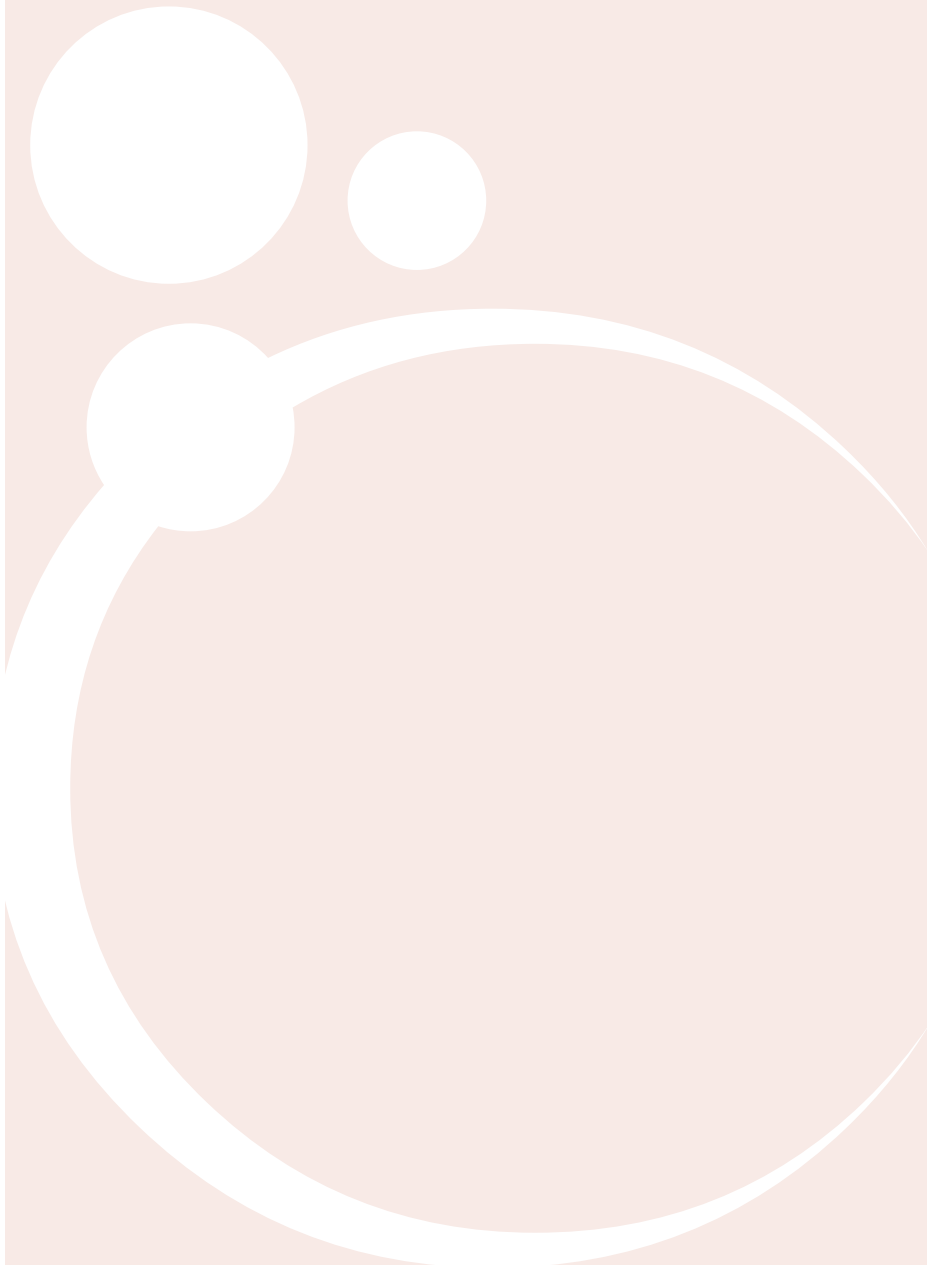
Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos (añadiendo 1 vial de Cefoxitina, Suplemento cód. 416911 por 500 ml de medio *Staphylococcus*, Agar Base Cromogénico cód.: 416892) a partir de cepas patrón después de incubación a temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Alargar 24 ± 2 horas más la incubación en caso de muestras negativas.

