

BioCEN

CENTRO NACIONAL DE BIOPREPARADOS

MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO 2018

MANUAL BioCEN
DE MEDIOS DE CULTIVO

CUARTA EDICIÓN

Dirección y Redacción Técnica:
Dr. en Ciencias (PhD), Master en Ciencias, Investigador Titular,
BioCEN, Claudio Rodríguez Martínez
Dr. en Ciencias (PhD), Investigador Titular,
BioCEN, Raisa Zhurbenko

Equipo de Redacción Técnica:
Departamento de Investigaciones de Medios de Cultivo, BIOCEN:
Dr. en Ciencias (PhD), Investigador Titular, Tamara Lobaina Rodríguez
Dr. en Ciencias (PhD), Investigador Auxiliar, Marilyn Díaz Pérez
Master en Ciencias, Investigador Auxiliar, Diana Rosa Viera Oramas
Master en Ciencias, Investigador Agregado, Ivonne Alfonso Valdés
Master en Ciencias, Investigador Agregado, Ana Iris Brito González
Master en Ciencias, Investigador Agregado, Dennis Someillan Iglesias
Aspirante a Investigador, Yudisleidy López Ricardo

Planta de Producción de Medios de Cultivo, BioCen:
Lic., Alberto Eduardo Varela LLanes

Colaboración:
Hospital Pediátrico Docente Juan Manuel Márquez, Ciudad de la Habana,
Jefa del Departamento de Microbiología, Dra. Margarita Valdés Dapena
Dr. Julián Pérez Amarillo

Diseño:
Ana Ibis González González

Cuarta Edición

Centro Nacional de Biopreparados
Dirección: Carretera Beltrán, Km 1 1/2, Bejucal, Mayabeque, Cuba
Teléfono: (53) 47682201 al 08
Sitio web: www.biocen.cu
E-mail: biocen@biocen.cu

Todos los derechos reservados

Impreso en la República de Cuba=

MANUAL DE MEDIOS
DE CULTIVO 2018

Claudio Rodríguez Martínez
Raisa Zhurbenko

CONTENIDO

1. Centro Nacional de Biopreparados	7
2. BioCen y su Compromiso con la Calidad	9
3. Información General sobre los Medios de Cultivo	11
4. Clasificación de los Medios de Cultivo	15
5. Utilización de los Medios de Cultivo	17
6. Indicaciones para la Preparación de los Medios de Cultivo	19
7. Posibles Defectos en los Medios, Provocados por una Manipulación Incorrecta	23
8. Rango de Productos BioCen para Microbiología	25
9. Campos de Aplicación de los Medios de Cultivo BioCen	27
9.1. Medios para Exámenes Clínicos y Veterinarios	27
9.2. Medios para Ensayos de Laboratorio en la Industria Farmacéutica	29
9.3. Medios para Ensayos de Laboratorio en la Industria Alimenticia	30
9.3.1. De Uso General	30
9.3.2. Análisis de Alimentos Congelados	32
9.3.3. Análisis de Conservas	32
9.3.4. Análisis de Productos Lácteos	32
9.3.5. Análisis en la Industria Cervecera	33
9.4. Medios para Análisis de Aguas	33
9.5. Medios para Identificación de Microorganismo	35
10. Medios Según el Microorganismo a Cultivar	37
11. Almacenamiento de Productos BioCen para Microbiología	41
12. Calidad de los Productos BioCen para Microbiología	43
13. Descripción de los Medios de Cultivo BioCen Deshidratados	45
14. Descripción de los Medios de Cultivo BioCen para la Técnica de Filtración por Membrana	245
15. Descripción de los Medios de Cultivo BioCen Cromogénicos y Fluorogénicos	261
16. Descripción de las Bases Nutritivas BioCen Deshidratadas	319
17. Otros Ingredientes de los Medios de Cultivo	341
18. Índice	357



CENTRO NACIONAL DE BIOPREPARADOS

El Centro Nacional de Biopreparados (BioCen) comenzó sus actividades en agosto de 1992, como una de las principales instituciones cubanas dedicadas a la investigación y producción en la industria biotecnológica y farmacéutica.

BioCen está enclavado en el municipio habanero de Bejucal, con un área total de 11.61 hectáreas, y cuenta con todas las facilidades requeridas para su funcionamiento, especialmente de comunicaciones y transporte, a sólo 30 min del centro de la capital cubana.

Consta de sobrias, amplias y funcionales edificaciones y está dotado del equipamiento más moderno, adquirido en firmas productoras de gran prestigio internacional y es, de acuerdo a sus características, un complejo único en su clase en Cuba.

Los objetivos generales del BioCen son la elaboración, a escala industrial, de vacunas de uso humano, medios de cultivo, bases nutritivas, productos obtenidos por vía de la Ingeniería Genética, reconstituyentes y antianémicos de origen natural, vacunas y extractos alergénicos, como resultado de la aplicación del proceso de investigación-desarrollo-producción de las ramas farmacéutica y biotecnológica.

BioCen cuenta con un personal científico-técnico altamente calificado y poseedor de una amplia experiencia, que se nutre día a día con la práctica cotidiana y el perfeccionamiento constante de sus potencialidades, mediante la profundización de los conocimientos sobre lo más novedoso logrado, a nivel mundial, en cada una de sus especialidades respectivas.

BioCen tiene en funcionamiento, desde 1992, sus Plantas de Producción de Medios de Cultivo y de Producción de Parenterales I, en 1994 puso en marcha la Planta de Productos Recombinantes, en 1998 comenzó la explotación de un nuevo Vivario para pruebas biológicas en animales y en 1999 comienza a funcionar la Planta de Producción de Parenterales II.

La Planta de Producción de Medios de Cultivo (4302 m²) está dedicada a la investigación, desarrollo y elaboración de medios de cultivo (sólidos y líquidos) y bases nutritivas necesarios para la industria biotecnológica y el diagnóstico microbiano. Cuenta con laboratorios para la investigación desarrollo de nuevos productos, una Planta Piloto para realizar su escalado, y una Planta Industrial con una capacidad productiva de 40 Ton/año. En ella se ha instalado, tanto en su sección piloto como en la industrial, el equipamiento requerido para ejecutar operaciones de cocci3n, hidrólisis, separación de sólido-líquido, filtración, concentración, deshidratación, molinado, tamizado y homogeneización, entre otras.

Asimismo, oferta el desarrollo de productos, de acuerdo a las solicitudes de las entidades interesadas, y asesoría técnica en el diseño de plantas y tecnologías. Esta empresa oferta cursos de post grado, entrenamientos y otras modalidades de formación de personal en la investigación, desarrollo y utilización de medios de cultivo y bases nutritivas.

BIOCEN Y SU COMPROMISO CON LA CALIDAD

El permanente compromiso de BioCen con la calidad ha sido reconocido con la Certificación ISO 9001:2015, otorgada a nuestro Sistema de Gestión de la Calidad por parte de dos instituciones acreditadas, la Lloyd's Register Quality Assurance (LRQA), compañía británica líder mundial en este campo, y la Oficina Nacional de Normalización (ONN) de la República de Cuba, única institución certificadora cubana.

Tener organizado el Aseguramiento de la Calidad sobre la base del estándar internacional ISO 9001:2015, eleva significativamente la efectividad de nuestro sistema de gestión de calidad a la vez que proporciona garantías directas a nuestros Clientes en sus relaciones comerciales con BioCen.

Nos sentimos orgullosos de tener un sistema certificado por instituciones acreditadas independientes; ello representa el alto compromiso de todos nuestros empleados y directivos de hacer realidad lo expresado en la Misión de BioCen de “mantener un mejoramiento continuo de la Calidad para satisfacer de manera siempre creciente las expectativas de nuestros Clientes”.

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Mucho antes de 1876, año en que Robert Koch por primera vez cultivó y propagó *Bacillus anthracis*, el hombre ya había aprendido a cultivar los microorganismos.

Los alimentos fermentados a partir de cepas salvajes de microorganismos caracterizaron a muchas civilizaciones antiguas. Esto significa que los medios de cultivo artificiales fueron empleados por el hombre antes que tuviera plena conciencia de que había creado un elemento vital para el desarrollo de la civilización.

Sin embargo, es casi unánime el criterio de los microbiólogos, con respecto a identificar a Koch como el padre de los medios de cultivo artificiales, por ser él precisamente quien empleó conscientemente la gelatina y otras proteínas para el cultivo de microorganismos en condiciones artificiales. Después incorporó a sus estudios el empleo en los medios de extractos e infusiones de material de naturaleza proteica.

Koch inicialmente desarrolló los medios líquidos y posteriormente incorporó la gelatina como agente gelificante, logrando una nueva generación de medios solidificados.

El empleo del agar como agente solidificante revolucionó la práctica de la preparación de los medios sólidos, convirtiéndolos en los más difundidos hasta el momento.

Naegeli¹ realizó en los años 1868-1880 novedosos estudios para aquella época sobre la influencia de diferentes aminoácidos, carbohidratos y sales sobre el crecimiento de los microorganismos, y utilizó por primera vez el término “peptona” para designar al producto obtenido por la hidrólisis enzimática de las proteínas, resultado ya obtenido años antes, específicamente en 1820, por Braconnot².

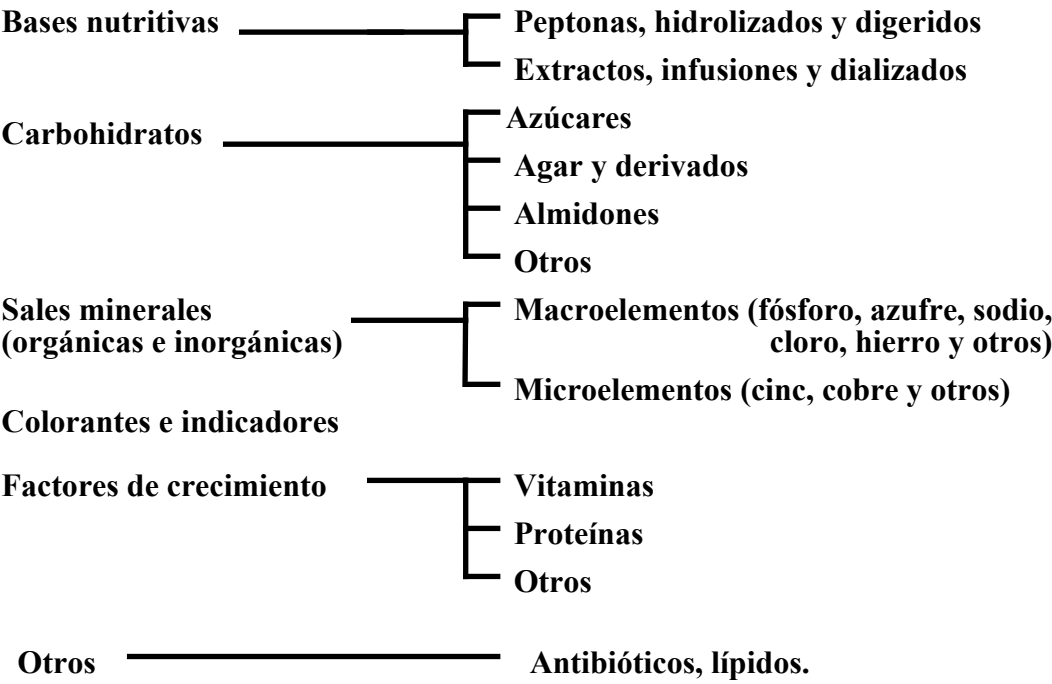
A principios del presente siglo habían sido creados más de 2 000 medios de cultivo artificiales, y en la actualidad, es prácticamente imposible determinar su cantidad. Lo cierto es que de manera sistemática se están modificando los medios existentes, o creando nuevos, que permitan mejorar el aislamiento y la diferenciación de los microorganismos, o que posibiliten el crecimiento exuberante durante su cultivo masivo.

El impactante ritmo del desarrollo de la industria biofarmacéutica y de la biotecnología ha abierto nuevas perspectivas en el diseño de los medios de cultivo y de sus componentes, pero también ha impuesto nuevos conceptos referentes a los requisitos de calidad de los productos.

A partir de la generalización de la composición de los medios existentes y de su empleo en diferentes campos, los medios de cultivo podrían ser definidos como el “CONJUNTO DE ELEMENTOS O SUSTANCIAS QUE GARANTIZAN A LOS MICROORGANISMOS U OTRAS CÉLULAS LOS NUTRIENTES NECESARIOS PARA SU CONSERVACIÓN Y/O DESARROLLO”. Estos elementos o sustancias pueden ser de origen orgánico o inorgánico, natural o artificial. Su finalidad es garantizar el crecimiento del organismo o célula, su identificación o diferenciación dentro de un conjunto de ellos e, incluso, inhibir el desarrollo de otros.

Los ingredientes de los medios de cultivo, por su naturaleza y función, pueden ser agrupados como se describe a continuación:

Agua



El agua es un elemento vital para el desarrollo de los microorganismos. Es el solvente en que son disueltos los ingredientes de los medios ya que constituye el vehículo de células, como de las que se liberan como productos de este proceso. Para muchos microorganismos que poseen locomoción propia, el agua constituye el medio idóneo para sus movimientos y nutrición.

Las bases nutritivas son ingredientes fundamentales de muchos medios destinados al cultivo de microorganismos, que requieren para su crecimiento, de compuestos nitrogenados de naturaleza proteica, tales como péptidos, polipéptidos, aminoácidos y, además, aportan vitaminas, carbohidratos y otros elementos nutritivos. Pueden ser definidas como “*productos hidrosolubles de naturaleza orgánica, obtenidos mediante extracción o hidrólisis del material biológico*”.

Las peptonas son “*productos hidrosolubles, obtenidos a partir de materias primas ricas en proteínas, mediante hidrólisis enzimática*”.

Los hidrolizados pueden ser igualmente definidos como “*productos hidrosolubles, obtenidos a partir de materias primas ricas en proteínas*”, pero “*mediante hidrólisis con agentes de naturaleza química*”.

Se puede afirmar, sin embargo, que no existe un criterio unánime en cuanto a la clasificación de las bases nutritivas y, en la casi totalidad de los casos, a muchas bases nutritivas obtenidas por hidrólisis enzimática, se les ha denominado “hidrolizado enzimático.” (de caseína, lactoalbúmina, gelatina, etc.). En estos casos, por lo general, los productos así nombrados presentan un grado de hidrólisis superior al de las peptonas.

En ocasiones, se denomina con el término “digerido” a los productos obtenidos por hidrólisis enzimática cuyo grado de hidrólisis puede ser inferior al de las peptonas, aunque se pueden encontrar bases nutritivas denominadas como “digerido enzimático, pancreático, péptico, papaínico.” que por su composición corresponden al rango de las peptonas.

Los extractos e infusiones son “*productos solubles en agua, obtenidos mediante extracción en medio acuoso por diferentes métodos, que aportan al medio sustancias de variada naturaleza, tales como proteínas y sus fracciones, vitaminas, minerales y otros factores de crecimiento*”.

Los dializados son productos obtenidos sometiendo el material a dializar contra agua. Poseen el más bajo contenido de sólidos y sustancias nitrogenadas de todas las bases nutritivas.

Los carbohidratos son ingredientes esenciales de muchos medios de cultivo. Los azúcares son incluidos en la formulación de los medios no sólo como fuentes de energía, sino para la diferenciación de determinadas especies de microorganismos fermentadores. El agar, como se mencionó con anterioridad, juega un papel esencial en los medios sólidos como agente gelificante. Los almidones, además de constituir una fuente de energía, actúan como coloides protectores de las células microbianas, evitando la acción tóxica de algunos componentes del medio o de los productos tóxicos del metabolismo de los microorganismos.

Las sales minerales, tanto de naturaleza orgánica como inorgánica, son incorporadas a los medios, no sólo con fines nutricionales, sino como agentes amortiguadores de pH, sustancias inhibitorias del crecimiento de determinados microorganismos, entre otras funciones.

Los indicadores y colorantes, además de facilitar la identificación o diferenciación de los microorganismos por la coloración adquirida, o por el cambio de la reacción del medio, juegan un importante papel como componentes inhibitorios de determinados organismos en los medios selectivos.

Otros factores de crecimiento, tales como vitaminas, proteínas, aminoácidos y otros, pueden ser incorporados a los medios, tanto desde su fabricación, como en calidad de suplementos.

Por último, en muchos medios de cultivo están presentes otras sustancias sintéticas o naturales, orgánicas o inorgánicas, de composición definida o no, que cumplen diferentes funciones. Tal es el caso de los antibióticos.

1. Naegeli. 1880. Sitz´ber, Math-Physik, Klasse Akad. Wiss. Muenchen, 10: 277.

2. Braconnot H. 1820. Ann. Chem. Phys., 2 (13): 113.

CLASIFICACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo pueden ser clasificados teniendo en cuenta criterios muy diversos. Hasta el momento, no existe una clasificación única; sólo algunos autores o casas comerciales coinciden en las clasificaciones más sencillas, basadas, por ejemplo, en el estado físico (sólidos, semisólidos o semilíquidos y líquidos), o en la escala en que se emplean (de laboratorio o industriales).

A continuación se exponen algunas de las clasificaciones más difundidas.

SEGÚN LA NATURALEZA DE SUS INGREDIENTES

Proteicos	Contienen peptonas, hidrolizados o extractos, o sea, productos de la lisis o hidrólisis parcial de las proteínas, cuya composición no se conoce con exactitud.
Sintéticos	No contienen en su formulación productos de naturaleza proteica.
Intermedios	Contienen compuestos nitrogenados de origen proteico, pero de composición o estructura conocida, como los aminoácidos, conjuntamente con otras sustancias orgánicas e inorgánicas conocidas.

SEGÚN LA PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE DETERMINADOS MICROORGANISMOS

De enriquecimiento	Por lo general son medios líquidos, pudiendo ser semisólidos en algunos casos, que contienen sustancias que estimulan el crecimiento de los microorganismos y permiten el desarrollo de la población microbiana a partir de un número reducido de células de determinados gérmenes que pueden encontrarse en presencia de otros que, hallándose en condiciones favorables, pudieran frenar el desarrollo de los primeros.
Selectivos	En su mayoría son sólidos, contienen sustancias que inhiben el crecimiento de determinados microorganismos, o sea, previene el crecimiento de especies acompañantes indeseables.
Electivos	Toleran el crecimiento de varias especies de microorganismos y a la vez facilitan la identificación de colonias de interés, garantizándoles los nutrientes mínimos necesarios para su desarrollo.

SEGÚN SU FINALIDAD

Comunes	Favorecen el desarrollo de la mayor parte de los microorganismos sin satisfacer específicamente algún requerimiento nutricional de carácter poco habitual en la generalidad de los mismos
Especiales	Su composición cumple con los requerimientos nutricionales vitales de un microorganismo determinado que sólo en ese medio encuentra condiciones óptimas para su desarrollo.
Diferenciales	Posibilitan la diferenciación entre microorganismos.
Selectivos=	Incluyen en su formulación ingredientes que inhiben el desarrollo de determinados microorganismos y contienen otras sustancias que promueven el crecimiento de otros.

UTILIZACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

En muchos campos de la ciencia y en diferentes esferas del desarrollo, de manera directa o indirecta se utilizan los medios de cultivo.

Sus principales aplicaciones son:

Diagnóstico clínico en medicina humana y veterinaria

- Detección de microorganismos patógenos a partir de muestras de fluidos, tejidos y excretas y sus toxinas causantes de enfermedades

Industria farmacéutica y biotecnológica

- Cultivo masivo de microorganismos productores de metabolitos (proteínas, factores de crecimiento, aminoácidos, péptidos, antibióticos, etc.)
- Control de la calidad (control de proceso, materias primas, productos terminados, aguas, residuales y ambiente)

Industria alimenticia

- Cultivo masivo de microorganismos productores de sustancias nutritivas y alimentos (proteínas y compuestos saborizantes entre otros)
- Obtención de alimentos fermentados (yoghourt, otros productos lácteos y alimenticios)
- Control de la calidad (control de proceso, materias primas, productos terminados, ambiente)

Otras industrias y sectores productivos (agricultura, química)

- Cultivo masivo de microorganismos (obtención de polímeros, azúcares y otros)
- Control de la calidad (control de proceso, materias primas, productos terminados, ambiente)

Control del medio ambiente

- Control de las aguas y fuentes de abasto
- Control ambiental (aire, suelos)
- Control de residuales

Investigaciones

- Estudios morfológicos, funcionales, sistemáticos y de otro tipo, dirigidos al conocimiento de la flora microbiana
- Investigaciones relacionadas con el desarrollo de sustancias o productos en las industrias y sectores anteriormente señalados

INDICACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo en general, y en particular los elaborados por BioCen, deben ser restituidos en agua destilada o desionizada, tal como se indica en la etiqueta del producto. El agua de esta calidad debe ser recién obtenida, libre de metales tóxicos y su pH debe ser de 5.5 a 7. Si el pH del agua es inferior a 5.5, la misma se debe ebulir para eliminar el CO₂ y comprobar nuevamente el pH.

Toda la cristalería a emplear debe ser de vidrio neutro y ser procesada de la siguiente manera:

- Lavar con detergentes apropiados, evitar el empleo de mezcla crómica cuyos residuos pueden resultar inhibitorios para los microorganismos.
- Enjuagar al menos 2 veces con agua corriente y posteriormente con agua destilada o desionizada, escurrir y secar.

El recipiente donde se prepara el medio (generalmente matraces de Erlenmeyer) deberá tener una capacidad que duplique el volumen del medio a preparar y deberá garantizar una adecuada agitación. No deben prepararse, como regla, volúmenes de medio superiores a 1 L.

El medio en polvo se deberá pesar en una balanza con una adecuada precisión, empleando preferiblemente “potes para pesadas” de materiales inertes al medio o pesando directamente en el recipiente.

Las espátulas deberán estar completamente secas y se deben emplear sólo una vez. El material de las mismas debe ser el acero inoxidable u otro material inerte al medio.

El frasco debe ser abierto y manipulado en un local que no presente una humedad relativa y temperatura elevadas.

La manipulación deberá ser rápida y precisa, exponiendo el producto al ambiente lo menos posible. Asegurarse al tapar el frasco, que no hayan quedado residuos del medio en los bordes de su boca. Para eliminarlos, utilice un paño limpio y seco.

Una vez pesado el medio, éste se debe restituir inmediatamente añadiéndole el agua, inicialmente en una cantidad no mayor de aproximadamente la mitad del volumen requerido. Agitar bien hasta cerciorarse que todos los componentes se encuentren formando una suspensión homogénea para el caso de los medios sólidos y semisólidos o una solución para los medios líquidos. Añadir el resto del agua, arrastrando los residuos de polvo que hayan podido quedar adheridos a la superficie interna del recipiente. Los medios que contienen agar dejar en remojo por un período de 10 a 15 min.

Agitar nuevamente hasta lograr la máxima homogeneidad de la suspensión. Esta operación es de suma importancia, pues si la concentración del medio en el fondo es elevada, durante su posterior calentamiento pueden tener lugar reacciones de hidrólisis, caramelización y variación de pH, entre otras.

Para preparar los medios líquidos se debe emplear agua a temperatura ambiente o tibia.

Se debe evitar en todo momento la exposición del medio a temperaturas superiores a las necesarias para disolver sus componen-tes o el calentamiento prolongado o repetido.

Para la preparación de los medios agarizados es necesario calentar la suspensión hasta temperatura de ebullición agitando cons-tantemente para garantizar la distribución homogénea del agar y evitar su carbonización.

Durante la ebullición, garantizar que no se derrame la solución o la espuma que se origina, pues esto puede ocasionar cambios en la composición final del medio dispensado.

Una manera eficiente de evitar estos sucesos, además de lo antes expuesto, consiste en disminuir la intensidad del calentamien-to o retirar el matraz de la fuente de calor hasta que disminuya la espuma.

Es necesario prestar una atención especial a la disolución completa del agar en aquellos medios que no requieren una posterior esterilización.

La completa disolución del agar se puede apreciar de forma práctica por la desaparición de sus partículas insolubles al desapa-recer la espuma.

Algunos medios de cultivo contienen ingredientes insolubles o poco solubles, incluso en agua hirviente, por lo que el criterio para determinar el momento de finalizar su restitución debe ser, además, la máxima homogeneidad de su distribución en todo el volumen. Estos medios se recomienda restituirlos en recipientes de menor volumen posible.

Los medios de cultivo utilizados en tubos se distribuyen en los mismos después de su completa restitución, excepto los que se distribuyen ya estériles. Previamente, éstos se deben enfriar hasta temperatura de 50 a 60 °C para facilitar su manipulación, agitando nuevamente el recipiente momentos antes de la distribución hasta lograr la homogeneización de los componentes insolubles.

Se debe prestar una atención especial a aquellos medios que contienen bajas concentraciones de agar (Medio Transporte de Stuart, Medio Tioglicolato), evitando que durante el enfriamiento posterior a la esterilización, ocurra una disminución brusca de su temperatura.

BioCen garantiza para sus medios de cultivo un valor del pH adecuado a lo declarado en la etiqueta para cada producto, siempre que para su preparación se cumplan todas las indicaciones generales y específicas que aparecen tanto en este manual como en la etiqueta del producto. Se debe tener en cuenta que el pH indicado en la etiqueta corresponde al del medio esterilizado. No obstante, en determinadas situaciones pueden no existir todas las facilidades y puede requerirse un ajuste de pH en el medio previo a su esterilización.

Con este objetivo, se recomienda ajustar el pH mediante la adición de soluciones 0,1 N ó 1 N de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, para lo cual es recomendable determinar previamente la cantidad a adicionar para ajustar el pH a una muestra exacta y de menos volumen del medio y, a partir de ella, calcular la cantidad necesaria para ajustar todo el volumen del medio.

Otra posibilidad consiste en extraer en condiciones asépticas la muestra del medio estéril, realizar la medición del pH, su ajuste y el cálculo, y añadir asépticamente a todo el volumen del medio la solución de ácido o álcalis previamente esterilizada por filtración.

Debe tenerse siempre en cuenta que el valor del pH depende de la temperatura a que éste se determine.

Se recomienda realizar la medición y el ajuste eventual del pH en los medios BioCen por potenciometría con un medidor de pH a temperatura de 25 ± 0.2 °C.

Para los medios sólidos se recomienda determinar el valor del pH por el método de maceración, consistente en macerar una cantidad (comúnmente 100 mL) del medio solidificado con igual cantidad de agua destilada o desionizada con pH neutro, filtrar el macerado por papel de filtro neutro y determinar el valor del pH.

Algunos medios de cultivo agarizados presentan un pH ácido, incluso inferior a 5. Estos medios corren el riesgo de sufrir una hidrólisis del agar por sobrecalentamiento o por una fusión repetida. Hay que evitar que esto ocurra. Si fuera inevitable, se reco-mienda adicionar al medio aproximadamente 5 g/L de Agar Bacteriológico BioCen (cód. 4036) antes de su preparación.

Comúnmente la esterilización se realiza a temperatura de 121 °C durante 15 min en autoclaves o por ebullición, si no se indica lo contrario.

Los medios BioCen se esterilizan según las indicaciones que aparecen en la etiqueta.

Es conocido, que la temperatura de 121 °C se alcanza en el medio en dependencia del volumen a esterilizar, entre otros factores (carga del autoclave; forma y tamaño del recipiente, tipo y espesor del vidrio). A continuación se ofrecen las recomendaciones para el establecimiento del tiempo necesario para alcanzar la temperatura de esterilización de los medios en frascos de vidrio, en dependencia del volumen del medio.

Volumen del medio (mL)	Tiempo necesario para alcanzar la temperatura de 121 °C (min)
250	12
500	18
1000	22
2000	27
5000	37

A este intervalo de tiempo es necesario añadirle los 15 min recomendados para garantizar la temperatura de 121 °C en el seno del líquido.

Se recomienda el uso de bioindicadores, así como de indicadores químicos.

Se deben tomar algunas precauciones adicionales durante y con posterioridad a la etapa de esterilización, tales como:

- Desalojar correctamente el aire, tanto de la cámara del autoclave, como del recipiente, para lo cual se debe dejar fluir el vapor manteniendo la válvula de purga del autoclave abierta en la fase de calentamiento.

- Mantener los cierres de los recipientes desenroscados a media vuelta durante la esterilización para garantizar el flujo de aire y apretarlos firmemente una vez concluido el proceso.
- No retirar los recipientes del autoclave hasta que la temperatura no haya descendido lo suficiente (70 - 80 °C) como para evitar un cambio significativo de la presión de vapor interna que provoque la brusca ebullición del contenido. Esta operación debe realizarse lo más rápido posible.
- Alcanzada la temperatura de 70 - 80 °C, sacar y enfriar rápidamente el recipiente con el medio para evitar la exposición prolongada del mismo a temperaturas elevadas. Los recipientes con el medio agarizado se enfrían hasta temperatura de 45 - 55 °C antes de su distribución. Esta operación se puede realizar bañando la superficie externa del recipiente con agua corriente a temperatura ambiente.

Algunos medios requieren, una vez estériles, de la adición de suplementos. En estos casos es recomendable realizar la manipulación en condiciones asépticas para evitar la contaminación del medio.

Los suplementos termolábiles se deben adicionar al medio ya enfriado hasta temperatura no mayor de 50 °C. Los suplementos estériles se deben enfriar hasta temperatura ambiente antes de incorporarlos al medio.

Por el contrario, se debe elevar la temperatura de los suplementos que hayan sido conservados en frío, pues los líquidos fríos pueden causar, entre otros efectos, la gelificación del agar.

La sangre utilizada como suplemento debe ser estéril, defibrinada, lo más fresca posible, sin la adición de preservativos. De conservarla, ésta deberá mantenerse a temperatura de 2 a 8 °C y posteriormente se deberá llevar hasta temperatura ambiente antes de adicionarla a la base fundida cuya temperatura no deberá exceder los 40 - 45 °C.

Si el volumen del suplemento líquido es considerable, éste debe ser restado del volumen de agua en que se restituye el medio, y de esta forma no se afecta ni la consistencia, ni la concentración del medio.

Los medios deben ser distribuidos en las placas de Petri a temperatura de 45 a 55 °C, realizando previamente movimientos circulares con el recipiente para garantizar la distribución uniforme. Con la ayuda de un mechero Bunsen pueden ser eliminadas las burbujas que aparezcan sobre la superficie del medio, pasando la llama no luminosa rápidamente por la misma.

Antes de inocular el microorganismo, se puede colocar las placas con el medio invertidas y apoyadas sobre su tapa en una estufa de secado a temperatura de 30 a 40 °C por un mínimo de 20 a 30 min para estufas sin circulación forzada de aire y de 10 a 15 min para las que la poseen para secar la superficie húmeda del medio.

La distribución de los medios agarizados estériles, en tubos de cultivo para lograr superficies inclinadas, se realiza a temperatura de 45 a 55 °C en condiciones asépticas. Los tubos se colocan en posición inclinada formando el medio un fondo y una pendiente de dimensiones homogéneas, de aproximadamente 3 cm de longitud.

Posibles defectos en los medios,
provocados por una manipulación incorrecta

DEFECTO	POSIBLE CAUSA
Apelmazamiento del producto deshidratado	El envase no fue cerrado correctamente después de su uso
	El envase permaneció abierto por largo rato
	El envase fue manipulado en un local con una excesiva humedad ambiental
	El producto empleado sobrepasó la fecha de vencimiento
El valor del pH no coincide con el indicado	No fue empleada agua desionizada o destilada
	El agua desionizada o destilada empleada no fue obtenida recientemente, o su pH no era el adecuado
	El medio fue sobrecalentado durante su preparación
	Fue empleado un recipiente de vidrio alcalino
	El recipiente empleado estaba contaminado o sucio
	El envase no fue cerrado correctamente después de su uso
	El pH no fue determinado correctamente
	El producto empleado sobrepasó su fecha de vencimiento
Aparición de turbiedad o precipitados	El medio deshidratado adquirió humedad
	El medio no fue uniformemente distribuido antes de su esterilización
	El medio no se calentó lo suficiente
	El medio se calentó en exceso
	No fue empleada agua desionizada, destilada
	No fue empleada agua recién purificada
	El medio no fue agitado lo suficiente durante la preparación
	El recipiente empleado estaba sucio
	El valor del pH no fue ajustado correctamente
	El medio preparado perdió agua por evaporación
El color del medio no coincide con el indicado	El medio utilizado adquirió humedad
	No fue empleada la cantidad del medio o suplemento recomendada
	El medio fue sobrecalentado durante su preparación
	El valor del pH no fue ajustado correctamente (en el caso que el medio contenga indicadores)
	El recipiente empleado estaba sucio
	Los azúcares contenidos en el medio se caramelizaron
	No fue empleada la cantidad del medio recomendada

Posibles defectos en los medios,
provocados por una manipulación incorrecta

(continuación)

DEFECTO	POSIBLE CAUSA
El gel se obtiene más blando que lo característico para el medio	No fue garantizada la total disolución del agar durante la preparación del medio
	No fue mezclado correctamente el medio durante su preparación
	No fue empleada la cantidad del medio recomendada, o se añadió agua en exceso
	El medio fue sobrecalentado durante su preparación
El crecimiento de los microorganismos es pobre	La preparación de los medios con valores de pH ácidos fue incorrecta
	El medio fue fundido en más de una ocasión
	El medio fue sobrecalentado durante su preparación
	El medio no fue mezclado correctamente durante su preparación
	Quedaron residuos de sustancias inhibitorias del crecimiento en los recipientes donde fue pre parado o distribuido el medio, en el agua o en el material de ensayo
	El valor del pH no fue ajustado correctamente
	Los gérmenes en el material de ensayo estaban dañados
El crecimiento de los microorganismos es atípico	En los medios basales fue adicionada una cantidad inadecuada de suplementos, o la adición fue efectuada a excesiva temperatura
	El medio utilizado adquirió humedad
	El medio de cultivo fue preparado de manera incorrecta
	El producto empleado sobrepasa su fecha de vencimiento
	Las condiciones de cultivo no fueron las recomendadas
	Quedaron residuos de sustancias inhibitorias o promotoras del crecimiento, no deseables, en los recipientes donde se preparó o distribuyó el medio, en el agua, o en el material de ensayo
	El medio de cultivo fue sobrecalentado

RANGO DE PRODUCTOS BioCEN
PARA MICROBIOLOGÍA

BioCen elabora a escala industrial las siguientes líneas de productos destinados al cultivo de microorganismos:

- Medios de cultivo deshidratados en polvo
- Medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos deshidratados en polvo
- Medios basales deshidratados en polvo que, para determinadas aplicaciones, deben ser suplementados para la confección en el laboratorio de medios complejos. (Ejemplos: Base de Agar Sangre y Base de Agar Sangre Columbia)
- Bases nutritivas (Peptonas, Hidrolizados y Extractos)
- Otros ingredientes (Agares, Bilis Bacteriológica)
- Suplementos (Solución de Urea Estéril al 40%, Suplemento Líquido PLG, Suplemento Glicerol)
- Reactivos (Reactivo de Kovac)
- Medios para hemocultivos (HemoCen Aerobio, HemoCen Aerobio Neonatal, HemoCen Aerobio Pediátrico)

CAMPOS DE APLICACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO BioCen

Medios para exámenes clínicos y veterinarios

Exámenes Veterinarios 9

- Base de Agar Cetrimida
- Base de Agar Sangre
- Base de Medio Brucella
- Base de Medio CromoCen CGP
- Base de Medio CromoCen SALM
- Base de Medio CromoCen SC
- Base de Medio para Leptospira F
- Caldo Brucella
- CromoCen CC

Exudados nasales y faríngeos 14

- Agar Cerebro Corazón
- Agar de MacConkey
- Agar Desoxicolato
- Agar Dextrosa de Sabouraud
- Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
- Agar Manitol Salado
- Agar Triptona Soya
- Agar X.L.D.
- Base de Agar Bordet-Gengou
- Base de Agar Sangre
- Base de Agar Sangre Columbia
- Caldo Triptona Soya
- Caldo Triptosa Fosfato
- Medio Transporte de Stuart (Modificado)

Exudados oculares 12

- Agar Cerebro Corazón
- Agar de Czapek-Dox (Modificado)
- Agar de MacConkey
- Agar Desoxicolato
- Agar Dextrosa de Sabouraud
- Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
- Agar X.L.D.
- Base de Agar GC
- Base de Agar Sangre Columbia
- Base de Medio CromoCen CND-C
- Base de Medio CromoCen CND-F
- Caldo Cerebro Corazón

Exudados óticos 8

- Agar de Mueller-Hinton
- Agar Dextrosa de Sabouraud
- Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
- Agar Triptona Soya
- Base de Agar Sangre
- Base de Medio CromoCen CND-C
- Base de Medio CromoCen CND-F
- Caldo Cerebro Corazón

Hemocultivos 18

- Agar Cerebro Corazón
- Agar Dextrosa de Sabouraud

Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Triptona Soya
Base de Agar GC
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Medio Brucella
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Caldo Brucella
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Triptona Soya
HemoCen Aerobio
HemoCen Aerobio Neonatal
HemoCen Aerobio Pediátrico
Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Medio Tioglicolato

Muestras cutáneas, de cabellos y uñas 7

Agar de Littman con Bilis de Buey
Agar de MacConkey
Agar Dextrosa de Sabouraud
Agar Manitol Salado
Base de Agar Sangre
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F

Muestras de esputo 13

Agar Cerebro Corazón
Agar de Czapek-Dox (Modificado)
Agar de Littman con Bilis de Buey
Agar de MacConkey
Agar Dextrosa de Sabouraud
Agar Manitol Salado
Agar X.L.D.
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Triptosa Fosfato

Muestras genitales y urinarias 24

Agar Cerebro Corazón
Agar Cistina Tripticasa
Agar de Czapek-Dox (Modificado)
Agar de MacConkey

Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Dextrosa de Sabouraud
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Manitol Salado
Base de Agar GC
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Agar Urea
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Caldo EC con MUG
CromoCen CC
CromoCen ECCS
CromoCen ENT
Medio C.L.E.D.
Medio Transporte de Cary-Blair
Medio Transporte de Stuart (Modificado)
m-Medio de Chapman
m-Medio de Sabouraud

Muestras de heces fecales y exudados rectales 26

Agar de MacConkey
Agar de MacConkey con Sorbitol
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Entérico de Hektoen
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar S.S.
Agar S.S. (Modificado)
Agar X.L.D.
Base de Agar Sangre
Base de Agar Selectivo para Yersinia
Base de Agar Urea
Base de Caldo Selenito
Base de Caldo Tetratioato
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Base de Medio CromoCen SALM
Base de Medio CromoCen SC
Caldo GN
Caldo Muller-Kauffmann Tetratioato-Novobiocina
Caldo Rappaport-Vassiliadis
Caldo Selenito Cistina
CromoCen ECCS
CromoCen ENT

Medio T.C.B.S.
Medio Transporte de Cary-Blair

Muestras de líquido cefalorraquídeo u otros líquidos corporales 16

Agar Cerebro Corazón
Agar Dextrosa de Sabouraud
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Manitol Salado
Agar Triptona Soya
Base de Agar GC
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Base de Medio para Leptospira F
Caldo Brucella
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Triptosa Fosfato
m-Medio de Chapman
m-Medio de Sabouraud

Muestras de pus y de heridas 17

Agar Cerebro Corazón
Agar de MacConkey
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Triptona Soya
Agar X.L.D.
Base de Agar Cetrimida
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Base de Medio para la Prueba de Asimilación de Carbohidratos
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Triptona Soya
Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Medio Tioglicolato
Medio Transporte de Stuart (Modificado)

Medios para ensayos de laboratorio en la industria farmacéutica

Ensayos de esterilidad 9

Agar Dextrosa y Triptona
Base de Agar Sangre
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Corazón
Caldo Extracto de Malta
Caldo Triptona Soya
Medio Fludio Tioglicolato (USP)
Medio Líquido de Sabouraud
Medio Tioglicolato

Ensayos de límite microbiano 35

Agar de MacConkey
Agar Desoxicolato y Citrato
Agar Dextrosa de Sabouraud
Agar Entérico de Hektoen
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Hierro de Kligler

Agar Manitol Salado
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya
Agar Verde Brillante
Agar Violeta Rojo Bilis
Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa
Agar X.L.D.
Base de Agar Baird-Parker
Base de Agar Cetrimida
Base de Caldo Selenito
Base de Caldo Tetratioato
Base de Caldo Urea
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio m-Endo
Caldo Bilis Verde Brillante
Caldo Lactosado
Caldo Nutriente

Caldo Púrpura de MacConkey
Caldo Tryptona Soya
CromoCen CC
CromoCen ECCS
m-Caldo Glucosa y Tryptona
m-Caldo Tryptona Glucosa Extracto C
m-Caldo Tryptona Glucosa Extracto L
Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Medio Tioglicolato
m-Medio de Chapman
m-Medio de Sabouraud

Medios para ensayos de laboratorio en la industria alimenticia

DE USO GENERAL

Aeromonas 3

Base de Medio CromoCen AE
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio m-CromoCen AGN

Anaerobios 5

Agar Cistina Tripticasa
Base de Agar Sangre
Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Medio Leche de Crossley
Medio Tioglicolato

Bacillus cereus 4

Agar Dextrosa y Tryptona
Agar Nutriente
Base de Agar para Bacillus cereus
m-Caldo Glucosa y Tryptona

Campylobacter 4

Base de Agar Sangre Columbia
Base de Medio Brucella
Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Medio Tioglicolato

E. coli O157:H7 2

Agar de MacConkey con Sorbitol
CromoCen ECCS

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana 4

Agar de Mueller-Hinton
Agar Tryptona Soya
Caldo de Mueller-Hinton
Caldo Tryptona Soya

Enterococcus 11

Agar Bilis Esculina
Agar Bilis Esculina Azida
Agar Cerebro Corazón
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Slanetz y Bartley
Caldo Azida Dextrosa
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Etil Violeta Azida
CromoCen ENT
m-CromoCen ENT
m-Medio Azida

Grupo coli-aerógenes 27

Agar Azul Bromotimol Lactosa
Agar Citrato de Simmons
Agar de MacConkey
Agar Desoxicolato
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Violeta Rojo Bilis
Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa
Agua Tryptona
Base de Agar Endo
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio m-CromoCen AGN
Caldo Bilis Verde Brillante

Caldo Malonato Fenilalanina
Caldo Tryptona Soya
Medio SIM

Pseudomonas 4

Base de Agar Cetrimida
Base de Medio CromoCen AE
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio m-CromoCen AGN

Salmonella y Shigella 24

Agar Desoxicolato y Citrato
Agar Entérico de Hektoen
Agar Hierro de Kligler
Agar Lisina y Hierro
Agar S.S.
Agar S.S. (Modificado)
Agar Sulfito Bismuto
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Verde Brillante
Agar Verde Brillante Modificado
Agar X.L.D.
Agua de Peptona Buferada
Base de Caldo Selenito
Base de Caldo Tetratonato
Base de Caldo Urea
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CRomoCen SALM
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio para Descarboxilación de Aminoácidos
Caldo GN
Caldo Lactosado
Caldo Muller-Kauffmann Tetratonato-Novobiocina
Caldo Rappaport-Vassiliadis
Caldo Selenito Cistina

Staphylococcus 7

Agar Bilis Esculina
Agar Bilis Esculina Azida
Agar Manitol Salado
Base de Agar Baird-Parker
Base de Agar Sangre
Base de Medio CromoCen CGP
m-Medio de Chapman

Vibrio 1

Medio T.C.B.S.

ANÁLISIS DE ALIMENTOS CONGELADOS 27

Agar Dextrosa y Triptona	Base de Medio CromoCen SC
Agar Malta	Caldo Bilis Verde Brillante
Agar Nutriente	Caldo EC
Agar Papa y Dextrosa	Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato-Novobiocina
Agar para Conteo en Placas	Caldo Selenito Cistina
Agar Triptona Soya	CromoCen CC
Agar Violeta Rojo Bilis	CromoCen ECCS
Base de Agar Cetrimida	CromoCen TBX
Base de Agar Endo	m-Base de Medio Endo
Base de Agar MRS	m-Caldo Triptona Glucosa Extracto L
Base de Medio CromoCen AE	Medio Fluido Tioglicolato (USP)
Base de Medio CromoCen AGN	Medio Tioglicolato
Base de Medio CromoCen CGP	m-Medio de Sabouraud
Base de Medio CromoCen SALM	

ANÁLISIS DE CONSERVAS 24

Agar de MacConkey	Base de Medio CromoCen AE
Agar Dextrosa y Triptona	Base de Medio CromoCen SALM
Agar Extracto de Levadura	Base de Medio CromoCen SC
Agar Extracto de Malta	Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato-Novobiocina
Agar Malta	Caldo Rappaport-Vassiliadis
Agar Nutriente	Caldo Selenito Cistina
Agar Papa y Dextrosa	CromoCen CC
Agar Triptona Soya	CromoCen TBX
Agar Verde Brillante Modificado	m-Caldo Glucosa y Triptona
Agar Violeta Rojo Bilis	m-Caldo Triptona Glucosa Extracto L
Base de Agar MRS	Medio Leche de Crossley
Base de Caldo MRS	m-Medio de Sabouraud

ANÁLISIS DE PRODUCTOS LÁCTEOS 39

Agar Azul Bromotimol Lactosa	Agar Violeta Rojo Bilis
Agar Citrato de Simmons	Base de Agar Endo
Agar Desoxicolato	Base de Agar MRS
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)	Base de Agar para Bacillus cereus
Agar Extracto de Levadura	Base de Agar Sangre Columbia
Agar Leche	Base de Caldo MRS
Agar Nutriente	Base de Medio Brucella
Agar Papa y Dextrosa	Base de Medio CromoCen AE
Agar para Conteo en Placas	Base de Medio CromoCen AGN
Agar Triptona Glucosa Extracto	Base de Medio CromoCen SALM
Agar Triptona Soya	Base de Medio CromoCen SC

Caldo Bilis Verde Brillante	CromoCen ECCS
Caldo Brucella	CromoCen ENT
Caldo Corazón	CromoCen TBX
Caldo EC	m-Base de Medio Endo
Caldo Lactosado	m-Caldo Triptona Glucosa Extracto L
Caldo Lauril Triptosa	Medio Leche de Crossley
Caldo Nutriente	m-Medio Azida
Caldo Triptosa Fosfato	m-Medio de Sabouraud
CromoCen CC	

ANÁLISIS EN LA INDUSTRIA CERVECERA 8

Agar Extracto de Levadura	Caldo Lactosado
Base de Agar MRS	Caldo Púrpura de MacConkey
Base de Caldo MRS	CromoCen CC
Base de Medio CromoCen SC	Medio Universal para Cerveza

Medios para análisis de aguas

De propósito general 3

Agar Triptona Soya	Agar Nutriente
Agua Peptona	Agar Violeta Rojo Bilis
Caldo Triptona Soya	Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa

Aeromonas 3

Base de Medio CromoCen AE	Agua Triptona
Base de Medio CromoCen AGN	Base de Agar Endo
Base de Medio m-CromoCen AGN	Base de Agar m-Endo LES

Clostridium 4

Base de Agar Sangre	Base de Medio CromoCen AGN
Medio Leche de Crossley	Base de Medio CromoCen SC
Medio Fluido Tioglicolato (USP)	Base de Medio m-CromoCen AGN
Medio Tioglicolato	Caldo Bilis Verde Brillante

Coliformes 27

Agar Citrato de Simmons	Caldo CromoCen CC
Agar de MacConkey	Caldo CromoCen CCL
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal	Caldo EC
Agar Desoxicolato	Caldo EC con MUG
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)	Caldo Lactosado

Caldo Lauril Triptosa	Caldo Púrpura de MacConkey
CromoCen CC	CromoCen CC
CromoCen ECCS	CromoCen ECCS
m-Base de Medio Endo	m-Base de Medio Endo
m-CromoCen CC	m-CromoCen CC
Medio MR-VP	Medio MR-VP

E. coli O157:H7 2

Agar de MacConkey con Sorbitol
CromoCen ECCS

Ensayos de recuento en placas 7

Agar Extracto de Levadura
Agar Nutriente
Agar para Conteo en Placas
Agar Tryptona Glucosa Extracto
Agar Tryptona Soya
m-Caldo Tryptona Glucosa Extracto C
m-Caldo Tryptona Glucosa Extracto L

Escherichia coli 10

Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio m-CromoCen AGN
Caldo CromoCen CC
Caldo CromoCen CCL
Caldo EC
Caldo EC con MUG
CromoCen CC
CromoCen ECCS
m-CromoCen CC

Enterococcus 11

Agar Bilis Esculina
Agar Bilis Esculina Azida
Agar Cerebro Corazón
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Slanetz y Bartley
Caldo Azida Dextrosa
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Etil Violeta Azida
CromoCen ENT
m-CromoCen ENT
m-Medio Azida

Pseudomonas 5

Base de Agar Cetrimida
Base de Medio CromoCen AE
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio m-CromoCen AGN
Caldo Asparagina

Salmonella y Shigella 24

Agar Cerebro Corazón
Agar de MacConkey
Agar Desoxicolato
Agar Desoxicolato y Citrato
Agar Entérico de Hektoen
Agar Hierro de Kligler
Agar Lisina y Hierro
Agar S.S.
Agar S.S. (Modificado)
Agar Sulfito de Bismuto
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Verde Brillante
Agar Verde Brillante Modificado
Agar X.L.D.
Agua de Peptona Buferada
Base de Caldo Selenito
Base de Caldo Tetrionato
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen SALM
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio para Descarboxilación de Aminoácidos
Caldo GN
Caldo Lisina para Descarboxilasa
Caldo Rappaport-Vassiliadis

Vibrio 1

Medio T.C.B.S.

Medios para identificación de microorganismos

Agar Bilis Esculina
Agar Bilis Esculina Azida
Agar Cistina Trypticasa
Agar Citrato de Simmons
Agar de MacConkey
Agar Fenilalanina
Agar Gelatina
Agar Hierro de Kligler
Agar Lisina y Hierro
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agua Tryptona
Base de Agar Cetrimida
Base de Agar Urea
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Caldo Urea
Base de Medio CromoCen AE
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen CGP
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Base de Medio CromoCen SALM
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio m-CromoCen AGN
Base de Medio OF
Base de Medio para Descraboxilación de Aminoácidos
Base de Medio para la Prueba de Asimilación de Carbohidratos
Caldo CromoCen CC
Caldo CromoCen CCL
Caldo Lisina para Descarboxilasa
Caldo Malonato Fenilalanina
Caldo Nitrato
CromoCen CC
CromoCen ECCS
CromoCen ENT
m-CromoCen CC
m-CromoCen ENT
Medio MR-VP
Medio SIM

MEDIOS SEGÚN EL MICROORGANISMO A CULTIVAR

Actinomyces 6

- Agar de Czapek-Dox (Modificado)
- Agar Dextrosa de Sabouraud
- Agar Maltosa de Sabouraud
- Agar Triptona Soya
- Caldo Cerebro Corazón
- Caldo Triptona Soya

Anaerobios 13

- Agar Cerebro Corazón
- Agar Sulfito de Bismuto
- Agar Triptona Soya
- Agua Triptona
- Base de Agar Sangre
- Base de Agar Sangre Columbia
- Base de Medio Brucella
- Caldo Cerebro Corazón
- Caldo Nutriente
- Caldo Triptona Soya
- Medio Fluido Tioglicolato (USP)
- Medio Leche de Crossley
- Medio Tioglicolato

Bacillus 7

- Agar Dextrosa y Triptona
- Agar Nutriente
- Agar Triptona Soya
- Base de Agar para Bacillus cereus
- Caldo Nutriente
- Caldo Triptona Soya
- Medio Leche de Crossley

Bordetella 3

- Base de Agar Bordet-Gengou
- Base de Agar Sangre
- Base de Agar Urea

Brucella 6

- Agar Triptona Soya
- Base de Agar Sangre Columbia
- Base de Agar Urea
- Base de Medio Brucella
- Caldo Brucella
- Caldo Triptona Soya

Clostriduim 3

- Medio Fluido Tioglicolato (USP)
- Medio Tioglicolato
- Caldo Triptona Soya

Coliformes 44

- Agar Azul Bromotimol Lactosa
- Agar Cerebro Corazón
- Agar Citrato de Simmons
- Agar de MacConkey
- Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
- Agar Desoxicolato
- Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
- Agar Hierro de Kligler
- Agar Lisina y Hierro
- Agar Nutriente
- Agar para Conteo en Placas
- Agar Tres Azúcares y Hierro

Agar Triptona Soya
Agar Violeta Rojo Bilis
Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa
Agua Triptona
Base de Agar Endo
Base de Agar m-Endo LES
Base de Agar Urea
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Caldo Urea
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen SC
Base de Medio m-CromoCen AGN
Base de Medio para Descarboxilación de Aminoácidos
Caldo Bilis Verde Brillante
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Corazón
Caldo CromoCen CC
Caldo CromoCen CCL
Caldo EC
Caldo EC con MUG
Caldo Lactosado
Caldo Lauril Triptosa
Caldo Malonato Fenilalanina
Caldo Nutriente
Caldo Púrpura de MacConkey
Caldo Triptona Soya
CromoCen CC
CromoCen ECCS
CromoCen TBX
m-CromoCen CC
Medio C.L.E.D.
Medio SIM

Recuento de microorganismos viables 7

Agar Extracto de Levadura
Agar Nutriente
Agar para Conteo en Placas
Agar Triptona Soya
Base de Agar Sangre
Caldo Corazón
Caldo Triptona Soya

Recuento total 4

Agar Nutriente
Agar para Conteo en Placas

Agar Triptona Soya
Medio C.L.E.D.

Corynebacterium 7

Agar Cerebro Corazón
Agar Triptona Soya
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Corazón
Caldo Triptona Soya

E. coli O157:H7 2

Agar de MacConkey con Sorbitol
CromoCen ECCS

Haemophilus 4

Agar Triptona Soya
Base de Agar GC
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia

Lactobacillus y Leuconostoc 7

Agar Leche
Agar para Conteo en Placas
Agar Triptona Soya
Base de Agar MRS
Base de Caldo MRS
Caldo Triptona Soya
Medio Universal para Cerveza

Leptospira 1

Base de Medio para Leptospira F

Listeria 9

Agar Cerebro Corazón
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Agar Urea
Base de Caldo Rojo Fenol
Caldo Cerebro Corazón
Medio MR-VP

Mohos y Levaduras 17

Agar Cerebro Corazón
Agar de Czapek-Dox (Modificado)
Agar Dextrosa de Sabourad
Agar Dextrosa Sabouraud de Emmons
Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)
Agar Extracto de Levadura
Agar Extracto de Malta
Agar Malta
Agar Maltosa de Sabouraud
Agar Papa y Dextrosa
Agar Triptona Soya
Base de Medio CromoCen CND-C
Base de Medio CromoCen CND-F
Caldo Cerebro Corazón
Caldo de Czapek-Dox (Modificado)
Caldo Triptona Soya
Medio Líquido de Sabouraud

Mycobacterium 1

Base de Agar Bordet-Gengou

Micoplasma 2

Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia

Neisseria 10

Agar Cistina Tripticasa
Agar de Mueller-Hinton
Agar Triptona Soya
Base de Agar GC
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Caldo Rojo Fenol
Caldo de Mueller-Hinton
Medio Transporte de Cary-Blair
Medio Transporte de Stuart (Modificado)

Pasteurella y Yersinia 11

Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Desoxicolato y Citrato
Agar Hierro de Kligler
Agar S.S.
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya

Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Agar Selectivo para Yersinia
Base de Agar Urea
Base de Caldo Urea

Proteus 16

Agar Citrato de Simmons
Agar de MacConkey
Agar Fenilalanina
Agar Hierro de Kligler
Agar Nutriente
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Agar Urea
Base de Caldo Urea
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Lisina para Descarboxilasa
Caldo Nutriente
Caldo Triptona Soya
Medio C.L.E.D.

Pseudomonas 12

Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya
Base de Agar Cetrimida
Base de Agar Sangre
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Medio CromoCen AE
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio m-CromoCen AGN
Caldo Asparagina
Caldo Cerebro Corazón
Caldo Triptona Soya

Salmonella y Shigella 34

Agar Citrato de Simmons
Agar de MacConkey
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Desoxicolato
Agar Desoxicolato y Citrato
Agar Entérico de Hektoen

Agar Hierro de Kligler
Agar Lisina y Hierro
Agar S.S.
Agar S.S. (Modificado)
Agar Sulfito Bismuto
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Verde Brillante
Agar Verde Brillante Modificado
Agar X.L.D.
Agua Triptona
Base de Agar Endo
Base de Agar Urea
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Caldo Selenito
Base de Caldo Tetrationato
Base de Caldo Urea
Base de Medio CromoCen AGN
Base de Medio CromoCen SALM
Base de Medio CromoCen SC
Caldo Cerebro Corazón
Caldo GN
Caldo Lactosado
Caldo Lisina para Descarboxilasa
Caldo Malonato Fenilalanina
Caldo Muller-Kauffmann Tetrationato-Novobiocina
Caldo Rappaport-Vassiliadis
Caldo Selenito Cistina
CromoCen ECCS

Staphylococcus 13

Agar Bilis Esculina
Agar Bilis Esculina Azida
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Manitol Salado
Agar Triptona Soya
Base de Agar Baird-Parker
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Medio Cromocen CGP
Caldo Nutriente
Caldo Triptona Soya
m-Medio de Chapman

Streptococcus y Enterococcus (cocos Gram-positivos) 20

Agar Cerebro Corazón
Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal
Agar Dextrosa y Triptona
Agar Slanetz y Bartley
Agar Triptona Soya
Base de Agar Sangre
Base de Agar Sangre Columbia
Base de Caldo Rojo Fenol
Base de Medio CromoCen CGP
Caldo Azida Dextrosa
Caldo Cerebro Corazón
Caldo de MacConkey
Caldo Etil Violeta Azida
Caldo Nutriente
Caldo Triptona Soya
Caldo Triptosa Fosfato
CromoCen ENT
m-CromoCen ENT
Medio Transporte de Stuart (Modificado)
m-Medio Azida

Vibrio 5

Agar Citrato de Simmons
Agar Tres Azúcares y Hierro
Agar Triptona Soya
Caldo Triptona Soya
Medio T.C.B.S.

ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS BioCen PARA MICROBIOLOGÍA

La calidad de los productos BioCen para microbiología se garantiza siempre que los mismos sean conservados según las especificaciones de almacenamiento, teniendo en cuenta los factores que más afectan a este tipo de producciones, como son la temperatura, humedad e incidencia de la luz, entre otros.

El período de vida útil de los ingredientes, bases nutritivas y medios de cultivo es el indicado en la etiqueta, y representa la garantía de calidad que brinda BioCen como fabricante, siempre que se hayan manipulado correctamente durante su empleo. No obstante, se deben seguir algunas indicaciones generales o adicionales, tanto para los medios envasados como para los preparados finalmente en el laboratorio.

Productos deshidratados en polvo

Humedad

Los productos contenidos en frascos plásticos sellados no corren riesgo alguno de adquirir humedad del medio ambiente. Sin embargo, una vez abiertos debe evitarse la exposición a ambientes con una humedad elevada. Se recomienda igualmente, para estos casos, no conservar los medios en locales donde se trabaje a temperaturas elevadas y pueda ocurrir condensación de la humedad ambiental.

Temperatura

Los productos deshidratados en polvo contenidos en frascos plásticos, en general, deben conservarse a temperatura de 15 a 30 °C.

Luz

Se debe evitar la incidencia directa de la luz sobre los frascos. Se deben extremar las medidas para evitar la exposición directa y prolongada a la luz de los frascos que hayan sido abiertos.

Tiempo de almacenamiento

El período de almacenamiento de los productos en polvo será el indicado en la etiqueta del frasco.

Medios preparados

Contaminación

Los medios estériles deben ser distribuidos en condiciones asépticas para protegerlos de la contaminación microbiana.

Temperatura

Una vez preparados y distribuidos los medios de cultivo deben mantenerse, de no existir otras indicaciones, a temperatura de 2 a 8 °C para evitar las pérdidas de humedad y la degradación química.

Luz

Los medios preparados son muy sensibles a la luz, por lo tanto, debe evitarse cualquier exposición a la misma.

Tiempo de almacenamiento

El período de almacenamiento de los medios preparados debe fundamentarse en la observación y verificación en el laboratorio. Se recomienda la valoración de las pérdidas de humedad que no deben exceder el 5 %.

CALIDAD DE LOS PRODUCTOS BioCEN PARA MICROBIOLOGÍA

La calidad de los productos para microbiología BioCen está garantizada por un Sistema de Gestión de la Calidad correctamente diseñado, fruto de la Política de Calidad de la institución y que cumple con los requisitos de las normas ISO 9001:2015.

Un componente fundamental de este sistema es el Aseguramiento de la Calidad que comprende, en primera instancia, un riguroso esquema de investigación-desarrollo teniendo en cuenta las Buenas Prácticas de Laboratorio y que culmina con la introducción del producto en la industria y su Registro Sanitario como diagnosticador; en segundo lugar, un proceso productivo que cumple con las Buenas Prácticas de Manufactura y que comienza con el análisis riguroso de las materias primas que BioCen adquiere para la producción de proveedores establecidos, de gran experiencia; el control estricto de los puntos críticos del proceso productivo; el control riguroso de los índices físico-químicos, microbiológicos y funcionales del producto terminado y por último la vigilancia posterior a la venta.

La adecuada y constante preparación del personal, el sistema de inspección de calidad, las auditorías externas, la documentación y la evaluación externa de los productos en una amplia red de centros asistenciales de salud, institutos de investigación y entidades docentes, hacen que los medios de cultivo, las bases nutritivas y los demás productos BioCen para microbiología tengan una calidad competitiva en el mercado internacional.

BioCen garantiza la calidad de sus productos, siempre que los mismos sean manipulados según las instrucciones y recomendaciones que aparecen, tanto en la etiqueta del producto, como en este manual.

BioCen le ofrece información al usuario para la realización de un control de la calidad previo al empleo de sus medios de cultivo, bases nutritivas y demás ingredientes. Esta información está recogida en la descripción del propio producto (características organolépticas, pH) y en el acápite “Control de la Calidad” que acompaña la descripción de cada medio en este manual.

DESCRIPCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO BioCEN

DESHIDRATADOS

AGAR AZUL BROMOTIMOL LACTOSA

CÓDIGO: 4380

Medio para la diferenciación de microorganismos, especialmente las enterobacterias, por su capacidad de fermentar la lactosa.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	3.5
Hidrolizado enzimático de caseína	3.5
Lactosa	15.5
Cloruro de sodio	5.0
Azul de bromotimol	0.04
Agar	13.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 40.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Azul Bromotimol Lactosa contiene en su formulación la lactosa y el indicador azul de bromotimol. Como resultado del proceso de fermentación de la lactosa por las bacterias lactosa-positivas se produce el ácido, provocando el cambio del color del medio a amarillo, debido a la presencia del indicador. Por otra parte, la alcalinización del medio por las bacterias no fermentado-ras de la lactosa provoca el cambio del color del medio a azul¹.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	amarillo
CONTROL NEGATIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	azul

Referencias

1. Villegas Blanco MF, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, Ortega González M, Rodríguez Rodríguez A, Govín Raveiro Y. 2006. Desarrollo y evaluación a nivel industrial del Agar Azul Bromotimol Lactosa en BioCen. XXIII Conferencia Científica del CI-MEQ. XVIII Jornada de Enfermería y Tecnólogos de la Salud.
2. Villegas Blanco MF. Evaluación del Agar Azul Bromotimol Lactosa introducido en BioCen con cepas de referencia. Rev Cub de Investigaciones Biomédicas 2009; 28(1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu>.

AGAR BILIS ESCULINA

CÓDIGO: 4468

Medio utilizado para el aislamiento e identificación presuntiva de enterococos.

Formulación	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de carne	3.0
Esculina	1.0
Bilis de buey	20.0
Citrato férrico	0.5
Agar	15.0

pH 6.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 44.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir. El medio pre-
parado es ámbar azulado opalescente. Dispensar en placas para su solidificación, luego de enfriarse.

Descripción

El uso del agar bilis esculina fue descrito por Swan¹quien concluyó que el uso de este medio es una alternativa válida a la clasifi-
cación según Lancefield, para reconocer enterococos (estreptococos del grupo D). Facklam² confirmó su utilidad para diferenciar
estreptococos de grupo D de otros estreptococos. Otros autores han empleado este medio para identificar el grupo *Klebsiella-En-
terobacter-Serratia* presuntivamente entre otras enterobacterias³-⁵.

En este medio, los enterococos hidrolizan el glicósido esculina, obteniendo dextrosa y esculetina como productos finales. La
esculetina forma un complejo de color carmelita oscuro a negro, con los iones de hierro presentes en el medio. Gran parte de la
microbiota acompañante se encuentra inhibida debido a la bilis de buey contenida en la formulación. La propiedad de los ente-
rococos de hidrolizar la esculina y ser tolerantes a la bilis ha sido ampliamente empleada como herramienta para identificar pre-
suntivamente este grupo de microorganismos⁶,⁷. En el medio de cultivo, la peptona bacteriológica y el extracto de carne, aportan
los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano.

El medio se incuba durante 24 h a temperatura de 35 ± 2 °C, aunque puede ser incubado hasta 72 h a 35 ± 2 °C en condiciones
de aerobiosis, en caso de ser negativo a las 24 primeras horas. De no ocurrir ennegrecimiento del medio de cultivo transcurrido
ese tiempo, se descarta la presencia de enterococos en el material de ensayo. Se considera la reacción positiva si se observa el
desarrollo de una coloración carmelita oscura a negra en la colonia y a su alrededor.

El crecimiento de enterococos puede ser optimizado añadiendo 50 mL de suero sanguíneo por cada litro de Agar Bilis Esculina,
posterior a su esterilización.

Staphylococcus aureus puede dar una reacción ligera a la hidrólisis de la esculina, al igual que algunas cepas de *Streptococcus viridans*.

Se han reportado aislamientos clínicos de cepas de *Lactococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*, los cuales muestran reacciones posi-
tivas a la hidrólisis de la esculina.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno	desarrollo de un halo de color carmelita oscuro a negro
CONTROL NEGATIVO		
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	inhibición parcial o total	incoloras, si las hay

Referencias

- Swan A. 1954. J. Clin. Path. 7: 160-163.
- Facklam R. 1973. Appl. Microbiol. 26: 138-145.
- Wasilauskas B. L. 1971. Appl. Microbiol. 21: 162-163.
- Lindell S. S. and Quinn P. 1975. J. Clin. Microbiol. 1: 440-443.
- Chan P. C. K. and Porschen R. K. 1977. J. Clin. Microbiol. 6: 528-529.
- Isenberg H. D., Goldberg D. and Sampson J. 1970. Appl. Microbiol. 20: 433-436.
- Sabbaj J., Sutter V. L. and Finegold S. M. 1971. Appl. Microbiol. 22: 1008-1011.

AGAR BILIS ESCULINA AZIDA

CÓDIGO: 4457

Medio selectivo para la confirmación y enumeración rápida de enterococos mediante la técnica de filtración por membrana.

Formulación	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17.0
Peptona bacteriológica	3.0
Extracto de levadura	5.0
Esculina	1.0
Bilis de buey	10.0
Azida de sodio	0.15
Citrato férrico amónico	0.5
Cloruro de sodio	5.0
Agar	13.0

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

Suspender 54.7 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, esterilizar a 121 °C durante 15 min y distribuir. El medio preparado es ámbar azulado opalescente. Dispensar en placas para su solidificación, luego de enfriarse.

Descripción

Este medio de cultivo es el resultado de la modificación del agar bilis esculina, con el objetivo de lograr un medio más selectivo, manteniendo la propiedad de permitir un rápido crecimiento de estreptococos grupo D (enterococos). En la fórmula se agrega la azida sódica y se disminuye la concentración de bilis^{1,2}.

En este medio, la bilis de buey, inhibe el crecimiento de la flora Gram positiva exceptuando los estreptococos grupo D, y la azida sódica inhibe el desarrollo de microorganismos Gram negativos^{3,4}. La esculina se incluye en el medio debido a que ésta es hidrolizada por enterococos y algunos estreptococos, para formar esculetina y dextrosa. La esculetina reacciona con el citrato de hierro y amonio incluido en el medio para formar así un complejo de color carmelita oscuro a negro. En el medio de cultivo, la peptona bacteriológica y la triptona, aportan los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano y el cloruro de sodio ayuda a mantener el balance osmótico.

Para la confirmación de enterococos de acuerdo con la norma ISO 7899-2:2000,⁵ se transfieren desde el agar Slanetz y Bartley (cód. 4458) las membranas con las colonias ya crecidas, cuidando no invertirlas, a la placa conteniendo el medio precalentado a 44 ± 0.5 °C de agar bilis esculina azida. La incubación se realiza durante 2 h a una temperatura de 44 ± 0.5 °C, procediendo a la lectura inmediatamente. Se consideran enterococos las colonias que desarrollen un halo de color carmelita oscuro a negro alrededor de las mismas en el medio.

★ EL MEDIO CONTIENE AZIDA DE SODIO. ES TÓXICO POR INHALACIÓN E INGESTIÓN. IRRITANTE A LOS OJOS Y PARA EL SISTEMA RESPIRATORIO, MEMBRANAS MUCOSAS Y PIEL.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 20-200 UFC con respecto al Agar Triptona Soya	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
Enterococcus faecalis ATCC 29212	> 50 %	desarrollo de un halo de color carmelita oscuro a negro
Enterococcus faecium ATCC 19434	> 50 %	desarrollo de un halo de color carmelita oscuro a negro
CONTROL NEGATIVO		
Escherichia coli ATCC 25922	de inhibido a escaso (recuperación M 0,01 % para el inóculo 104 – 106 UFC/placa)	incoloras, si las hay

Referencias

1. Facklam, R.R., and M. D. Moody. 1970. Presumptive identification of group D streptococci: the bile-esculin test. Appl. Microbiol. 20: 245-250.
2. Facklam, R.R. 1973. Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological test. Appl. Microbiol. 26: 138-145.
3. Mallman, W.L. 1940. A new yardstick for measuring sewage pollution. Sewage Works J. 12: 875-878.
4. Snyder, M.L., a. Lichtein, H.C. 1940. Sodium azide as an inhibiting substance for Gram-negative bacteria. J. Infect. Dis. 67: 113-115.
5. Anonymous. 2000. Water Quality Detection and Enumeration of Intestinal enterococci Part 2 Membrane Filtration (ISO 7899-2:2000). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

AGAR CEREBRO CORAZON

CÓDIGO: 4169

Medio altamente nutritivo para el cultivo de una gran variedad de microorganismos exigentes. Al añadirle antibióticos, puede utilizarse para el aislamiento y cultivo de hongos.

Fórmula	g/L
Extracto de cerebro	2.8
Extracto de corazón	9.1
Proteosa peptona	13.2
Dextrosa	2.0
Fosfato disódico	3.3
Cloruro de sodio	6.6
Agar	10.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 47 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Cerebro Corazón es un medio recomendado para el cultivo de bacterias exigentes, tales como estreptococos, pneumococos, meningococos y otros. En los Métodos Estándar para el Examen de Aguas y Aguas Residuales¹ se recomienda añadirle líquido ascítico para el cultivo de gonococos.

Con la adición de sangre de carnero, cicloheximida, cloranfenicol y/o gentamicina se inhibe gran cantidad de bacterias y hongos, posibilitando el aislamiento de especies de hongos patógenos, tales como *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces*, *Coccidioides* y otros^{2,3}.

Además, el medio, sin la adición de sangre, se emplea para el cultivo de aerobios y para la recuperación primaria de hongos en muestras clínicas^{4,5}.

No es apropiado para el estudio de las reacciones hemolíticas, debido a que contiene dextrosa en su formulación.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. American Public Health Association, American Water Works Assiciation, Water Pollution Control Federation: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. 20th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. Howell A. 1948. Public Health Reports, 63: 173-178.
3. Creitz J R and Puckett TF. 1954. Amer. J. Clin. Path., 24: 1318-1323.
4. Forney and Miller. 1985. In Linnette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology. 4th ed. ASM, Washington, D.C.
5. Phillips and Nash. 1985. In Linnette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology. 4th ed. ASM, Washington, D.C.

AGAR CISTINA TRIPTICASA

CÓDIGO: 4494

Medio para la conservación, reacción de fermentación de hidratos de carbono y motilidad de microorganismos de difícil crecimiento.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	20.0
L-cistina	0.5
Sulfito de sodio	0.5
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.017
Agar	2.5

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 28.5 g en 900 mL de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y esterilizar a 121 °C por 15 min, enfriar hasta 45-50 °C, agregar asépticamente 100 mL de la solución del hidrato de carbono al 10 % previamente esterilizada por filtración, homogeneizar y distribuir 7 mL en tubos estériles.

Descripción

El medio de agar cistina tripticasa (CTA), que promueve el desarrollo de muchos microorganismos exigentes, ha sido durante décadas el medio recomendado para la diferenciación de gonocócicos mediante las reacciones de fermentación.¹

La reacción de motilidad se observa en aquellos microorganismos que son mótils y crecen en la zona de inoculación poniendo el medio turbio, mientras que en los no mótils la zona de inoculación permanecerá clara.²

La base nutritiva y el aminoácido incorporados aportan los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos fastidiosos.

El indicador rojo fenol cambia de color de naranja rojizo a amarillo, cuando el microorganismos utiliza el carbohidrato presente en el medio en su metabolismo, por lo que el medio se acidifica producto del proceso fermentativo.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C por un mes

Control de la Calidad

Microorganismo	Fermentación de carbohidratos		Motilidad
	Glucosa	Lactosa	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114	+	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	+	-	-

Referencias

1. Vera. 1948. J. Bacteriol. 55:531.
2. Vera and Petran.1954. Bull. Natl. Assoc. Clin. Labs. 5:90.

AGAR CITRATO DE SIMMONS

CÓDIGO: 4008

Medio para la diferenciación de enterobacterias basada en la utilización del citrato como única fuente de carbono.

Fórmula	g/L
Sulfato de magnesio	0.2
Fosfato de amonio dihidrógeno	0.2
Fosfato de amonio sódico	0.8
Citrato de sodio tribásico	2.0
Cloruro de sodio	5.0
Azul de bromotimol	0.08
Agar	15.0

pH 6.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 23 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min. Solidificar en posición inclinada.

Descripción

Este medio es fundamentalmente la forma sólida del medio que Koser¹, en 1923, desarrolló como un medio líquido constituido por sales inorgánicas, en el cual la sal de amonio es la única fuente de nitrógeno, y el citrato, la única fuente de carbono para diferenciar entre *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. Este medio presentaba, como desventaja, la falsa apariencia de crecimiento observada cuando se utilizaban inóculos grandes. Simmons², en 1926, modificó la formulación de Koser con la adición de 1.5 % de agar y azul de bromotimol. Este medio cumple con las recomendaciones de la American Public Health Association (APHA)³.

El medio también puede ser distribuido en placas, inoculando su superficie por estría. Si se distribuye en tubos, el fondo se inocula por punción y la superficie por estría. En ambos casos el medio inoculado se incuba durante 48 horas a 35 ± 2 °C.

El crecimiento positivo en el medio está dado por la utilización del citrato, lo que provoca una reacción alcalina y el cambio de color del medio de verde a azul oscuro. En caso de no utilizar el citrato el medio permanece sin cambio.

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
Citrato positivo:	Positivo:
<i>Citrobacter</i>	Medio de cultivo
<i>Enterobacter</i>	azul oscuro
<i>Salmonella</i> Paratyphi B	
<i>Salmonella</i> Enteritidis	
<i>Salmonella</i> Typhimurium	
<i>Arizona</i>	
<i>Klebsiella</i>	

Serratia

Control de la Calidad (continuación)

Microorganismo

Citrato negativo:
Shigella
Escherichia
Salmonella Typhi
Salmonella Paratyphi A

Crecimiento

Negativo o inhibido:
Medio de cultivo
verde

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo

CONTROL POSITIVO

Salmonella Typhimurium ATCC 14028
Enterobacter aerogenes ATCC 13048

Crecimiento

bueno
bueno

Color del medio

azul
azul

CONTROL NEGATIVO

Escherichia coli ATCC 25922

inhibido

verde

Referencias

1. Koser, 1923. J. Bacteriol., 8: 493.
2. Simmons JS. 1926. A Culture Medium for Differentiating Organisms of Typhoid-colon aerogenes Groups and for Isolating of Certain Fungi. J. Infect. Dis., 39: 209-241.
3. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA Inc., Washington, D.C.

AGAR DE CZAPEK-DOX (MODIFICADO)

CÓDIGO: 4055

Medio para el cultivo de hongos y bacterias capaces de utilizar el nitrato de sodio como única fuente de nitrógeno.

Fórmula	g/L
Sacarosa	30.0
Sulfato de potasio	0.35
Nitrato de sodio	2.0
Glicerofosfato de magnesio	0.5
Sulfato ferroso	0.01
Cloruro de potasio	0.5
Agar	12.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 45.4 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, mezclar bien y distribuir. Si se quiere ajustar pH del medio a 3.5, se añaden 10 mL de la solución de ácido láctico al 10 % por litro de medio asépticamente después de la esterilización.

Descripción

El Agar de Czapek-Dox (Modificado) es un medio definido y uno de los más utilizados para el cultivo general de los hongos. Contiene, como única fuente de nitrógeno, el nitrato de sodio y sacarosa, como única fuente de carbono. La utilización de glice-rofosfato de magnesio y sulfato de potasio impide la precipitación del fosfato de magnesio en la formulación original. Este medio también se utiliza satisfactoriamente para la producción de clamidosporas por Candida albicans¹.

Una vez enfriado el medio a temperatura de 50 °C, se distribuyen 12 mL del mismo en cada placa de 9 cm de diámetro. Las placas se almacenan en posición invertida y se inoculan en esta misma posición con aguja para evitar la dispersión de las esporas sobre la superficie del medio, y se incuban generalmente de 1 a 2 semanas a 25 °C en dependencia de las especies a cultivar.

Identificación de Candida albicans

Con una aguja de inocular, el medio se corta a través y en profundidad hasta la base de la placa levantando con la misma el medio a lo largo de una porción completa del corte, garantizando con esto la extensión del inóculo entre el agar y la base de la placa. Incubar durante 24 horas a 28 ± 2 °C. Examinar al microscopio estereoscópico las clamidosporas a través de la placa y alter-nativamente, después de retirar las tapas se observa la superficie del medio. Si no se ven las clamidosporas, incubar las placas durante otras 24 horas y volver a examinar.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de clamidosporas*
CONTROL POSITIVO		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno	+
CONTROL NEGATIVO		
Medio no inoculado		

***Nota:** Para la producción de clamidosporas se debe adicionar al medio durante la preparación el Tween 80 (10 mL para la preparación de 1 L).

Referencias

1. Brooks FT and Hansford CG. 1922. Mould Growths Upon Cold-store Meat. Trans. Brit. Mycol. Soc., 8: 113-142.

AGAR DE LITTMAN CON BILIS DE BUEY

CÓDIGO: 4215

Medio selectivo, que suplementado con estreptomicina, se emplea para el aislamiento primario y cultivo de hongos, especialmente dermatofitos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Dextrosa	10.0
Bilis de buey	15.0
Cristal violeta	0.01
Agar	20.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 55 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, adicionar asépticamente 30 mg de estreptomicina por mililitro de medio, mezclar bien y distribuir.

Descripción

Littman¹ desarrolló un medio selectivo para el aislamiento de hongos, especialmente dermatofitos, empleando como inhibidores selectivos de las bacterias la estreptomicina y el cristal violeta. El crecimiento de especies patógenas de hongos y las levaduras se ve favorecido por el valor neutro del pH.

La Ammerican Public Health Association ha recomendado el medio de Littman para el aislamiento de hongos patógenos².

Littman ha demostrado la factibilidad de emplear el medio en el diagnóstico clínico para la detección de hongos en heces, esputo y otras muestras clínicas, en las vías respiratorias y en tracto gastrointestinal.

Otras aplicaciones incluyen el recuento de hongos saprofiticos viables en alimentos y en el aire, así como el aislamiento de hongos.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento sin estreptomicina	con estreptomicina
CONTROL POSITIVO		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno	bueno
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	inhibido

Referencias

1. Littman. 1947. Science, 106-109.
2. American Public Health Association. 1950. Diagnostic Procedures and Reagents. 3 rd ed., APHA Inc., Washington D.C.

AGAR DE MACCONKEY

CÓDIGO: 4014

Medio diferencial para la detección, aislamiento y enumeración de bacterias coliformes y patógenos intestinales en aguas, productos lácteos y muestras biológicas.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	17.0
Proteosa peptona	3.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Cristal violeta	0.001
Rojo neutro	0.03
Agar	13.5

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

Suspender 50 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

Uno de los primeros medios para el cultivo e identificación de microorganismos entéricos fue desarrollado por MacConkey¹.