Microorganismos (Microorganisms)	Desarrollo (Growth)	Color colonia (Colony colour)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido (Inhibited)	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Bueno (Good)	Azul (Blue)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido (Inhibited)	—

Presentaciones

Código	Envase
416911.02132	10 viales



Lauril Sulfato, Caldo Cromogénico

Medio para enriquecimiento y detección simultánea de Coliformes totales y conteo de *E. coli* en aguas, alimentos y productos derivados de la leche.

Fundamento

La combinación de los componentes cromogénicos con el caldo lauril sulfato nos proporciona un sistema indicador doble. Este medio contiene tampón fosfato para asegurar un alto crecimiento del número total de coliformes. El caldo lauril sulfato inhibe las bacterias gram positivas. Los coliformes y la *E. coli* contienen β -galactosidasa que metaboliza el sustrato cromogénico. La enzima que corta el MUG es altamente específica de *Escherichia coli*, permitiendo la detección simultánea de los coliformes totales y *E. coli* en el mismo paso. El IPTG estimula la síntesis e incrementa la actividad de la β -galactosidasa.

El color cambia de ámbar a azul verdoso debido a la reacción del sustrato cromogénico que indica la presencia de coliformes. La fluorescencia azul bajo la luz ultravioleta permite la rápida detección de *E. coli* gracias al MUG.

El triptófano promueve la reacción del Indol después de añadir el reactivo de Kovacs. Este reactivo detecta al microorganismo capaz de cortar el triptófano. Cuando *E. coli* está presente en el medio se libera indol que reacciona con el 4-dimetilaminobenzaldehído para formar un tinte rojo oscuro.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Triptosa	5,00
di-Potasio Fosfato	2,70
Sorbitol	1,00
Mezcla cromogénica-fluorogénica	0,23
Sodio Cloruro	5,00
mono-Potasio Fosfato	2,00
Triptófano	1,00
Lauril Sodio Sulfato	0,10

pH: 6,8 \pm 0,2

Preparación

Suspender 17 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien calentando y con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta la completa disolución. Dispensar en contenedores apropiados y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Modo de empleo

Inocular e incubar a 35 \pm 2°C durante 18-24 horas. Comprobar los tubos bajo la luz UV (366 nm). La luz azul fluorescente indica la presencia de *E. coli*.

Bibliografía

MANAFI, M., KNEIFEL, W., a. BASCOMB, S.: Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol. Rev. 55; 335-348 (1991). OSSMER, R.: Simultaneous Detection of Total Coliforms and *E. coli*-Fluorocult LMX-Broth. - 15th international Symposium/FOOD MICRO 1993. The International Committee on Food Microbiology and Hygiene, Bingen/Rhine (1993).

Almacenar entre +2 y +8°C

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino

Solubilidad: total

Color: ámbar

pH: 6,8 \pm 0,2

Lauril Sulfato, Caldo Cromogénico

Control microbiológico

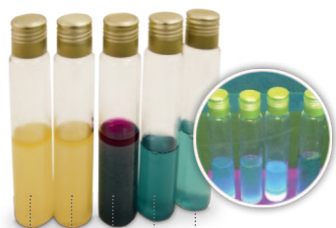
Los siguientes resultados fueron obtenidos a partir de cepas patrón después de la incubación del medio a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ tras 18-24 horas

Microorganismo	Desarrollo	Color	Fluorescencia (366 nm)	Indol
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	Azul-verdoso	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bueno	Azul-verdoso	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Bueno	Azul-verdoso	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Bueno	Azul-verdoso	-	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	Bueno	Azul-verdoso	-	-
<i>Shigella flexnerii</i> ATCC 12022	Bueno	Sin cambio	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bueno	Sin cambio	-	-