Se trata de un medio altamente selectivo y adecuado para la detección y enumeración de organismos coliformes, así como la detección y aislamiento de especies de *Salmonella* y *Shigella* en las muestras patológicas y alimenticias. La flora Gram-positiva es considerablemente inhibida por las sales biliares y el cristal violeta. El indicador de pH rojo neutro se utiliza para la comprobación de la degradación de la lactosa por los microorganismos fermentadores de la misma, lo cual, unido a la absorción de dicho indicador, proporciona un color rojo a las colonias. También puede observarse una zona de precipitado biliar, debido a la disminución localizada del pH. Los organismos no fermentadores de lactosa producen colonias incoloras y traslúcidas.

Las placas con el medio inoculado deben incubarse de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	rojo con precipitado biliar
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	bueno	incoloras

Control de la Calidad (continuación)

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL NEGATIVO <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido incoloras, si las hay	a escaso

Referencias

1. MacConkey A. 1905. Lactose-Fermenting Bacteria in Feces. J. Hyg., 5:333-378.

AGAR DE MACCONKEY CON SORBITOL

CÓDIGO: 4213

Medio diferencial para el cultivo y aislamiento de *Escherichia coli* serotipo O157:H7 asociada con las epidemias de colitis he-morrágica.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	18.5
Hidrolizado enzimático de caseína	1.5
Sorbitol	10.0
Sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.001
Agar	13.5

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

Suspender 50 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, mezclar bien y distribuir.

Descripción

Medio selectivo y diferencial para el aislamiento y desarrollo de *Escherichia coli* serotipo O157:H7, agente causal de la colitis he-morrágica y asociado estrechamente con el Síndrome Urémico Hemolítico¹.

Su formulación fue descrita por Rappaport y Hening en 1952 ², y recomendado específicamente para la detección de *Escherichia coli* O157:H7 enteropatógeno, no fermentador de sorbitol. March y Ratnam demostraron la idoneidad del medio Agar de Mac-Conkey con sorbitol para identificar *Escherichia coli* O157:H7, y comprobaron su elevada sensibilidad y especificidad³.

Las colonias de la mayoría de las especies de *Escherichia coli* se tornan de color rosa, pues fermentan el sorbitol, no ocurriendo así para *Escherichia coli* O157:H7 que desarrolla colonias incoloras.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 35150	bueno	incoloras
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	rojo
CONTROL NEGATIVO <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso	de rosa pálido a oscuras, si las hay

Referencias

1. Karmali MA, Petrie M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS and Lior H. 1985. Infect. Dis. 151. 775-782.
2. Rappaport F and Hening E. 1952. Clin. Path., 5:361.
3. March SB and Ratnam S. 1986. Clin. Microbiol., 23:869-872.

AGAR DE MACCONKEY SIN CRISTAL VIOLETA NI SAL

CÓDIGO: 4214

Medio diferencial para el aislamiento y detección de enterobacterias, enterococos y algunos estafilococos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	18.5
Hidrolizado enzimático de caseína	1.5
Lactosa	10.0
Sales biliares	5.0
Rojo neutro	0.04
Agar	12.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 47 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, mezclar bien y distribuir.

Descripción

Esta modificación del medio original de MacConkey¹ permite no sólo el aislamiento selectivo y la diferenciación de las enterobacterias, sino también el aislamiento de los estreptococos fecales, algunos estafilococos y de las especies de micobacterias. Esto se logra, eliminando de la formulación el cristal violeta y aumentando el contenido de sales biliares.

Este medio se emplea en análisis de heces fecales y muestras de orina, así como para el recuento de coliformes^{2,3}.

Las colonias de coliformes se observan de color rojo y los microorganismos entéricos que no fermentan la lactosa forman colonias transparentes o ligeramente opacas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	rojo
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	bueno	incoloras, no diseminadas
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno	rojo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	rosado
CONTROL NEGATIVO		
Medio no inoculado		

Referencias

1. MacConkey A. 1905. Lactose-Fermenting Bacteria in Feces. J. Hygiene, 5:333-378.
2. MacFaddin. 1985. Media for the Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Vol. 1. William & Wilkins, Baltimore.
3. Vestal. 1975. Procedures for the Isolation and Identification of Mycobacteria. DHEW Publications. No. 75-8230, CDC, Atlanta.

AGAR DE MUELLER-HINTON

CÓDIGO: 4013

Medio para la evaluación de la sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado ácido de caseína	17.5
Extracto nutritivo	2.0
Almidón soluble	1.5
Agar	17.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 38 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

Mueller y Hinton (1941) idearon y describieron un medio de cultivo reproducible para el aislamiento de especies patógenas de *Neisseria*¹, sin embargo, estos organismos son ahora comúnmente aislados en medios selectivos, tales como el Agar de Thayer-Martin modificado (MTM)² y el Agar de Martin-Lewis³. Posteriormente se desarrollaron numerosos procedimientos para la determinación de la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos y a los agentes quimioterapéuticos.

Bauer, Kirby y otros describieron un procedimiento estandarizado, utilizando como medio de prueba el Agar de Mueller-Hinton^{4,5} y discos de antibióticos con elevada potencia.

La técnica consiste en la inoculación de las placas de Agar de Mueller-Hinton con un inóculo estandarizado, utilizando hisopos de algodón humedecidos con la suspensión de microorganismos a estudiar y colocando cuidadosamente los discos de papel impregnados con una concentración específica de antibióticos sobre la superficie del agar, incubando posteriormente el medio de 18 a 24 horas a temperatura de 37 °C. Concluida la incubación, se miden los diámetros de las zonas de inhibición y se comparan con los requerimientos establecidos por el Comité de la Organización Mundial de la Salud sobre las Pruebas de Susceptibilidad Estandarizada⁶. Según el resultado obtenido, se califica el microorganismo como resistente, intermedio o sensible para el antibiótico que se analiza.

En esta prueba de sensibilidad se deben tener en cuenta una serie de factores que puedan influir en el resultado a obtener, tales como la calidad del medio, pH del mismo, la profundidad del agar, la potencia del disco, la concentración del inóculo, la producción de beta lactamasa por el organismo en cuestión, etc.^{4,7}.

La formulación puede ser suplementada para obtener los mejores resultados.⁸

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Diámetros de las zonas de inhibición (mm) obtenidos con cultivos de control

Agente antimicrobiano	Contenido del disco	Escherichia coli ATCC 25922	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 *
Ampicilina	10 mg	16-22	27-35	-
Tetraciclina	30 mg	18-25	24-30	-
Gentamicina	10 mg	19-26	19-27	17-23
Polimixina B	300 UI	13-19	-	-
Trimetoprim-sulfa-metoxazol	1,25/23,75 mg	23-29	24-32	-

* Pseudomonas aeruginosa debe tornar verde el medio

Agente antimicrobiano	Contenido del disco	Enterococcus faecalis ATCC 25912
Trimetoprim-sulfametoxazol	1,25/23,75 mg	≥ 20 mm

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado.

Referencias

- Mueller JH and Hinton J. 1941. A Protein-free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 48: 330-333.
- Martin, Armstrong and Smith. 1974. Appl. Microbiol., 27:802.
- Martin and Lewis. 1977. Publ. Hlth. Lab., 35:53.
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC and Turck M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. 1966. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496.
- Ryan KJ, Schoenknecht FD and Kirby WMM. 1970. Disc Sensitivity Testing., Hosp. Pract., 5: 91-100.
- World Health Organization. 1967. Present Status and Future Work. WHO Sponsored Collaborative Study, Chicago, Ill.
- Barry and Thornsberry. 1985. In Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.). Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. ASM, Washington, D.C.
- Zhurbenko R, Viera Oramas DR, Rodríguez Martínez C, Ortega Surís A. 2010. Optimización de la formulación de Agar de Mueller-Hinton. Revista CNIC Ciencias Biológicas, Número Especial, Volumen 41.

AGAR DESOXICOLATO

CÓDIGO: 4002

Medio diferencial para el aislamiento de bacterias coliformes en leche y productos lácteos, y ligeramente selectivo para el aislamiento de patógenos entéricos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Lactosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Desoxicolato de sodio	1.0
Citrato férrico	1.0
Citrato de sodio	1.0
Fosfato dipotásico	2.0
Rojo neutro	0.03
Agar	15.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 45 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y distribuir. No esterilizar en autoclave, ni refundir.

Descripción

El medio Agar Desoxicolato fue desarrollado por Leifson en 1935 como un medio diferencial en placas¹. Esta formulación ha sido modificada a través de los años^{2,3}. El contenido de desoxicolato y citrato en el medio garantiza la inhibición de organismos Gram-positivos y posibilita, a su vez, el buen desarrollo de los coliformes. La degradación de la lactosa hasta ácido provoca un viraje del color del indicador rojo neutro hasta rojo en las colonias, y la aparición simultánea de un halo de precipitado de ácido biliar. Los microorganismos no fermentadores de la lactosa forman colonias incoloras. Dentro de este grupo se encuentran la mayoría de los patógenos intestinales, de los cuales los más importantes son *Salmonella* y *Shigella*. Se recomienda la utilización de este medio, conjuntamente con otro medio en placas, para el mismo propósito.

El medio inoculado se incuba de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
Escherichia coli ATCC 25922	bueno	rosa con precipitado biliar
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras

Control de la Calidad (continuación)

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL NEGATIVO <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso	incoloras, si las hay

Referencias

1. Leifson. 1935. J. Pathol. Bacteriol., 40:581.
2. Holt-Harris and Teague. 1916. J. Infect. Dis., 18:596.
3. Hajna and Damon. 1956. Appl. Microbiol., 4:341.

AGAR DESOXICOLATO Y CITRATO

CÓDIGO: 4168

Medio selectivo para el aislamiento de patógenos entéricos, especialmente *Salmonella* y *Shigella*.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto nutritivo	5.0
Lactosa	10.0
Citrato sódico	5.0
Tiosulfato de sodio	5.0
Citrato férrico	1.0
Desoxicolato de sodio	2.5
Rojo neutro	0.025
Agar	15.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 48.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y distribuir. No esterilizar en autoclave. Evitar el sobrecalentamiento durante la preparación.

Descripción

Este medio es recomendado para el aislamiento de patógenos entéricos, especialmente *Salmonella* y *Shigella*, constituye una modificación de la formulación original de Leifson¹, modificado por Hynes (1942)². Se considera un medio altamente selectivo ya que contiene concentraciones altas de desoxicolato y citrato, lo cual reprime totalmente la flora Gram + e inhibe los coliformes. Se le puede añadir sacarosa en una concentración del 1 %, tal como propusieron Holt-Harris y Teague³, para permitir el aislamiento de coliformes, los cuales fermentan la sacarosa más fácil que la lactosa.

La selectividad de este medio permite el uso de inóculos bastantes abundantes sin peligro de desarrollo de otros microorganismos, aunque ciertas cepas de coliformes pueden persistir en el mismo.

El Agar Desoxicolato y Citrato constituye un medio menos inhibidor en comparación con otros de igual propósito, por lo que es utilizado a menudo preferiblemente para aislar *Shigella* y no *Salmonella*⁴.

La degradación de la lactosa da lugar a una acidificación del medio alrededor de las colonias. Este cambio de pH hace que el indicador rojo neutro cambie a rojo y que la bilis precipite. Las colonias de los microorganismos lactosa-negativos son incoloras. La reducción del citrato férrico-amónico a sulfuro de hierro, por aquellos microorganismos que producen H₂S, provoca el ennegrecimiento de la parte central de la colonia.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	de incoloras a ligeramente opacas con punto central negro
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	bueno	de incoloras a rosadas pálidas
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	inhibido	

Referencias

1. Leifson E. 1935. New culture media based on sodium deoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Path. Bact., 40: 581-599.
2. Hynes M. 1942. The isolation of intestinal pathogens by selective media. J. Path. Bact., 54: 193-207.
3. J. Infect. Dis. 1916. 18: 596.
4. Fricker CR. 1987. J. Appl. Bact. 63: 99-116.

AGAR DEXTROSA DE SABOURAUD

CÓDIGO: 4018

Medio para el cultivo de hongos filamentosos y levaduras.

Fórmula	g/L
Peptona micológica	10.0
Dextrosa	40.0
Agar	15.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 65 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y esterilizar a 121 °C por 15 min. Evite un calentamiento en exceso que podría dar lugar a un medio de agar más blando.

Descripción

Este medio fue desarrollado por Sabouraud para el cultivo de dermatofitos¹ debido al bajo valor de su pH (aproximadamente 5.6). Este se utiliza para el cultivo de hongos, especialmente dermatofitos, y es ligeramente inhibitorio para los contaminantes bacterianos en especímenes clínicos^{2,3,4}. Se recomienda por la United States Pharmacopoeia (USP) XXII en los ensayos de límites microbianos para el conteo total de mohos y levaduras⁵.

Frecuentemente el Agar Dextrosa de Sabouraud es usado con antibióticos para la inhibición de los gérmenes acompañantes de los hongos patógenos en el material contaminado.

El medio inoculado se incuba como mínimo durante 3 días a 25 ± 2 °C. No sellar las placas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Sabouraud. 1892. Ann. Dermatol. Syphil., 3: 1061.
2. Ajello Georg, Kaplan and Kaufman. 1963. CDC Laboratory Manual for Medical Mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Govt. Printing Office, Washington, D.C.
3. Roberts, Goodman, Land, Larsh and McGinnis. 1985. In Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.). Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. ASM, Washington, D.C.
4. Emmons, Binford, Utz and Kwon-Chung. 1977. Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
5. The United States Pharmacopeia, 21 st rev. 1985. U.S. Pharmacopeia Convention, Rockville, Md.

AGAR DEXTROSA SABOURAUD DE EMMONS

Código: 4396

Medio para el aislamiento, cultivo y mantenimiento de mohos y levaduras patógenos y no patógenos.

Fórmula	g/L
Peptona micológica	10.0
Dextrosa	20.0
Agar	17.0

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 47 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y esterilizar a 118 °C por 15 min. Evitar el sobrecalentamiento.

Descripción

Agar Dextrosa de Sabouraud fue desarrollado para el cultivo de dermatofitos¹ debido al bajo valor de su pH (aproximadamente 5.6).

Esta fórmula fue modificada por Emmons², quien redujo el contenido de dextrosa a 20 g/L y aumentó el valor del pH a 6,9 ± 0,2. Estas condiciones permiten la mejor recuperación de los hongos.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
Candida albicans ATCC 10231	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Sabouraud. 1892. Ann. Dermatol. Syphil., 3: 1061.
2. Emmons, Binford, Utz and Kwon-Chung. 1977. Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.

AGAR DEXTROSA Y TRIPTONA

CÓDIGO: 4101

Medio para la detección y enumeración de microorganismos aerobios mesófilos y termófilos en productos alimenticios.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Dextrosa	5.0
Púrpura de bromocresol	0.04
Agar	12.0

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 27 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El medio Agar Dextrosa y Triptona se desarrolló para la determinación de organismos termófilos “acidificantes” asociados con el deterioro de productos alimenticios¹.

Se recomienda su uso, además, en los Métodos Estándar para el examen de productos lácteos, como medio de siembra para organismos termófilos y para el recuento en placa de aerobios mesófilos o termófilos en agentes edulcorantes utilizados en postres congelados².

La Asociación Nacional de Conserveros de los Estados Unidos lo recomienda para el conteo total y de esporas de bacterias termófilas en azúcares y almidones³.

Es indicado por la American Public Health Association para el recuento de bacterias termófilas en cereales y sus productos, frutas desecadas, vegetales y especies⁴.

Su uso se extiende al examen de alimentos enlatados de pH bajo o medio, para la detección de organismos termófilos, aerobios mesófilos y anaerobios facultativos⁵.

Los nutrientes en este medios son proporcionados por el hidrolizado enzimático de caseína y la dextrosa, los cuales son ricos en fuentes de energía. El púrpura de bromocresol es incorporado al medio como un indicador de pH.

El modo de uso del Agar Dextrosa y Triptona puede variar en dependencia de la muestra a tratar y el propósito de la investigación⁶. Pero para la enumeración de organismos mesófilos y termófilos se preparan diluciones seriadas de las muestras a ensayar y se inocula junto con la adición del medio estéril en las placas estériles. La incubación se realiza a 32 °C por 72 h para los mesófilos y para los termófilos, a 55 °C por 48 h, con la precaución de que sea en un ambiente húmedo para impedir que el medio se seque.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Color del medio
CONTROL POSITIVO		
Bacillus subtilis ATCC 6633	bueno	violeta para colonias superficiales y halo pequeño amarillo alrededor de colonias dentro del medio de cultivo
Bacillus stearothermophilus ATCC 7953	bueno	amarillo
Escherichia coli ATCC 25922	bueno	amarillo
CONTROL NEGATIVO		
Medio no inoculado		

Referencias

1. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 1948. 9th ed., American Public Health Assoc., Inc., Washington, D.C.
2. Halden J. 1957. Am. Soc. Sugar Beet Technol. 9:33.
3. Laboratory Manual for Food Canners and Processors. 1968. Vol. 1. p. 13. National Canners Association.
4. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 1976, American Public Health Assoc., Inc., Washin-gton, D.C.
5. Baumgartner JG and Hersom AC. 1956. in Canned Foods, 4th ed., Churchill Ltd., pp. 229-230, 247.
6. Thompson and Stevenson. 1984. In Speck (ed), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 2 nd. ed. APHA, Washington, D.C.

AGAR ENTERICO DE HEKTOEN

CÓDIGO: 4216

Medio selectivo y diferencial para el cultivo y aislamiento de microorganismos entéricos Gram-negativos en muestras clínicas y no clínicas.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	12.0
Extracto de levadura	3.0
Lactosa	12.0
Sacarosa	12.0
Salicina	2.0
Sales biliares	9.0
Citrato férrico amónico	1.5
Tiosulfato de sodio	5.0
Fucsina ácida	0.1
Cloruro de sodio	5.0
Azul de bromotimol	0.065
Agar	14.0

pH 7.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 75.7 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, mezclar bien y distribuir. No esterilizar en autoclave.

Descripción

King y Metzger^{1,2} desarrollaron en 1967 este medio con el objetivo de aumentar la recuperación de *Shigella* y *Salmonella* en los laboratorios clínicos. Con este fin, aumentaron el contenido de peptona y carbohidratos con respecto a las formulaciones de otros medios³ y de esta manera disminuyeron el efecto inhibidor que sobre estos organismos ejercen las sales biliares y los indicadores incluidos como supresores de la microflora acompañante.

La diferenciación de los especímenes de interés se logra con el empleo del azul de bromotimol y la fucsina ácida que le brindan a las colonias lactosa-positivas coloraciones diferentes a las lactosa-negativas. La especificidad en la identificación de los patógenos aumenta con la inclusión de la sacarosa y la salicilina, carbohidratos más fácilmente degradables que la lactosa.

Por último, la producción de gas sulfhídrico es detectable gracias a la presencia del tiosulfato de sodio y citrato férrico amónico, que le brindan a las colonias H₂S-positivas una coloración negra.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	diferentes tonalidades de verde - azul con H ₂ S
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno	azul
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	rojo naranja a amarillo rodeado de una zona de precipitado biliar
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso	rojizo

Referencias

1. King S and Metzger WJ. 1968. A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens. I. Hektoen Enteric Agar. Appl. Microbiol., 16: 557-578.
2. King S and Metzger WJ. 1968. A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens. II. Comparison of Hektoen Enteric Agar with SS- and EMB-Agar. Appl. Microbiol., 16: 579-581.
3. Taylor WI and Schelhart D. 1971. Isolation of Shigellae, VIII. Comparison of Xylose Lysine Deoxycolate Agar, Hektoen Enteric Agar, Salmonella-Shigella Agar, and Eosin Methylene Blue Agar with Stool Specimens. Appl. Microbiol., 21: 32-37.

AGAR EOSINA AZUL DE METILENO (MODIFICADO)

CÓDIGO: 4108

Medio ligeramente selectivo para el aislamiento y diferenciación de enterobacterias.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Lactosa	10.0
Fosfato dipotásico	2.0
Eosina Y	0.4
Azul de metileno	0.065
Agar	15.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 37.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min. Enfriar hasta 50-60 °C, agitar vigorosamente para oxidar el azul de metileno y lograr la distribución homogénea del precipitado, y distribuir.

Descripción

El medio Eosina Azul de Metileno (Modificado) se emplea para el aislamiento, cultivo y diferenciación de bacilos entéricos Gram-negativos de muestras clínicas y de otra índole y su formulación responde a la recomendada por la American Public Health Association¹.

Varios autores han reportado el empleo del medio para la identificación de *Candida albicans* en material clínico tales como heces fecales, secreciones orales y vaginales, uñas, esputo, entre otras^{2,3}, y para la detección de *Staphylococcus coagulasa* positivos^{3,4}.

El medio contiene eosina Y y azul de metileno ejercen una acción inhibitoria limitada sobre las bacterias Gram-positivas y actúan como indicadores de la fermentación de la lactosa. De esta manera, los organismos coliformes se diferencian por la formación de colonias de 2 a 3 mm de diámetro, de color púrpura oscuro en el centro y brillo metálico. Las colonias de *Shigella* y *Salmonella* son incoloras o poseen una coloración ligeramente ámbar transparente. El *Enterobacter aerogenes*, se revela con la formación de colonias mucoides de 4 a 5 mm de diámetro, elevadas, de color rosado carmelitoso.

Los *Streptococcus* y *Staphylococcus*, levaduras y otras bacterias Gram-positivas pueden crecer en forma de pequeñas colonias incoloras y puntuales. Otras bacterias Gram-negativas no fermentadoras de lactosa pueden igualmente crecer en el medio.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Características de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	colonias con brillo metálico verdoso a la luz reflejada, con centro oscuro en la luz transmitida
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	colonias con el centro carmelitoso en la luz transmitida, sin brillo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	pequeñas, como punta de un alfiler, incoloras
CONTROL NEGATIVO		
Medio no inoculado		

Referencias

1. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. 20th ed., American Public Health Assoc., Washington D.C.
2. Weld JT. 1953. Arch. Dermat. Syph., 67, 5: 473-478.
3. Vogel RA and Moses MR. 1957. Am. J. Clin. Path., 28: 103-106.
4. Menolasino NJ, Grives BP. 1960. J. Lab. Clin. Med., 56: 908-910.

AGAR EXTRACTO DE LEVADURA

CÓDIGO: 4100

Medio nutritivo para el recuento de microorganismos en aguas.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Agar	15.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 23 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Extracto de Levadura fue desarrollado por Windle Taylor para el recuento de microorganismos tales como bacterias, mohos y levaduras en aguas¹.

En el medio, las colonias de organismos mesófilos se cuentan pasadas las 24 h de incubación a 35 °C y las demás colonias se cuentan por separado, después de incubar las placas por 3 días a 20-22 °C².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	bueno
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno

CONTROL NEGATIVO:

Medio no inoculado

Referencias

1. Windle Taylor E. 1958. The examination of Waters and Water Supplies, 7th ed., Churchill Ltd., pp. 394-398 and 778.
2. DHSS. 1982. Repport 71, The Bacteriological Examination of Drinking Water Supplies, HMSO, London, pp. 54-55.

AGAR EXTRACTO DE MALTA

CÓDIGO: 4105

Medio para la detección, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos.

Fórmula	g/L
Extracto de malta	30.0
Peptona de soya	3.0
Agar	15.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 48 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar en condiciones moderadas a 115-121 °C por 10 min. Evitar el sobrecalentamiento.

Descripción

En el medio Agar Extracto de Malta el crecimiento de los mohos y levaduras se favorece gracias al bajo valor del pH del medio y la presencia de los nutrientes. No obstante, si se requiere suprimir el crecimiento de las bacterias para lograr un mejor conteo de hongos, se recomienda acidificar el medio hasta pH 3.5.

El crecimiento de las colonias de mohos y levaduras se debe observar después de incubar las placas durante 48-72 horas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO:	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno

CONTROL NEGATIVO:

Medio no inoculado

Referencias

1. Zhurbenko R y otros. 1996. Desarrollo de Medios de Cultivo para Microbiología. Segundo Taller Nacional de Medios de Cultivo. BioCen, La Habana, Cuba.

AGAR FENILALANINA

CÓDIGO: 4449

Medio para el cultivo y diferenciación de especies de *Proteus* y *Providencia* de otras especies de enterobacterias, basado en su capacidad de desaminar la fenilalanina.

Fórmula	g/L
Extracto de levadura	3.0
Fosfato dipotásico	1.0
Cloruro de sódio	5.0
DL-fenilalanina	2.0
Agar	12.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 23 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en tubos. Esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La fórmula del medio Agar Fenilalanina constituye una modificación, realizada por Ewing y colaboradores (1957)¹, de la formulación original de Buttiaux y colaboradores en 1954². Previamente a esto, Henrickson había demostrado que *Proteus* spp. eran capaces de transformar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico³. Por otra parte, Singer y Volcani⁴, Hamida y LeMinor⁵, entre otros, ya habían estudiado este tipo de reacción, destacando su utilidad e importancia en el género *Enterobacteriaceae*.

El medio basa su funcionamiento en la desaminación oxidativa del aminoácido fenilalanina, catalizada por la enzima fenilalanina deaminasa (flavoproteína), para producir ácido fenilpirúvico y amoníaco. La presencia del ácido fenilpirúvico se demuestra con la adición del reactivo cloruro férrico (10 %), con el cual se forma un quelato de color verdoso entre el ácido fenil pirúvico y los iones Fe3+. Las especies de *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* reaccionan positivamente ante este sustrato⁶. El extracto de levadura es capaz de promover el crecimiento adecuado de todos los microorganismos. El medio además muestra la producción de pigmentos de algunos microorganismos, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens*.

El medio se incuba durante 24 h a temperatura de 35 ±2 °C. La lectura del medio se realiza añadiendo 2-3 gotas de la solución de cloruro férrico (10 %), esperando unos segundos y observando la aparición de una coloración verdosa en la pendiente del medio, indicativa de respuesta positiva.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color del medio en la pendiente
CONTROL POSITIVO <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	bueno	verde
CONTROL NEGATIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	incoloro

Referencias

- Ewing, Davis and Reavis. 1957. Public Health Lab. 15: 153.
- Buttiaux, Osteux, Fresnoy and Moriamez. 1954. Ann. Inst. Pasteur Lille. 87: 375.
- Henrikson. 1950. J. Bacteriol. 60: 225.
- Singer and Volcani. 1955. J. Bacteriol. 69: 303.
- Hamida and LeMinor. 1956. Ann. Inst. Pasteur. 90: 671.
- Holt, Krieg, Sneath, Staley and Williams (ed.). 1994. Bergey’s Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.

AGAR GELATINA

CÓDIGO: 4363

Medio destinado para la detección de la actividad hidrolítica de la gelatina de los microorganismos contaminantes de las aguas y los alimentos.

Fórmula	g/L
Extracto de levadura	10.0
Extracto nutritivo	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Gelatina	10.0
Agar	15.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 50 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa. Esterilizar a 121 °C por 15 min. Mezclar bien y distribuir.

Descripción

Agar gelatina se emplea en la determinación del número total de Gérmenes en aguas, con la ventaja que permite detectar aquellos microorganismos que tienen la capacidad de hidrolizar la gelatina. La transparencia del medio ofrece como ventaja una mayor facilidad para la lectura de las placas.

La gelatina presente en calidad de nutriente es utilizada por algunos microorganismos, tales como *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia odorifera* y *Serratia marcescens*, entre otros.

Las placas se inoculan empleando básicamente muestras diluidas, y realizando el recuento una vez transcurrido el tiempo de incubación. Para definir si hay presencia de organismos capaces de utilizar la gelatina presente, se adiciona en la superficie de la placa una solución de ácido tricloroacético al 30 % y aparece una zona clara transparente alrededor de las colonias¹, lo cual revela la presencia de proteasas microbianas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Hidrólisis de la gelatina
CONTROL POSITIVO		
<i>Aeromonas</i> spp.	Bueno	+
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 23211	Bueno	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bueno	-

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Pitt T L and Dey D. 1970. A method for the detection of gelatinase production by bacteria. J. Appl. Bact. 33, 687.

AGAR HIERRO DE KLIGLER

CÓDIGO: 4012

Medio para la diferenciación e identificación de enterobacterias por la fermentación de dextrosa y lactosa, y la producción de sulfuro de hidrógeno.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	15.0
Proteosa peptona	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
Lactosa	10.0
Tiosulfato de sodio	0.3
Sulfato ferroso	0.2
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.024
Agar	10.5

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 50 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min. Solidificar en posición inclinada para obtener una pendiente de fondo profundo.

Descripción

Russell¹ en 1911 describió un nuevo medio en tubo que contenía 2 azúcares para el aislamiento del bacilo tifoide en orina y heces. En 1917 Kligler² desarrolló un medio simple con acetato de plomo para la diferenciación del grupo tifoide-paratifoide.

Posteriormente, Kligler evaluó el medio de cultivo usado para el aislamiento y diferenciación de bacilo tifoide, de la disentería y otros³, combinado con el medio de Russell. Bailey y Lacey sustituyeron el indicador de pH de Andrade, utilizado anteriormente, por el rojo fenol⁴.

El Agar Hierro de Kligler combina los principios de Russell de un agar con dos azúcares, con el sulfato ferroso y con el tiosulfato de sodio como indicador para detectar la producción de H₂S.

Este medio se recomienda para la identificación de las colonias picadas de los medios en placas tales como el Agar de Mac-Conkey (cód. 4014), Agar S.S. (cód. 4021) y otros, seleccionando colonias bien aisladas y tomando solamente la parte central de la misma.

Los microorganismos que fermentan la dextrosa producen un fondo amarillo y una pendiente roja, en tanto, los que fermentan la lactosa, cambian el color del medio para amarillo.

La producción de H₂S se manifiesta por un ennegrecimiento del medio.

Respuesta típica del cultivo en el medio:

Microorganismo	Fondo	Pendiente	Gas	H ₂ S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	A	A	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	A	A	+	-
<i>Escherichia coli</i>	A	A	+	-
<i>Proteus vulgaris</i>	A	NC	+	+
<i>Morganella morganii</i>	A	NC	+/-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC	-	-
<i>Salmonella</i> Typhi	A	NC ó R	-	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium	A	NC ó R	+	+
<i>Salmonella</i> Enteritidis	A	NC ó R	+	+
<i>Salmonella</i> Pullorum	A	NC ó R	+	+

A = ácido (amarillo) **NC** = no cambio **R** = alcalino (rojo)
(+) = positivo **(-)** = negativo

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Fondo	Pendiente	Gas	H ₂ S
CONTROL POSITIVO				
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	A	A	+	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	A	NC ó R	+	+
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	A	R	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	R	R	-	-

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Russell FF. 1911. The Isolation of Typhoid Bacilli from Urine and Feces with Description of a New Double Sugar Tube Medium. J. Med. Res., 25: 217-229.
2. Kligler IJ. 1917. A Simple Medium for the Differentiation of Members of the Typhoid-Paratyphoid Group. Am. J. Pub. Hlth., 7: 1042-1044.
3. Kligler I J. 1918. Modifications of Culture Media Used in the Isolation and Differentiation of Typhoid, Dysentery and Allied Bacilli. J. Exper. Med., 28: 319-322.
4. Bailey, Sadie F y Lacey GR. 1927. A Modification of the Kligler Lead Acetate Medium. J. Bact., 13: 182-189.

AGAR LECHE

CÓDIGO: 4165

Medio para el recuento de microorganismos viables en leche, productos lácteos y aguas.

Fórmula	g/L
Leche en polvo descremada	1.0
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Agar	15.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 24 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

Este medio es considerado altamente nutritivo, pues se encuentra enriquecido con sólidos de leche, lo cual garantiza que los organismos a crecer, encuentren las condiciones de vida naturales características de la leche.

El Agar Leche se recomienda para la comprobación del contenido en gérmenes aerobios en leche, productos lácteos, agua, helados y otros materiales. Este medio corresponde a las recomendaciones de la EUROGLACE (Asociación de la Industria de Heladería de la Comunidad Económica Europea) para la investigaciones de helados^{1,2}.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Streptococcus lactis</i> ATCC 11454	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Klose J. 1968. Harmonisierung des Speiseeisrechtes in der Ewg. Subwaren, 14: 778-780.
2. Klose, J. 1968. Entwurf einer Richtlinie zur Angleichung der Rechtsvorschriften fur Speiseeis in den Mitgliedsstaaten der EWG. Neufassung des Anhangs III zum Entwurf vom 19. 12. 1966.- Subwaren, 14: 780-782.

AGAR LISINA Y HIERRO

CÓDIGO: 4010

Medio diferencial para la detección de enterobacterias, especialmente *Salmonella* y *Arizona*, basada en la descarboxilación de la lisina, formación de sulfuro de hidrógeno y fermentación de la dextrosa.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
L-lisina	10.0
Citrato férrico amónico	0.5
Tiosulfato de sodio	0.04
Púrpura de bromocresol	0.02
Agar	14.5

pH 6.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 34 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min. Solidificar en posición inclinada para obtener una pendiente de fondo profundo.

Descripción

Edwards y Fife (1961) crearon el medio Agar Lisina y Hierro para la detección de los organismos que puedan fermentar rápidamente la lactosa, especialmente cultivos de *Arizona*¹. Entre los grupos reconocidos de enterobacterias que regularmente descarboxilan la lisina de forma rápida y producen H₂S en grandes cantidades se encuentran las *Salmonella* y *Arizona*^{2,3}.

La L-lisina (monoclorhidrato) se utiliza como sustrato para la detección de las enzimas lisina-descarboxilasa y lisina-desamina-sa. Los cultivos que descarboxilan la lisina rápidamente provocan una reacción alcalina (color púrpura en todo el medio) o una reacción neutra en el fondo del medio. Los organismos que no descarboxilan la lisina producen una pendiente alcalina (color púrpura) y un fondo ácido (color amarillo). Los cultivos que producen H₂S provocan un ennegrecimiento intenso en el medio. Los microorganismos que desaminan la lisina (cultivos de *Proteus* y *Providencia*) producen una pendiente roja profunda sobre un fondo ácido (color amarillo).

Cultivo	Fondo	Pendiente	H ₂ S
<i>Salmonella</i>	K	K	+
<i>Proteus</i>	A	R	-
<i>Providencia</i>	A	R	-
<i>Citrobacter</i>	A	K	+
<i>Escherichia</i>	A ó K	K	-
<i>Shigella</i>	A	K	-
<i>Klebsiella</i>	K	K	-

A = ácido (amarillo) **K** = alcalino, sin cambio (púrpura) **R** = desaminasa de lisina (rojo)
(+) = positivo **(-)** = negativo

El Agar Lisina y Hierro se inocula punzando con una aguja recta hasta la base del fondo y sembrando en estría la superficie de la pendiente. Los tapones de los tubos no deben ajustarse para garantizar las condiciones aerobias sobre la pendiente. Los tubos se incuban de 18 a 24 horas a 35 4 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Fondo	Pendiente	H ₂ S
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	A ó K	K	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	K	K	+
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	A	K	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	A	R	-

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Edwards PR and Fife MA. 1961. Lysine-Iron Agar in the Detection of *Arizona* Cultures. Appl. Microbiol., 9: 478-480.
2. Moeller V. 1954. Distribution of Amino-acid Decarboxylases in Enterobacteriaceae. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 35: 259-277.
3. Ewing WH, Davis BR and Edwards PR. 1960. The Decarboxylase Reactions of Enterobacteriaceae and their Value in Taxonomy. Publ. Hlth. Lab., 18: 77-83.

AGAR MALTA

CÓDIGO: 4015

Medio para la detección, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos.

Fórmula	g/L
Extracto de malta	30.0
Agar	15.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 45 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y esterilizar a 121 °C por 15 min. Evitar el sobrecalentamiento.

Si se desea disminuir el valor del pH, el medio se enfría a 55 °C y se le añaden a cada 100 mL del medio 2 mL de ácido láctico USP al 10 % previamente esterilizado, en condiciones asépticas. No calentar el medio después de adicionado el ácido para prevenir el reblandecimiento del mismo por la hidrólisis del agar en presencia del ácido.

Descripción

El Agar Malta ha sido empleado durante muchos años para la detección de levaduras y mohos en una amplia variedad de muestras que incluye los productos lácteos y otros alimentos. Este comúnmente es uno de los medios recomendados para emplear en los Métodos Estándar para el Examen de Productos Lácteos¹. Puede ser utilizado para el transporte de cepas de levaduras y mohos.

El medio puede acidificarse con el objetivo de inhibir el crecimiento bacteriano permitiendo, de esta forma, el desarrollo de levaduras y mohos.

Normalmente el medio Agar Malta es ligeramente blando y apropiado para la siembra. Pueden adicionarse 5 g de agar por cada 45 g del Agar Malta en el caso de la necesidad de rayar el medio.

Para el examen microbiológico de productos alimenticios, se preparan diluciones y se transfiere 1 mL de cada dilución a una placa Petri distinta, se añaden aproximadamente 15 mL de Agar Malta, enfriado a temperatura de 45 a 48 °C, se mezcla realizando movimientos rotatorios sobre un plano horizontal y se deja solidificar el agar. Posteriormente se incuban las placas en posición invertida por un período de 48 a 72 horas a temperatura de 25 a 30 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

- Public Health Association. 1948. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 9th ed., 181., APHA Inc., Washin-gton, D.C.

AGAR MALTOSA DE SABOURAUD

Código: 4056

Medio para el cultivo de hongos filamentosos y levaduras.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Maltosa	40.0
Agar	15.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 65 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y esterilizar a 121 °C por 15 min. Evite el calentamiento en exceso que podría dar lugar a un medio de agar más blando.

Descripción

El Agar Maltosa de Sabouraud fue descrito por Sabouraud para el cultivo de hongos¹. A diferencia del Agar Dextrosa de Sabou-raud, el hidrato de carbono que se le incorpora es la maltosa. Esta última y el extracto de malta son ampliamente utilizados para el cultivo de mohos y levaduras. El bajo valor de su pH, de aproximadamente 5.6, favorece el crecimiento de los hongos y es inhi-bitorio para la flora bacteriana y algunas especies de hongos^{2,3,4}. Este medio puede utilizarse con antibióticos y otras sustancias inhibitorias para el cultivo selectivo de varios grupos de microorganismos.

El medio inoculado se incuba como mínimo durante 3 días a 25 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	bueno
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Sabouraud. 1892. Ann. Dermatol. Syphil., 3:1061.
2. Ajello Georg, Kaplan and Kaufman. 1963. CDC Laboratory Manual for Medical Mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Govt. Printing Office, Washington, D.C.
3. Roberts, Goodman, Land, Larsh and McGinnis. 1985. In Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.). Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. ASM, Washington, D.C.
4. Emmons, Binford, Utz and Kwon-Chung. 1977. Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.

AGAR MANITOL SALADO

CÓDIGO: 4104

Medio selectivo para el aislamiento y enumeración de *Staphylococcus* en alimentos y muestras clínicas.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	4.0
Peptona bacteriológica P	5.0
Extracto nutritivo	1.0
Extracto de levadura	2.0
Hidrolizado enzimático de caseína	4.0
Manitol	10.0
Cloruro de sodio	70.0
Rojo fenol	0.0083
Agar	15.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 111 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Manitol Salado es un medio selectivo preparado de acuerdo con la fórmula sugerida por Chapman, para el aislamiento presuntivo de estafilococos patógenos.

En 1942 Koch reportó que sólo los estafilococos crecían en medios agarizados que contenían un 7,5 % de cloruro de sodio¹. Chapman confirmó esta conservación y notó que la adición de un 7,5 % de cloruro de sodio en Agar Manitol y Rojo Fenol proporcionaba un medio en el cual los estafilococos que coagulaban el plasma del conejo crecían en forma exuberante, produciendo colonias amarillas rodeadas por una zona amarillo brillante. Los estafilococos no patógenos producían colonias pequeñas sin cambio de color en el medio circundante. Otras bacterias eran generalmente inhibidas, haciendo posible el empleo de un inóculo grande sin peligro de sobrecrecimiento².

El empleo de este medio también puede darse en la detección y enumeración de estafilococos coagulasa-positivos en leche, alimentos y otros especímenes³.

Durán y col., en 2004, han optimizado la composición de bases nutritivas y la concentración del colorante, aumentando la rapidez en la visibilidad de la reacción (cambio del color del medio de rojo a amarillo)⁴.

Se recomienda la incubación durante 36 h a 37 °C.

La adición de emulsión de huevo al 5 % v/v en el Agar Manitol Salado facilita, además de fermentación del manitol por los estafilococos, la detección de la actividad de la lipasa. Debido a la alta concentración de sal en el medio junto con la emulsión de yema de huevo se observan las zonas sin inocular claras, y con la producción de la lipasa por las colonias de estafilococos que producen esta enzima se detecta una zona amarilla opaca alrededor de las colonias.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Color del medio
CONTROL POSITIVO:		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	amarillo
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	bueno	sin cambio
CONTROL NEGATIVO:		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	amarillo, si las hay

Referencias

1. Koch. 1942. Zentralbl. Bacteriol. Parasitenkd. Abt. 1 Orig. 149:122.
2. Chapman. 1945. J Bacteriol. 50:201.
3. American Public Health Association. 1966. “Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods”. 2nd De., APHA Inc., New York.
4. Durán Vila A, Zhurbenko R, Viera Oramas DR. Propuesta de una modificación en la formulación del medio agar manitol sa- lado utilizado en el aislamiento de estafilococos de importancia clínica. Rev Cubana Med Trop 2004; 56(3):172-177.

AGAR NUTRIENTE

Código: 4009

Medio para fines generales que promueve el crecimiento de la mayoría de los microorganismos poco exigentes.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto nutritivo	1.0
Extracto de levadura	2.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 28 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Nutriente es un medio para fines generales utilizado en el examen de aguas y productos lácteos¹. Se emplea para el sub- cultivo de microorganismos, tanto para la conservación y mantenimiento de los mismos, como para la comprobación de la pureza de las colonias aisladas provenientes de placas, previo a la realización de las pruebas bioquímicas o serológicas. El medio puede emplearse en forma semisólida para el mantenimiento de microorganismos de control².

La concentración en que se encuentra el agar en su formulación (1.5 %) permite la adición de hasta el 10 % de sangre u otro líquido biológico. Se recomienda su utilización en placas o en tubos, según se requiera.

El medio Agar Nutriente inoculado se incuba de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA. Inc., Washington, D.C.
2. Lapage SP, Shelton JE and Mitchell TG. 1970. In Methods in Microbiology. ed. Norris, J.R. and Ribbons, D.W. Vol. 3A, Academic Press, London, p. 116.

AGAR PAPA Y DEXTROSA

CÓDIGO: 4017

Medio para el cultivo y enumeración de levaduras y mohos.

Fórmula	g/L
Extracto de papa	4.0
Dextrosa	20.0
Agar	15.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 39 g en 1 L de agua destilada y desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Para suprimir el crecimiento bacteriano es, a veces, aconsejable acidificar el medio hasta pH 3.5. Esto puede hacerse adicionando 1 mL de una solución de ácido láctico al 10 % por cada 100 mL del medio esterilizado y enfriado a 50 °C. El medio no debe ser calentado después de la adición del ácido, ya que esto puede hidrolizar el agar y afectar sus propiedades gelificantes.

Descripción

En este medio la dextrosa y el extracto de papa favorecen el crecimiento exuberante de levaduras y mohos.

El Agar Papa y Dextrosa es recomendado por la APHA y por la Food and Drug Administration (FDA) para conteos en placas de mohos y levaduras en el examen de alimentos y productos lácteos^{1,2,3}.

Es recomendado por la USP para la determinación de límites microbianos⁴.

Los minerales presentes en el agar pueden influenciar en la formación de pigmentos de ciertos hongos. La producción de pigmentos es una característica relevante en la identificación de hongos, por lo que el agar que se incluye en la formulación de este medio no interfiere la producción de pigmentos por hongos como las especies de *Fusaria*.

El medio se inocula por estría en superficie y se incuba hasta 5 días a temperatura ambiente (21 °C aproximadamente).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Speck (ed.). 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed., APHA, Washington, D.C.
2. Richardson (ed.). 1985. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 15th ed., APHA, Washington, D.C.
3. U.S. Food and Drug Administration. 1984. Bacteriological Analytical Manual. 6th ed., AOAC, Arlington, Va.
4. The United States Pharmacopoeia, 21 st. rev. 1985. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, Md.

AGAR PARA CONTEO EN PLACAS

Código: 4003

Medio para la enumeración de bacterias en aguas, aguas residuales, productos lácteos y otros alimentos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Extracto de levadura	2.5
Dextrosa	1.0
Agar	9.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 17.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

Buchbinder y col.¹ desarrollaron el medio Agar para Conteo en Placas, el cual no requiere de la adición de leche desnatada, como los anteriormente empleados para la enumeración de bacterias en productos alimenticios. La transparencia del nuevo medio trae como ventaja una mayor facilidad para la lectura de las placas. Estos autores también investigaron las pruebas de control necesarias para dar resultados estándar validados estadísticamente en productos lácteos.

Además, este medio se emplea para el conteo microbiológico de productos alimenticios y aguas residuales^{2,3,4}.

Las placas se inoculan empleando básicamente el método de la APHA^{2,3,4} con muestras diluidas, y realizando el conteo una vez transcurrido el tiempo de incubación. En dependencia de los microorganismos, las placas se incuban a diferentes tiempos y temperaturas hasta 10 días de 5 a 7 °C, hasta 5 días a 20 °C, 3 días a 45 °C ó 48 horas a 55 °C. Para los métodos estándar la incubación dura 48 horas a temperatura de 32 a 35 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Buchbinder, Baris, Alff, Reynolds, Dillong, Pessin, Pincus, and Strauss. 1951. Public Health Reports, 66: 327.
2. American Public Health Association. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th. ed., APHA Inc., Washington, D.C.
3. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc., Washington, D.C.
4. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA Inc., Washington, D.C.

AGAR S.S.

CÓDIGO: 4021

Medio selectivo para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Extracto nutritivo	2.0
Extracto de levadura	3.5
Lactosa	10.0
Tiosulfato de sodio	10.0
Citrato de sodio tribásico	2.5
Citrato férrico amónico	1.5
Sales biliares	1.42
Rojo neutro	0.025
Verde brillante	0.00033
Agar	12.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 57.9 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar con agitación frecuente y hervir a fuego lento durante 2 min. EVITAR CUALQUIER SOBRECALENTAMIENTO. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Enfriar hasta 45-50 °C y distribuir.

Descripción

El Agar S.S. es esencialmente una modificación del medio Agar Desoxicolato-Citrato descrito por Leifson¹ en 1935. Es un medio diferencial y selectivo para el aislamiento de especies de *Shigella* y *Salmonella* a partir de muestras patológicas, muestras de alimentos sospechosas y otras. Los organismos coliformes y el resto de la flora acompañante se inhiben considerablemente por el verde brillante, las sales biliares y la elevada concentración de tiosulfato y citrato.

Con la presencia del tiosulfato y de los iones de hierro, se pone de manifiesto la formación de sulfuro por el ennegrecimiento de las colonias de *Proteus* y de algunas especies de *Salmonella*. Las colonias de coliformes se identifican por la degradación de la lactosa a ácido, lo que se evidencia por el cambio del indicador de pH rojo neutro.

Las colonias de gérmenes lactosa negativos son incoloras y las de gérmenes lactosa positivos son rosadas hasta rojas. Los microorganismos formadores de sulfuro de hidrógeno proporcionan colonias incoloras con centro negro.

La superficie del medio de cultivo se inocular por estrías con el material de muestra o con el procedente de un cultivo de enriquecimiento previo, por ejemplo, Caldo Selenito.

Las placas inoculadas se incuban de 18 a 25 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras con o sin centro negro
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno	incoloras
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a moderado en la dilución 10 ⁻¹	rosadas o rojas, si las hay
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	inhibido o escaso en la dilución 10 ⁻¹	colonias incoloras pequeñas, si las hay

Referencias

1. Leifson E. 1935. J. Pathol. Bacteriol., 40: 581.

AGAR S.S. (MODIFICADO)

CÓDIGO: 4209

Medio diferencial y selectivo idóneo para el aislamiento de *Shigella* y *Salmonella*.

Fórmula	g/L
Proteosa peptona	5.0
Extracto nutritivo	2.0
Extracto de levadura	3.5
Lactosa	10.0
Sales biliares	5.5
Citrato de sodio	2.5
Tiosulfato de sodio	10.0
Citrato férrico amónico	1.5
Verde brillante	0.00033
Rojo neutro	0.025
Agar	12.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 52 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, mezclar bien y distribuir. Evitar cualquier sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave.

Descripción

El Agar S.S. (Modificado), como lo indica su nombre, responde a una variante del medio original, en la cual se disminuye el contenido de las sales biliares, se varía la composición de las bases nutritivas y se aumenta el pH del medio, todo esto para lograr un crecimiento más abundante de *Shigella*.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de H ₂ S
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	+
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno	-
CONTROL NEGATIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso	-

AGAR SLANETZ Y BARTLEY

CÓDIGO 4458

Medio para la detección y enumeración de *Enterococcus* en aguas por el método de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Triptosa	20.0
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	2.0
Fosfato dipotásico	4.0
Azida de sodio	0.4
Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC)	0.1
Agar	10.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 41,5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, enfriar rápidamente y distribuir. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE.

ADVERTENCIAS: Peligroso por ingestión. Nocivo para los organismos acuáticos. Evítese su liberación al medio ambiente

Descripción

Este medio fue concebido inicialmente por Slanetz y Bartley¹ para la detección y enumeración de estreptococos fecales por la técnica de filtración por membrana, pero ha sido utilizado también para el cultivo directo en placas.^{2,3}

El medio basa su funcionamiento en la capacidad de *Enterococcus* para reducir el cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC), incluido en la formulación, dando como resultado la formación de formazán, compuesto que brinda una coloración roja a las colonias.¹

La azida de sodio inhibe el crecimiento de la microbiota Gram-negativa acompañante, haciendo el medio muy selectivo, aunque Burkwall y Hartman² demostraron que la adición de carbonato y Tween 80® mejora su selectividad cuando se buscan *Enterococcus* en alimentos congelados.

Este medio se recomienda también para la búsqueda de *Enterococcus* en alimentos según el método propuesto por el Comité Nórdico de Análisis de Alimentos.³

El medio se incuba generalmente a 35 °C, temperatura que proporciona mayores recuentos, pero al mismo tiempo, permite el crecimiento de otros microorganismos que no son *Enterococcus*. La incubación a una temperatura de 44-45 °C tiene una acción selectiva, produciendo un menor número de resultados falsos positivos, aunque se debe tener en cuenta que la temperatura de 35 °C es capaz de reanimar los organismos afectados.^{4,5}

Aunque la selectividad del medio es elevada se debe considerar el recuento de las colonias rojas, marrón o rosa como *Enterococcus* presuntivos o no confirmados. Se requiere una identificación posterior dependiendo del tipo de examen.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 20-200 UFC con respecto al Agar Triptona Soya	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	≥ 70 %	de rojo a rojo marrón con bordes rojos
CONTROL NEGATIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo 10 ⁴ -10 ⁶ UFC)	incoloras, si las hay

Referencias

- Slanetz LW, Bartley CH. 1957. *J Bact*; 74:591-95.
- Burkwall MK, Hartman PA. 1964. *Appl Microbiol*; 12:18-23.
- Nordic Committee on Food Analysis. 1968. Leaflet 68.
- Taylor EW, Burman NP. 1964. *Appl Bact*; 27:294-303.
- Mead GC. 1996. *Proc Soc Wat Treat Exam*; 15: 207-21.

AGAR SULFITO BISMUTO

CÓDIGO: 4171

Medio para el aislamiento de *Salmonella* Typhi y otros bacilos entéricos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Extracto nutritivo	5.0
Dextrosa	5.0
Fosfato disódico	4.0
Sulfato ferroso	0.3
Indicador sulfito bismuto	8.0
Verde brillante	0.025
Agar	15.0

pH 7.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 47,3 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar con agitación frecuente hasta ebullición, enfriar rápidamente hasta 45 °C, mezclar bien y distribuir. No sobrelacentar. No esterilizar en autoclave.

Descripción

La formulación de este medio, responde a una modificación del medio original de Wilson y Blair^{1,2} para el aislamiento selectivo de *Salmonella*, especialmente *Salmonella* Typhi en heces, orina y aguas albañales. Sucesivas modificaciones de ese medio fueron aplicadas por Hajna, Hajna y Damon^{3,4,5}.

El medio se recomienda en los “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” para el aislamiento de bacterias patógenas en quesería y por la “American Public Health Association” para la detección de *Salmonella*^{6,7}.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhi ATCC 19430	bueno	negro con brillo metálico
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	negro con brillo metálico
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	verde a marrón sin brillo metálico
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	inhibido	-

Referencias

1. Wilson WJ and Blair EM. 1927. Use of Glucose Bismuth Sulphite Iron Medium for the Isolation of Bacillus typhosus and Bacillus proteus. J. Hig., 26: 374-391.
2. Wilson WJ and Blair EM. 1931. Further Experience of the Bismuth Sulphite Media in the Isolation of the Bacillus typhosus and Bacillus paratyphosus b from Faeces, sewage and water. J. Hyg., 31: 138-161.
3. Hajna AA. 1951. Public Health Lab., 9:48-51.
4. Hajna AA and Damon. 1956. Appl. Microbiol., 4: 341.
5. The United Satate Pharmacopeia, 21st Rev. 1985. U.S. Pharmacopeial Convention, Rocville, Md.
6. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 1953. 10th ed., American Public Health Asoc., Washington, D.C.
7. Diagnostic Procedures and Reagents. 1950. 3rd. ed., American Public Health Asoc., Washington, D.C.

AGAR TRES AZÚCARES Y HIERRO

CÓDIGO: 4004

Medio para la diferenciación e identificación de enterobacterias en base a la fermentación de dextrosa, lactosa y sacarosa, y por la producción de sulfuro de hidrógeno.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	15.0
Proteosa peptona	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Sulfato ferroso	0.2
Tiosulfato de sodio	0.3
Rojo fenol	0.024
Agar	10.5

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 60 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min. Solidificar en posición inclinada para obtener un fondo de aproximadamente 2,5 cm de longitud.

Descripción

En 1917 Krumweide y Kohn modificaron el Agar con dos azúcares de Russell mediante la adición de sacarosa. Esto permite una rápida detección de organismos coliformes que degradan la lactosa lentamente y no así la sacarosa¹. Sulkin y Willet² en el año 1940 desarrollaron un medio de tres azúcares y sulfato ferroso para la identificación de organismos entéricos. Hajna³ también describió un medio similar con los mismos propósitos.

El Agar Tres Azúcares y Hierro es un medio compuesto que se utiliza para la diferenciación de enterobacterias por la capacidad que tienen los microorganismos de fermentar la sacarosa, lactosa y dextrosa y por la producción de H₂S. La fermentación de estos carbohidratos se detecta por un cambio visible del color del indicador de pH rojo fenol a amarillo, la producción de H₂S puede detectarse por un ennegrecimiento en el fondo del tubo.

Para algunas especies de *Proteus* debe emplearse este medio en paralelo con el Agar Urea, ya que la respuesta de las mismas es similar a la de las especies de *Salmonella* y *Shigella*, diferenciándose por su capacidad de hidrolizar la urea.

En la actualidad, para la detección de enterobacterias, productoras de gas sulfhídrico, se recomienda el intercambio de éste con el medio de Kligler, ya que el Agar Tres Azúcares y Hierro no es adecuado para la detección de H₂S por los organismos fermentadores de la sacarosa, tales como *Proteus* y *Citrobacter*, debido a que la degradación de dicho azúcar enmascara el efecto del indicador de sulfhídrico⁴.

El medio Agar Tres Azúcares y Hierro es de un valor especial cuando se combina con medios en placas como Agar de MacConkey (cód. 4014), Agar S.S. (cód. 4021), Agar Desoxicolato (cód. 4002), Agar Endo y otros.

La técnica descrita para el uso de este medio^{5,6} consiste en picar una colonia aislada de la superficie de un medio selectivo en placa, y extenderla en una placa de Agar de MacConkey. Se incubaba la placa durante 18 horas a 35 ± 2 °C y se inoculan en paralelo dos tubos, el primero con Agar Tres Azúcares y Hierro punzando el fondo y extendiendo sobre la pendiente, y el segundo con Agar Urea, estriando la superficie de la cuña. Ambos tubos se incuban a 35 ± 2 °C. Después de 5 horas y luego a las 18 horas, se observa el Agar Urea para detectar si hay hidrólisis de la urea, la cual se aprecia por la coloración rosada intensa del medio. Esto confirma la presencia de especies de *Proteus* y otros organismos. Si no tuvo lugar la hidrólisis de la urea, se observa el tubo de Agar Tres Azúcares y Hierro a las 18 horas, y después a las 48 horas, siendo las reacciones típicas las siguientes:

Microorganismo	Fondo	Pendiente	Gas	H ₂ S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	A	A	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	A	A	+	-
<i>Escherichia coli</i>	A	A	+	-
<i>Proteus vulgaris</i>	A *	A	+	+
<i>Morganella morganii</i>	A	NC ó R	-/+	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC ó R	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	A	NC ó R	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC ó R	-	-
<i>Salmonella</i> Typhi	A	NC ó R	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	A	NC ó R	+	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium	A	NC ó R	+	+

- A = ácido (amarillo)
- NC = no cambio
- R = alcalino (rojo)
- (+) = positivo
- (-) = negativo
- * algunas cepas: R, posiblemente sin producción de gas

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Fondo	Pendiente	Gas	H ₂ S
CONTROL POSITIVO				
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	A	A	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	NC ó R	R	-	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	A	NC ó R	+	+
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	A	R	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	A	A	+/-	+

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. J. Med Research. 1917. 37: 225.
2. J. Lab. Clin. Med. 1940. 25: 649.
3. Hajna AA. 1945. Triple-Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria. J. Bact., 49: 516-517.
4. Bulmash JM and Fulton M. 1966. J. Bact., 88: 1813.
5. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc., Washington, D.C.
6. Edwards PR and Ewing WH. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd ed., Burgess Publishing Co., Minneapolis, USA.

AGAR TRIPTONA GLUCOSA EXTRACTO

CÓDIGO: 4167

Medio para el recuento total de microorganismos aerobios en agua y otros materiales.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Extracto nutritivo	3.0
Glucosa	1.0
Agar	15.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 24 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

Este medio es recomendado para el recuento estándar en placa según los Métodos Estándar para el análisis de agua y aguas residuales¹. También puede ser utilizado para la detección de bacterias termofílicas en productos alimenticios, y para el cultivo y enumeración de gérmenes aerobios en leche y otros productos lácteos².

El Agar TGE fue elaborado en concordancia con la fórmula para el Agar Nutriente Estándar de la Asociación de la Salud Pública Americana^{3,4,5} y ésta se corresponde con las prescripciones de la APHA para el análisis de aguas (1975)⁶ y de alimentos (1984)⁷ y con las indicaciones del American Petroleum Institute (1959)⁸.

El Agar TGE es una modificación del agar con leche descremada, glucosa y triptona de Bowers y Hucker⁹. El medio es considerado superior en comparación con el Agar Nutritivo para la estimación de bacterias en leche y otros productos lácteos según Yale¹⁰. Como resultado de estos análisis se recomendó la adopción de este medio como estándar para el recuento bacteriológico en placas de la leche^{11,12}.

Robertson¹³ utilizó el Agar TGE en un estudio del recuento bacteriano de los helados, y además fue empleado en el análisis de la influencia de la temperatura de incubación en recuentos en leche por Dennis y Weiser¹⁴. Prickett¹⁵ también realizó trabajos en leche, específicamente basado en ensayos de bacterias termofílicas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. American Public Health Association. 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. American Public Health Association. 1972. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 13th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
3. American Public Health Association. 1960. Standard methods for the Examination of Water and Wastewater. 11th ed., APHA, New York.
4. Greenberg, Trussell and Clesceri (ed.). 1985. Standard methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed., APHA, Washington, D.C.
5. Speck (ed.). 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 2nd ed., APHA, Washington, D.C.
6. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 1975. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14th ed., Washington, D.C.
7. American Public Health Association. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed., APHA Inc., Washington, D.C.
8. Recommended practice for biological analysis of subsurface injection waters.1959. Vol. 38 (1st ed., American Petroleum Institute).
9. Tech. Bull. 228, N. Y . State Agr. Exp. Sta. 1935.
10. Am. J. Publ. Health. 1938. 28: 148.
11. Am. J. Publ. Health. 1938. 28: 1447.
12. Ninth Annual Year Book. 1938-39. p.79. Suppl., Am. J. Publ. Health. 1939. 29: No. 2.
13. Proc, 36th Cong, Intern. Assoc. Ice Cream Manufactures. 1936. 2: 132.
14. J. Dairy Science. 1937. 20:445.
15. Prickett Tech. Bull. 147, N. Y. State Agr. Exp. Sta. 1928.

AGAR TRIPTONA SOYA

CÓDIGO: 4019

Medio de propósito general para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	15.0
Peptona de soya	5.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 40 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El Agar Triptona Soya es un medio de cultivo de uso general empleado durante muchos años para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos tanto aerobios como anaerobios. La USP¹ recomienda el uso de este medio para el conteo de microorganismos aerobios y pruebas de límites microbianos. Además el medio se emplea para el mantenimiento y conservación de cultivos puros y aislamiento de microorganismos de especímenes clínicos.

Este medio puede utilizarse como Base de Agar Sangre^{2,3,4} para lo cual al medio previamente esterilizado y enfriado a temperatura de 45 - 50 °C se le adiciona 5 - 7 % de sangre de carnero, caballo o humana, desfibrinada y estéril. De esta manera se hace posible utilizar el mismo para determinar reacciones hemolíticas, así como para el estudio de la sensibilidad bacteriana ante agentes antimicrobianos. También es empleado en la preparación del Agar Chocolate garantizando un buen crecimiento de *Neisseria*, *Haemophilus influenzae* y otros organismos.

Los tubos o placas con el medio inoculado deben incubarse de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Como precaución debe tenerse en cuenta que la respuesta de las reacciones hemolíticas de los estreptococos puede variar de acuerdo al origen de la sangre (caballo o carnero).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Recuperación a partir del inóculo de 10-100 UFC
CONTROL POSITIVO	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	≥ 70 %
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	≥ 70 %
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	≥ 50 %
CONTROL NEGATIVO	
Medio no inoculado	

Referencias

1. The United States Pharmacopeia, 31 st. rev. 2009. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, Md.
2. Phillips and Nash. 1985. In Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (ed.). Manual of Clinical Microbiology. 4th ed., ASM, Washington, D.C.
3. Finegold and Baron. 1986. Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology. 7th ed., The C.V. Mosby Company, St. Louis.
4. MacFaddin. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Vol.1, Williams & Wilkins, Baltimore.

AGAR VERDE BRILLANTE

CÓDIGO: 4103

Medio altamente selectivo utilizado para el aislamiento de *Salmonella* (excepto *S. Typhi*).

Fórmula	g/L
Proteosa peptona	10.0
Extracto de levadura	3.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.08
Verde brillante	0.0125
Agar	12.0

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 50 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

La formulación del medio, parte de la original desarrollada por Kristensen¹ y colaboradores en 1925 y de la modificación realizada por Kauffmann².

El medio permite el aislamiento y la identificación de las *Salmonellae* (excepto *S. Typhi*) a partir de muestras de heces fecales y materiales patológicos, de productos lácteos y alimentos. La presencia del verde brillante garantiza la inhibición casi completa de otras bacterias.

Algunos organismos fermentadores de lactosa o sacarosa pueden crecer formando colonias fácilmente diferenciables por su color amarillo. Algunas cepas de *S. Typhi* y *Proteus* pueden formar colonias rojas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad			
Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Color de las colonias	Color del medio
CONTROL POSITIVO:			
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	rojo	rojo
CONTROL NEGATIVO:			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	grado de recuperación no limitado	amarillo	amarillo

Referencias

1. Kristensen et al. 1925. Brit. J. Exp. Pathol. 6:291.
2. Kauffmann. 1935. Z. Hyg. Infektionskr. 117:26.

AGAR VERDE BRILLANTE MODIFICADO

Código: 4368

Medio altamente selectivo utilizado para el aislamiento de *Salmonella* (excepto *S. Typhi*) en carnes, derivados lácteos y otros alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica P	10.0
Extracto de levadura	3.0
Extracto nutritivo	5.0
Fosfato disódico	1.0
Fosfato monosódico	0.6
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Rojo fenol	0.09
Verde brillante	0.0047
Agar	12.0

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 51,7 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Mezclar bien y distribuir.

Descripción

Kauffmann y col.¹ desarrollaron en 1935 una modificación del Agar Verde Brillante, en el cual la concentración del colorante verde brillante es disminuida considerablemente, lo que permite lograr una mayor recuperación de *Salmonella*, sobre todo, cuando ésta está presente a bajas concentraciones. Esta nueva formulación, con adición de fosfatos y el aumento del contenido de rojo fenol, fue desarrollada a partir de la formulación aportada por un grupo de investigadores del Instituto Nacional de Salud Pública de Holanda². El empleo de este medio de cultivo es recomendado por las normas ISO (1993)³, DIN 10160⁴ y 10181⁵.

Las ventajas de la formulación modificada consisten en una mayor inhibición de *Escherichia coli* y de las especies de *Proteus*. Además, se logra la inhibición parcial del crecimiento de *Pseudomonas*, cuyas colonias pueden ser confundidas con las de *Salmonella* en el Agar Verde Brillante⁶.

La recuperación óptima de salmonelas se logra al ejecutar las etapas de pre-enriquecimiento en Agua de Peptona Buferada (cód. 4222) y de enriquecimiento selectivo, seleccionando uno o dos de los siguientes caldos: Caldo Rappaport-Vassiliadis (cód. 4336), Caldo Tetrionato, según Muller y Kauffmann (cód. 4106) y Caldo Selenito, según Leifson (cód. 4026). Luego el material recuperado se estría en la superficie del Agar Verde Brillante Modificado para obtener colonias aisladas. El medio inoculado se incuba por 24 horas a 35 ± 2 °C. Las colonias con características típicas de *Salmonella* deben ser procesadas, ejecutando las pruebas bioquímicas y serológicas adicionales.

Características de las colonias

Rosadas con halo rojo

Amarillas con halo amarillo

Microorganismos

No fermentadores ni de lactosa, ni de sacarosa:-
Salmonella, *Proteus*, *Pseudomonas* y otros.

Fermentadores de lactosa y/o sacarosa:
E. coli, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y otros.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias	Color del medio
CONTROL POSITIVO			
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	rojo	rojo
CONTROL NEGATIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	recuperación no limitada para el inóculo 10 ³ -10 ⁵ UFC/mL	amarillo	amarillo

Referencias

1. Kauffmann F. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellenbacillen. Z. Hyg. Infekt. Krhn., 117: 26-32.
2. Edel W. and Kampelmacher .H. 1969. *Salmonella* isolation in nine European laboratories using a standardized technique. BULL. Wid. Hith. Org., 41: 297-306.
3. ISO International Organization for Standardization: Meat and meat products. Detection of Salmonellae. Reference method. - International Standard ISO 6579. 1993
4. DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren. - DIN 10160.
5. DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Mikrobiologische Milchuntersuchung. Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren. - DIN 10181.
6. Read RB and Reyes AL. 1968. Appl. Microbiol., 16:746-748.

AGAR VIOLETA ROJO BILIS

CÓDIGO: 4011

Medio selectivo para la determinación de bacterias coliformes en aguas, productos lácteos y otros alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	7.0
Extracto de levadura	3.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.002
Agar	12.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 38.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y distribuir. No esterilizar en autoclave.

Descripción

El Agar Violeta Rojo Bilis es un medio que se emplea en la detección y enumeración del grupo de microorganismos, llamados coli-aerogenes, en aguas, leche y sus derivados, así como en otros productos alimenticios^{1,2}.

Los gérmenes Gram-positivos son marcadamente inhibidos por las sales biliares y el cristal violeta que contiene el medio.

Este es un medio preparado en placa, que demuestra muy claramente la presencia de organismos entéricos fermentadores de la lactosa.

Los organismos coliformes, debido a su capacidad de fermentar rápidamente la lactosa, forman colonias superficiales de color rojo oscuro, que tienen un diámetro de 1 a 2 mm, rodeadas de una zona rojiza debido a la precipitación de la bilis. El rojo neutro en el medio indica la producción de ácido.

Los organismos no fermentadores de lactosa o que demoran en fermentarla producen colonias incoloras con zonas verdosas.

Al utilizar este medio selectivo, no se debe esterilizar en autoclave, ya que los organismos que no se eliminan mediante ebullición no formarán colonias en el tiempo de incubación requerido (24 horas), por lo que las placas no deberán incubarse más de este tiempo, evitando así que los organismos, cuyo crecimiento haya sido suprimido, puedan desarrollarse y confundir el recuento. Las placas no deben ser sembradas con una densidad excesiva.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	rojo con precipitado biliar
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno rosado	
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso	incoloras, si las hay

Referencias

1. American Public Health Association. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc., Washington, D.C.

AGAR VIOLETA ROJO BILIS GLUCOSA

Código: 4382

Medio selectivo para la detección y enumeración de enterobacterias en alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica P	7.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	10.0
Sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta 0.002	
Agar	12.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 38,5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa y distribuir. NO ESTERILIZAR EN AUTOClave.

Descripción

Para el examen de las muestras alimenticias se ha recomendado la detección de un grupo de organismos más definido, las enterobacterias, las cuales fermentan la glucosa hasta producir ácido, gas o ambos. Este grupo, además de los coliformes, comprende las salmonelas y shigelas, que no fermentan la lactosa, así como *Escherichia coli* enterotoxigénica. Incluye igualmente otros organismos, tales como *Klebsiella* y *Citrobacter*, que son más resistentes al calor que otros coliformes, y por tanto, indicadores de la higiene en la industria alimenticia.

Mossel y col.¹, demostraron que la adición de dextrosa a un medio existente para la detección de coliformes optimizó los resultados. En posteriores trabajos omitieron la lactosa en el medio, dando lugar a la fórmula de Agar con Violeta Rojo Bilis y Glucosa^{2,3}.

La glucosa presente en el medio de cultivo es fermentada por las enterobacterias, degradando la misma hasta la formación de ácido, y se observa un viraje del indicador de pH, el rojo neutro, en las colonias a rojo, así como una zona de precipitado biliar alrededor de las colonias⁴.

El violeta cristal y las sales biliares suprimen la flora Gram-positiva acompañante.

La inoculación se realiza preparando una serie de diluciones de las muestras, de forma que se alcance una proporción de 100-200 colonias a partir de una alícuota de 1 mL⁵. Se puede utilizar la técnica de vertimiento en placas e inundación de la superficie para visualizar las colonias de los microorganismos e identificarlos.

Las colonias que utilizan la dextrosa se presentan como redondas, de color púrpura, de 1 a 2 mm de diámetro, rodeadas de un halo del mismo color. La identificación de las colonias se debe ejecutar empleando otros ensayos bioquímicos.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	púrpura con bordes más oscuros y precipitado biliar
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	púrpura con centro beige y precipitado biliar

CONTROL NEGATIVO

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso	incoloras, si las hay
---	----------------------	-----------------------

Referencias

1. Mossel DAA, Mengerink WHJ and Scholts HH. 1962. Bacteriol. 84-381.
2. Mossel DAA, Eelderink I, Koopmans M and Van Rossem F. 1978. Lab. Practice 27 No. 12. 1409-1050.
3. Mossel DAA, Eelderink I, Koopmans M and Van Rossem F. 1979. Food Protect 42. 470-475.
4. Cowan ST and Steel KJ. 1965. Manual for the identificationof medical bacteria. Cambrige University Press.
5. International Organization for Standardization: Meat and meat products-detection and enumeration of Enterobacteriaceae ISO/DIS 5552. 1977.

AGAR X.L.D.

CÓDIGO: 4217

Medio ligeramente selectivo y diferencial para el aislamiento de patógenos entéricos Gram-negativos en muestras clínicas y no clínicas.

Fórmula	g/L
Extracto de levadura	3.0
Lactosa	7.5
Sacarosa	7.5
Xilosa	3.5
L-lisina	5.0
Cloruro de sodio	5.0
Citrato férrico amónico	0.8
Tiosulfato de sodio	6.8
Desoxicolato de sodio	2.5
Rojo fenol	0.08
Agar	13.5

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 55.2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir a fuego lento durante 1 min, enfriar rápidamente hasta 45-50 °C, mezclar bien y distribuir. No esterilizar en autoclave. NO PREPARAR VOLÚMENES DEL MEDIO MAYORES DE 1 LITRO.

Descripción

El Agar X.L.D. fue desarrollado por Taylor para mejorar la eficiencia en el aislamiento de patógenos entéricos, especialmente *Shigella*¹. En el medio los patógenos se diferencian de los microorganismos no patógenos que fermentan la lactosa y la sacarosa. La frecuencia de crecimiento de patógenos fastidiosos aumenta en el medio a diferencia de otros donde se incluye exceso de inhibidores tóxicos¹.

El Agar X.L.D. es un medio selectivo y diferencial que utiliza el desoxicolato de sodio como agente selectivo por lo que los microorganismos Gram-positivos se inhiben en el mismo. La xilosa se incluye en el medio debido a que ésta es fermentada por la mayoría de los organismos entéricos, excepto *Shigella*, por lo que se hace posible la diferenciación de esta última especie. Con la inclusión de la lisina es posible diferenciar *Salmonella* de otros patógenos, que igualmente fermentan la xilosa rápidamente.

Las salmonelas, después de agotar la xilosa, descarboxilan la lisina y revierten el pH a alcalino, tal y como ocurre en el caso de *Shigella*¹.

El medio contiene un sistema indicador para la producción de gas sulfhídrico (H₂S) que consiste en tiosulfato de sodio y citrato férrico amónico, observándose los microorganismos productores de sulfhídrico como colonias con centros negros. Los microorganismos no patógenos, que producen H₂S, no descarboxilan la lisina, por lo que la reacción ácida producida previene el ennegrecimiento de las colonias.

El Agar X.L.D. es recomendado por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) para la realización de las pruebas de límite microbiano para la detección de la presencia o ausencia de *Salmonella*².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	colonias rojas con el centro negro
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno	rojo
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	amarillo con precipitado biliar
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	amarillo, si las hay

Referencias

1. Taylor. 1965. Am. J. Clin. Pathol. 44:471.
2. The United States Pharmacopeia. 1985. 21st rev. United States Pharmacopeia.

AGUA DE PEPTONA BUFERADA

CÓDIGO: 4222

Medio de pre-enriquecimiento recomendado para su empleo previo al enriquecimiento selectivo y aislamiento de especies dañadas de *Salmonella* en los alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Fosfato disódico	3.5
Fosfato monopotásico	1.5
Cloruro de sodio	5.0
pH 7.2 ± 0.2	

Preparación

Suspender 20 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Se recomienda el uso de Agua de Peptona Buferada con fines de pre-enriquecimiento previo al enriquecimiento selectivo, para garantizar la recuperación de las células de *Salmonella* dañadas por distintos factores empleados para la preservación de los alimentos, tales como: desecación, calor, presión osmótica, uso de preservantes o cambios de pH¹⁻³.

Se han logrado resultados superiores con la utilización de este medio respecto al método de selección directa¹.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento en Agar de MacConkey después de pre-enriquecimiento en Agua de Peptona Buferada y el enriquecimiento en Caldo tetrationato
CONTROL POSITIVO	
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno
CONTROL NEGATIVO	
Medio no inoculado	

Referencias

1. Edel W and Kampelmacher EH. 1973. Bull. Wld. Hlyh. Org. 48:167-174.
2. Sadorski AY. 1977. J. Ed. Technol., 12:85-91.
3. Pietzsch O, Kretschmer FJ and Bulling E. 1975. Zbl. Bakt. Abt. 1. Orig., 232:232-246.

AGUA PEPTONA

CÓDIGO 4455

Medio líquido no selectivo utilizado como diluyente y para el enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Cloruro de sodio	5.0
pH 7.2 ± 0.2	

Preparación

Suspender 15 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Agua Peptona es un medio de enriquecimiento no selectivo recomendado para ser utilizado en sustitución de solución fisiológica, con el propósito de realizar diluciones de microorganismos en grandes cantidades para el recuento de su viabilidad; para la recuperación de células de enterobacterias dañadas por procesos físico-químicos a los que han sido sometidos los alimentos y otras muestras.

Puede ser utilizado como diluyente en diferentes procedimientos en los laboratorios de microbiología y como medio basal en la realización de pruebas bioquímicas de fermentación de hidratos de carbono, al adicionarse a la formulación un indicador y el carbohidrato correspondiente.

Se recomienda el uso del medio para el cultivo y enriquecimiento de *Vibrio cholerae*¹, después de ajustar el pH a 8.4.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO
Medio no inoculado

Referencias

1. Cruickshank R. 1968. Medical Microbiology. 11th ed., Livingstone Ltd., London.

AGUA TRIPTONA

CÓDIGO: 4164

Medio de cultivo líquido para la identificación de microorganismos por la formación del indol.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Cloruro de sodio	5.0
pH 7.5 ± 0.2	

Preparación

Suspender 15 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El agua de triptona es un medio adecuado para la producción de indol por poseer un alto contenido de triptófano. Se emplea para la identificación de bacterias^{1,2}, por la habilidad de las mismas de escindir los enlaces del aminoácido triptófano con formación de indol, que puede ser detectado con el reactivo de Kovacs.

Este medio de cultivo es recomendado por la ISO para la identificación de *E. coli* en carnes y productos cárnicos³ y por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) para el análisis de otros alimentos⁴.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de indol
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	bueno	+

CONTROL NEGATIVO
Staphylococcus aureus ATCC 25923

bueno

-

Referencias

1. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. 20th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. Farmer JJ. III et *al.* 1985. J. Clin. Microbiol., 21: 46-76.
3. International Organisation for Standardization: Meat and Meat Products. 1975. Detection and enumeration of presumptive coliform bacteria and presumptive *E. coli* (Reference Method). Draft International Standard ISO/DIS 3811.

4. American Public Health Association. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2th de., APHA Inc., Washington, D.C.

BASE DE AGAR BAIRD-PARKER

CÓDIGO: 4221

Base destinada a la preparación del medio para el aislamiento y enumeración de estafilococos coagulasa positivos en alimentos y en otros materiales.

Fórmula	g/L
Mezclas de peptonas	13.0
Extracto de carne	1.0
Extracto de levadura	2.0
Glicina	12.0
Piruvato de sodio	10.0
Cloruro de litio	5.0
Agar	20.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 63 g en 950 mL de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, enfriar hasta 45-50 °C, añadir asépticamente 50 mL de emulsión estéril de yema de huevo con telurito, mezclar bien y distribuir.

Descripción

El Agar Baird-Parker es medio selectivo y diferencial, al cual se le añade yema de huevo y telurito como suplementos, que es empleado para la detección de estafilococos coagulasa positivos en productos alimenticios, piel, suelo, aire y otros materiales¹. Baird-Parker, con el objetivo de lograr un aislamiento excelente de *Staphylococcus aureus*, a partir de la fórmula del medio Telurito-Glicina de Zebovitz y colaboradores², desarrolló este medio. El medio es altamente selectivo para permitir el desarrollo de gran parte de las bacterias presentes en alimentos, sin inhibir a *Staphylococcus aureus*. El Agar Baird-Parker muestra dos características diagnósticas importantes, la lipólisis y la proteólisis para la identificación de *Staphylococcus aureus*, como resultado las colonias poseen halos claros característicos alrededor y un color negro típico producto de la reducción del telurito a teluro. Es necesario resaltar la estrecha relación que existe entre la reacción con la yema de huevo y telurito y la prueba de coagulasa positiva². Es posible sustituir el Agar Vogel-Johnson utilizado para el aislamiento y enumeración de *Staphylococcus aureus* por el medio Agar Baird-Parker³.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias	Leticinasa/Halo
CONTROL POSITIVO			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	negro	+
CONTROL NEGATIVO			
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	de regular a bueno	negro	-

Referencias

1. Baird-Parker. 1962. J. Appl. Bacteriol., 25:12.
2. Zebovitz E, Evan JB and Niven CF. 1955. J. Bact., 70: 686-689.
3. Shaw S, Scott M and Cowan T. 1957. J. Gen. Microbiol., 5:1010-1023.
4. Tardio and Baer. 1971. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 54:728.

BASE DE AGAR BORDET-GENGOU

Código: 4006

Base destinada a la preparación del medio para la detección y aislamiento de *Bordetella pertussis* y *Bordetella parapertussis*.