Presentaciones

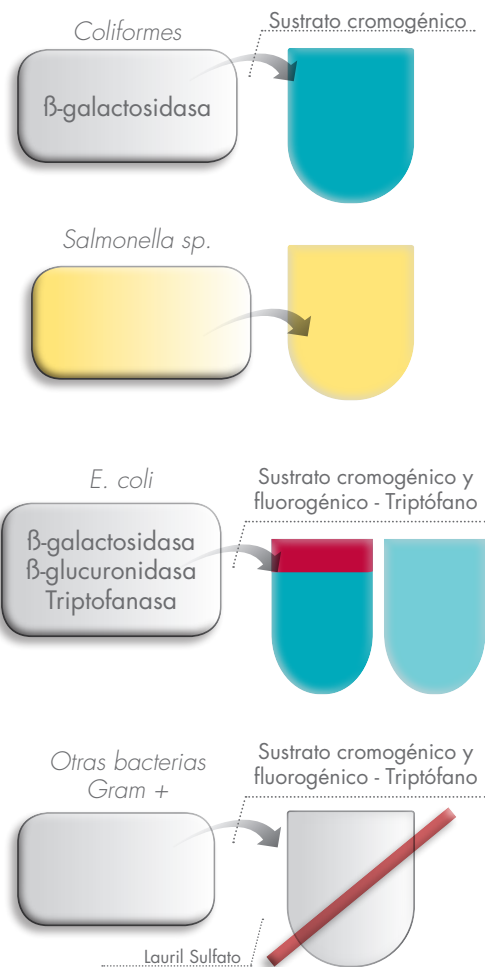
Código	Envase
416957.1210	500 g

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



- *Klebsiella pneumoniae*
- *E. coli* ATCC 8739
- *E. coli* ATCC 25922
Indol +
- *Salmonella sp.*
- *S. typhimurium*
ATCC 14028
Indol -

Temperaturas de $35 \pm 2^\circ\text{C}$
y observados a las 18-24 horas



m-El, Agar Cromogénico

Para la detección y enumeración de Enterococcus en agua a través de la técnica de filtración por membrana

Fundamento

El medio fue desarrollado como un procedimiento de un solo paso que no requiere la transferencia del filtro de membrana a otro sustrato. La observación de colonias de color azul confirma la presencia de enterococos. Se pueden testar un amplio rango de volúmenes de muestra o diluciones mediante este test de un solo paso para la detección y enumeración de enterococos en aguas potables, frescas, de estuario, marinas, y aguas de cultivo de mariscos.

La peptona es la fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura proporciona elementos traza, vitaminas y aminoácidos. La esculina es hidrolizada por los enterococos para formar esculetina y dextrosa. La cicloheximida inhibe la mayoría de los hongos y el sodio azida inhibe las bacterias gram negativas. El X-glucósido es el sustrato cromogénico de los enterococos glucosidasa positivos y el agar es el agente solidificante.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Peptona.....	10,0
Extracto de Levadura.....	30,0
Esculina.....	1,0
Cicloheximida.....	0,05
Sodio Azida.....	0,15
Sodio Cloruro.....	15,0
X-Glucósido.....	0,75
Agar Bacteriológico.....	15,0
pH: 7,1 ± 0,2	

Preparación

Suspender 71,95 gramos de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calentamiento con frecuente agitación. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 50°C, mezclar bien y dispensar en placas. Para hacer el medio más selectivo, preparar una solución estéril de 0,24 gr de Acido Nalidixico (cód. 375545) en 5 ml de agua destilada con unas gotas de NaOH 0.1N (para una mejor disolución) y añadir asepticamente a un litro de medio. Si se desea se puede añadir 15 ml de TTC 1%.

Precaución: el medio contiene sodio azida y cicloheximida y es muy tóxico si se ingiere, se inhala o entra en contacto con la piel. Usar guantes y gafas de protección.

Modo de empleo

Inocular e incubar a 41±0,5 °C y observar tras 18-24 horas. Las especies de enterococos crecerán como colonias azules. Si se añade TTC, entonces las colonias crecen rojas.

Bibliografía

U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Method 1600: Membrane filter test method for enterococci in water. Publication EPA-821-R-97-004a. Office of Water, USEPA, Washington, D.C. U.S. Environmental Protection Agency. 1986. Bacteriological ambient water quality criteria: availability. Fed. Reg. 51(45):8012. U.S. Environmental Protection Agency. 2000. Improved enumeration methods for the recreational water quality indicators: enterococci and Escherichia coli. Publication EPA/821/R-97/004. Office of Science and Technology, USEPA, Washington, D. Levin, Fischer and Cabelli. 1975. Appl. Microbiol. 30:66. U.S. Environmental Protection Agency. 2002. Method 1600: Enterococci in water by membrane filtration using membrane-enterococcus indoxyl-A-Dglucoside agar (mEI. Publication EPA-821- R-02-022. USEPA Office of Water, Office of Science and Technology, USEPA, Washington, DC.

Almacenar entre +2 y +8°C

Peligrosidad



H: H319 - H335 - H315

m-El, Agar Cromogénico

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino

Solubilidad: total

Color: ámbar

pH: 7,1 ±0,2

Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron encontrados al realizar el cultivo con cepas patrón con ácido nalidíxico y sin TTC, tras incubar a 41 ±0,5°C y observado tras 18-24 horas

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 9790	Bueno	Azul
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Bueno	Azul
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido	-

Presentaciones

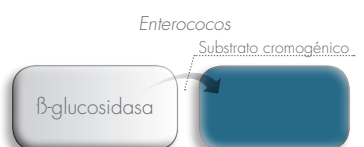
Código	Envase
416959.1210	500 g
456959.0952	10 placas de Ø90 mm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

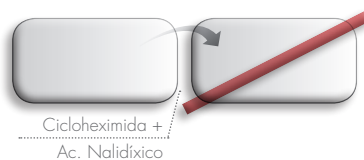


Enterococcus faecium ATCC 9790
Enterococcus faecalis ATCC 19433

Incubación a 41 ±0,5°C
tras 18-24 horas



Bacterias GRAM +



Candida, Agar Cromogénico

Medio cromogénico selectivo y diferencial para el aislamiento y rápida identificación de *Candida spp.*

Fundamento

El *Candida* Agar Cromogénico es una formulación alternativa cromogénica para detección y aislamiento de *Candida spp.* En este medio cromogénico las tres especies, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* se pueden diferenciar debido a los sustratos cromogénicos presentes en el medio. Este medio permite la fácil y rápida identificación y diferenciación de las tres especies produciendo unos resultados fáciles de identificar ya que presentan diferentes colores. En el medio, la glucosa es el carbohidrato fermentable siendo la fuente de carbono y energía. Las peptonas aportan el nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El cloranfenicol es el antibiótico para aislar a los hongos patógenos a partir de muestras altamente contaminadas ya que inhibe la mayoría de las bacterias. Es el antibiótico recomendado para este medio debido a su termoestabilidad y su amplio espectro bacteriano. La mezcla de sustratos cromogénicos permite la identificación y diferenciación de las tres especies dando como resultado una placa muy fácil de leer. El agar es el agente solidificante.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):
 Glucosa20,0
 Mezcla cromogénica0,40
 Peptona10,0
 Agar Bacteriológico.....15,0
 Cloranfenicol.....0,50
 pH: 6,1 ± 0,2

Preparación

Suspender 45,9 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver mediante calentamiento con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta la completa disolución. EVITAR SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR. Dispensar en placas de Petri.

Modo de empleo

Incubar las placas a 32 ± 2°C durante 18-48 horas y contar las colonias desarrolladas.

Bibliografía

Sheehan, D.J. et al. (1999) Current and Emerging Azole Antifungal Agents *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (1): 40-79, Odds, F.C. (1988) *Candida and candidosis*, 2nd ed, Ballière Tindall, London, England. Ibrahim E.H. et al (2001) The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting, *Chest*, 118 (1): 146-55

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino homogéneo
 Solubilidad: total
 Color: beige
 pH: 6,1 ± 0,2

Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos de cultivos de cepas tipo en el medio después de una incubación a temperatura de 30-37°C durante 24, 48 y 72 horas.