Fórmula	g/L
Proteosa peptona	10.0
Extracto de papa	4.5
Cloruro de sodio	5.5
Agar	16.0

pH 6.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 36 g en 1 L de una solución de glicerol al 1 % en agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min. Para utilizarlo con sangre, enfriar hasta 45-50 °C, añadir asépticamente 150-200 mL de sangre estéril desfibrinada, mezclar y distribuir.

Descripción

Bordet y Gengou¹ introdujeron este medio en el año 1906 para el mantenimiento y conservación de los microorganismos. En 1932, Fleming² con el objetivo de aislar las especies de *Bordetella* presentes en las secreciones nasofaríngeas realiza la primera demostración *in vitro* utilizando penicilina. Kendrick y Eldering sustituyeron en la formulación original el 50 % de la sangre humana y de conejo por 15 % de sangre de carnero, lo cual hizo el medio más práctico para los procedimientos de rutina en los laboratorios clínicos³ e indicaron que la adición del 1 % de proteosa peptona y neopeptona aumentaba el crecimiento de *Bordetella pertussis* e incrementaba el rendimiento en la producción de vacunas⁴.

Lacey en 1954 confirmó los experimentos de Fleming y aumentó la selectividad del medio⁵. Posteriormente se comprobó que la cefalexina es un mejor agente selectivo para *Bordetella pertussis*⁶.

Las placas inoculadas se incuban a 35 ± 2 °C y se observa el comportamiento de los microorganismos según se muestra a continuación.

Microorganismo	Tiempo de incubación (días)	Hemólisis	Características de las colonias
<i>Bordetella pertussis</i>	3-4	beta	planas, menores que 1 mm de diámetro, brillantes y con una zona de hemólisis
<i>Bordetella</i>	2	gamma	estrecha carmelitas, débilmente pigmentadas, el
<i>parapertussis</i> <i>Bordetella</i>	1-2	gamma	medio que las rodea es verdinegro mayores que <i>Bordetella parapertussis</i> con
<i>bronchiseptica</i> Cocos Gram-	1-2	+/-	superficie rugosa colonias oscuras y más opacas
positivos		*	

* depende de la familia y grupo a que pertenece la especie que se estudia

Como precauciones se recomienda no emplear el Medio Transporte de Stuart o formulaciones similares⁷ para el traslado de especímenes que contengan *Bordetella*, ya que se dificulta su posterior identificación.

En caso de utilizar la anfotericina para la inhibición de hongos filamentosos, debe prestarse atención a los niveles empleados, debido a que ésta puede inhibir a la *Bordetella pertussis*⁸.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo

CONTROL POSITIVO

Bordetella sp.
Bordetella bronchiseptica ATCC 4617

Crecimiento

bueno
bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Bordet J and Gengou O. 1906. Ann. Inst. Pasteur, 20: 731.
2. Fleming A. 1932. J. Path. Bact., 35: 831-842.
3. Kendrick and Eldering. 1934. Am. J. Pub. Hlth., 24: 309.
4. Am. J. Pub. Hlth. 1936., 26: 506.
5. Lacey BW. 1954. J. Hyg., 52: 273-303.
6. Regan J and Lowe F. 1977. J. Clin. Microbiol., 6: 303-309.
7. Gastrin L, Kallings O and Marcetic A. 1968. Acta. Path. Microbiol. Scand., 74: 371-375.
8. Gilligan PH and Fisher MC. 1984. J. Clin. Microbiol., 20: 891-893.

BASE DE AGAR CETRIMIDA

CÓDIGO: 4220

Base destinada a la preparación del medio selectivo para el aislamiento e identificación de *Pseudomonas aeruginosa* a partir de muestras de alimentos y de muestras clínicas.

Fórmula	g/L
Peptona de gelatina	20.0
Cloruro de magnesio	1.4
Sulfato de potasio	10.0
Cetrimida	0.3
Agar	13.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 44,7 g de la base en 1 L de agua destilada o desionizada y agitar suavemente. Añadir 10 mL de glicerol (cód. 4448). Hervir hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 min. Enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles.

Descripción

Este medio es una modificación del medio propuesto por Brown y Lowbury en 1965 para el aislamiento y diferenciación de *Pseudomonas aeruginosa* de varios materiales¹.

La inclusión de cetrimida en la formulación, a una concentración de 0,3 g/L, permite la inhibición del crecimiento de la microbiota acompañante y minimiza la interferencia de estos microorganismos en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*¹.

El medio es empleado para determinar la habilidad de producir fluoresceína y piocianina por parte de *Pseudomonas aeruginosa*. Se combinan el cloruro de magnesio y el sulfato de potasio para aumentar la producción de los pigmentos².

El crecimiento de microorganismos tales como *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* y *Staphylococcus aureus* está totalmente inhibido en el medio.

Las colonias de coloración verde-azul que muestran fluorescencia bajo luz ultravioleta a 366 nm son indicativas de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo

CONTROL POSITIVO

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027

Crecimiento

bueno

Características de las colonias aisladas

colonias verde-azules

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno	colonias verde-azules
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	inhibido	

Suplemento

Suplemento Glicerol. Bulbo por 5 mL. Código: 4448

Referencias

1. Brown VI, Lowbury E JL. 1965. Use of improved cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol., 18:752-756.
2. MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.

BASE DE AGAR ENDO

Código: 4007

Base destinada a la preparación del medio para la diferenciación e identificación de bacterias coliformes basadas en la fermentación de la lactosa.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Lactosa	10.0
Fosfato dipotásico	3.5
Sulfito de sodio	2.5
Agar	10.0

pH 7.5 ± 0.2

Preparación

Suspender 36 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Añadir 4 mL de solución de fucsina básica al 10 % (p/v) en alcohol etílico. Hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

LAS PLACAS DEBEN MANTENERSE EN LA OSCURIDAD PARA PRESERVAR SU COLOR ROSA PÁLIDO.

Advertencia: La fucsina básica es un agente carcinógeno potencial. Evite la inhalación y contacto con la piel. Debe pesarse en campana de extracción.

Descripción

A través de los años se emplearon medios que contenían sales biliares o mezclas de sales con el objetivo de inhibir el crecimiento de microorganismos Gram-positivos que acompañaban los especímenes de microorganismos entéricos. En 1904, Endo¹ desarrolló un medio de cultivo que contenía una mezcla de fucsina básica y sulfito de sodio que sustituía a las sales biliares y posibilitaba la diferenciación de los organismos Gram-negativos en cuanto a su capacidad para fermentar la lactosa.

Originalmente el medio se creó con el fin de aislar el bacilo de la fiebre tifoidea, con posterioridad este microorganismo se ha aislado e identificado en medios más adecuados². Actualmente se utiliza para la diferenciación de microorganismos entéricos. Fundamentalmente en la prueba presuntiva para coliformes en aguas residuales, aguas y productos alimenticios^{3,4}.

A diferencia de otros medios que se emplean en la identificación de enterobacterias, las reacciones típicas en él no son ocasionadas por la producción de ácido, sino por el producto intermedio (acetaldehído) que se fija al sulfito de sodio dejando libre la fucsina, lo que provoca la aparición de una coloración roja con brillo metálico en la colonia y sus alrededores, típica de los microorganismos fermentadores de lactosa^{5,6}. Los no fermentadores de lactosa forman colonias transparentes contra el fondo rosado del medio. Las placas inoculadas se incuban de 18-24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C (protegido de la luz)

Control de la calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	rojo con brillo metálico
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	rojo

CONTROL NEGATIVO

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	inhibido
---	----------

Referencias

1. Endo. 1904. Zentralbl. Bakteriол.. Abt. 1, Orig., 35:109.
2. Levin and Schoenlein. 1930. A Compilation of Culture Media for the Cultivation of Microorganisms. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. American Public Health Association, 1975, Standard Methods for the Examination of Water an Wastewater. 14th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
4. American Public Health Association. 1972. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 13th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
5. Margolena and Hansen. 1933. Stain Tech., 8: 131.
6. Neuberg and Nord. 1919. Biochem. Zeit., 96: 133.

BASE DE AGAR GC

Código: 4020

Base destinada a la preparación del medio para el aislamiento de neisserias patógenas.

Fórmula	g/L
Proteosa peptona	15.0
Almidón de maíz	1.0
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	10.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 36 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min. Para utilizarlo con sangre, enfriar a 45-50 °C, añadir asépticamente 5 % de sangre estéril desfibrinada a temperatura ambiente, mezclar y distribuir.

Descripción

Johnston en el año 1940 describió una modificación del Agar Chocolate que permitió observar el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* en 24 horas^{1,2}. Posteriormente Carpenter y Marton³ modificaron este medio.

La presencia de almidón en la formulación actual garantiza la absorción de las sustancias tóxicas producidas durante el crecimiento de las neisserias y la neutralización de los ácidos grasos tóxicos que puedan estar presentes en el agar.

Los fosfatos actúan como tampón en el medio impidiendo el cambio brusco del pH por formación de aminas.

Las placas inoculadas se incuban hasta 48 horas a temperatura de 35 ± 2 °C en atmósfera de CO2.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Neisseria</i> sp.	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Johnston. 1945. J. Vener. Dis. Inform., 26: 239.
2. Johnston. 1948. J. Vener. Dis. Inform., 29: 208.
3. Carpenter and Morton. 1947. Proc. N. Y. State Assoc. Pub. Hlth. Lab., 27: 58.

BASE DE AGAR MRS

CÓDIGO: 4219

Base destinada a la preparación del medio no selectivo para el cultivo y aislamiento de especies de *Lactobacillus*.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	12.0
Extracto nutritivo	2.0
Extracto de levadura	8.0
Dextrosa	20.0
Fosfato dipotásico	2.0
Citrato diamónico	2.0
Acetato de sodio	5.0
Sulfato de magnesio	0.2
Sulfato de manganeso	0.04
Agar	14.0

pH 5.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 65,2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, añadir 1 mL de Tween 80, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, mezclar bien y distribuir.

Descripción

La formulación MRS fue desarrollada por De Man, Rogosa y Sharpe¹, para permitir el crecimiento de lactobacilos. Sin embargo como el medio posee un bajo grado de selectividad especies de *Pediococcus* y *Leuconostoc*, así como, algunas bacterias secundarias pueden crecer en el mismo.

La presencia de acetato de sodio, el ambiente anaeróbico y el bajo pH en el medio de cultivo, contribuyen en la elevada supresión de la flora bacteriana acompañante. El crecimiento óptimo de lactobacilos es logrado por el adecuado balance de las sales de hierro, magnesio, manganeso y la presencia de Tween 80, así como, una rica mezcla de bases nutritivas^{2,3}.

Después de la inoculación, para estimular el crecimiento de lactobacilos, las placas se colocan en jarra anaeróbica o en incubadora con mezcla anaeróbica (95 % de Hidrógeno y 5 % de dióxido de carbono) y es importante una atmósfera de humedad adecuada.

No se recomienda secar la superficie de las placas, pues contribuye al aumento de la concentración del acetato y resulta inhibitorio para el crecimiento de lactobacilos⁴.

El período de incubación depende de la temperatura, es decir, 3 días a 37 °C ó por 5 días a 30 °C².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo	Crecimiento
<i>Lactobacillus acidophilus</i> sp.	bueno
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. De Man JD, Rogosa M and Sharpe ME. A medium for the cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bact., 1960; 23; 130 – 135.
2. Sharpe ME. Selective media for the isolation and enumeration of lactobacilli. Lab. Practice, 1960; 9; 223 – 227.
3. Sharpe ME, Fryer TF and Smith DC. Identification of the Lactic acid bacteria. In Gibbs, B. M. and Skinner, P. A.1966. Identification methods for microbiologists, Part A; 65 – 79.
4. DIN Deutsches Institut fur Normung e V. 1995. DIN 1

BASE DE AGAR PARA *Bacillus cereus*

CÓDIGO: 4351

Base destinada a la preparación del medio selectivo para el aislamiento y enumeración de *Bacillus cereus*.

Fórmula	g/L
Tryptona	10.0
Extracto nutritivo	1.0
D-manitol	10.0
Cloruro de sodio	10.0
Rojo fenol	0.025
Agar	12.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 43 g en 900 mL de agua destilada o desionizada, calentar con agitación frecuente hasta disolución completa, esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 min, enfriar a 50 °C, asépticamente adicionar 50 mL de la solución de Polimixina B sulfato estéril, luego agregar 50 mL de emulsión de yema de huevo estéril. Mezclar bien y distribuir.

Descripción

Este medio es altamente selectivo para *Bacillus cereus*. Recomendado por Mossel y col.¹ para el aislamiento y cuantificación de este microorganismo en alimentos. Fue desarrollado por Holbrook y Anderson y se conoce en la literatura como medio PEMBA.

Los elementos diagnósticos para la identificación de *Bacillus cereus* se basan en el aspecto de las colonias, precipitación por hidrólisis de la lecitina y utilización del manitol.

Bacillus cereus es manitol negativo, y siendo el manitol un componente de la fórmula, aquellas bacterias de la flora acompañante que son manitol positivas, pueden diferenciarse gracias al viraje de color del indicador rojo fenol hacia el color amarillo.

Bacillus cereus es resistente a la polimixina a determinadas concentraciones a las cuales puede ser inhibida la flora acompañante. Esta especie produce lecitinasa la cual actúa sobre la lecitina presente en la yema de huevo apareciendo un precipitado blanco alrededor de las colonias².

Las muestras de ensayo, diluidas o no, se inoculan directamente en las placas de agar y se incuban durante 24 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias	Precipitado
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	bueno	grandes, de color rosado	+
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	bueno	pequeñas, de color rosado	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	amarillas	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	inhibido	-	-

Referencias

1. Mossel DAA, Koopman MJ and Jongerius E. 1967. Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Appl. Microbiol., 15; 650-653.
2. Brown ER, Moody MD, Treece EL and Smith CW. 1958. J. Bact., Differential diagnostic of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus var mycoides*. 75; 499-509.

BASE DE AGAR SANGRE

Código: 4005

Medio de propósito general para el cultivo de una gran variedad de microorganismos, incluyendo los exigentes. Al añadirle san- gre, puede utilizarse para la determinación de las reacciones hemolíticas.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Extracto nutritivo	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 40 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min. Para utilizarlo con sangre, enfriar hasta 45-50 °C, añadir asépticamente de 5 a 10 % de sangre estéril desfibrinada a temperatura ambiente, mezclar y distribuir.

Descripción

Por la alta concentración de bases nutritivas el medio ofrece condiciones óptimas de crecimiento a todos los microorganismos presentes.

Con la adición de sangre y el calentamiento posterior del medio se puede obtener un Agar Chocolate de excelentes cualidades nutritivas debido a que la mayoría de las bacterias forman colonias más rápidamente y alcanzan mayor desarrollo en un medio ligeramente básico.

Las reacciones hemolíticas de los organismos inoculados en este medio podrán ser afectadas por la sangre de animal utilizada y por las condiciones de incubación¹.

Las placas inoculadas se incuban de 18 a 24 horas a temperatura de 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Hemólisis
CONTROL POSITIVO		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> sp.	bueno	alfa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno	beta
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	bueno	-

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Facklam RR. 1980. Manual of Clinical Microbiology. Eds. Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. E Truant, J.P. 3rd ed. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D.C.

BASE DE AGAR SANGRE COLUMBIA

CÓDIGO: 4059

Base destinada a la preparación de medios para el cultivo de gérmenes exigentes.

Fórmula	g/L
Peptona especial	23.0
Almidón soluble	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	10.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 39 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min. Para utilizarlo con sangre, enfriar hasta 45-50 °C, añadir asépticamente 5 % de sangre estéril desfibrinada a temperatura ambiente, mezclar y distribuir.

Descripción

Ellner y col. en 1966 describieron el medio básico y las variaciones del mismo¹. Esta nueva base se ha mostrado extremadamente versátil y ventajosa en diferentes aplicaciones.

Es empleado de manera eficaz para preparar una extensa variedad de medios utilizados en bacteriología médica. La mayor parte de las bacterias patógenas comunes se desarrollan en ese medio basal aún sin la adición de sangre. Se emplea satisfactoriamente para la preparación de otros medios con enriquecimientos especiales o con la adición de varios agentes selectivos inhibitorios.

- Medio selectivo para cocos Gram-positivos

Preparando el Agar Sangre y añadiendo 10 mg/mL de colistina y 15 mg/mL de ácido nalidíxico, se obtiene un medio muy eficaz para la selección de cocos Gram-positivos, produciéndose colonias bien desarrolladas y bien definidas para los estafilococos, estreptococos hemolíticos y enterococos, resultando inhibidos los *Proteus*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*.

- Medio selectivo para Neisseria (Thayer-Martin)

Este medio se obtiene añadiendo al medio basal 7.5 mg/mL de sulfonato de colistimetato y 3 mg/mL de vancomicina². Es selectivo para *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis*.

- Agar Chocolate para Haemophilus influenzae

Este medio se prepara con la Base de Agar Sangre Columbia, añadiendo un 10 % de sangre de carnero desfibrinada estéril y calentando a 55 °C. Las colonias se desarrollan de forma más rápida que en otros medios similares.

Las placas inoculadas se incuban de 24 a 48 horas a 35 ± 2 °C

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la calidad

Microorganismo	Crecimiento	Hemólisis
CONTROL POSITIVO		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> sp.	bueno	alfa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno	beta
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	+

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E and Vasi F. 1966. A New Culture Medium for Medical Bacteriology. Tech. Bull. Reg. Med. Techn. 36, No. 3, reprinted in Am. J. Clin. Pathol., 45: 502-504.
2. Thayer JM and Martin JE. 1966. An Improved Medium for the Cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Publ. Hlth. Rep., 81: 559-562.

BASE DE AGAR SELECTIVO PARA YERSINIA

CÓDIGO: 4218

Base destinada a la preparación del medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Yersinia enterocolítica* de muestras clínicas y no clínicas.

Fórmula	g/L
Peptona de gelatina	17.0
Hidrolizado enzimático de caseína	1.5
Peptona de carne	1.5
Extracto de levadura	2.0
D-Manitol	20.0
Desoxicolato de sodio	0.5
Colato de sodio	0.5
Piruvato de sodio	2.0
Sulfato de magnesio	0.01
Cloruro de sodio	1.0
Cristal violeta	0.001
Rojo neutro	0.03
Agar	13.5

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 59.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, añadir asépticamente 4 mL de suplemento selectivo para *Yersinia* restituido, mezclar bien y distribuir.

Descripción

Schiemann¹ desarrolló en 1979 un medio diferencial y selectivo para el aislamiento de *Yersinia enterocolitica* y lo modificó en 1982 para disminuir el poder selectivo para ciertos serotipos². La presencia en el medio de cristal violeta, desoxicolato de sodio de los suplementos cefsulodina, Irgasan y novobiocina, proporcionan las condiciones necesarias para la inhibición de los organismos Gram + y Gram -.

El medio, también conocido por CIN debido al empleo de los tres suplementos antes mencionados, permite identificar a *Yersinia enterocolitica* a las 18-24 horas por el color rojo oscuro de la colonia, rodeada de un halo transparente.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	bueno	colonias con el centro rojo y bordes transparentes
CONTROL NEGATIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	inhibido	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	inhibido	-

Referencias

1. Schiemann DA. 1979. Synthesis of a Selective Agar Medium for *Yersinia enterocolitica*., CAN. J. Microbiol., 25: 1298-1304.
2. Schiemann DA. 1982. Development of a Two Step Enrichment Procedure for Recovery *Yersinia enterocolitica* from food., Appl. Environ. Microbiol., 43: 14-27.

BASE DE AGAR UREA

Código: 4058

Base destinada a la preparación del medio de Christensen para la diferenciación de microorganismos, especialmente bacilos entéricos, por la capacidad de hidrolizar la urea.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	1.0
Dextrosa	1.0
Fosfato monopotásico	0.8
Fosfato disódico	1.2
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.012
Agar	15.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 2.4 g en 95 mL de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 115 °C por 20 min, enfriar hasta 50 °C y adicionar asépticamente 5 mL de una solución de urea estéril al 40 %. Mezclar bien, distribuir en tubos estériles y solidificar en posición inclinada.

Descripción

El medio Agar Urea fue creado por Christensen¹ para la diferenciación de los bacilos entéricos por su capacidad para hidrolizar la urea.

El medio se inocula a partir de un cultivo puro sobre la superficie de un agar inclinado. Los organismos que utilizan la urea provocan un cambio en el color del medio a rosado intenso debido a la alcalinización del medio por la formación de amonio. Esta reacción se completa en un período de 3 a 5 horas.

Para la preparación de este medio se suministra una solución de urea al 40 % (cód: 4050) esterilizada por filtración.

Los tubos de Agar Urea se incuban de 18 a 24 horas a una temperatura de 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Color del medio	Urea
CONTROL POSITIVO		
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	rosado intenso	+

CONTROL NEGATIVO

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de naranja rojizo a amarillo	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	naranja rojizo	-

Suplemento

Solución de Urea Estéril al 40 %. Bulbo por 5 mL. Código: 4050

Referencias

1. Christensen WB. 1946. Urea Decomposition as Means of Differentiating *Proteus* and *Paracolon* Cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* Types. J. Bact., 52: 461-466.

BASE DE CALDO MRS

CÓDIGO: 4172

Base destinada a la preparación del medio no selectivo para el enriquecimiento, cultivo y aislamiento de especies de *Lactobacillus*.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Extracto nutritivo	5.0
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	20.0
Fosfato dipotásico	2.0
Citrato diamónico	2.0
Acetato de sodio	5.0
Sulfato de magnesio	0.1
Sulfato de manganeso	0.05

pH 6.5 ± 0.2

Preparación

Suspender 49,2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, añadir 1 mL de Tween 80, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La formulación de este medio de cultivo fue desarrollada por De Man, Rogosa y Sharpe¹ en 1960 para el enriquecimiento, cultivo y aislamiento de las especies de *Lactobacillus* a partir de diferentes tipos de muestras^{2,3,4}.

El medio contiene polisorbato, acetato y sales de magnesio y manganeso los cuales actúan como activadores de crecimiento de lactobacilos. La combinación apropiada de las bases nutritivas también favorece al desarrollo de estos microorganismos.

Diferentes normas internacionales recomiendan el empleo del Caldo MRS para el análisis de carne² y otros alimentos³.

Las muestras con material destinado para el análisis se homogeneizan y se transfieren al Caldo MRS para el enriquecimiento y cuantificación mediante la técnica de Número Más Probable. Los tubos se incuban a 35 ± 2 °C hasta 3 días en un ambiente enriquecido con CO₂. La identificación posterior de *Lactobacillus* se realiza según Davis (1960)⁵, Rogosa y col. (1953)⁶ y Sharpe (1966)⁷.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

MicroorganismoCrecimiento

CONTROL POSITIVO

<i>Lactobacillus casei</i> aislado	bueno
<i>Lactobacillus acidophilus</i> aislado	bueno
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

- De Man JD, Rogosa M and Sharpe ME. A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. – J. Appl. Bact., 23; 130-135 (1960).
- Bundesgesundheitsamt: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. – Beuth Verlag Berlin, Köln.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V. 1995. DIN 10109 and ISO 13721.
- Rogosa M and Sharpe ME. 1959. An approach to the classification of the lactobacilli. – J. Appl. Bact., 22; 329-340.
- Davis JG. 1960. The lactobacilli. – I. Prog. in Industr. Microbiol., 2; 3.
- Rogosa M, Wiseman RF, Mitchell JA, Disraely MN and Beaman AJ. 1953. Species differentiation of oral lactobacilli from man including descriptions of *Lactobacillus salivarius* nov. spec. and *Lactobacillus cellobiosus* nov. spec. – J. Bact., 65; 681-699.
- Sharpe ME, Fryer TF and Smith DC. 1966. Identification of the Lactic Acid Bacteria. – in GI-BBS, B.M., a. SKINNER, P.A.: Identification Methods for Microbiologists, Part A; 65-79.

BASE DE CALDO ROJO FENOL

CÓDIGO: 4031

Base destinada a la preparación del medio utilizado en los estudios de fermentación de carbohidratos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.018

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 15 g en 1 L de agua destilada o desionizada, agregar de 5 a 10 g del carbohidrato deseado, agitar hasta disolución completa, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min. Si se desea, la base puede ser preparada sin el carbohidrato y, después que el medio basal haya sido esterilizado y enfriado, puede adicionarse el carbohidrato esterilizado por filtración o en autoclave.

Descripción

La capacidad de los microorganismos para fermentar un carbohidrato específico incorporado a un medio basal es una característica que ha sido estudiada para la diferenciación o caracterización de una especie o grupos de bacterias^{1,2}.

La Base de Caldo Rojo Fenol es un medio basal al cual se le puede añadir un carbohidrato antes o después de la esterilización.

El indicador de pH rojo fenol se utiliza para la detección de la producción de ácido por los microorganismos; el cambio de coloración es de naranja rojizo a amarillo¹.

Para asegurar la precisión de los resultados deben prepararse tubos de control sin inocular.

Los tubos inoculados se incuban de 18 a 24 horas a temperatura de 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a temperatura ambiente

Control de la calidad para el medio basal

Microorganismo	Crecimiento	Dextrosa	Lactosa	Maltosa	Manitol
CONTROL POSITIVO					
		A G	A G	A G	A G
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	++	++	++	++
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	++	--	++	++
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno	+-	--	--	+-

CONTROL NEGATIVO

- Medio no inoculado
- Medio sin azúcares inoculado con los microorganismos
- A** - producción de ácido
- G** - producción de gas
- (+)** = positivo
- (-)** = negativo

Referencias

1. MacFaddin. 1980. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 2nd ed., Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Finegold and Baron. 1986. Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology. 7th ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.

BASE DE CALDO SELENITO

CÓDIGO: 4026

Base destinada a la preparación del medio de enriquecimiento utilizado para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* en heces, orina, aguas y otros materiales contaminados.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Lactosa	4.0
Fosfato monosódico	10.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Disolver 4 g de biselenito de sodio en 1 L de agua destilada o desionizada, añadir 19 g de la base, calentar hasta ebullición, esterilizar en un baño de agua hirviente por 10 min. Evitar el sobrecalentamiento excesivo. No esterilizar en autoclave. Distribuir en tubos estériles hasta una altura de 5 cm.

Descripción

La formulación de este medio es esencialmente la misma que la del Caldo F de Selenito descrita por Leifson¹. Handel y Theodorascu, de acuerdo con Guth², observaron mayor sensibilidad de la *Escherichia coli* a la toxicidad del selenito de sodio, que de la *Salmonella* Typhi. Leifson desarrolló un Agar con Selenito y un Caldo con Selenito para uso en el aislamiento de bacilos tifoídes y paratifoídes en heces y orina y descubrió mayores ventajas en el caldo enriquecido.

El biselenito de sodio inhibe el desarrollo de organismos coliformes y enterococos en las primeras 6 a 12 horas de incubación, permitiendo la recuperación de *Salmonella*, *Proteus* y *Pseudomonas*.

Después del enriquecimiento de los especímenes en el Caldo Selenito, se debe rayar sobre placas de medios selectivos tales como: Agar S.S. (cód. 4021) y Agar de MacConkey (cód. 4014).

Los tubos de Caldo Selenito inoculados se incuban de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Recuperación del subcultivo (UFC/ 0,1 mL en la dilución 10-1)
AGAR TRIPTONA SOYA	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido en la dilución 10-1 a partir de inóculo inicial (1000-10000 UFC/0,1 mL del caldo selectivo)
AGAR DE MACCONKEY	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 +	E. coli: M 1 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 ó <i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	Salmonella: U 99 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo

Referencias

- Leifson E. 1936. A New Selenite Enrichment Media for the Isolation of Typhoid and Paratyphoid (*Salmonella*) Bacilli. Am. J. Hyg., 24 (2): 423-432.
- Centr. Bakt. I Abt. Orig. 1916. 77: 487.

BASE DE CALDO TETRATIONATO

CÓDIGO: 4106

Base destinada a la preparación del medio selectivo de enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella* en las heces, orina, alimentos y otros materiales.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	2.5
Peptona bacteriológica	2.5
Sales biliares	1.0
Carbonato de calcio	10.0
Tiosulfato de sodio	30.0

Preparación

Suspender 46 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir durante 1 min, enfriar rápidamente hasta menos de 45 °C. Adicionar 20 mL de solución de yodo yoduro, mezclar bien y distribuir 10 mL en tubos estériles. No calentar una vez adicionada la solución. Usar rápidamente el medio preparado.

Descripción

La formulación del medio se basa en las anteriores desarrolladas por Mueller¹ y Kauffmann^{2,3} y en ella, las sales biliares inhiben a los microorganismos Gram-positivos permitiendo el enriquecimiento del grupo tifoide y paratifoide. Al adicionar a la base la solución yodo yoduro se forma el tetrationato el cual resulta inhibitorio para las especies que componen la flora intestinal normal.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Recuperación del subcultivo (UFC/ 0,1 mL en la dilución 10 ⁻¹)
AGAR TRIPTONA SOYA	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibido en la dilución 10 ⁻¹ a partir de inóculo inicial (1000-10000 UFC/0,1 mL del caldo selectivo)
AGAR DE MACCONKEY	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 +	E. coli: ≤ 1 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 o <i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	Salmonella: ≥ 99 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo

Referencias

- Mueller. 1923. C.R. Soc. Biol. Paris, 89:434.
- Kauffmann. 1930. Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., 113:148.
- Kauffmann. 1935. Zentralbl. Hyg. Infektionskr., 117:26.

BASE DE CALDO UREA

CÓDIGO: 4179

Base destinada a la preparación de la versión líquida del medio de Christensen para la diferenciación de microorganismos, especialmente bacilos entéricos, por su capacidad de hidrolizar la urea.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	1.0
Dextrosa	1.0
Fosfato monopotásico	0.8
Fosfato disódico	1.2
Cloruro de sodio	5.0
Rojo fenol	0.004

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 0.9 g en 95 mL de agua destilada o desionizada, mezclar bien, esterilizar a 115 °C por 20 min, enfriar a 50 °C y adicionar asépticamente 5 mL de una solución de urea estéril al 40 %. Mezclar bien y distribuir un volumen de 5 mL en tubos estériles.

Descripción

Maslen¹ desarrolló la formulación del medio Base de Caldo Urea, a partir de la original de Christensen², para la detección rápida de la reacción de hidrólisis de la urea por *Proteus* y otras enterobacterias. Las bacterias ureasa positivas desdoblan la urea hasta amoníaco y cambian el color del medio a rosado intenso.

Para *Proteus*, se observa esta reacción más rápidamente (de 3 a 5 h) que para el resto de las enterobacterias (24-48 h).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color del medio	Ureasa
CONTROL POSITIVO			
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	bueno	rosado intenso	+
CONTROL NEGATIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	de naranja rojizo a amarillo	-

Suplemento

Solución de Urea Estéril al 40 %. Bulbo por 5 mL. Código: 4050

Referencias

1. Christensen WB. 1946. Urea Decomposition as Means of Differentiating *Proteus* and *Paracolon* Cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* Types. J. Bact., 52: 461-466.
2. Maslen LGC. 1952. Brit. Med. J. 2: 545-546.

BASE DE MEDIO BRUCELLA

CÓDIGO: 4060

Base destinada a la preparación del medio para el cultivo de *Brucella* y otros microorganismos exigentes.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Extracto nutritivo	5.0
Dextrosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0

pH 7.5 ± 0.2

Preparación

Suspender 45 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, enfriar hasta 50 °C, añadir asépticamente 5 % de suero estéril de caballo, mezclar y distribuir.

Descripción

La Base de Medio Brucella puede ser utilizada para la preparación del medio de suero y dextrosa con antibióticos descrito por Jones y Brinley Morgan (1958) para el cultivo y aislamiento de *Brucella*, incluyendo los tipos exigentes¹.

El medio para *Brucella* con antibióticos posee ventajas sobre los medios descritos por Kuzdas y Morse (1953)² y Renoux (1954)³, favorece el crecimiento de tipos exigentes y es más efectivo como medio selectivo.

Sin antibióticos se puede utilizar la base para la preparación de un medio no selectivo, adicionando solamente el suero, utilizando conjuntamente el método de la tira con colorante de Cruickshank (1948)⁴ para la posterior diferenciación de cepas de *Brucella*.

Las placas inoculadas se incuban de 24 a 72 horas a temperatura de 35 ±2 °C en una atmósfera que contenga de 10 a 20 % (v/v) de dióxido de carbono.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO <i>Brucella</i> sp.	bueno
CONTROL NEGATIVO Medio no inoculado	

Referencias

1. Jones Lois M and Brinley Morgan WJ. 1958. A Preliminary Report on a Selective Medium for the Culture of *Brucella*, including Fastidious Types. Bull. Wld. Hlth. Org., 19 (1): 200-203.
2. Kuzdas CD and Morse EV. 1953. A Selective Medium for the Isolation of *Brucella* from Contaminated Materials. J. Bact., 66 (4): 502-504.
3. Renoux G. 1954. A Selective Medium for the Isolation of *Brucella melitensis*. Ann. Inst. Pasteur, 87 (3): 325-333.
4. Cruickshank JC. 1948. A Simple Method for Testing Dye Sensitivity of *Brucella* Species. J. Path. Bact., 60: 328-329.

BASE DE MEDIO OF

CÓDIGO: 4473

Base destinada a la preparación del medio de cultivo para la diferenciación de bacterias sobre la base de su metabolismo oxidativo o fermentativo.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	2.0
Extracto de levadura	1.0
Fosfato dipotásico	0.2
Cloruro de sodio	5.0
Azul de bromotimol	0.08
Agar	2.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 10.3 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar con suavidad hasta disolución completa y esterilizar a 121 °C por 15 min, enfriar hasta 45-50 °C y agregar asépticamente 100 mL de la solución del hidrato de carbono al 10 % previamente esterilizada por filtración. Homogeneizar y distribuir 5 mL en tubos estériles. Agregar 1 mL de parafina líquida estéril.

Descripción

El medio de oxidación-fermentación (OF) fue desarrollado y descrito en 1953 por Rudolph Hugh y Einar Leifson con el objetivo de determinar la taxonomía de las bacterias Gram negativas, de acuerdo a la utilización de los hidratos de carbono, por el metabolismo oxidativo contra el fermentativo.^{1,2}

Años más tarde Cowan y Steel optimizaron su uso permitiendo una determinación e identificación rápida, por medio de reacciones de oxidación-fermentación, tanto de bacterias Gram negativas entéricas y no entéricas, como de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos. Además que en 1961 reportaron que algunos microorganismos fastidiosos eran incapaces de crecer en el medio de Hugh y Leifson, por lo cual se hacía necesario repetir el ensayo con el agregado de sustancias de enriquecimiento, ya sea suero al 2,0 % o extracto de levadura al 0,1 %.^{2,3}

La prueba de OF es uno de los ensayos primarios más importantes y sus aplicaciones más comunes son:

- Determinación e identificación rápida de bacterias aerobias y anaerobias facultativas.
- Diferenciación de bacterias Gram negativas entéricas y no entéricas y de la familia *Enterobacteriaceae*.
- Diferenciación entre los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus*.
- Determinación de la movilidad y la producción de gas.²

El medio contiene una concentración alta de hidrato de carbono con una concentración baja de peptona para superar la posibilidad de que un microorganismo aerobio utilice la peptona y, en consecuencia, pueda producir una condición alcalina que neutralice cualquier acidez leve producida por un microorganismo oxidativo. Las grandes cantidades de hidrato de carbono aumentan la cantidad de ácido encontrada. Ciertas peptonas pueden no ser satisfactorias para este medio, por lo que se recomienda un digerido pancreático de caseína.^{2,4-6}

El fosfato dipotásico en el medio estimula la fermentación y por su capacidad bufferante permite controlar el pH. El cloruro de

sodio incrementa el crecimiento de algunos microorganismos, entre ellos, *Brucella* y sus especies.^{2,5}

El azul de bromotimol es empleado como indicador de pH, por lo tanto a pH ácido el medio adquiere un color amarillo y un color azul prusia oscuro a pH 7,6².

La concentración de agar empleada permite la determinación de la movilidad y de la producción de gas, además de la capacidad oxidativa o fermentativa de un microorganismo. La consistencia semisólida permite distribuir el ácido producido en la superficie al resto del tubo, lo cual facilita la interpretación del pH.^{2,4-6}

El carbohidrato más usado es la glucosa, aunque hay agentes que no la utilizan, por lo que se hace necesario emplear otros. Este hidrato de carbono se agrega al medio mediante una solución al 10 % y esterilizada por filtración. Existe un procedimiento alterno que es agregar el carbohidrato al medio antes de esterilizar y autoclavar a 118 °C por 10 min.

La prueba consiste en sembrar por punción un inóculo liviano, proveniente de un cultivo puro de 18 a 24 h, del microorganismo a testar (puede ser necesario utilizar un inóculo denso para organismos aerobios estrictos) en dos tubos que contengan de 4-5 mL del medio OF preparado, con un hidrato de carbono determinado. Uno marcado para oxidación (tubo abierto) y otro para fermentación (sellado). Este último se sellará con una capa de parafina líquida estéril, de aproximadamente un milímetro, para crear condiciones de anaerobiosis. La parafina líquida o aceite mineral puede ser esterilizada agregando un mililitro de agua a 100 mL del producto, poner en autoclave a 121 °C por 15 min o en estufa de esterilización a 160-170 °C por 1 h. Su conservación es a temperatura ambiente.^{2,4-6}

La incubación será en aerobiosis a 35 ± 2 °C por un período de 24 a 48 h, en la mayoría de los microorganismos.^{2,4-6}

Los organismos oxidativos solo producen reacción ácida en el tubo sin parafina, caracterizada por una disminución en el pH y un cambio del color del medio de verde a amarillo. Los organismos fermentadores producen acidez y por ende un cambio de color en ambos tubos. Los microorganismos que no oxidan ni fermentan el hidrato de carbono (como *Alcaligenes faecalis*), degradan la peptona presente en el medio y por tanto elevan el pH, mostrando un color azul prusia oscuro en el tubo abierto.^{2,4-6}

Reporte de los resultados según patrones de reacción típica:

Reacción Tubo abierto Tubo sellado

- Oxidación Amarillo (A) Verde (-)
- Fermentación Verde (-) Amarillo (A)
- Solo gas Amarillo (A) Amarillo (A)
- Ácido y gas Amarillo (AG) Amarillo (AG)
- Oxidación y Fermentación Amarillo (A o AG) Amarillo (A o AG)
- Ni Oxidación ni Fermentación Azul o Verde (-) Verde (-)

La producción de gas se aprecia por las burbujas atrapadas en el medio.

La movilidad se aprecia por un crecimiento que difunde a partir de la línea de punción.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C por un mes

Control de la Calidad

Glucosa

Microorganismo	Abierto	Anaerobio	Motilidad
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	AG	AG	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	A	-	+*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	A	A	-

CONTROL NEGATIVO

<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 8156 - -	+*
---	----

- A: ácido G: gas
- (+): positivo (-): negativo
- *: en la superficie

Referencias

- Hugh R, Leifson E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J Bacteriol; 66(1): 24-6.
- McFadden JF. 2006. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Sección I. Pruebas Bioquímicas individuales. Capítulo 33 Prueba de oxidación-fermentación. 3th ed. Tomo I. Editorial Ciencias Médicas; 354-61.
- Cowan ST. 1974. Cowan & Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, ed 2. Cambridge: Cambridge University Press; 28, 170.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. 1997. Color Atlas &Textbook of Diagnostic Microbiology, ed 5. Philadelphia: JB Lippincott; 254-61, 304.
- BBL. 1988. Manual of Products and Laboratory Procedures, ed 6. Cockeysville, MD: BBL Microbiology Systems, Division of Becton Dickinson and Company. 216-7.
- Merck. 2006. Microbiology Manual, 12thed. Darmstadt. 372-5.

BASE DE MEDIO PARA DESCARBOXILACION DE AMINOACIDOS

CÓDIGO: 418o

Base destinada a la preparación de los medios utilizados para la diferenciación de microorganismos, por su capacidad de des-carboxilar diferentes aminoácidos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
Púrpura de bromocresol	0.016

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 9 g en 1 L de agua destilada o desionizada, adicionar 0.5 % del L-aminoácido ó 1 % del D-aminoácido deseado y mez-clar bien. Dispensar 5 mL en tubos con tapa de rosca y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Este medio con la adición de 0,5-1 % de aminoácidos apropiados, se utiliza para la diferenciación de bacterias sobre la base de su capacidad para descarboxilar los aminoácidos.

Moeller^{1,2,3} fue el primero en realizar la aplicación práctica de la prueba de descarboxilación de aminoácidos para distinguir a los microorganismos, el mismo estudió los sistemas enzimáticos para determinar su utilidad en la diferenciación de Enterobacterias. Calquist⁴ posteriormente desarrolló un medio utilizando la reacción de descarboxilación de la lisina para diferenciar *Salmonella arizonae* (Arizona) de *Citrobacter*. Falkow⁵ desarrolló estudios para la diferenciación e identificación de Salmonella basados en la reacción de descarboxilación de la lisina. Estudios realizados con posterioridad por Edwards, Davis y Ewing⁶ demostraron que era posible el uso del medio para detectar la descarboxilación de arginina y ornitina y además concluyeron que el método de Moeller debía ser considerado como estándar o de referencia.

En el medio, los organismos fermentadores de dextrosa lo acidifican. Las bacterias que descarboxilan diferentes aminoácidos, por ejemplo, lisina, ornitina o arginina originan productos alcalinos y provocan el aumento del pH, y el cambio de color a púrpura o violeta después de 25-96 horas, no así para las bacterias no productoras de descarboxilasa, ante las cuales, el medio se man-tiene de color amarillo.

Ewing y col.⁶ , sugirieron cubrir el medio con aceite mineral estéril para evitar la alcalinización de la superficie por el contacto con el aire.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Aminoácidos		
	LISINA	ORNITINA	ARGININA
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 7002	-	+	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	-	-	-
CONTROL NEGATIVO			
Medio inoculado sin aminoácidos	-	-	-

(+) color púrpura o gris, reacción positiva

(-) color amarillo, reacción negativa

*4 días de incubación a 35 ± 2 °C

Referencias

1. Acta Path.et Microl. Scand. 1954. 34: 102.
2. Acta Path et Microl. Scand. 1954. 35: 259.
3. Acta Path.et Microl. Scand. 1955. 36: 158.
4. J. Bact.1956. 71: 339.
5. Amer. J. Clin. Path. 1958. 29: 598.
6. Pub. Health Lab. 1960.18: 77.

BASE DE MEDIO PARA LA PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE CARBOHIDRATOS

CÓDIGO: 4484

La base de medio, cuando es suplementada con los carbohidratos, se recomienda particularmente para la identificación de especies de levaduras mediante la determinación de las reacciones de la asimilación de los carbohidratos.

Fórmula	g/L
Amonio sulfato	5.0
Fosfato dipotásico	0.45
Fosfato monopotásico	0.31
Fosfato disódico	0.92
Sodio cloruro	0.1
Calcio cloruro	0.05
Sulfato de magnesio heptahidratado	0.2
L-histidina	0.005
L-triptófano	0.02
L-metionina	0.02
Azul de bromotimol	0.04
Agar	15.0

pH 6.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 22.1 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Hervir hasta disolución completa. Mezclar bien y distribuir 60 mL en frascos. Esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La base de medio para la prueba de asimilación de carbohidratos, desarrollada por Lobaina *et al.*, en el año 2010, está diseñada la preparación del medio de cultivo utilizado en el procedimiento de la prueba de auxonograma del carbón recomendado para la identificación de levaduras hasta el nivel de especies. La asimilación del azúcar se detecta por el crecimiento visible en el medio de cultivo tras su incubación a 30-37 °C durante 24-48 horas.

El procedimiento de auxonograma tiene su basamento en que los hongos son organismos quimiótrofos, que degradan los nutrientes del medio exterior, como los complejos de hidrato de carbono, a través de enzimas exocelulares (permeasas) en monosacáridos más simples para su absorción. Los estudios de evaluación nutricional sobre sustratos específicos han permitido definir el patrón catabólico que puede presentar un determinado género o especie.

Por otra parte, al igual que en otros métodos para la identificación de levaduras basados en la asimilación de carbohidratos, tales como, API 20C AUX y el ID 32C (bioMérieux, Francia)^{2,3}, la formulación del medio de cultivo propuesto contiene, además de las sales inorgánicas comunes en la base, aminoácidos esenciales, entre ellos, histidina, metionina y triptófano, en concentraciones de 0,005 a 0,02 g por litro de medio de cultivo, los cuales favorecen la adaptación de las especies de levaduras en el medio en un menor período de tiempo ya que proveen los nutrientes necesarios para su desarrollo.

Para la ejecución de la técnica se recomienda el empleo de soluciones acuosas de carbohidratos estériles por filtración con membranas de 0,2 micras, a una concentración de 20% o, como alternativa, discos impregnados con carbohidratos de diferentes glúcidos. Por lo general se utilizan las siguientes sustancias carbonadas: galactosa (GAL), lactosa (LAC), sorbitol (SOR), rafinosa (RAF), inositol (INO), trehalosa (TRE), maltosa (MAL), celobiosa (CEL), xilosa (XIL), melezitosa (MLZ), glucosa (GLU), sacarosa (SAC), adonitol (ADO), arabinosa (ARA) y glicerol (GLY).

Metodología e interpretación de los resultados:

Utilizando la composición sintética libre de carbono (medio de cultivo), prepare una cantidad de aproximadamente 1 L y para cada cepa de estudio (una determinación), se necesitan dos frascos volumétricos de 100 mL de capacidad cada uno, con un volumen de 60 mL de medio sintético. Se comprueba su pH, se funden y se esterilizan por autoclave a 121 °C durante 15 min. Luego se colocan en baño de María a 45 -50 °C.

A partir de colonias aisladas de las cepas con interés de identificar se realizan suspensiones microbianas similares al patrón de MacFarland 2 y se mezclan con el medio estéril y fundido, en una proporción de 3:60 (mL de inóculo y mL de medio de cultivo).

La mezcla se distribuye en una placa Petri estéril (150 x 15) mm y se deja solidificar en una superficie plana. Una vez solidificado el medio, se rotula el fondo de ambas placas de Petri con las siglas asignadas a cada una de las sustancias a evaluar. En una placa pueden realizarse hasta 8 análisis de diferentes carbohidratos incluyendo el punto central y 7 en los alrededores.

Con un asa de inoculación estéril se realizan cortes profundos en el agar y con ayuda de una pipeta semiautomática se introduce en el orificio un volumen de 10 ×L de la solución del carbohidrato estéril.

Uno de los puntos puede ser reservado para el control negativo con agua destilada estéril y otro punto con solución de glucosa como patrón de referencia de asimilación de la fuente carbonada, es decir, el control positivo. En los demás puntos se colocan las restantes fuentes de carbono que se desean estudiar.

Posteriormente, las placas se colocan invertidas, en una estufa a 35°C. Cada 24 horas y hasta un máximo de 72 h, se observan las placas a través de la luz, reportándose la asimilación de las sustancias carbonadas, al evidenciarse una zona circular de mayor densidad de crecimiento alrededor del sitio donde se aplicó la sustancia a estudiar en el agar.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Reacción de asimilación del carbohidrato				
	GLU	INO	LAC	CEL	MAL
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	+	-	-	-	+
<i>Candida kefir</i> sp.	+	-	+	-	-
<i>Candida tropicalis</i> sp.	+	-	-	+	+

Leyenda:

GLU-glucosa, INO-inositol, LAC-lactosa, CEL-celobiosa, MAL-maltosa,
(+): reacción de asimilación positiva; (-): reacción de asimilación negativa

Referencias

- Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Rodríguez Rodríguez A, Zayas Ruiz Y. Identificación de especies de *Candida* utilizando un nuevo método de auxonograma del carbón. Rev Cubana Med Trop 2010; 62(1):66-81. ISSN 0375-0760.

2. Geraldo dos Santos O, Teixeira Ribeiro E, de Assis Baroni F. An evaluation of manual and mechanical methods to identify *Candida* spp. from human and animal sources. Rev Inst Med Trop S Paulo 2006; 48(6):311-5.
3. Cárdenes-Perera CD, Torres-Lanaab Á, Alonso-Vargasc R, Moragues-Tosantasc MD, Pontón-San Emeterioc J, Quindós-An-drésc G, Arévalo-Moralesa MP. Evaluation of API ID 32C® and VITEK-2® to identify *Candida dubliniensis*. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 50(3):219-21.

BASE DE MEDIO PARA LEPTOSPIRA F

CÓDIGO 4183

Medio basal, al que se añade suero de sangre de carnero, para la detección de *Leptospira* en muestras de sangre.

Fórmula	g/L
Fosfato disódico	0.9
Fosfato monopotásico	0.18
Cloruro de sodio	0.7

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 1.78 g en 1 L de agua destilada o desionizada, esterilizar a 121 °C por 15 min. Enfriar hasta 45-50 °C, añadir aséptica-mente 5 % de suero de sangre de carnero, mantener en baño de María 1 h por 3 días consecutivos a 56 °C y distribuir 5 mL en tubos estériles.

Descripción

Es un medio enriquecido con suero de sangre de carnero para la detección de leptospi ras en sangre, fluido espinal, orina, aguas y otros materiales. Además, es útil para el diagnóstico y estudios epidemiológicos de leptospirosis en los humanos y en los ani-males.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento en el medio de cultivo	Observación en microscopía de campo oscuro
CONTROL POSITIVO <i>Leptospira</i> sp.	bueno	buena
CONTROL NEGATIVO Medio no inoculado		

CALDO ASPARAGINA

CÓDIGO: 4379

Medio destinado para la diferenciación presuntiva de *Pseudomonas*, especialmente *Pseudomonas aeruginosa* en aguas.

Fórmula	g/L
L-asparagina	3.0
Dihidrógenofosfato de potasio	0.5
Sulfato de magnesio	0.1

pH 7.0 ± 0,2

Preparación

Suspender 3,6 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 115 °C por 10 min, mezclar bien y distribuir en tubos.

Descripción

El Caldo Asparagina es un medio utilizado en la Técnica de Tubos Múltiples, recomendado por APHA para la identificación pre-suntiva de *Pseudomonas aeruginosa* en aguas y aguas de recreo¹.

La L-asparagina le prporciona al medio una fuente de nitrógeno orgánico necesaria para el crecimiento, el dihidrógenofosfato de potasio actúa como tampón, y el sulfato de magnesio incorpora elementos necesarios también para el crecimiento.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Fluorescencia a 366 nm	Condiciones de incubación
CONTROL POSITIVO: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno, para el inóculo ≥ 3,0 x 10 ² UFC/mL	verde-azul	24 h a 35 ± 2 °C
CONTROL NEGATIVO: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	inhibido, para el inóculo ≤ 3,0 x 10 ⁸ UFC/mL	-	24 h a 35 ± 2 °C

Referencias

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. 1998. APHA, Washington, D.C.

CALDO AZIDA DEXTROSA

CÓDIGO: 4499

Medio para la detección y enriquecimiento selectivo de *Enterococcus* en aguas y otras muestras.

Formulación	g/L
Peptona bacteriológica	20.0
Dextrosa	5.0
Fosfato dipotásico	2.7
Fosfato monopotásico	2.7
Azida de sodio	0.2
Cloruro de sodio	5.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 35.6 g en 1 L de agua destilada o desionizada, distribuir en tubos en cantidad de 10 mL con agitación constante y esterilizar a 121°C por 15 min.

Descripción

El azida de sodio fue usado por primera vez por Hartman para inhibir el crecimiento de bacterias Gram-negativas, permitiendo el crecimiento de *Streptococcus*.¹Rother en 1948 formula un medio con azida de sodio, el medio caldo azida dextrosa, basándose en medios diseñados anteriormente que contenían este reactivo, obtenidos por Mallmann, Hajna y Perry.²

Este medio es recomendado para la determinación cuantitativa de *Streptococcus* en aguas, aguas residuales, alimentos y otros materiales que puedan ser contaminados con aguas residuales².

La combinación, altamente nutritiva, de peptona y dextrosa que posee el medio, le da la capacidad de recuperar el género *Enterococcus* a partir de concentraciones muy bajas del microorganismo^{1,2}.

El azida de sodio, presente en el medio de cultivo, inhibe el crecimiento de bacterias Gram-negativas y permite el crecimiento de *Enterococcus* spp.¹⁻³

El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico y la mezcla de fosfatos controla el pH del medio de cultivo.
El medio es muy tóxico. Nocivo por ingestión y por inhalación. Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	bueno
CONTROL NEGATIVO	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso (ligera turbiedad) (para el inóculo 10 ³ - 10 ⁴ UFC)

Referencias

1. Hartmann, G. 1936. Ein Beitrag zur Reinzüchtung von Mastitisstreptokokken aus verunreinigtem Material. Milchw. Forsch. 18: 116-122.
2. Mallmann, W.L. and Seligmann, E.B. 1950. A comparative study of media for the detection of streptococci in water and sewage. Am. J. Public.Health. 40:286-289.
3. Edwards, S.J. 1933. Comp. Path. Therap. 46: 2111.

CALDO BILIS VERDE BRILLANTE

CÓDIGO: 4029

Medio para la detección y confirmación de la presencia de bacterias coliformes en aguas, productos lácteos y otros productos alimenticios.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Lactosa	10.0
Bilis de buey	20.0
Verde brillante	0.0133

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 40 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Caldo Bilis Verde Brillante se basa en los mismos principios que el Caldo de MacConkey (cód. 4057), pero Mackenzie y col. en 1948 demostraron que la cantidad de verde brillante presente en el medio, suprimía de forma efectiva los anaerobios fermentadores de la lactosa, tales como el *Clostridium perfringens*¹.

Durham, Shoenlein² han demostrado en sus investigaciones que un contenido reducido de bilis y una dilución mayor de colorante, sugerida originalmente por Muer y Harris³, mejoraban las condiciones de desarrollo de *Escherichia coli*. MacCrady y Langevin⁴ refirieron que el Caldo Bilis Verde Brillante al 2 % puede ser utilizado satisfactoriamente para la detección del grupo de coliformes en el control de la pasteurización de la leche.

El medio contiene dos sustancias inhibitorias para los organismos Gram-positivos (bilis de buey y verde brillante).

Los microorganismos coliformes, resistentes a la acción de las sustancias inhibitorias, son capaces de desarrollarse en este medio. La fermentación se detecta por la producción de gas.

La formulación del medio está descrita de acuerdo con la Association of Official Analytical Chemists (AOAC)⁵ y APHA⁶. El tiempo de incubación del medio inoculado depende del tipo de prueba a realizar, ya sea presuntiva (durante 48 horas a 35 °C) o confirmativa (de 24 a 48 horas a 35 °C).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de gas
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	+
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	inhibido	

Referencias

1. Mackenzie EFW, Windle Taylor E, Gilbert WE. 1948. Recent Experiences in the Rapid Identification of Bacterium coli Type 1. J. Gen. Microbiol., 2: 197-204.
2. Durham HG and Shoenlein HW. 1926. Stain Techn., 1: 129-134.
3. Muer and Harris. 1920. Am. J. Publ. Hlth., 10:874.
4. McCrady and Langevin. 1932. J. Dairy Sci., 15:321.
5. Williams (ed.). 1984. Official Methods of Analysis of the AOAC. 14th ed., AOAC, Arlington, Va.
6. Greenberg, Trussell and Clesceri (ed.). 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed., APHA Inc., Washington, D.C.

CALDO BRUCELLA

Código: 4182

Medio para el cultivo de *Brucella* y otros organismos exigentes.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Peptona de carne	10.0
Extracto de levadura	2.0
Dextrosa	1.0
Bisulfito de sodio	0.1
Cloruro de sodio	5.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 28 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, calentar a fuego lento, si es necesario, hasta disolución completa, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La infección por *Brucella* constituye una zoonosis, por lo que encierra una gran importancia sanitaria la detección de la misma con ayuda de los medios de cultivo y lograr así controlar la calidad de los animales y de los productos suministrados a la población¹.

El Caldo Brucella es un medio rico en nutrientes nitrogenados y factores de crecimiento, incluyendo las vitaminas, y resulta muy idóneo para el aislamiento y desarrollo de gérmenes exigentes, en especial de bacterias del género *Brucella*. Se emplea para el aislamiento de *Brucella* a partir de muestras o materiales contaminados con otros microorganismos, tanto de origen clínico como a partir de los alimentos, además resulta apropiado para la producción de toxinas clostridiales².

Los tubos inoculados con especies de *Brucella*, deben ser incubados a 35 ± 0.2 °C, de 24 a 72 horas y en atmósfera de CO₂ al 5 %.Para los demás géneros las condiciones de incubación son: temperatura de 35 °C y período de incubación de 24 horas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Brucella abortus</i> sp.	bueno
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno
CONTROL NEGATIVO	
Medio no inoculado	

Referencias

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC and Winn WC. 1997. Introduction to microbiology. *In*: Allen, A. (ed.) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
2. MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore.

CALDO CEREBRO CORAZÓN

CÓDIGO: 4035

Medio altamente nutritivo para el cultivo de una gran variedad de microorganismos exigentes, incluyendo estreptococos, neu-
mococos y meningococos.

Fórmula	g/L
Proteosa peptona	13.2
Extracto de cerebro	2.8
Extracto de corazón	9.1
Dextrosa	2.0
Fosfato disódico	3.3
Cloruro de sodio	6.6

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 37 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Caldo Cerebro Corazón es un medio similar a los caldos de cerebro y dextrosa empleados por Rosenow (1919)¹ para el culti-
vo de estreptococos y por Hayden (1923)² para el cultivo de patógenos dentarios. Chapman y col. (1944)³ y Chapman (1946)⁴
utilizaron la infusión de cerebro y corazón en estudios de patogenicidad de estreptococos, mientras que Reitzel y Kohl (1938)⁵
cultivaron los gonococos enriqueciendo el medio con el líquido ascítico.

El medio Caldo Cerebro Corazón es especialmente adecuado para el cultivo de estafilococos destinados a hemocultivos y al
ensayo de plasma coagulasa.

Por su contenido de glucosa el medio es menos adecuado para los estudios de las formas hemolíticas (tras la adición de sangre).

Los tubos que contengan el medio que no se utilicen el mismo día de la esterilización, deben colocarse en un baño de agua hir-
viente durante varios min inmediatamente antes de su utilización, para eliminar el oxígeno absorbido y se deben enfriar rápida-
mente sin agitar.

El medio inoculado se incuba de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

MicroorganismoCrecimiento

CONTROL POSITIVO

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Rosenow EC. 1919. Studies on Elective Localization. Focal Infection with Special Reference to Oral Sepsis. J. Dent. Res., 1: 205-249.
2. Hayden RL. 1923. Arch. Internal Med., 32: 828-849.
3. Chapman GH, et al. 1944. Am. J. Clin. Path., 9, Tech. Suppl. 3: 20-26.
4. Chapman GH. 1946. Am. J. Digest. Dis., 13: 105-107.
5. Reitzel RJ and Kohl C. 1938. J. Am. Med. Assoc., 110: 1095-1098.

CALDO CORAZÓN

CÓDIGO: 4027

Medio de propósito general para el cultivo de una gran variedad de microorganismos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Extracto de corazón	10.0
Cloruro de sodio	5.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 25 g en 1 L de agua destilada o desionizada, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Se han utilizado numerosas modificaciones de este medio con diferentes propósitos. Huntoon¹ preparó un caldo de “hormonas” de una manera especial, utilizando corazón de vacuno fresco y peptona.

El medio Caldo Corazón es más rico en sustancias nutritivas que el Caldo Nutriente (cód. 4032), garantiza buen crecimiento a partir de pequeños inóculos, es idóneo para subcultivos, especialmente como medio de crecimiento secundario para estafiloco-cos en los que se vaya a estudiar la producción de coagulasa.

La adición de sangre, dextrosa u otros ingredientes facilita la obtención de varios medios utilizados con diferentes finalidades. Las posibilidades de empleo del medio pueden ampliarse con la adición de 0.1 a 0.2 % de agar.

Los tubos inoculados se incuban de 18 a 48 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

MicroorganismoCrecimiento

CONTROL POSITIVO

<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bueno
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. J. Inf. Dis. 1918. 23:169.

CALDO DE CZAPEK-DOX (MODIFICADO)

CÓDIGO: 4054

Medio para el cultivo de hongos y bacterias capaces de utilizar el nitrato de sodio como única fuente de nitrógeno.

Fórmula	g/L
Sacarosa	30.0
Sulfato de potasio	0.35
Nitrato de sodio	2.0
Glicerofosfato de magnesio	0.5
Sulfato ferroso	0.01
Cloruro de potasio	0.5

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 33.4 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Es un medio líquido definido para el cultivo de organismos capaces de utilizar el nitrato de sodio como única fuente de nitrógeno y sacarosa como única fuente de carbono.

Los medios de cultivo en los cuales la fuente de nitrógeno es de origen inorgánico y la fuente de carbono es una sustancia químicamente definida son muy útiles en microbiología del suelo, así como en otros procedimientos microbiológicos¹.

Los tubos inoculados se incuban de 40 a 72 horas a 30 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a temperatura ambiente.

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Morales R, Casas R, Fernández B, Ferrándiz R, Torralba D y Oliva Y. 1993. Obtención de extractos alergénicos de hongos anemófilos. Primer Taller Nacional de Alergenos, BioCen, La Habana, Cuba.

CALDO DE MUELLER-HINTON

CÓDIGO: 4030

Medio para la evaluación de la sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado ácido de caseína	17.5
Extracto nutritivo	2.0
Almidón soluble	1.5

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 21 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La formulación de Mueller-Hinton fue originalmente desarrollada como un medio para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos incluyendo el cultivo de neisserias patógenas¹.

Actualmente el Caldo de Mueller-Hinton se recomienda para el estudio de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en el ensayo de diluciones seriadas².

La prueba de diluciones en tubos consiste en la exposición de la bacteria a concentraciones decrecientes de agentes antimicrobianos en el medio líquido, usualmente por diluciones seriadas. La mezcla que contiene el microorganismo, el medio nutritivo y el agente antimicrobiano se incuba a 35 ± 2 °C de 16 a 20 horas.

La más baja concentración del agente antimicrobiano, a la cual no ocurre crecimiento visible, se define como CMI. Esta prueba suministra datos de sensibilidad antimicrobiana en términos cuantitativos.

Para mejorar o hacer más claro los puntos finales en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria para las sulfamidas y el trimetoprim se puede adicionar al medio sangre de caballo lisada o timidina³.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Mueller HJ and Hinton J. 1941. A Protein-free Medium for Primary Isolation of the *Gonococcus* and *Meningococcus*. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 48: 330-333.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1985. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically. Approved Standard: M7-A, NCCLS, Villanova, Pa.
3. Swenson JM and Thornsberry C. 1978. Curr. Microbiol., 1: 189-193.

CALDO EC

CÓDIGO: 4223

Medio para la detección y diferenciación de bacterias coliformes en aguas, alimentos y otros materiales.

Fórmula	g/L
Triptosa	20.0
Lactosa	5.0
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.5
Sales biliares	1.5
Sodio cloruro	5.0

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 37 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Con vistas a mejorar los métodos para la detección de miembros del grupo coliformes y *Escherichia coli*, Hajna y Perry desarrollaron el Caldo EC¹. Este medio es altamente recomendado como método estándar para el examen minucioso de aguas, aguas residuales, leche y otros productos con evidencia de contaminación fecal^{2,3}. El Caldo EC brinda al usuario una excelente información para el seguimiento del grupo coliformes fecales o no, y decidir cuál es el momento apropiado para efectuar las pruebas confirmativas. Es posible su aplicación en técnicas microbiológicas tales como la del Número Más Probable (NMP). La presencia en el medio de la lactosa, como carbohidrato fermentable, favorece el crecimiento de bacterias lactosa-positivas, especialmente los coliformes a 37 °C y *Escherichia coli* a 45.5 °C⁴.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Gas
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	moderado	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno	
CONTROL NEGATIVO		
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	inhibido	

Referencias

1. Hajna AA, Perry CA. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of coliform group for fecal Streptococci. Am. J. Publ. Hlth, 33; 550-556.
2. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewate, 20th ed. 1998. APHA, Washington, D.C.
3. Speck (ed). 1984. Compedium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. APHA, Washington, D.C.
4. Fischbein M and Surkiewicz BF. 1964. Comparison of the recovery of Escherichia coli from frozen foods and nutmeats con-firmatory incubation in EC-medium at 44,5 and 45,5 °C. Appl. Microbiol, 12: 127-131.

CALDO EC CON MUG

Código: 4454

Medio selectivo para la detección y diferenciación de bacterias coliformes y *Escherichia coli* en aguas, alimentos y otros materiales.

Fórmula	g/L
Triptosa	20.0
Lactosa	5.0
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.5
Sales biliares	1.5
Sodio cloruro	5.0
4-metilumbeliferil-β-D-glucuronido	0.05

pH 6.9 ± 0.2

Preparación

Suspender 37 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Hajna y Perry desarrollaron el Caldo EC¹, altamente recomendado como método estándar para el examen minucioso de aguas, aguas residuales, leche y otros productos con evidencia de contaminación fecal^{2,3}.

El Caldo EC con MUG contiene los ingredientes del Caldo EC con la adición del 4-metilumbeliferil-β-glucuronido.

Las cepas de *E. coli* producen la enzima glucuronidasa, que hidroliza el MUG y produce un compuesto fluorogénico, la 4-metilum-beliferona, detectable bajo luz ultravioleta a 366 nm, indicando con ello la presencia de esta bacteria^{4,5}.

La triptosa proporciona al medio los nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias. Las sales biliares inhiben el creci-miento de microorganismos Gram-positivos. La presencia de la lactosa, como carbohidrato fermentable, favorece el crecimiento de bacterias lactosa-positivas, especialmente de los coliformes a 37 °C y de *E. coli* a 45.5 °C⁶. La producción de gas es detectable con la ayuda de las campanas de Durham e indica la presencia de *E. coli* u otros coliformes. La presencia de fosfatos de potasio favorece al mantenimiento del pH del medio.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento a partir del inóculo de 10 a 100 UFC	Gas	Fluorescencia a 366 nm	Condiciones de Incubación
CONTROL POSITIVO				
Escherichia coli ATCC 25922	bueno	+	+ (azul)	24 - 48 h a 35 ± 2 °C o 45,5 °C
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	bueno	+	-	24 - 48 h a 35 ± 2°C
CONTROL NEGATIVO				
Enterococcus faecalis ATCC 29212	inhibido	-	-	48 h a 35 ± 2 °C

Referencias

- Hajna AA, Perry CA. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of coliform group for fecal Streptococci. Am. J. Publ. Hlth, 33; 550-556.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewate, 20th ed. 1998. APHA, Washington, D.C.
- Speck (ed). 1984. Compedium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. APHA, Washington, D.C.
- Feng and Hartman. 1982. Appl. Environ. Microbiol.; 43:1320.
- Robinson. 1984. Appl. Environ. Microbiol.; 48:285.
- Fischbein, M. and Surkiewicz, B.F. 1964. Comparison of the recovery of Escherichia coli from frozen foods and nutmeats confirmatory incubation in EC-medium at 44,5 and 45,5 °C. Appl. Microbiol, 12: 127-131.

CALDO ETIL VIOLETA AZIDA

CÓDIGO: 4489

Medio de enriquecimiento selectivo para la detección y confirmación de Enterococcus en aguas, productos alimenticios y otras muestras.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	20.0
Dextrosa	5.0
Fosfato dipotásico	2.7
Fosfato monopotásico	2.7
Azida de sodio	0.3
Etil violeta	0.0005
Cloruro de sodio	5.0

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 35.7 g en 1 L de agua destilada o desionizada, distribuir en tubos en cantidades de 10 mL y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La presencia de enterococos en agua es un indicador de contaminación fecal. Mallmann y Seligmann¹, compararon varios medios de enriquecimiento para detectar la presencia de enterococos fecales y encontraron que, el Caldo Azida Dextrosa, presuntivamente identifica los enterococos sin embargo, crecen además, otras bacterias gram-positivas; por lo que se hace necesario la confirmación.

Litsky y colaboradores², tras estudiar varios agentes selectivos e inhibidores, demostraron que la combinación de etil violeta y azida de sodio como agentes selectivos, le propician al nuevo medio Caldo Etil Violeta Azida, un carácter específico para enterococos y no se producían crecimientos de bacilos gram-positivos, ni otros cocos gram-positivos. Este medio se utiliza como medio confirmativo y suele emplearse a partir del Caldo Azida Dextrosa.

Los tubos inoculados se incuban de 24 a 48 h a 35 ± 2 °C. Puede ser incubado hasta 48 h a 35 °C en condiciones de aerobiosis, en caso de ser negativo en las primeras 24 h. De no ocurrir turbidez del medio de cultivo transcurrido ese tiempo, se descarta la presencia de enterococos en el material de ensayo. En ocasiones se presenta un sedimento de color violeta que es atribuido al crecimiento de enterococos.

EL MEDIO ES MUY TÓXICO. NOCIVO POR INGESTIÓN Y POR INHALACIÓN. NOCIVO PARA LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS, PUEDE PROVOCAR A LARGO PLAZO EFECTOS NEGATIVOS EN EL MEDIO AMBIENTE ACUÁTICO.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C.
- Medio preparado: de 2 a 8 °C.

Control de la Calidad

MicroorganismoCrecimiento a partir del inóculo de 10 a 100 UFC

CONTROL POSITIVO

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	bueno

CONTROL NEGATIVO

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	inhibido (para el inóculo 10 ³ – 10 ⁴ UFC)
------------------------------------	--

Referencias

1. Mallmann y Seligmann. 1950. Am. J. Pub. Health 40: 286.
2. Litsky, Mallmann y Seligmann. 1953. Am. J. Pub. Health 43: 873.

CALDO EXTRACTO DE MALTA

CÓDIGO: 4170

Medio para el cultivo de mohos y levaduras y utilizado en los ensayos de esterilidad.

Fórmula	g/L
Extracto de malta	17.0
Peptona micológica	3.0

pH 5.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 20 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 115 °C por 10 min. Evitar el sobrecalentamiento del medio a pH ácido.

Descripción

El medio Caldo Extracto de Malta es apropiado para el cultivo de mohos y levaduras por su alto contenido en carbohidratos y se recomienda para los ensayos de esterilidad¹.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

MicroorganismoCrecimiento

CONTROL POSITIVO

<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno

CONTROL NEGATIVO

<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	inhibido a pH 3,5
-----------------------------------	-------------------

Referencias

1. Galloway LD and Burgess R. 1952. Appl. Microbiol. and Bacteriol. 3th ed. Leonard Hill. London: 54-57.

CALDO GN

CÓDIGO: 4280

Medio para el enriquecimiento selectivo de bacterias Gram-negativas, fundamentalmente de los géneros *Salmonella* y *Shigella*, a partir de todo tipo de muestras.

Fórmula	g/L
Triptosa	20.0
Dextrosa	1.0
Manitol	2.0
Citrato de sodio	5.0
Desoxicolato de sodio	0.5
Fosfato dipotásico	4.0
Fosfato monopotásico	1.5
Sodio cloruro	5.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 39 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 minutos.

Descripción

Medio líquido para el transporte y enriquecimiento selectivo de bacterias intestinales Gram-negativas, específicamente *Salmonella* y *Shigella*, a partir de heces, orina, expectoraciones, exudados vaginales, entre otros materiales de interés¹.

El Caldo GN posee una alta selectividad por la presencia de compuestos tales como el citrato y el desoxicolato de sodio, los cuales inhiben el crecimiento de los gérmenes Gram-positivos, bacilos esporulados y algunos coliformes. El manitol juega un papel fundamental en el medio, pues contribuye al crecimiento rápido y selectivo de *Samonella* y *Shigella* durante las primeras 6 horas, no siendo así para *Proteus* y *Pseudomonas*, gérmenes que se desarrollan lentamente. La estabilidad del medio está dada por la presencia de concentraciones apropiadas de fosfatos. Es recomendado para aislar *Shigella sonnei* en productos alimenticios, pues el rendimiento es elevado en comparación con el cultivo en medios selectivos².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 11060	bueno
CONTROL NEGATIVO	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	inhibido

Referencias

1. Hajna AA. 1955. A new enrichment broth medium for gram negative organisms of the intestinal group. Publ. Hlth. Lab., 13: 59-62.
2. Butiaux RHB and Taquet A. 1974. Manual de Techniques Bacteriologiques, 4ed. Flamarion Medical Sciences, París.

CALDO LACTOSADO

CÓDIGO: 4028

Medio para el ensayo presuntivo de bacterias coliformes en aguas, alimentos y productos lácteos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto nutritivo	3.0
Lactosa	5.0

pH 6.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 13 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Caldo Lactosado es un medio recomendado por la APHA para la detección de bacterias coliformes en agua¹, alimentos² y productos lácteos³. Este medio proporciona el máximo crecimiento de los organismos del grupo coli-aerogenes⁴.

Los tubos inoculados e incubados de 24 a 48 horas a temperatura de 35 ± 2 °C se examinan para observar la producción de gas por la fermentación de la lactosa, lo cual es una prueba presuntiva para coliformes. La peptona y el extracto nutritivo aportan al medio los nutrientes necesarios para el metabolismo de las bacterias.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C

- Medio preparado: a temperatura ambiente

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de gas
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	-

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. American Public Health Association. 1975. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc., Washington, D.C.
3. American Public Health Association. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th. ed., APHA Inc., Washington, D.C.
4. Public Health Reports. 1929. 44: 2863.

CALDO LAURIL TRIPTOSA

CÓDIGO: 4224

Medio para la detección de microorganismos coliformes en materiales de importancia sanitaria.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	20.0
Lactosa	5.0
Fosfato dipotásico	2.75
Fosfato monopotásico	2.75
Cloruro de sodio	5.0
Lauril sulfato de sodio	0.1

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 35.6 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar ligeramente hasta disolución completa, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Variante del Caldo Lauril Triptosa recomendado por la “American Public Health Association”¹⁻³ para la detección de organismos coliformes en aguas, productos lácteos y otros alimentos.

La presencia del hidrolizado enzimático de caseína garantiza un alto contenido de triptófano, que permite la detección de organismos indol positivos.

En el medio, también, se detecta la fermentación de lactosa.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Producción de gas
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	-
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso	

Referencias

1. American Public Health Association. 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 15th ed., APHA Inc., Washington D.C.
2. American Public Health Association. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 14th ed., APHA Inc., Washington D.C.
3. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA Inc., Washington D.C.

CALDO LISINA PARA DESCARBOXILASA

CÓDIGO: 4034

Medio para la identificación de los microorganismos, en especial de bacilos entéricos, basada en la descarboxilación de la lisina.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
L-lisina	5.0
Púrpura de bromocresol	0.02
pH 6.8 ± 0.2	

Preparación

Suspender 14 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en cantidad de 5 mL en tubos de ensayo y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Algunos microorganismos tienen la capacidad de producir enzimas que, durante su proceso metabólico, actúan sobre los aminoácidos descarboxilándolos. Esta propiedad tuvo su primer reporte de aplicación práctica por Moeller¹⁻³, quien se dedicó al estudio de estos sistemas de enzimas, con el objetivo de diferenciar los microorganismos entéricos.

Muchas bacterias con características fisiológicas estrechamente relacionadas pueden diferenciarse realizando pruebas bioquímicas que se basan en la descarboxilación de aminoácidos.

En 1956, Calquist⁴ desarrolló un medio con lisina para diferenciar la *Salmonella arizonae* de *Citrobacter*, basándose en la capacidad que tiene la *Salmonella* para descarboxilar la lisina. Dos años más tarde Falkow⁵ obtuvo un medio con lisina para descarboxilasa que le permitió la diferenciación e identificación de *Salmonella* y *Shigella* con resultados válidos y confiables. Edwards, Davis y Ewing⁶ justificaron el empleo del medio de Falkow utilizando la reacción de descarboxilasa con arginina y ornitina para los mismos fines.

Los microorganismos entéricos fermentan la dextrosa produciendo ácido y ocasionando un viraje del indicador púrpura de bromocresol a amarillo. Las bacterias que producen la enzima descarboxilasa forman cadaverina, que es un producto alcalino que incrementa el pH tomando el medio un color púrpura. Por tanto, un resultado positivo indica la descarboxilación de la lisina y un resultado negativo se evidencia por el color amarillo del medio.

Se recomienda proteger del aire los tubos inoculados para evitar una falsa alcalinización en la superficie del medio, lo cual pudiera confundir las bacterias negativas para descarboxilasa con las positivas. Ewing y col.⁷ sugirieron emplear aceite mineral estéril para proteger del aire la superficie del medio.

El medio inoculado se incuba durante 24 horas a 35 ± 2 °C.

Reacciones usuales de varios miembros de *Enterobacteriaceae*.

Microorganismo	Descarboxilación de la lisina
<i>Escherichia coli</i> *	+
<i>Salmonella</i>	+
<i>Salmonella Paratyphi A</i>	-
<i>Proteus</i>	-
<i>Citrobacter</i>	-
<i>Providencia</i>	-
<i>Shigella</i>	-
<i>Klebsiella</i>	+
<i>Arizona</i>	+
<i>Alkalescens-dispar</i> *	+
<i>Serratia</i> , <i>Gpo Hafnia</i>	+

* algunas tipos bioquímicos diferentes dan negativas, pero la generalidad da positiva

(+) = positiva

(-) = negativa

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Descarboxilación de la lisina
CONTROL POSITIVO <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	+
CONTROL NEGATIVO <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	-

Referencias

- Moeller V. 1954. Acta Path. et Microb. Scand., 34: 102.
- Moeller V. 1954. Distribution of Amino-acid Decarboxylases in Enterobacteriaceae. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 35: 259-277.
- Moeller V. 1955. Simplified Tests for Some Amino Acid Decarboxylases and for the Arginine Dihydrolase System. Acta Path. Microbiol. Scand., 36: 158-172..
- Calquist. 1956. J. Bact., 71: 339.
- Falkow S. 1958. Activity of Lysine Decarboxylase as an Aid in the Identification of *Salmonella* and *Shigella*. Amer. J. Clin. Path., 29: 598-600.

6. Ewing WH, Davis BR and Edwards PR. 1960. The Decarboxylase Reactions of Enterobacteriaceae and their Value in Taxonomy. Publ. Hlth. Lab., 18: 77-83.
7. Edwards PR and Ewing WH. 1961. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minn.

CALDO MALONATO FENILALANINA

CÓDIGO: 4383

Medio para el cultivo y diferenciación de coliformes y otras enterobacterias, basados en su capacidad de utilizar el malonato o desaminar la fenilalanina.

Fórmula	g/L
Extracto de levadura	1.0
Malonato sódico	3.0
Sulfato de amonio	2.0
Fosfato dipotásico	0.6
Fosfato monopotásico	0.4
Cloruro de sodio	2.0
L-fenilalanina	1.0
Azul de bromotimol	0.025

pH 6.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 10 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en tubos y esterilizar a 115 °C por 10 min.

Descripción

La habilidad de *Aerobacter* de utilizar el malonato en un medio líquido sintético, a diferencia de *Escherichia coli*, fue demostrada por Leifson en 1933¹.

Ewing y col.² modificaron la formulación adicionando a la misma la dextrosa como fuente de carbono y el extracto de levadura como fuente de vitaminas para estimular el crecimiento microbiano de aquellas bacterias que no crecerían en un medio de cultivo sintético.

Shaw y Clarke, en 1955, combinaron la demostración del consumo de malonato y la desaminación de la fenilalanina en el mismo medio³.

Los microorganismos que son capaces de utilizar el malonato como única fuente de carbono, provocan una reacción alcalina y el cambio del color del medio a azul. Si no se aprecia el viraje de color, la reacción es considerada como negativa.

La desaminación de la fenilalanina produce fenilpiruvato. Este último forma un complejo férrico de color verde con iones hierro (III).

Los tubos inoculados se incuban de 18 a 48 horas a 35 ± 2 °C.

Primeramente se observa la degradación del malonato. Con posterioridad se comprueba la desaminación de la fenilalanina, adicionando algunas gotas de ácido clorhídrico 0,1 N, hasta obtener una coloración amarilla. Seguidamente se agregan 2-3 gotas de una solución acuosa de cloruro férrico (FeCl3) al 10 % sin agitar. La presencia de ácido fenilpirúvico produce un viraje de color a verde en un plazo de 2 a 3 minutos.

Algunas cepas de *Proteus* requieren de 48 a 72 h de incubación.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Uso de malonato/ Color del medio	Desaminación de fenilalanina/ Color del medio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	- (verde)	- (amarillo)
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	+ (azul)	- (amarillo)
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 7002	- (verde)	+ (verde)

Referencias

1. Leifson. 1933. J. Bacteriol. 26:329.
2. Ewing, Davis y Reavis. 1957. Public Health Lab. 15:153.
3. Shaw C, Clarke PH. 1955. Biochemical classification of *Proteus* and *Providencia* cultures. J. gen Microbiol., 13:155-161.