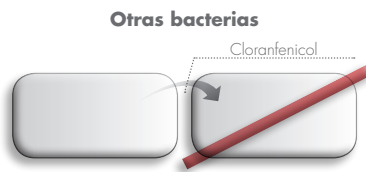
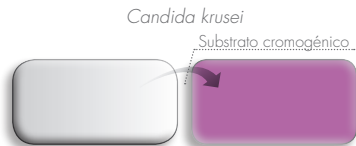
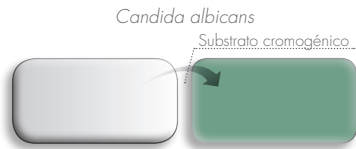
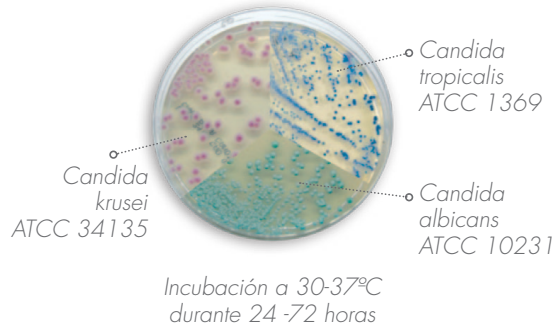
Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Bueno	Azul
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bueno	Verde
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Bueno	Púrpura-rosa
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	Bueno	Blanquecino-púrpura
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	Bueno	Blanquecino-púrpura

Presentaciones

Código	Envase
416961.12164	505 g
456961.0952	10 placas de Ø 90 mm

Candida, Agar Cromogénico

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Enterobacter Sakazakii, Agar Cromogénico (ISO 22964)

Para la detección presuntiva de *Enterobacter sakazakii* en productos de lácteos infantiles

Sinónimos

Medio ESIA

Fundamento

El *Enterobacter sakazakii* Agar Cromogénico es un medio selectivo para la detección de *Enterobacter sakazakii* en leche en polvo infantil y fórmulas infantiles en polvo. La normativa ISO 22964 recomienda el uso de este medio. La caseína de peptona proporciona el nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es la fuente de vitaminas, particularmente del grupo B esencial para el crecimiento bacteriano. El cloruro sódico aporta electrolitos esenciales para el transporte y el balance osmótico. El sodio desoxicolato y el violeta cristal inhiben las bacterias gram positivas. El sustrato cromogénico es el 5-Bromo-4-cloro-3-indoxil α -D-glucopiranosido.

Enterobacter sakazakii es actualmente considerado un patógeno emergente responsable de poner en riesgo a lactantes alimentados con leche en polvo causando meningitis severas y enterocolitis necrótica que tienen una tasa de mortalidad entre el 40-80%.

La patogenicidad del *Enterobacter sakazakii* para los lactantes hace que sea necesario revisar el proceso de fabricación de los productos lácteos infantiles para garantizar la ausencia de dicha bacteria en el producto final. Adicionalmente se han de tomar medidas preventivas en los hospitales incluyendo la higiene de la comida preparada, reduciendo el tiempo entre la preparación y su administración para impedir la multiplicación de los microorganismos.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Digerido enzimático de caseína	7,00
Cloruro sódico.....	5,50
Extracto de levadura.....	3,00
Sodio desoxicolato.....	0,60
α -D-glucopiranosido	0,15
Violeta Cristal	0,002
Agar bacteriológico	15,0

pH: 7,0 \pm 0,2

Preparación

Suspender 30,7 gramos de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver mediante calentamiento con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50°C, homogeneizar bien y dispensar en placas Petri en cantidades de 15 ml. El medio preparado se debe almacenar entre 8 – 15°C. Color azul púrpura.

Modo de empleo

Tras la incubación en caldo lauril triptosa modificado (mLST) tomar una muestra de unos 10 μ l y sembrarla en una placa de *Enterobacter sakazakii* Agar Cromogénico. Incubarla a 44°C \pm 1°C durante 24 \pm 2 horas. Tras la incubación examinar la placa cromogénica para la presencia de colonias típicas. Las colonias típicas son de pequeñas a medianas y de color verde o verde azulado. Las colonias no típicas son a menudo ligeramente transparente y de color violeta. Las colonias típicas de color verde (verde azulado) deberían ser confirmadas en TSA Agar en la que presentan color amarillo. Se necesita una confirmación bioquímica para las colonias pigmentadas de amarillo.