CALDO MULLER-KAUFFMANN TETRATIONATO-NOVOBIOCINA

Código: 4588

Medio de enriquecimiento selectivo para la recuperación de *Salmonella* en leche, productos lácteos y otros productos alimenticios.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	8.6
Extracto de carne	4.3
Cloruro de sodio	2.6
Carbonato de calcio	38.7
Tiosulfato de sodio	30.5
Bilis bacteriológica	4.78
Verde brillante	0.0096
Novobiocina	0.04

pH 8.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 89,5 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Calentar hasta ebullición agitando frecuentemente durante 5 min y enfriar rápidamente. Adicionar asépticamente, inmediatamente antes de su uso, 20 mL de una solución de yodo-ioduro que se prepara disolviendo 20 g de iodo y 25 g de ioduro de potasio en 100 mL de agua estéril y se almacena protegida de la luz. Mezclar bien y distribuir 10 mL del caldo en tubos de ensayo estériles, agitando suavemente para homogeneizar. **UTILIZAR EL MEDIO DE CULTIVO EL MISMO DÍA DE SU PREPARACIÓN. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE.**

Descripción

El Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato-Novobiocina es un caldo de enriquecimiento selectivo recomendado por la norma ISO 6579¹ para la detección de *Salmonella* spp. en todos los tipos de alimentos, incluyendo leche y productos lácteos, moluscos, otros productos pesqueros y muestras medioambientales.

La formulación fue desarrollada por Muller² en 1923 y modificada posteriormente por Kauffmann³ mediante la adición de bilis bacteriológica y verde brillante en aras de mejorar la selectividad. La combinación de bilis y verde brillante posibilita la inhibición de la microbiota acompañante grampositiva y de las bacterias coliformes. La adición de novobiocina fue descrita por Jeffries⁴ para suprimir el crecimiento de las especies de *Proteus*. La producción de tetrionato, resultante de la acción de la solución de iodo-ioduro sobre el tiosulfato de sodio, también ejerce un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los coliformes y de otras bacterias intestinales. La actividad de todos estos agentes selectivos no afecta el crecimiento de salmonelas, siendo estas capaces de reducir el tetrionato.

El carbonato de calcio neutraliza el ácido sulfúrico que se produce por la reducción del tetrionato y de este modo se mantiene invariable el pH del medio.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Inóculo (UFC/tubo)	Subcultivo en placa	Crecimiento	Características de las colonias
CONTROL POSITIVO				
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	10-100	XLD	≥ 10 UFC	rojas con centro negro
CONTROL NEGATIVO				
Escherichia coli ATCC 25922	> 1000	ATS	De inhibido a escaso (<10 UFC)	crema, si las hay

Referencias

1. NF EN 6579 (V 08-013). Mars 2007. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella spp.
2. Muller L. 1923. Un nouveau milieu d’enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C. R. Soc. Bio., 89: 434-437. Paris.
3. Kauffman F. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella bacillen. Z. Hyg. Infektionskr., 117: 26-32.
4. Jeffris L. 1959. Novobiocin-tetrathionate broth: a medium of improved selectivity for the isolation of salmonellae in feces. J. Clin. Path., 12: 568-570.

CALDO NITRATO

CÓDIGO: 4511

Medio empleado en la identificación de microorganismo por su capacidad de reducir los nitratos a nitritos.

Fórmula	g/L
Peptona de gelatina	10,0
Extracto de carne	3,0
Nitrato de potasio	1,5
Cloruro de sódio	6,4

pH 7,2 ± 0,2

Preparación

Suspender 20,9 g en 1000 mL de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir 2 mL en tubos pequeños y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Gorham, en 1901, recomendó el medio de cultivo caldo nitrato para diferenciar e identificar las enterobacterias, en función de su capacidad o incapacidad para reducir el nitrato a nitrito utilizando la respiración anaerobia¹.

La mezcla de la peptona de gelatina y el extracto de carne proporciona la combinación de aminoácidos, péptidos, polipéptidos, vitaminas y macronutrientes para un mejor crecimiento y una buena recuperación microbiana².

Las especies bacterianas que poseen la enzima nitrato reductasa son capaces de reducir nitratos, aportados por las bases nutritivas y la sal nitrato de potasio, a nitritos después de haber estado incubado por 24 h. Al medio se le añade unas gotas del reactivo ácido sulfanílico y α-naftilamina. El ácido nitroso proveniente de la descomposición de los nitritos reacciona con el ácido sulfanílico formando el ácido sulfanílico diazotizado que este, a su vez, reacciona con el α-naftilamina para formar un compuesto de color rojo. Por lo tanto, si el medio se vuelve rojo después de la adición de los reactivos de nitrato, se considera un resultado positivo para la reducción del nitrato³⁻⁴.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C por un mes

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Reducción de nitrato
Escherichia coli ATCC 25922	bueno	+
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	bueno	+
Shigella sonnei ATCC 25931	bueno	+
Alcaligenes faecalis sp.	bueno	-

Referencias

1. Gorham, F.P. 1901. Laboratory source in bacteriology. Philadelphia.
2. Tsoraeva, A and Zhurbenko, R. 2000. Development and Characterization of mixed nutrient base for the culture of a wide range of microorganisms. Rev. Latinoam. Microbiol., 42:155-61.
3. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C. 1997. Introduction to microbiology. *In*: Allen, A. (ed.) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia: 254-61, 304.
4. McFaddin, J.F. 2006. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Sección I. Pruebas Bioquímicas individuales. Capítulo 30 Prueba de reducción de nitratos/nitritos. 3th ed. Tomo I. Editorial. Ciencias Médicas; 326-38.

CALDO NUTRIENTE

CÓDIGO: 4032

Medio general para el cultivo de microorganismos poco exigentes.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto nutritivo	1.0
Extracto de levadura	2.0
Cloruro de sodio	5.0

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 13 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Caldo Nutriente es diseñado para el cultivo de microorganismos no exigentes¹. Para ser utilizado con fines específicos puede ser enriquecido con otros ingredientes, tales como carbohidratos, sangre, suero y otros.

Los tubos inoculados se incuban de 18 a 48 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a temperatura ambiente

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Gutiérrez Delgado P, Iglesias Zaldivar LE, Torres Morales LE, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, González Lomba E. 1993. Evaluación de las Bases Nutritivas BioCen en los Medios para Propósito General. Primer Taller Nacional de Medios de Cultivo, BioCen, La Habana, Cuba.

CALDO PÚRPURA DE MACCONKEY

CÓDIGO: 4107

Medio diferencial empleado para la detección de organismos coliformes en la leche y el agua.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	20.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	5.0
Cloruro de sodio	5.0
Púrpura de bromocresol	0.01

pH 7.4 ± 0.2

Preparación

Suspender 40 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir en recipientes equipados con tubos de Durham y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El Caldo de MacConkey formulado con púrpura de bromocresol resulta menos inhibitorio para el desarrollo de *E. coli* y brinda una mayor seguridad en la confirmación de la formación de ácido, al incubar las muestras por 48 h a 37 °C. Esta formulación ha sido recomendada por la Organización Mundial de la Salud y otras organizaciones como una alternativa para el análisis del agua^{1,2}.

Davis³ empleó el medio con resultados satisfactorios para el análisis de leche.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Gas	Color del medio
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+	amarillo
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	-	sin cambio
CONTROL NEGATIVO			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso	-	sin cambio o azulado, si hay crecimiento

Referencias

1. International Standards for Drinking Water. 1963. 2nd ed., World Health Organization, Geneva.
2. The Bacteriological Examination of Drinking Water Supplies. 1982. Report No. 71 HMSO. Department of the Environment, Health, Social Security and Public Health Laboratory Service. London.
3. Davis JG. 1959. Milk Testing, 2nd ed., Dairy Industries Ltd., London.

CALDO RAPPAPORT-VASSILIADIS

CÓDIGO: 4336

Medio para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* a partir de todo tipo de muestras.

Fórmula	g/L
Peptona de soya	4.5
Cloruro de sodio	8.0
Cloruro de magnesio	13.6
Fosfato monopotásico	0.6
Fosfato dipotásico	0.4
Verde de malaquita	0.036

pH 5.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 27,1 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 115 °C por 15 min.

Descripción

Este medio de cultivo está recomendado por APHA para el análisis de alimentos y por la norma ISO 6579 (1993)¹.

En el 1976 Vassiliadis y colaboradores² implantaron la modificación al Caldo de Enriquecimiento para *Salmonella* desarrollado por Rappaport. Este caldo de enriquecimiento muestra mayor selectividad para la microbiota acompañante y mayores rendimientos en la recuperación de *Salmonella*, especialmente después del paso de preenriquecimiento³⁻¹⁵.

Las concentraciones de verde malaquita y de cloruro de magnesio en esta formulación son más bajas que en el Caldo de Enriquecimiento para *Salmonella* por lo que el crecimiento de este patógeno a 43 °C es mejorado. El empleo de la peptona de soya también favorece su desarrollo. Por otra parte, la disminución del pH a 5,2 incrementa la selectividad. La adición de fosfato potásico permite mantenerlo en el rango establecido durante del almacenamiento. Según los datos publicados por Alcaide (1982)¹⁶, la adición de 40 mg/L de novobiocina aumenta aún más el efecto inhibitorio sobre los microorganismos acompañantes.

El inóculo enriquecido en el Caldo Rappaport-Vassiliadis debe ser sembrado en los siguientes medios de cultivo agarizados: Agar Desoxicolato Citrato (cód. 4168), Agar Entérico de Hektoen (cód. 4216), Agar S.S. (cód. 4021), Agar S.S. Modificado (cód. 4209), Agar Sulfito Bismuto (cód. 4171), Agar Verde Brillante (cód. 4103), Agar Verde Brillante Modificado (cód. 4368), Agar X.L.D. (cód. 4217) y medio cromogénico CromoCen SC (cód. 4226).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Recuperación del subcultivo (UFC/ 0,1 mL en la dilución 10 ⁻¹)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Agar Triptona Soya Inhibido en la dilución 10 ⁻¹ a partir de inóculo inicial (1000-10000 UFC/0,1 mL del caldo selectivo)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 +	Agar Verde Brillante <i>E. coli</i> : ≤ 1 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 ó <i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	<i>Salmonella</i> : ≥ 99 a partir de inóculo inicial [(1000-10000) UFC de <i>E. coli</i> + (10-100) UFC de <i>Salmonella</i>]/0,1 mL del caldo selectivo

Referencias

- ISO 6579:2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal meted for the detection of *Salmonella* spp.
- Vassiliadis P, Paterakil E, Papaiconomou N, Papadakis JA and Trichopoulos SD. 1976. Nouveau procédé d’enrichissement de Salmonell. - Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 127 B: pp.195-100.
- Maijala R, Johansson T, Hirn J. 1992. Growth of Salmonella and competing flora in five commercial Rappaport-Vassiliadis (RV)-media. - Intern. J. Food Microbiology, 17: pp. 1-8.
- Van Schothorst, M., and Renaud, A.M. 1983. Dynamics of salmonellae isolation with modified Rappaport’s medium (R 10). - J. Appl. Bact., 54: pp. 209-215.
- Fricker CR, Girdwood RWA and Monro D. 1983. A comparison of enrichment media for the isolation of salmonellae from seagull cloacal swabs. - J. Hg., 91; 53-58.
- Tongpim S, Beumer RR, Tamminga SK and Kampelmacher EH. 1984. Comparison of modified Rappaport’s medium (RV) and Muller-Kauffmann medium (MK-iso) for the detection of Salmonella in meat products. - Int. J. Food Microbiol., 1: pp. 33-42.
- Pietzsch O. 1984. Neue Aspekte des Anreicherungsverfahrens für Salmonellen. - 25. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der DVG, Garmisch-Partenkirchen.
- Kalapothaki F, Vassiliadis P, Mavrommati CH and Trichopoulos D. 1982. Comparison of Rappaport-VASSILIADIS Enrichment Medium und Tetrathionate Brilliant Green Broth for Isolation of Salmonellae from Meat Products. - J. Food Protection, 46, 7: pp. 618-621.

9. Vassiliadis P. 1983. The Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment medium for the isolation of salmonellas: An overview. _ J. Appl. Bact., 54: pp. 69-76.

10. Vassiliadis P, Kalapothaki V, Mavrommatil CH and Trichopoulos D. 1984. A comparison of the original Rappaport medium (R medium) and the Rappaport-Vassiliadis medium (RV medium) in the isolation of salmonellae from meat products.- J. Hyg. Comb., 93: pp. 51-58.

11. Vassiliadis P, Kalapothaki V, Mavrommatil CH, Trichopoulos D and Serie C. 1981. Improved Isolation of Salmonellae from Naturally Contaminated Meat Products by Using Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth. - Appl. Environm. Microbiol., 42, 4: pp. 615-618.

12. Vassiliadis P, Mavrommati CH, Efstratiou M and Chromas G. 1985. A note on the stability of Rappaport-Vassiliadis enrichment medium. - J. Appl. Bact., 59: pp. 143-145.

13. Vassiliadis P, Pallandiou E, Papoutakis G, Trichopoulos D and Papadakis J. 1977. Essai des Milieux de Rappaport Modifiés à pH plus Élevé, dans la Multiplication des Salmonelles. - Arch. de l'inst. Pasteur Hellenique.

14. Vassiliadis P, Trichopoulos D, Papadakis J, Kalapothaki V, Zavitsanos X and Serie CH. 1981. Salmonella Isolation with Rappaport's Enrichment Medium of Different Compositions. - Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B, 173: pp. 382-389.

15. Vassiliadis P, Trichopoulos D, Pateraki E and Papaiconomou N. 1978. Isolation of Salmonella from minced meat by the use of a new procedure of enrichment. - Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B, 166: pp. 81-86.

16. Alcaide ET, Martinez JP, Martinez-Germex P and Garay E. 1982. Improved *Salmonella* recovery from moderate to highly polluted waters. - J. Appl. Bact.

CALDO SELENITO CISTINA

CÓDIGO: 4581

Medio de enriquecimiento selectivo destinado a la detección y aislamiento de *Salmonella* en muestras de agua, heces, orina y alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona especial	5,0
Lactosa monohidrato	4,0
L-cistina diclorohidrato	0,01
Sodio selenito	4,0
Fosfato de sodio	10,0

pH 7,0 ± 0,2

Preparación

Suspender 23 g en 1 L de agua destilada o desionizada, agitar hasta disolución completa, distribuir 10 mL en tubos y esterilizar a vapor fluente por 10 min.

Descripción

Leifson, en 1936, descubrió que el selenito era útil para permitir el crecimiento de especies de salmonela mientras reducía el crecimiento de enterococos y coliformes fecales, creando así el caldo selenito de sodio¹. Posteriormente se describió una modificación de este caldo con la inclusión de la cistina en la formulación original². La adición de este aminoácido establece un potencial redox que reduce la toxicidad del selenito de sodio, llevando así a una mejor recuperación de *Salmonella* presente en número limitado en heces.

La peptona especial (cód. 4113) es la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos esenciales para el crecimiento de los microorganismos de interés³. La lactosa es el glúcido utilizado como fuente de carbono y energía. El fosfato tiene un efecto regulador del pH que funciona como sustancia tampón. La L-cistina se incorpora para favorecer la recuperación de *Salmonella*² y el selenito de sodio inhibe el crecimiento de los microorganismos Gram-positivos y es tóxico para la mayoría de las enterobacterias, esta inhibición ocurre durante las 8 a 12 h de incubación ^{1, 4}.

Después del enriquecimiento en el caldo selenito cistina, se debe sembrar en medios selectivos tales como: Agar de MacConkey (cód. 4014), Agar XLD (cód. 4217).

Se debe tener en cuenta que el medio contiene como ingrediente el selenito de sodio el cual es un producto muy toxico por ingestión y por inhalación, por lo que se deben usar los medios de protección adecuados para su manipulación.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: menos de 15 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C por un mes

Control de Calidad

Microorganismo	Inóculo	Crecimiento después de 24 h
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	10-100	>10 UFC
Escherichia coli ATCC 5922	1000-10000	<100 UFC

Referencias

1. Leifson, E. 1936. New selective enrichment medium for the isolation of typhoid and paratyphoid (Salmonella) bacilli. Am. J. Hyg.; 24:423.
2. North, W.R., Bartram, M.T. 1953. The efficiency of selenite broth of different compositions in the isolation of Salmonella. Appl. Microbiol. L:130-134.
3. Zhurbenko, R., Rodríguez Martínez, C. 2009. Bases nutritivas para el cultivo de los microorganismos: Parte 2 – Principales indicadores de calidad. Salud(i)Ciencia; 16(6):645-51.
4. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C. 1997. Introduction to microbiology. In: Allen, A. (ed.) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia; 254-261, 304.

CALDO TRIPTONA SOYA

CÓDIGO: 4033

Medio altamente nutritivo para el cultivo de una gran variedad de microorganismos exigentes. Se recomienda para los ensayos de esterilidad y para uso general de laboratorio.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17.0
Peptona de soya	3.0
Dextrosa	2.5
Fosfato dipotásico	2.5
Cloruro de sodio	5.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Es un medio de propósito general que se emplea para el cultivo de microorganismos tanto exigentes como no exigentes a partir de especímenes clínicos y otros materiales contaminados. Además de su utilidad para el cultivo de microorganismos anaerobios y aerobios, favorece el crecimiento de algunos hongos¹⁻⁴. Por su alto contenido nutritivo, los cultivos en este medio deben observarse en un menor tiempo, ya que la fase decreciente comienza antes que en los medios menos nutritivos.

La USP⁵ recomienda este medio para ensayos de esterilidad. También es utilizado para la estandarización de inóculos en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana por el método de Bauer y Kirby⁶. Con un 20 % de glicerol el medio se utiliza para la conservación y mantenimiento de microorganismos, debido a las propiedades del glicerol como agente crioprotector.

Los tubos inoculados se incuban de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a temperatura ambiente

Control de la calidad

Microorganismo	Crecimiento a partir del inóculo de 10 a 100 UFC
CONTROL POSITIVO	
Bacillus subtilis ATCC 6633	bueno
Candida albicans ATCC 10231	bueno
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	bueno

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. MacFaddin. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Richardson (ed.). 1985. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 15th ed., APHA Inc., Washington, D.C.
3. Finegold and Baron. 1986. Bailey and Scott’s Diagnostic Microbiology. 7th ed., The C.V. Mosby Company, St. Louis.
4. Fredette and Forget. 1961. The Sensitivity of Several Media to Small Inocula. Extract from a Paper Presented at the Canadian Society of Microbiology Annual Meeting. June 12-15, Kingston, Ontario.
5. The United States Pharmacopeia. 21 st rev. 1985. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, Md.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1984. Approved Standard: M2-A3. Performance Standards for Anti-microbial Disk Susceptibility Tests. 3rd ed., NCCLS, Villanova, Pa.

CALDO TRIPTOSA FOSFATO

CÓDIGO: 4279

Caldo con glucosa tamponado para el cultivo de bacterias exigentes.

Fórmula	g/L
Triptosa	20.0
Dextrosa	2.0
Fosfato disódico	2.5
Cloruro de sodio	5.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 29.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y distribuir. Esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Es un medio apropiado para el cultivo de microorganismos exigentes, dentro de los que se incluyen los neumococos, los estreptococos, meningococos, y otros de difícil crecimiento¹. Por su alto contenido en nutrientes, es ampliamente utilizado para realizar hemocultivos, análisis de productos lácteos, y en especial de bacterias patógenas del queso con la adición al medio 0.1 % de agar. También es posible la recuperación de estreptococos al adicionar a la formulación original una combinación de agar al 0.1 % y azida sódica 1:2.500.²

Es necesario señalar que el Caldo Triptosa Fosfato, resulta idóneo para efectuar pruebas de sensibilidad a antibióticos de los microorganismos por el método de dilución en tubo.³

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	bueno
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	bueno
CONTROL NEGATIVO	
Medio no inoculado	

Referencias

1. Diagnostic, Procedures and Reagents. 1950. 3rd Edition, 16. J. Milk and Food Tech. 13:226.
2. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 1948. 9th Ed.: 165. Am. J. Clin. Path. 1951.21:884.

MEDIO C.L.E.D.

CÓDIGO: 4022

Medio para el cultivo de gérmenes Gram-positivos y Gram-negativos en infecciones urinarias.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	4.0
Hidrolizado enzimático de caseína	4.0
Extracto nutritivo	3.0
Lactosa	10.0
L-cistina	0.128
Azul de bromotimol	0.02
Agar	15.0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 36.2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min, mezclar bien y distribuir.

Descripción

Mackey y Sandys (1966) describieron la formulación del medio deshidratado deficiente en electrolitos, como modificación del medio descrito por Sandys en 1960 para bacteriología urinaria^{1,2}.

El medio C.L.E.D. es muy útil para el cultivo en placas de los patógenos urinarios por no ser inhibitorio. Proporciona una excelente diferenciación morfológica de las colonias con características diagnósticas claras. Es deficiente en electrolitos con el objetivo de prevenir la aglomeración de las colonias de *Proteus*.

Los organismos fermentadores de lactosa producen una disminución en el valor de pH, provocando un cambio en el color del medio de verde a amarillo.

Para cuantificar la bacteriuria debe inocularse la superficie del medio con diluciones apropiadas de la muestra de orina.

Las placas inoculadas se incuban de 18 a 24 horas a 35 ± 2 °C.

Características de las colonias en el medio C.L.E.D.

Microorganismo	Características de las colonias
<i>Klebsiella</i>	de amarillas a azul blanquecino, extremadamente mucoides
<i>Escherichia coli</i>	amarillas, opacas con el centro ligeramente más coloreado
<i>Proteus</i>	azules, traslúcidas, más pequeñas que <i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	verdes con superficie típica mate y periferia rugosa
<i>Enterococos</i>	amarillas pequeñas de aproximadamente 0,5 mm de diámetro

Staphylococcus aureus
Staphylococcus, coagulasa negativa

amarillo intenso, de color uniforme, de 0,75 mm de diámetro aproximadamente amarillas pálidas o blancas, más opacas que *Streptococcus faecalis*, frecuente mente con una periferia algo más pálida

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	amarillas, opacas con el centro ligeramente más coloreado
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	amarillo intenso, uniforme
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	azul
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	bueno	azules, traslúcidas, sin velo

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Mackey J P and Sandys GH. 1966. Diagnosis of Urinary Infections. B. M. J., 1: 1173.
2. Sandys GH. 1960. J. Med. Lab. Technol., 17:224.

MEDIO FLUIDO TIOGLICOLATO (USP)

CÓDIGO: 4504

Medio para el cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios en la realización de los ensayos de esterilidad.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	15.0
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	5.5
Cloruro de sodio	2.5
Tioglicolato de sodio	0.5
L-cistina	0.5
Resazurina sódica	0.001
Agente gelificante	0.1

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

Suspender 29 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Calentar agitando frecuentemente y hervir hasta disolución completa. Mezclar bien y distribuir en tubos. Esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El medio tioglicolato fue descrito y diseñado originalmente por Brewer¹. Más adelante Vera incorpora la peptona de caseína con el fin de aumentar la capacidad nutricional del medio de cultivo². La composición fue adoptada por la Farmacopea de Estados Unidos (USP), el AOAC y la Farmacopea Europea (EP) y se emplea específicamente en procedimientos cualitativos para pruebas de control de esterilidad³⁻⁵. El medio también es utilizado ampliamente como medio de enriquecimiento en microbiología clínica, en especial para muestras de zonas corporales⁶, principalmente para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, incluso los nutricionalmente exigentes, entre los que se incluyen bacterias grampositivas, gramnegativas, aerobias, anaerobias, microaerófilas y hongos presentes en una extensa diversidad de muestras¹⁻³.

Entre sus ingredientes, el extracto de levadura, el hidrolizado enzimático de caseína y la glucosa proveen los factores necesarios para el crecimiento y la multiplicación bacteriana. El tioglicolato de sodio y la L-cistina son agentes reductores que proporcionan una suficiente anaerobiosis, previenen la acumulación de peróxidos, que son letales para algunos microorganismos y debido a los grupos -SH- de estos compuestos se neutralizan los efectos bacteriostáticos y tóxicos de los preservativos mercuriales, arsenicales y de otros metales pesados.

La resazurina de sodio es un indicador de oxidación-reducción: presenta un color rosa con la muestra oxidada y es incolora cuando está reducida. La adición de una pequeña cantidad de agar ayuda al mantenimiento de un bajo potencial de oxidación-reducción, ya que retarda la dispersión del CO₂ y O₂, por lo que mantiene la anaerobiosis a mayores profundidades del medio⁷. No obstante, el medio se puede utilizar hasta que se haya oxidado aproximadamente el 30 % del mismo (capa superior), tal como lo indica el color rosa de la resazurina cerca de la superficie. Si prosigue la oxidación, el caldo puede recalentarse una vez al vapor o agua en ebullición, enfriarse y utilizarse.

Procedimiento

Para las pruebas de esterilidad, deben seguirse las recomendaciones de la Farmacopea de Estados Unidos (USP) o la Farmacopea Europea y diversos organismos de control³⁻⁶. Dichas fuentes de referencias especifican la proporción de medio y producto que debe utilizarse en las pruebas de esterilidad, además de los detalles de la toma de muestras y la interpretación de los resultados de las pruebas. Si la muestra de prueba causa tanta turbidez en el medio que el crecimiento microbiano no se puede reconocer fácilmente, se debe transferir la muestra a otro medio.

Para cumplir los requisitos de USP y EP, se debe utilizar un inóculo de 10 – 100 UFC por recipiente³⁻⁵. De acuerdo a la Farmacopea Europea, incubar los recipientes a 32,5 ± 2,5 °C durante un máximo de 72 h.

Para uso en microbiología clínica, el medio puede ser suplementado con 10 mg de hidrocloreuro de hemina por litro (preparar de solución de referencia de 1:10 en NaOH 0,1 N, esterilizar por filtración y añadir la cantidad adecuada al frasco) y 1 mg de vitamina K₁ por litro (preparar una solución de referencia de 1:10 en etanol puro, esterilizar por filtración y añadir una cantidad apropiada al frasco). Las soluciones de referencia de hemina y vitamina K₁ pueden mantenerse refrigeradas durante 4 semanas en un lugar oscuro. Tener en cuenta que las muestras también deben ser inoculadas en medios sólidos, tales como Base de Agar Sangre Columbia o Agar Triptona Soya suplementados con 5 % de sangre.

La siembra se realiza en dependencia de la muestra a analizar:

- Muestras líquidas: agregar 1 ó 2 gotas de la muestra a tubos conteniendo medio de cultivo.
- Tejidos y otras muestras sólidas: macerar en caldo estéril. Luego sembrar de la misma manera que para muestras líquidas.
- Hisopos: insertarlos en el medio de cultivo, luego de haber sembrado el medio sólido apropiado.
- Si se utiliza para el aislamiento de patógenos a partir de muestras clínicas, subcultivar una porción de 10 – 50 µL del medio incubado en Agar Sangre Columbia o Agar Triptona Soya suplementado con 5 % de sangre⁶.

Interpretación de los resultados

Después de la incubación, el crecimiento microbiano se demuestra por la presencia de turbidez en los tubos.

Los microorganismos aerobios estrictos crecen en la parte superior del medio.

Los microorganismos anaerobios facultativos crecen en todo el medio de cultivo.

Los microorganismos anaerobios estrictos crecen en las profundidades del medio de cultivo

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: debe conservarse a temperatura ambiente, en lugar protegido de la luz y de fuentes de calor.

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Característica
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Bueno	Crecimiento nubloso y denso en el fondo del tubo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Bueno	Crecimiento mucoso en la superficie del tubo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Bueno	Crecimiento en forma de lluvia a lo largo de todo el tubo

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Brewer JH. 1940. Clear liquid medium for the “aerobic” cultivation of anaerobes. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.
2. Vera HD. 1944. A comparative study of materials suitable for the cultivation of clostridia. J. Bacteriol. 47:59-70.
3. The United States Pharmacopoeial Convention and National Formulary. USP XXXII. 2009. The United States Pharmacopoeia. 32 ed. Rockville Md.
4. Council of Europe, 2000. European Pharmacopoeia, Supplement 2001. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
5. Cunniff P. (ed.). 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
6. Thomson RB, Miller JM. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. MacFaddin JF. 1985. Media for isolation, cultivation, identification, maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

MEDIO LECHE DE CROSSLEY

Código: 4166

Medio para la detección de bacterias anaerobias en alimentos.

Fórmula	g/L
Leche en polvo descremada	100.0
Peptona bacteriológica	10.0
Púrpura de bromocresol	0.1

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Mezclar 110 g en una pequeña porción de agua destilada o desionizada, completar gradualmente el volumen hasta 1 L, con agitación constante distribuir 10 mL en tubos y esterilizar a 121 °C por 5 min.

Descripción

Este medio, utilizado en el examen de rutina de bacterias anaerobias a partir de muestras de alimentos, sin usar equipos de anaerobiosis, fue desarrollado por Crossley¹.

Se recomienda para el crecimiento rápido de bacterias anaerobias, sin utilizar aparatos especiales para anaerobiosis, pues éstas, son fácilmente identificadas de acuerdo al tipo de reacción que se observe en el medio.

Según Tanner², el Medio Leche de Crossley constituye un medio idóneo para el examen de carnes, productos cárnicos y alimentos en conservas, así como de organismos anaerobios esporulados. En él, la anaerobiosis se logra adicionando pequeñas limallas de hierro caliente, o añadiendo aceite mineral estéril.

Jepsen³ realizó una modificación del Medio Leche de Crossley, en la que adicionó 20 % (m/v) de pescado cocinado, con el objetivo de detectar la presencia de clostridios en vegetales, productos alimenticios y productos cárnicos.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Tipo de reacción	Características del medio
CONTROL POSITIVO		
<i>Alcaligenes faecalis</i> SP.	alcalinización	color violeta
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	peptonización	formación de una fase superior líquida de color púrpura y fase inferior con precipitado
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Producción de ácido, proteólisis y coagulación	color amarillo con formación de coágulo
CONTROL NEGATIVO		
Medio no inoculado		

Referencias

1. Crossley EL. 1941. J. Soc. Chem. Ind. 60: 131-136.
2. Tanner FW. 1944. The microbiology of foods. 2nd ed. Gerrard Press, London., 893: 1001-1002.
3. Jepsen A, Albertsen VE et al. 1957. Meat Hygiene. World Health Organization, Geneva., 439:425-426.

MEDIO LÍQUIDO DE SABOURAUD

CÓDIGO: 4102

Medio empleado para el aislamiento y cultivo de levaduras y mohos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Peptona bacteriológica	5.0
Dextrosa	20.0

pH 5.7 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien, distribuir y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Esta formulación es recomendada para el uso en ensayos de antibióticos, para la detección de la actividad fungistática. En la formulación BioCen, el Digerido Pépsico de Tejido Animal incluido en la formulación recogida en el Código de Regulaciones Federales de los Estados Unidos para el uso en ensayos de antibióticos¹, ha sido sustituido por una Peptona bacteriológica de alta calidad. Se recomienda incubar las muestras por un período de 48 a 72 h.

Se emplea además, para el cultivo mohos, levaduras y bacterias acidofílicas.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento
CONTROL POSITIVO:	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	bueno
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9080	bueno
CONTROL NEGATIVO:	
Medio no inoculado	

Referencias

1. Code of Federal Regulations. 1985. Title 21, Part 436. Test and methods of assay of antibiotic and antibiotic-containing drugs. Subpart D. Microbiological assay methods, U.S. Gout. Printing Office, Washington, D. C.

MEDIO MR-VP

CÓDIGO: 4292

Medio recomendado para la diferenciación bioquímica de bacterias coliformes basada en las pruebas de rojo de metilo y Voges-Proskauer.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	7,0
Dextrosa	5,0
Fosfato dipotásico	3,6
Fosfato monopotásico	1,4

pH 6,9 ± 0.2

Preparación

Suspender 17 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Distribuir en tubos. Esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Voges y Proskauer han descrito la aparición del color rojo después de adicionar el hidróxido de potasio a los cultivos microbianos en el medio especial con glucosa¹.

La prueba de rojo de metilo fue encontrada por Clark y Lubs, en 1915, y se convierte en una característica importante para la identificación de especies bacterianas del grupo de coliformes, capaces de producir ácidos en altas concentraciones a partir de la degradación de la glucosa y mantener el pH en valores inferiores a 4,4 contrariamente a los microorganismos aerógenos². Esta acidificación es detecta por el indicador rojo de metilo, produciéndose un cambio de coloración de amarillo a rojo cuando se adiciona al medio.

La formación de acetilmetilcarbinol durante la fermentación de la glucosa en ciertas especies de enterobacterias (grupo *Klebsiella-Enterobacter-Serratia-Hafnia*), puede ser detectada a través de la prueba de Voges-Proskauer. La acción directa del KOH (NaOH) y el oxígeno atmosférico, así como la posterior reacción con compuestos presentes en el medio, dan lugar a un complejo de color rojo. La aparición del color rosa o rojo se observa durante 30 segundos. Barry y Feeney³ obtuvieron resultados más rápidos adicionando la creatina.

Durham⁴ observó que *Enterobacter aerogenes* daba reacción positiva debido a la oxidación de acetilmetilcarbinol, producto de acetil, que reacciona con la peptona del medio y produce color rojo^{5,6}. Por otra parte, Dirham detectó que *Escherichia coli* no producía color rojo derivando de ello la correlación que existía entre el rojo de metilo y el Voges-Prosakauer⁷ en el proceso de fermentación de la lactosa por los organismos coniformes.

El tiempo de incubación para la prueba de rojo de metilo debe ser al menos 48 h a 35 °C. La segunda porción del cultivo se utilizará para la prueba de Voges-Proskauer.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Rojo de metilo	Voges-Proskauer
CONTROL POSITIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	-
CONTROL NEGATIVO <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	-	+

Referencias

1. Voges O, Proskauer B. 1898. Beitrag zur Ernährungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der hamorrhaischen Septicamie. Z. Hyg.. Infekt., 28:20-32.
2. Clark W, Lubs H. 1915. The differentiation of bacteria of the Colon-Aerogenes family by use of indicators J. Infect. Disc., 17 160-173.
3. Barrit M. 1936. The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of a-naphtol. J. Path. Bact. 42: 441-454.20.
4. Durham HE. 1900-1901. J. Exp. Med. 5:353-388.
5. Harden A, Walpole GS. 1906. Proc. Roy Soc. b. 77:173.
6. Harden A, Norris D. 1911. Physiol. 42:332.
7. Levine M. 1916. J. Bact. 1:153-164.

MEDIO SIM

CÓDIGO: 4329

Medio para la diferenciación de enterobacterias basada en la producción de sulfuro de hidrógeno, formación de indol y motilidad.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	20.0
Peptona bacteriológica	6.1
Tiosulfato de sodio	0.2
Sulfato amónico ferroso	0.2
Agar	3.5

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

El medio SIM está destinado a la diferenciación de las enterobacterias, especialmente *Salmonella* y *Shigella*, basada en tres reac-ciones específicas: producción de sulfuro de hidrógeno, formación de indol y motilidad.

La composición del medio fue especialmente diseñada para favorecer estas reacciones. El tiosulfato de sodio y el sulfato amónico ferroso sirven de indicadores de H₂S¹.

El gas sulfhídrico es producido por las bacterias reductoras del sulfato. Posteriormente ocurre la reacción del sulfato de amonio ferroso con el H₂S dando lugar a sulfato de hierro, el cual se forma a lo largo de la línea de inoculación en forma de precipitado de color negro¹⁻².

La composición del medio SIM, específicamente en su contenido de agar (0,35 %), garantiza que sea catalogado como semisó-lido, lo que permite la detección de la motilidad para los organismos móviles, observándose la difusión de la turbiedad alrededor de la línea de incubación. A su vez, los microorganismos no móviles presentan el crecimiento estrictamente sobre la línea de inoculación¹⁻². Generalmente la difusión de la turbiedad ocurre en todo el medio. Sin embargo, en ocasiones, se puede observar el crecimiento en forma de abanico o nodular.

Después de observar la motilidad y la producción de sulfuro de hidrógeno, se le adiciona al medio 0,2 mL de reactivo de Kovac’s, dejándolo por 10 min. La aparición de una coloración roja intensa indica la reacción positiva al indol proveniente del aminoácido esencial triptófano incorporado al medio con el hidrolizado enzimático de caseína. No cambio de la coloración original del reac-tivo indica la reacción negativa al indol¹⁻².

Este medio está recomendado por APHA para el análisis de los alimentos³.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	H ₂ S	Indol	Motilidad
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	+	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	+	-	+
<i>Salmonella</i> Typhi ATCC 19430	-	-	+
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	+	+	+

Referencias

1. MacFadin. 1985. Media for isolatio-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Ewing WH. 1986. Edwards and Ewing’s identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. Elsevier Science Publishing Co. New York.
3. American Public Health Association. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed., APHA Inc., Washington, D.C.

MEDIO T.C.B.S.

CÓDIGO: 4024

Medio para el cultivo y aislamiento selectivo de vibrios patógenos a partir de materiales clínicos, aguas y alimentos.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	10.0
Extracto de levadura	5.0
Sacarosa	20.0
Bilis de buey	8.0
Tiosulfato de sodio	10.0
Citrato de sodio tribásico	10.0
Citrato férrico	1.0
Cloruro de sodio	10.0
Azul de bromotimol	0.04
Azul de timol	0.04
Agar	14.0

pH 8.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 88 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar hasta la ebullición. Evitar cualquier sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave, ni refundir. Enfriar hasta 45-50 °C y distribuir.

Descripción

Kobayashi y col.¹ en 1963 desarrollaron el medio T.C.B.S. a partir del Agar para el Aislamiento Selectivo de Nakanishi² (1963). El medio T.C.B.S., a diferencia de la formulación desarrollada por Kobayashi y col., contiene bilis de buey especialmente transformada.

Además de ser destinado al crecimiento de *Vibrio cholerae*, el medio puede ser utilizado para el cultivo de *Vibrio parahaemolyticus*. En 1963, Sakazaki³ describió el aislamiento de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio alginolyticus* en el medio T.C.B.S.

La mayoría de las enterobacterias que se encuentran en las heces quedan suprimidas totalmente durante al menos 24 horas, excepto las especies de *Proteus* y *Enterococcus faecalis*, las cuales pueden producir un ligero crecimiento, diferenciándose fácilmente sus colonias de las de vibrio.

Las heces o el material contaminado se inocula por estrías en la superficie del medio.

Características de las colonias después de 24 horas a 35 ± 2 °C.

Microorganismo	Características de las colonias
<i>Vibrio cholerae</i> y el tipo El Tor	amarillo-pardas, de 2-3 mm de diámetro
<i>Vibrio alginolyticus</i>	amarillas, de 3-5 mm de diámetro
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	verde-azules con centro verde, de 3-5 mm de diámetro
<i>Proteus</i> sp.	amarillo-verdes, de 1 mm de diámetro
<i>Enterococcus</i> sp.	amarillas, de 1 mm de diámetro
<i>Pseudomonas</i> sp.	verde-azules, de 1 mm de diámetro

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO <i>Vibrio cholerae</i> sp.	bueno	amarillo
CONTROL NEGATIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	translúcidas, si las hay

Referencias

1. Kobayashi T, Enomoto S, Sakazaki R and Kuwahara S. 1963. A New Selective Isolation Medium for Pathogenic Vibrios: TCBS-Agar. Jap. J. Bact., 18:387-391.
2. Nakanishi Y. 1963. An Isolation Agar Medium for Cholera and Enteropathogenic Halophilic Vibrios. Modern Media, 9:246.
3. Sakazaki R. 1963. *Vibrio parahaemolyticus*. Tokyo, Osseido.

MEDIO TIOGLICOLATO

CÓDIGO: 4023

Medio para la realización de los ensayos de esterilidad. Es idóneo para el cultivo de organismos tanto aerobios como anaerobios.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	15.0
Extracto de levadura	5.0
Dextrosa	5.5
L-cistina	0.5
Tioglicolato de sodio	0.5
Cloruro de sodio	2.5
Resazurina sódica	0.001
Agar	0.75

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, mezclar bien, distribuir en tubos y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Este medio de ser posible debe usarse recién preparado. Al observar color rosa en más del 20 % del medio, recalentarlo una sola vez durante 10 min en un baño de agua hirviente.