Bibliografía

Normativa ISO 22964:2006 Milk and milk products detection of *Enterobacter sakazakii*

GUILLAUME-Gentil, O., Sonnard, V. Kandhai, M.C., Marugg, J.D. and Joosten, H. A simple and Rapid Cultural Method for Detection of *Enterobacter Sakazakii* in environmental samples. Journal of Food Protection, 68 (1), 2005, pp. 64-69.

Almacenar entre +2 y +8°C

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino homogéneo

Solubilidad: total

Color: beige

pH: 7,0 \pm 0,2

Enterobacter Sakazakii, Agar Cromogénico (ISO 22964)

Control microbiológico

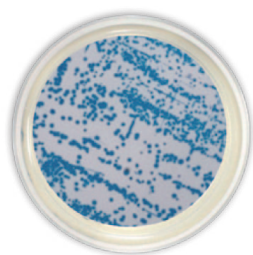
Los siguientes resultados fueron obtenidos de cultivos de cepas tipo en el medio después de una incubación a temperatura de $44 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	Transparente/Rojo-violeta
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bueno	Transparente/Rojo-violeta
<i>Enterobacter sakazakii</i> ATCC 29544	Bueno	Verde-azul / Verdoso
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibido	

Presentaciones

Código	Envase
416960.12163	520 g
456960.0952	10 placas de \varnothing 90 mm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Enterobacter sakazakii ATCC 29544

Incubación a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 h

Enterobacter sakazakii

Substrato cromogénico

α -glucosidasa

Cristal violeta

Bacterias Gram +

Cristal violeta / 44°C

Las colonias típicas de este medio deben considerarse como presuntamente positivas y deben informarse como tal

PCA, Agar Cromogénico

Para el conteo de microorganismos totales en muestras diversas

Fundamento

El PCA Agar Cromogénico está recomendado para la enumeración de bacterias de interés que puedan ser indicadores de contaminación o carga microbiana en alimentos.

El digerido enzimático de la caseína proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es la fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. La D-glucosa es el carbohidrato que es la fuente de carbono y energía. El agar bacteriológico es el agente solidificante. El sustrato cromogénico permite la visualización más rápida de los microorganismos gracias a su color magenta. Las levaduras crecen como colonias de color blanco.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Digerido enzimático de caseína	5,00
Extracto de levadura	2,50
Mezcla de cromogénicos	0,12
D-Glucosa.....	1,00
Agar bacteriológico	15,0
pH: 7,0 ± 0,2	

Preparación

Suspender 23,6 g de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver mediante calentamiento con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta completar la disolución. EVITAR EL SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR. Dispensar en contenedores apropiados. El medio es de color ámbar ligeramente opalescente.

Modo de empleo

Inocular 1 ml de muestra o dilución de ésta en una placa de Petri estéril de 90 mm de diámetro y añadir 15-20 ml de medio esterilizado y atemperado a 45°C aproximadamente. Agitar suavemente la placa en círculos para su completa homogeneización. Dejar solidificar las placas.

Incubar las placas a 32 ± 2°C durante 18-48 horas y contar las colonias desarrolladas teniendo en cuenta la dilución.

Bibliografía

Standard Methods for Examination of Dairy Products, 13th Ed. APHA, 1972. American Public Health Association.
 Recommended Methods for Microbial Examination of Foods, APHA Inc, New York, 1958. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA Inc New York, 1960.

*APHA: American Public Health Association Inc.

Almacenar entre +2 y +8°C

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino homogéneo

Solubilidad: ligeramente opalescente

Color: beige

pH: 7,0 ± 0,2

PCA, Agar Cromogénico

Control microbiológico

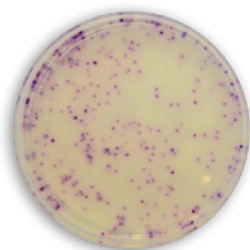
Los siguientes resultados fueron obtenidos de cultivos de cepas tipo en el medio después de una incubación a temperatura de $32\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18-48 horas.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bueno	Magenta
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Bueno	Magenta
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bueno	Magenta
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno	Magenta
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bueno	Magenta
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Bueno	Blanco

Presentaciones

Código	Envase
416965.1210	500 g
456965.0952	10 placas de \varnothing 90 mm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Población mixta compuesta de:

Escherichia coli ATCC 8739
Enterobacter aerogenes ATCC 13048
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228
Staphylococcus aureus ATCC 25923
Salmonella typhimurium ATCC 14028
Candida albicans ATCC 10231

Incubación a $32^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$
durante 18-48 horas

Pseudomonas, Agar Cromogénico

Para la identificación presuntiva de *Pseudomonas*

Fundamento

La mezcla de peptonas es la fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. Los factores de crecimiento permiten un mejor desarrollo de *Pseudomonas sp.* El sustrato cromogénico se añade para detectar *Pseudomonas* mediante cambio de color. El azul de bromotimol es el indicador de pH. El agar es el agente solidificador. *Pseudomonas aeruginosa* es prácticamente la especie de bacterias más extendida. Puede aislarse del agua y de los suelos, especialmente del cultivo para enriquecimiento de bacterias desnitrificantes. Es comúnmente aislada de muestras clínicas como heridas, quemaduras e infecciones en el tracto urinario. Es también responsable de la "pus azul". *Pseudomonas aeruginosa* ha llegado a ser más y más conocida como patógeno oportunista de importancia clínica. Las infecciones resultantes pueden afectar muchas partes del cuerpo pero la más común es el tracto respiratorio responsable de las neumonías bacterianas.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):
 Factores de crecimiento 14,0
 Mezcla de peptonas 10,0
 Sustrato cromogénico 1,00
 Azul de Bromotimol 0,02
 Agar bacteriológico 12,0
 pH: 7,2 ± 0,2

Preparación

Suspender 37 gramos de medio en 1 litro de agua destilada previamente calentada a 80°C. Mezclar bien y disolver por calentamiento con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta la completa disolución. Dispensar en los contenedores adecuados y esterilizar por flujo de vapor durante 5 minutos.
 EVITAR SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR.

Modo de empleo

El medio puede ser inoculado directamente con una asa. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24-48 horas. *Pseudomonas spp.* es fácilmente distinguible por su color magenta y porque el medio cambia de color a verde azulado. El crecimiento del resto de las bacterias se inhibe y si crecen lo hacen incoloras.

Bibliografía

Bergen, G. A., & J. H. Shelhamer. 1996 Pulmonary infiltrates in the cancer patient. New approaches to an old problem. Infect. Dis. Clin. North Am. 10: 297-325.

Almacenar entre +2 y +8°C

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino homogéneo
 Solubilidad: total
 Color: beige
 pH: 7,2 ± 0,2

Pseudomonas, Agar Cromogénico

Control microbiológico

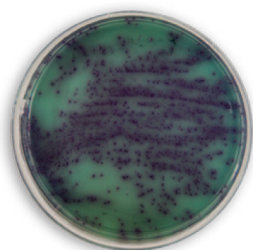
Los siguientes resultados fueron obtenidos de cultivos de cepas tipo en el medio después de una incubación a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibido	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bueno	Magenta
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Bueno	Magenta
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> spp	Bueno	Magenta
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibido	-
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Inhibido	-
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 19430	Inhibido	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Inhibido	-

Presentaciones

Código	Envase
416858.1210	500 g
456858.0952	10 placas de Ø 90 mm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Pseudomonas aeruginosa spp

Incubación a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
durante 24-48 horas

Pseudomonas aeruginosa
Substrato cromogénico.



Otras bacterias



E. coli O157:H7, Base de Agar Cromogénico

Medio selectivo y diferencial para la detección de *E. coli* O157:H7

Fundamento

La cepa de *E. coli* O157:H7 se ha convertido en un problema de salud pública muy extendido ya que es la responsable de la colitis hemorrágica caracterizada por una diarrea sangrante con un agudo dolor abdominal. La *E. coli* O157:H7 produce diversas citotoxinas, neurotoxinas y enterotoxinas incluyendo la toxina Shiga. Un tratamiento incorrecto con antibióticos incrementa el riesgo de sufrir el síndrome urémico hemolítico, una complicación fatal de esta forma de colitis.

La *E. coli* O157:H7 tiene un reservorio bovino. La infección puede ocurrir tras la ingestión de carne no cocinada suficientemente o leche no pasteurizada. El organismo también puede ser transmitido por la vía fecal-oral.

La mezcla de peptonas es la fuente de nitrógeno del medio así como de vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La mezcla cromogénica permite detectar fácilmente la presencia de *E. coli* O157:H7 mediante la coloración de la colonia que crece de color rosa pálido. El potasio telurito y la cefixima son altamente selectivos para esta cepa e inhibe la mayoría de las bacterias contaminantes incluidas otras cepas de *E. coli* y coliformes. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula (por litro)

Composición (g/l):

Mezcla de Peptonas20,0

Mezcla de cromogénicos2,80

Agar Bacteriológico.....15,0

pH: 7,2 ± 0,2

Preparación

Suspender 18,9 gramos del medio en 500 ml de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento con frecuente agitación. Hervir durante un minuto hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 minutos. Dejar enfriar a 45-50°C y añadir asepticamente 1 vial de Cefixima Telurito suplemento (cód. 416964) reconstituido en 5 ml de agua destilada estéril. Homogeneizar suavemente y dispensar en placas de Petri. El color del medio preparado es ámbar ligeramente opalescente.

Modo de empleo

Incubar las placas a 35°C ± 2°C durante 18-48 horas y contar las colonias desarrolladas con aspecto característico.

Reactivos auxiliares: Suplemento Cefixima Telurito CULTIMED (Cód. 416964)

Bibliografía

Doyle, M.P. and J.L. Schoeni. 1987. Applied Environmental Microbiology 53:2394-2396.

J. G Wells et al, 1991. Isolation of Escherichia coli serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing E. coli from dairy cattle.

Almacenar entre +2 y +8°C

Control de Calidad

Control físico-químico

Aspecto: polvo fino homogéneo

Solubilidad: total

Color: beige

pH: 7,0 ±0,2

E. coli 0157:H7, Base de Agar Cromogénico

Control microbiológico

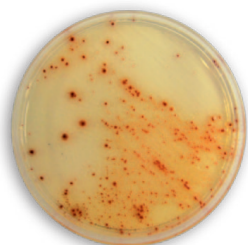
Los siguientes resultados fueron obtenidos de cultivos de cepas tipo en el medio con el suplemento añadido, después de una incubación a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18-24 horas.

Microorganismos	Desarrollo	Color de la colonia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 0157:H7	Bueno	Rosa pálido
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibido	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Inhibido	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Inhibido	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido	-

Presentaciones

Código	Envase
416963.1210	500 g
456963.0952	10 placas de Ø 90 mm

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



E. coli ATCC 0157:H7

Incubación a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
durante 18-24 horas

E. coli ATCC 0157:H7

Substrato cromogénico



Otras bacterias

Cefixima Telurito



Cefixima Telurito Suplemento

(Aditivo)

Aditivo para la preparación de *E. coli* 0157:H7 Agar Cromogénico usado para la determinación de *E. coli* 0157:H7

Composición (mg/1 vial)

Potasio telurito1,25
Cefixima0,025

Preparación

Asépticamente reconstituir 1 vial en 5 ml de agua destilada estéril. Mezclar bien hasta completa disolución. Asépticamente añadir a 500 ml de *E. coli* 0157:H7 Base de Agar Cromogénico (cód. 416963), autoclavado y atemperado a 45-50 °C. Mezclar bien y distribuir en Placas de Petri estériles.

Reactivos auxiliares

E. coli 0157:H7, Base de Agar Cromogénico cód. 416963.

Almacenar entre +2 y +8°C

Control microbiológico

Los siguientes resultados fueron obtenidos en medio *E. coli* 0157:H7 Agar Base Cromogénico (cód. 416963) a partir de cepas patrón tras la incubación a temperatura de 35 ± 2°C y observadas tras 18-24 horas.

Microorganismo	Desarrollo	Color
<i>Escherichia coli</i> ATCC 0157:H7	Bueno	Rosa pálido
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibido	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Inhibido	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Inhibido	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibido	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibido	-

Presentaciones

Código	Envase
416964.02132	10 viales

Peligrosidad



H: H301 · H319 · H315

P: P264 · P270 · P280 · P301+P310 · P302+P352 · P501

P305+P351+P338 · P321 · P330 · P332+P313 · P337+P313 · P362 · P405