Descripción

Las sustancias reductoras en este medio (tioglicolato y cistina) proporcionan una anaerobiosis adecuada, incluso para anaerobios exigentes. Los metales pesados, como arsénico, mercurio y otros, se inactivan por los grupos sulfhidrilos¹.

La elevada viscosidad del Medio Tioglicolato impide la penetración rápida de oxígeno. Cuando esto ocurre, se puede observar claramente el viraje a rojo del indicador redox resazurina sódica que le da al medio una coloración rosa.

Este medio se inocula en profundidad con el material objeto de ensayo. Posteriormente puede superponerse una capa de aproximadamente 1 cm de parafina líquida estéril y se incuba durante varios días a temperatura ambiente. Los gérmenes anaerobios crecen en el fondo del tubo.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: No se debe almacenar. Conservar el medio preparado a temperatura ambiente y preferiblemente utilizarlo el mismo día de su preparación.

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo de ensayo	Crecimiento	Característica
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	bueno	crecimiento nubloso y denso en el fondo del tubo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	bueno	crecimiento mucoso en la superficie del tubo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	bueno	crecimiento en forma de lluvia a lo largo de todo el tubo

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. American Public Health Association. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2th ed., APHA Inc., Washington, D.C.

MEDIO TRANSPORTE DE CARY-BLAIR

CÓDIGO: 4525

Medio destinado para la recolección, transporte y conservación de muestras clínicas para el diagnóstico microbiológico de agentes patógenos y bacterias entéricas.

Fórmula	g/L
Fosfato disódico	1,1
Tioglicolato de sodio	1,5
Cloruro de calcio	0,09
Cloruro de sodio	5,0
Agar	5,5

pH 8,4 ± 0.2

Preparación

Suspender 13,2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar agitando frecuentemente hasta disolución completa y distribuir de 3 a 4 mL en tubos pequeños con tapa de rosca, esterilizar a vapor fluente a 100 °C por 15 min, dejar enfriar y apretar las tapas para evitar la pérdida de agua.

Descripción

El medio transporte de Cary-Blair es una modificación del medio de Stuart, empleado para el transporte de muestras fecales y raspados rectales para coprocultivo¹. En el año 1964, Sylvia Cary y Eugene Blair demostraron que el glicerofosfato, contenido en el medio Stuart, podía ser utilizado metabólicamente por algunas bacterias como *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes* que poseen la enzima glicerofosfato deshidrogenasa, permitiendo el sobrecrecimiento de estos agentes².

Estos autores lo sustituyeron por un tampón inorgánico fosfatado, que junto al bajo contenido de nutrientes, un bajo potencial de oxido-reducción y un pH alto asegura la supervivencia de los microorganismos patógenos, durante largos períodos de tiempo³.

En los estudios de Cary y cols., *Salmonella* y *Shigella* fueron recuperadas luego de 45 días de inoculación, aunque otros autores reportan hasta 50 días o más a 28 °C. Especies de vibrios y *Campylobacter* permanecen viables por 22 días a 28 °C y es un medio recomendado para el transporte de *Vibrio cholerae* debido a su pH alcalino a y la presencia de cloruro de sodio⁴⁻⁷.

Es particularmente adecuado en estudios epidemiológicos de campo para *Vibrio parahaemolyticus*, especialmente cuando los hisopos rectales se van a transportar a laboratorios centrales de diagnóstico^{8,9}.

La supervivencia de *V. parahaemolyticus* en medio de Cary-Blair ha sido reportada después de un período de 35 días a una temperatura de 20-30 ° C¹⁰.

Se ha demostrado la eficacia de este medio de transporte para estudios microbiológicos en gastroenteritis. Aunque es un medio destinado originalmente para el transporte de microorganismos fecales, también es utilizado con éxito para especímenes anaerobios. La baja concentración de agar le da una consistencia semisólida, tiene un aporte mínimo de nutrientes que permite la recuperación de los microorganismos, sin que haya replicación, y el pH relativamente alto minimiza la destrucción de las células bacterianas por acidificación. El tioglicolato de sodio se incluye para proveer un bajo potencial de oxidoreducción.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C por 30 días

Procedimiento

Siembra:

Utilizar un hisopo estéril y recolectar la muestra según la metodología apropiada para ensayos microbiológicos.

Introducir el hisopo en el tubo que contiene el Medio Transporte de Cary-Blair cuidando que quede aproximadamente a 2 cm por debajo de la superficie y sin tocar el fondo del medio.

Romper con cuidado la parte del hisopo que sobresale del tubo y que hizo contacto con los dedos, para evitar contaminación externa.

Tapar inmediatamente el tubo apretando bien la tapa y enviar lo más pronto posible al laboratorio para su procesamiento.

Incubación:

Mantener a temperatura ambiente durante su envío y procesamiento en el laboratorio.

Resultados

Los hisopos, procedentes del Medio Transporte de Cary-Blair, se procesan e inoculan en los medios de cultivo adecuados para los microorganismos que se desee aislar de las muestras clínicas. Luego de la incubación, debe haber buen crecimiento de las cepas aisladas, con escasa o nula reducción de la viabilidad.

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento*
CONTROL POSITIVO:	
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12028	bueno
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno
CONTROL NEGATIVO:	
Medio no inoculado	-

*: Crecimiento en el Agar Triptona Soya después de mantener la muestra en el Medio Transporte de Cary-Blair durante 24 h de 2 a 8 °C.

Precauciones

Debe conservarse el medio apropiadamente para evitar alteraciones en las características del producto. Utilizar los medios de protección para la manipulación del medio.

Referencias

1. Cary, S.G., Blair, E.B. 1964. New transport medium for shipment of clinical specimens i. fecal specimens. J. Bacteriol., 88(1): 96-98.
2. Crookes E.M., Stuart R.D. 1959. J. Pathol. Bacteriol., 78:283-288.
3. Stuart, R.D. 1959. Transport medium for specimens in public health bacteriology. Public health reports, 74(5):431.
4. CDC. Technical Guidelines on the detection and control of cholera epidemics. CDC Atlanta, Georgia, USA.
5. Kelly, M.T, Farmer, F.B. 1991. Vibrio. Manual of clinical microbiology. 5th ed. Balows. ASM, Washington, DC.
6. OPS CDC/NCID. 1994 En Métodos de laboratorio para el diagnostico de *Vibrio cholerae*. CDC.
7. Tison, D. 1999. Vibrio. En Manual of clinical microbiology. 7h ed. (eds. Murray, Y.P., Baron, E.P., Faleer, M., Tenover. F., Yolkenr.) ASM, Washington, DC.
8. Cary, S.G., Fusillo, M.H., Harkins, C. 1965. Am. J. Clin. Path., 43:294-295.
9. DeWitt, W.E., Gangarosa, E.J., Huq, I., Zarifi, A. 1971. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 20:685-688.
10. Neumann, D.A., Benenson, M.W., Hubster, E.T. (N. T. N). 1971. Am. J. Clin. Path., 57.

MEDIO TRANSPORTE DE STUART (MODIFICADO)

CÓDIGO: 4025

Medio para la recolección y el transporte de los especímenes clínicos en la práctica de los laboratorios de salud.

Fórmula	g/L
Cisteína clorhidrato	0.5
Glicerofosfato de sodio	10.0
Tioglicolato de sodio	0.5
Cloruro de calcio	0.1
Azul de metileno	0.001
Agar	5.0

pH 7.4 $\pm$ 0.2

Preparación

Suspender 16 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, distribuir en tubos con tapa de rosca y esterilizar a 121 °C por 15 min. Rechazar los tubos con el medio completamente coloreado de azul.

Descripción

Moffett y col.¹ en 1948 y Stuart y col.² en 1954 describieron originalmente este medio de transporte como sustrato semisólido no nutritivo que originalmente se formuló para el transporte de gonococos. Stuart y col. 1954 demostraron la posibilidad de la utilización de este medio para el transporte de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Corynebacterium diphtheriae*. Posteriormente se extendió el método de Stuart al transporte de los hisopos del material clínico que contienen patógenos del tracto respiratorio superior y otros microorganismos entéricos.

Se emplean hisopos de algodón impregnados en carbón vegetal preparados de la siguiente forma:

- 1- Preparar varios hisopos de madera o preferiblemente de aluminio³ (la madera puede resultar tóxica para *Neisseria gonorrhoeae*), con algodón de buena calidad.
- 2- Hervir los hisopos en una solución tampón de fosfatos de la siguiente composición:

Fosfato disódico	0.81 g
Fosfato monopotásico	0.18 g
Agua destilada	100 mL
pH 7.4	
- 3- Sumergir los hisopos en una suspensión al 1 % de carbón vegetal bacteriológico.
- 4- Colocar en tubos de ensayo cerrados con tapones de algodón, secar los hisopos a 100 °C y esterilizar en estufa a 150 °C durante 1 hora.

Una vez tomada la muestra, transferir el hisopo al medio de transporte, introduciéndolo hasta las 3/4 partes del mismo. Cerrar bien el tubo y enviarlo al laboratorio.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a temperatura ambiente.

Control de la Calidad

Microorganismo **Crecimiento en el Agar Sangre después de mantener la muestra en el Medio Transporte de Stuart (Modificado) durante 24 h de 2 a 8 °C**

CONTROL POSITIVO
Streptococcus pyogenes ATCC 19615 bueno con b hemólisis

CONTROL NEGATIVO
Medio no inoculado

Referencias

1. Moffett M, Young JL and Stuart R.D. 1948. Centralized Gonococcus Culture for Dispersed Clinics. The Value of a New Transport Medium for Gonococci and Trichomonas. Brit. Med. J., 2: 421-424.
2. Stuart RD, Toshach SR, Shiela R and Patsula TM. 1954. The Problem of Transport of Specimens for Culture of Gonococci. Canad. J. Publ. Hlth., 45 (2): 13-83.
3. Beakley JW. 1957. The Toxicity of Wooden Applicator Sticks for *Neisseria gonorrhoeae*. Pub. Hlth. Lab., 15 (1): 11-16.

MEDIO UNIVERSAL PARA CERVEZA

CÓDIGO: 4181

Base destinada a la preparación del medio para el cultivo de microorganismos de importancia en la industria cervecera.

Fórmula	g/L
Leche peptonizada	15.0
Jugo de tomate	12.2
Extracto de levadura	6.1
Dextrosa	16.1
Fosfato dipotásico	0.31
Fosfato monopotásico	0.31
Sulfato de magnesio	0.12
Cloruro de sodio	0.006
Sulfato ferroso	0.006
Sulfato de manganeso	0.006
Agar	12.0

pH 6.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 62 g en 750 mL de agua destilada o desionizada, calentar hasta disolución completa. Adicionar 250 mL de cerveza comercial sin desgasificar, mezclar suavemente, esterilizar a 121 °C por 10 min y distribuir.

Descripción

Es un medio basal, al que se le añade cerveza, para la detección de la flora contaminante en la industria cervecera.

El medio estimula el desarrollo de las especies de *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Zymomonas* y otras especies salvajes de levaduras en todo el proceso de producción de la cerveza.

Kozulis y Page¹ describieron el aumento de la selectividad y la capacidad estimulante para el desarrollo de los microorganismos en este medio al añadirle cerveza. Si conjuntamente con esta última, se adiciona cicloheximida, se logra la inhibición del crecimiento de levaduras y se facilita la detección selectiva de contaminación bacteriana.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad
Microorganismo

CONTROL POSITIVO

Lactobacillus fermentum ATCC 9338
Acinetobacter baumannii ATCC 19606

Indice absoluto
de crecimiento

≥ 90
≥ 90

Indice relativo de crecimiento respecto al
medio de uso general (*Agar Triptona Soya*)

≥ 85
≥ 85

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Referencias

1. Kozulis JA and Page E. 1968. Am. Soc. Brew. Chem., pp. 52-58

DESCRIPCIÓN DE LOS MEDIOS
DE CULTIVO BioCEN

PARA LA TÉCNICA DE FILTRACIÓN
POR MEMBRANA

BASE DE AGAR M-ENDO LES

CÓDIGO: 4414

Base destinada a la preparación del Agar m-Endo LES para la enumeración de organismos coliformes mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Triptosa	7.5
Peptona de carne	3.7
Hidrolizado enzimático de caseína	3.7
Extracto de levadura	1.2
Lactosa	9.4
Sulfito de sodio	1.6
Fosfato dipotásico	3.3
Fosfato monopotásico	1.0
Cloruro de sodio	3.7
Desoxicolato de sodio	0.1
Lauril sulfato de sodio	0.05
Agar	15.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 50,2 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Añadir 8 mL de solución de fucsina básica al 10 % (p/v) en alcohol etílico. Mezclar bien. Calentar hasta ebullición. Evitar el sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave.

Advertencia: La fucsina básica es un agente carcinógeno potencial. Evite la inhalación y contacto con la piel.

Descripción

El medio Base de Agar m-Endo LES es un medio de cultivo que, suplementado con fucsina básica, resulta selectivo para la detección de *E. coli* y coliformes en aguas. Aparece recomendado en “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”¹.

El Agar m-Endo LES se prepara según la formulación de Lawrence Experimental Station de McCarthy, Delaney y Grasso, para la enumeración de organismos coliformes en agua².

La técnica de Filtración por Membrana, es un método altamente reproducible, que puede usarse para analizar volúmenes de muestras relativamente grandes y con la que se obtienen resultados en menor tiempo que el método del Número Más Probable (NMP)³.

La inhibición de los microorganismos Gram-positivos acompañantes se logra mediante la acción combinada del desoxicolato y el lauril sulfato. Las bacterias coliformes que fermentan la lactosa producen ácido y aldehído. Este último, a su vez, libera la fucsina del complejo formado entre ella y el sulfito de sodio. La fucsina en forma libre colorea las colonias de rojo oscuro. La fermentación de lactosa por *E. coli* es tan fuerte, que la fucsina se cristaliza dando un brillo metálico verdoso a las colonias⁴.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo con 20-200 UFC/mL, %	Color y brillo metálico en las colonias
CONTROL POSITIVO		
Escherichia coli ATCC 25922	> 90	colonias rojas con brillo metálico
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	> 90	colonias rojas con brillo metálico
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	> 90	colonias rosadas sin brillo
CONTROL NEGATIVO		
Staphylococcus aureus ATCC 25923	de inhibido a escaso	J

Referencias

1. American Public Health Association. 1998. “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”. 20th. ed., APHA Inc., Washington, DC.
2. McCarthy JA. Delany JE., Grasso RJ. 1961. Measuring coliformes in Water. Water and Sewage Works, 108.238-243.
3. MacCarthy JA. Thomas HAJ., Delany JE. 1958. Evalaution of the Rahability of Coliforms Density Tests AJPH 48.16-28.
4. Mac Faddin. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacterias. Williams & Wilkins, Baltimore, 1.

m-BASE DE MEDIO ENDO

CÓDIGO: 4177

Base destinada a la preparación del medio m-Endo para la detección de *Escherichia coli* y organismos coliformes en muestras de aguas y alimentos, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Triptosa	10.0
Peptona bacteriológica	5.0
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Extracto de levadura	1.5
Lactosa	12.5
Sulfito de sodio	2.1
Fosfato dipotásico	4.375
Fosfato monopotásico	1.375
Cloruro de sodio	5.0
Desoxicolato de sodio	0.1
Lauril sulfato de sodio	0.05

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 47 g en 1 L de agua destilada o desionizada. Añadir 8 mL de solución de fucsina básica al 10 % (p/v) en alcohol etílico. Mezclar bien. Calentar hasta ebullición. Evitar el sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave.

Advertencia: La fucsina básica es un agente carcinógeno potencial. Evite la inhalación y contacto con la piel.

Descripción

El m-Base de Medio Endo es un medio de cultivo que suplementado con fucsina básica resulta selectivo para la detección de *E. coli* y coliformes en agua, leche y alimentos. Aparece recomendado en “Standard Methods for the Examination of Water and West Water”¹ en 1965 y en “Standard Methods for the Examination of Dairy Products”² en 1967.

Su formulación responde a una modificación del medio de Endo original que, según Fifild y Schaufus³ proporciona un brillo metálico a la *E. coli* más pronunciado y un rango de recuperación de este organismo significativamente mayor.

El empleo de éste medio de cultivo permite omitir un primer paso de enriquecimiento de coliformes con el Caldo Lauril Sulfato y posibilita realizar una enumeración directa a partir de las muestras de aguas mediante la técnica de filtración por membrana⁴.

La inhibición de los microorganismos grampositivos acompañantes se logra mediante la acción combinada del desoxicolato, laurilsulfato, sulfito de sodio y de la fucsina básica. Las bacterias coliformes que fermentan la lactosa producen ácido y aldehído. Este último, a su vez, libera la fucsina del complejo formado entre ella y el sulfito de sodio. La fucsina en forma libre colorea las colonias de rojo oscuro. La fermentación de lactosa por *E. coli* es tan fuerte, que la fucsina se cristaliza dando un brillo metálico verdoso a las colonias⁵.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo con 20-200 UFC/mL, %	Brillo metálico en las colonias
CONTROL POSITIVO		
Escherichia coli ATCC 25922	> 90	intenso
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	> 90	ligero
Proteus mirabilis ATCC 7002	> 90	ausente
CONTROL NEGATIVO		
Medio inoculado con agua estéril		

Referencias

1. American Public Health Association. 1965. Standard Methods for the Examination of water and Waste Water. 12th. ed., APHA Inc., Washington, DC.
2. American Public Health Association. 1967. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 12th. ed., APHA Inc., Washington, DC.
3. Fifiel and Schaufus. 1958. J. Am. Water Work Assoc., 50: 193.
4. Greenberg, Trussell and Cleruri. American Public Health Association. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th. ed., APHA Inc., Washington, DC.
5. Mac Faddin. 1985. Media for Isolation- Cultivation- Identification- Maintenance of Medical Bacterias. Williams & Wilkins, Baltimore, 1.

m-CALDO GLUCOSA Y TRIPTONA

Código: 4175

Medio para la detección y recuento total de Unidades Formadoras de Colonias de organismos termófilos formadores de esporas y de mesófilos en muestras, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	20.0
Glucosa	10.0
Púrpura de bromocresol	0.04

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

Este medio de cultivo líquido es una modificación del Agar Glucosa y Triptona destinado al análisis microbiológico de alimentos mediante la técnica de filtración por membrana, y se emplea para el recuento de bacterias aerobias formadoras de esporas (termófilas y mesófilas) que provocan deterioro en productos enlatados y otros alimentos¹.

Además, este medio de cultivo se utiliza para el recuento de microorganismos aerobios en azúcar líquido y de las esporas resistentes al calor de los microorganismos aerobios que se encuentran en sustancias endulcorantes usadas en la producción de helados².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo con 20-200 UFC/mL, %	Color del medio
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 90	amarillo
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	> 90	sin cambio
<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	> 90	amarillo
CONTROL NEGATIVO		
Medio inoculado con agua estéril		

Referencias

1. Ito and Thompson. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed., APHA Inc., Washington, D.C.
2. Halden. 1957. J. Am. Soc. Sugar. Beet. Technol., 9: 393.

m-CALDO TRIPTONA GLUCOSA EXTRACTO C

CÓDIGO: 4173

Medio formulado con extracto nutritivo para el recuento total de Unidades Formadoras de Colonias en muestras, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Extracto nutritivo	6.0
Glucosa	2.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 18 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La formulación del m-Caldo Triptona Glucosa Extracto C corresponde al doble de la del Agar Triptona Glucosa Extracto, y de la misma se excluye el agar¹.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo con 20-200 UFC/mL, %
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥ 90
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	≥ 90
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	≥ 90
CONTROL NEGATIVO	
Medio inoculado con agua estéril	

Referencias

1. American Public Health Association. 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed., APHA Inc., Washington, D.C.

m-CALDO TRIPTONA GLUCOSA EXTRACTO L

CÓDIGO: 4174

Medio formulado con extracto de levadura para el recuento total de Unidades Formadoras de Colonias en muestras, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Extracto de levadura	5.0
Glucosa	2.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 17 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

A partir de 1951 Buchbinder y colaboradores¹ desarrollaron estudios con un nuevo medio de cultivo (Agar para Conteo en Placas) para el recuento total de microorganismos, empleando una mezcla de triptona, glucosa y extracto de levadura sin necesidad de utilizar el extracto de leche, obteniendo resultados superiores.

La transparencia del nuevo medio de cultivo y un tamaño de colonias de los microorganismos, superior al observado en el Agar Triptona Glucosa Extracto con leche, facilita la realización del recuento.

La formulación del m-Caldo Triptona Glucosa Extracto L corresponde al doble de la del Agar para Conteo en Placas, y de la misma se excluye el agar.

Este medio de cultivo fue recomendado para el uso en los procedimientos estándar para el análisis microbiológico de alimentos².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo con 20-200 UFC/mL, %
CONTROL POSITIVO	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥ 90
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	≥ 90
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	≥ 90
CONTROL NEGATIVO	
Medio inoculado con agua estéril	

Referencias

1. American Public Health Association. 1960. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th ed., APHA Inc., New York.
2. American Public Health Association. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc., Washington, D. C.

m-MEDIO AZIDA

CÓDIGO: 4255

Medio selectivo para la detección y el recuento de enterococos en muestras de agua, leche y otros alimentos, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Triptosa	50.0
Extracto de levadura	10.0
Dextrosa	4.0
Azida de sodio	0.4
Cloruro de trifenil tetrazolio	0.2
Fosfato dipotásico	8.0

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 72.6 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y distribuir. Evitar cualquier sobrecalentamiento. No esterilizar en autoclave.

ADVERTENCIAS: Peligroso por ingestión. Nocivo para los organismos acuáticos. Evítese su liberación al medio ambiente

Descripción

Los microorganismos del genero *Enterococcus* (*Streptococcus faecalis*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus bovis* y *Streptococcus equinus*) tienen importancia sanitaria como indicadores secundarios de contaminación fecal, particularmente en las muestras de aguas salobres y aguas que contienen cloro, donde las bacterias coliformes son menos resistentes.

En el año 1933 Edwards¹ por primera vez propuso el empleo de azida de sodio como un inhibidor selectivo de las bacterias gram-negativas en los cultivos puros de enterococos.

En el 1936 Hartman² ensayó diferentes agentes inhibidores de *Streptococcus mastitis* provenientes del material contaminado y descubrió que la azida de sodio era el inhibidor más efectivo contra bacterias gramnegativas.

Posteriormente, en 1940, Mallmann³ y Snyder y Lichstein⁴ demostraron que la azida de sodio puede ser utilizada también para el aislamiento de *Streptococcus faecalis* en el agua.

En 1957 Slanetz y Bartley⁵ desarrollaron el medio de cultivo selectivo m-Agar Selectivo para el recuento de enterococos en aguas, leche y otros alimentos, que ofrecía un mayor grado de recuperación que cualquier otro medio utilizado previamente. El empleo de cloruro de trifenil tetrazolio (TTC) facilita la detección de enterococos, ya que éstos lo reducen a un pigmento rojo, toranándose las colonias de un color rojo intenso.

El m-Medio Azida es un medio selectivo que tiene la misma composición que el m-Agar Selectivo para *Enterococcus* pero con omición del agar y con doble concentración de ingredientes (excepto azida de sodio).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperacióna partir del inóculo de 20 a 200 UFC/mL, %	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	> 90	colonias rojas oscuras
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	> 90	colonias rojas oscuras

CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Índice de recuperación a partir del inóculo concentrado, %	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		
	< 10 %	
	< 10 %	

Referencias

1. Edwards SJ. 1933. Studies on bovine mastitis. IX. A selective medium for the diagnosis of Streptococcus mastitis. J. Comp. Path. Therap., 46: 211-217.
2. Hartmann G. 1936. Ein Beitrag zur Reinzüchtung von Mastitisstreptokokken aus verunreinigtem Material. Milchw. Forsch, 18: 116-122.
3. Mallmann WL. 1940. A new yardstick for measuring sewage polution. Sewage Works J., 12: 875-878.
4. Snyder ML and Lichstein HC. 1940. Sodium azide as an inhibiting substance for Gram-negative bacteria. J.Infect. Dis., 67: 113-115.
5. Slanetz and Bartley, 1957. J.Bacteriol, 74: 591.

m-MEDIO DE CHAPMAN

CÓDIGO: 4178

Medio para la detección de estafilococos patógenos en muestras de alimentos y otros materiales, mediante la técnica de filtra-
ción por membrana.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	10.0
Extracto de levadura	2.5
Lactosa	2.0
D-manitol	10.0
Fosfato dipotásico	5.0
Cloruro de sodio	75.0
Rojo fenol	0.025

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 104.5 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

En el 1942 Koch reportó que sólo los estafilococos pueden crecer en un medio de cultivo que contenga 7,5 % de cloruro de sodio¹.

Posteriormente, Chapman² utilizó esta propiedad para el desarrollo del medio Agar para *Staphylococcus* No. 110. Este medio de cultivo es selectivo debido a la alta concentración de cloruro de sodio en su formulación, y diferencial para los estafilococos por su capacidad de fermentar el manitol y licuar la gelatina.

El m-Medio de Chapman es una modificación del medio Agar para *Staphylococcus* No. 110 destinado al análisis microbiológico mediante la técnica de filtración por membrana, con adición de un indicador de pH (rojo fenol) y omisión de agar y gelatina. Este medio de cultivo es recomendado en la USP³ para la detección de estafilococos patógenos en alimentos, productos farmacéuti-
cos y cosméticos.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 20 a 200 UFC/mL, %	Color del medio	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO:			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	> 90	amarillo	amarillo
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	> 90	sin cambio	blanco
CONTROL NEGATIVO:			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	inhibido		

Referencias

1. Koch. 1942. Zentralbl. Bacteriol. Parasitenkd. I. Orig., 149: 122.
2. Chapman GH. 1946. A Single Culture Medium for Selective Isolation of Plasmacoagulating Staphylococci and for Improved Testing of Chromogenesis, Plasmacoagulation, Mannitol Fermentation and the Stone reaction. J. Bacteriol., 51: 409-410.
3. The Unites States Pharmacopoeia XXIII. 1995.

m-MEDIO DE SABOURAUD

CÓDIGO: 4176

Medio para la detección y aislamiento de hongos en muestras, mediante la técnica de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	5.0
Peptona bacteriológica	5.0
Glucosa	20.0

pH 5.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 30 g en 1 L de agua destilada o desionizada, mezclar bien y esterilizar a 121 °C por 15 min.

Descripción

La composición del m-Medio de Sabouraud corresponde a la del Medio Líquido de Sabouraud recomendado por la FDA y la USP para la detección de mohos y levaduras en los ensayos de esterilidad de los productos farmacéuticos^{1,2}.

Las bases nutritivas (hidrolizado enzimático de caseína y la peptona bacteriológica) son fuentes de nitrógeno y carbono, necesarias para el desarrollo de hongos y bacterias y la dextrosa actúa como fuente de energía. El pH ácido del medio es favorable para el crecimiento de los hongos e inhibitorio para las bacterias acompañantes.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 20 a 200 UFC/mL, %
CONTROL POSITIVO:	
Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763	> 90
Saccharomyces cerevisiae ATCC 9080	> 90

CONTROL NEGATIVO:

Medio inoculado con agua estéril

Referencias

1. The United States Pharmacopoeia, 17th rev. 1965. United States Pharmacopeial Convention, New York.
2. Code of Federal Regulation, Title 21. 1985. Part 436. Tests and Methods of Assay of Antibiotic and antibiotic-containing Drugs. Subpart D. Microbiological Assay Methods. U.S. Govt. PrintingOffice. Washington, D.C.

DESCRIPCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO BioCEN

CROMOGÉNICOS Y FLUOROGÉNICOS

BASE DE MEDIO CROMOCEN® AE

Cód. 4524

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para la detección y el recuento de especies de *Aeromonas*.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	P 5,0
Extracto de levadura	S 4,0
Hidrolizado enzimático de caseína	4,0
Desoxicolato de sodio	0,2
Sulfito de sodio	0,8
Rojo neutro	0,03
Mezcla cromogénica	2,175
Leche descremada	10,0
Agar	15,0

pH 7,0 ± 0,2

Preparación

Adicionar 10 mL del suplemento líquido (cód. 4261) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Suspender 41,2 g de la base y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición repetidas veces, si fuera necesario, hasta la total fusión del agar. No calentar a temperaturas mayores de 100 °C. Enfriar hasta 45 °C. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. No esterilizar en autoclave.

Descripción

Rodríguez y col.¹ han desarrollado el medio CromoCen AGN para la identificación rápida y simultánea de *Aeromonas* y *Pseudomonas*, apropiado además para la identificación y/o recuento de *Salmonella*, *E. coli* y coliformes. La determinación de la capacidad diagnóstica del medio se realiza observando las características culturales de los microorganismos en el medio por el color y la morfología de las colonias de cada uno de los microorganismos contenidos en las muestras de aguas residuales. La aparición de colonias de diferentes colores se debe a la utilización por parte de los microorganismos de diferentes sustratos cromogénicos contenidos en el medio.

El medio CromoCen AE es una modificación de CromoCen AGN con el objetivo de aumentar la capacidad de recuperación, cuantificación y diferenciación de las especies de *Aeromonas*.

En esta formulación la adecuada combinación de aminoácidos, péptidos, polipéptidos, vitaminas y macronutrientes, proporcionada por la mezcla de bases nutritivas presente en la formulación, favorece la detección y el recuento de las especies de *Aeromonas*.

Las sales sulfito y desoxicolato de sodio actúan sobre la lisis mitocondrial de las células bacterianas Gram positivas inhibiendo el desarrollo de las mismas². Su combinación con las bases nutritivas permite aumentar el grado de recuperación de *Aeromonas* y su cuantificación.

El contenido del sustrato cromogénico 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-galactopiranósido permite la detección de la actividad galactosidasa, presente en *Aeromonas*, *E. coli*, como en el resto de los coliformes³.

La presencia en la formulación del medio de proteínas lácteas, así como de una sustancia inerte contrastante, posibilita la detección de la actividad proteolítica y/o la precipitación de proteínas por cambio de pH en una zona alrededor de las colonias, permitiendo la aparición de halos transparentes³. La lactosa, contenida en la caseína, constituye otra fuente de carbono que posibilita la diferenciación de las especies que la degradan, mediante la observación de la variación de la coloración de las colonias y del medio en presencia del indicador rojo neutro¹.

La concentración de agar garantiza la solidez del medio cromogénico.

Las especies de *Aeromonas* se diferencian según las siguientes características culturales:

Microorganismo	Características de las colonias aisladas	Oxidasa
<i>Aeromonas culicicola</i>	Colonias de color violeta con centro oscuro y halo transparente	+
<i>Aeromonas veronii</i>		+
<i>Aeromonas popoffii</i>	Colonias de color violeta claro con centro más oscuro y halo transparente	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>		+
<i>Aeromonas eucrenophila</i>		+
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Colonias de color violeta sin halo	+
<i>Aeromonas caviae</i>	Colonias de color naranja o violeta claro con centro verde grisáceo con o sin halo transparente	+
<i>Aeromonas bestiarum</i>		+
<i>Aeromonas trota</i>	Colonias de color rosado claro a naranja claro con centro verde grisáceo y halo transparente	+

Algunas especies de enterobacterias pueden presentar colonias de color violeta sin halo, por lo que se recomienda su confirmación con la prueba rápida de oxidasa (Oxidasa -).

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: Las placas con el medio preparado pueden ser conservadas hasta 7 días a temperatura de 2 - 8 °C, protegidas de la luz y de la deshidratación.

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 20-200 UFC/mL con respecto al Agar Tryptona de Soya	Características de las colonias aisladas
<i>Aeromonas veronii</i> ATCC 35624	≥ 70 %	colonias de color violeta claro con centro más oscuro y halo transparente
<i>Aeromonas caviae</i> ATCC 15468	≥ 70 %	colonias de color naranja o violeta claro con centro verde grisáceo con o sin halo transparente
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966	≥ 70 %	colonias de color violeta claro con centro más oscuro y halo transparente
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo 10 ⁴ -10 ⁵ UFC/mL)	-

Referencias

1. Rodríguez Martínez, C., Quesada Muñiz, V. de J., Zhurbenko, R. 2002. Medio de cultivo y método para la identificación de microorganismos Gram-negativos. Certificado de Autor. No. 22844. Cuba.
2. Herzberg, M., Sherman, S,R. 1966. Use of Deoxycholate in Separation of *In Vivo* Growing *Salmonella typhimurium* from Tissue Debris. J. Bacteriol.;92(4).
3. Aguilera-Arreola, M.G., Portillo-Muñoz, M.I., Rodríguez-Martínez, C., Castro-Escarpulli, G. 2012. Usefulness of a Chromogenic CromoCen® agar medium for the identification of the genus *Aeromonas*: Assessment of faecal samples, J. Microbiol. Methods.; 90:100-104.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® AGN

CÓDIGO: 4228

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para la identificación rápida y simultánea de *Aeromonas* y *Pseudomonas*, apropiado además para la identificación y/o recuento de *Salmonella*, *E. coli* y coliformes.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica P	5.0
Extracto de levadura	4.0
Hidrolizado enzimático de caseína	4.0
Desoxicolato de sodio	1.0
Rojo neutro	0.03
Leche descremada	10.0
Mezcla cromogénica	2.175
Agar	15.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Añadir 10 mL del suplemento líquido PLG (código 4261) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Suspender 41.2 g de la base y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición repetidas veces, si fuera necesario, hasta la total fusión del agar. No se debe calentar a temperaturas mayores de 100 °C. Enfriar hasta 45 °C. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. No se debe esterilizar en autoclave.

Inocular las muestras por la técnica de inundación de superficie (de 0.1 a 0.5 mL) o por agotamiento del inóculo hasta obtener colonias aisladas. Incubar a temperatura de 35 °C por 18-24 h. (Si la prueba está dirigida a la detección de bacterias coliformes fecales, incubar a 44 °C).

Descripción

El medio basa su funcionamiento en una compleja composición de nutrientes que promueven un crecimiento rápido y adecuado de los microorganismos de interés y posee inhibidores de los Gram-positivos^{1,2}.

La presencia en la formulación del medio de proteínas lácteas y fuentes de carbono, así como de una sustancia inerte contrastante, posibilita la detección de la actividad proteolítica y/o la precipitación de proteínas por cambio de pH en una zona alrededor de las colonias, permitiendo la aparición de halos transparentes^{1,2}.

La combinación de sustratos cromogénicos para detectar la actividad β-galactosidasa y β-glucuronidasa, posibilita la identificación de *E. coli* y de los coliformes. La incorporación del indicador de pH, que reacciona al acidificarse el medio por la actividad enzimática específica proveniente de las fuentes de carbono, provoca cambios de color y brinda, conjuntamente con los colores derivados de la descomposición de los sustratos cromogénicos, posibilidades adicionales de diferenciación de *Aeromonas*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* no Typhi^{1,2}.

De manera presuntiva, el medio posibilita la identificación de otras especies de *Pseudomonas* por la aparición de colonias de color rosado a naranja, con o sin halo transparente amplio, en la mayoría de los casos con fluorescencia azulosa, favorecida por la presencia de determinados iones.

Dentro de los coliformes, las especies de *Klebsiella* pueden ser presuntivamente identificadas por la aparición de colonias mucoides de diferentes tonalidades de violeta.

Las colonias incoloras o con pigmentación propia son características de otras bacterias Gram-negativas¹⁻³.

Los organismos Gram-positivos son inhibidos en el medio.

El medio se ha ensayado exitosamente, tanto para la identificación (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Salmonella* no Typhi y *E. coli*), como para el recuento (*E. coli*, coliformes totales y fecales) en muestras clínicas (heces fecales y orina)⁴; aguas residuales y altamente contaminadas; alimentos tales como carnes y productos cárnicos (carne molida, embutidos, salchichas, jamones), pollos y derivados (embutidos), huevos, leche y productos lácteos (leche cruda y pasteurizada y quesos de diferentes humedades), vegetales frescos semielaborados (zanahoria, col, lechuga) con elevada Sensibilidad (de 95 a 100 %) y Especificidad (de 95 a 100 %) diagnósticas en un período máximo de incubación de sólo 24 horas^{5,6}.

Los recuentos arrojaron resultados comparables con las técnicas y medios tradicionales, recomendados por la AOAC y otros organismos regulatorios de diferentes países.

La recuperación de *Aeromonas* fue superior en CromoCen® AGN a la lograda con el Medio para *Aeromonas* de Ryan.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C.
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
Aeromonas sp.	bueno	verde claras o violetas* con o sin halo transparente amplio	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	bueno	de rosado a naranjas con halo transparente amplio	+ (verdosa)
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	bueno	rosado intensas con bordes rosados	
Escherichia coli ATCC 25922	bueno	violeta azulosas intensas con halo violeta	
Citrobacter freundii ATCC 8090	bueno	violetas	
Enterococcus faecalis ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥ 10 ⁵ UFC/mL)	incoloras, si las hay	

* Algunas especies de *Aeromonas* aisladas de muestras clínicas pueden presentar colonias violetas sin halo, por lo que se recomienda su confirmación con la prueba rápida de la oxidasa.

Suplemento

Suplemento Líquido PLG. Bulbo por 5 mL. Código: 4261

Referencias

- Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ, Zhurbenko R. 2006. Medio de cultivo y método para identificar microorganismos Gram-negativos. Patente Europea 1323832.
- Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ, Zhurbenko R. 2002. Culture medium and method for identifying Gram-negative microorganisms. PCT. WO 02/20829 A1.
- Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ y Zhurbenko R. 2002. Medio de cultivo y método para la identificación de microorganismos Gram-negativos. Certificado de Autor No. 22 844. Cuba.
- Hernández Barrios T, Zhurbenko R, Díaz Pérez M, Tsoraeva A, Quesada Muñiz VdeJ, Rodríguez Martínez C, Muñoz del Campo JL, Valdés Dapena M, Pérez Amarillo J. 2002. Aplicación del medio CromoCen AGN en el diagnóstico clínico. Revista Latinoamericana de microbiología, Vol. 44, No. 4, Oct-Dic, p. 443. Suplemento.
- Quesada Muñiz V, Rodríguez Martínez C, Tsoraeva A. 2000. Medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos para el análisis de muestras de agua y alimentos. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 31, No. 1:25-28.

- Quesada Muñiz VdeJ, Zhurbenko R, Heidtmann S, Wolf B, Rodríguez Martínez C, Galvão FV, Monteiro Seixas R, Martínez VdeC. 2002. Diagnóstico de microorganismos Gramnegativos en alimentos utilizando el medio cromogénico CromoCen AGN. Revista Latinoamericana de microbiología, Vol. 44, No. 4, Oct-Dic, p. 466. Suplemento.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® CGP

Cód. 4404

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para el aislamiento, cultivo y diferenciación de los microorganismos Gram-positivos, tales como *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	3,0
Peptona bacteriológica S	6,0
Peptona de soya	6,0
Extracto de levadura	6,0
Extracto de carne	4,0
Dextrosa	0,1
Citrato de hierro (III) y amonio	0,5
Fosfato dipotásico	5,0
Cloruro de sodio	0,2
DL-fenilalanina	1,0
Mezcla de inhibidores selectivos	0,022
Tierra sílicea	2,0
Mezcla de sustratos cromogénicos	0,15
Agar	13,0

pH 7.3 ± 0.2

Preparación

Suspender 47 g de la base en 1 L de agua destilada o desionizada y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición, si fuera necesario, hasta la total fusión del agar. Esterilizar en autoclave a 115 °C durante 10 min. Enfriar hasta 45 °C. Adicionar 12 mL de una solución al 0,1 % (p/v) de 4-nitrofenilfosfato sal disódica hexahidrato en una solución de fosfato disódico 0,01 M y mezclar bien. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE A TEMPERATURAS SUPERIORES A 115 °C.

Precauciones: El medio contiene una sustancia tóxica por contacto con la piel, ingestión e inhalación. Produce daño tras exposiciones prolongadas o repetidas. Peligroso para el medio ambiente. Para manipular el medio tome las medidas de protección necesarias. Mantenga el frasco bien cerrado. Deseche el medio de forma segura.

Descripción

La Base de Medio CromoCen® CGP ha sido diseñada para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos grampositivos poco exigentes como enterococos y estafilococos y otros con requerimientos nutricionales especiales como especies de estreptococos¹. La adecuada combinación de diferentes bases nutritivas presentes en la formulación proporciona un amplio espectro de sustancias con alto valor nutritivo como proteínas hidrosolubles, aminoácidos, péptidos, purinas, guanidinas, compuestos orgánicos, carbohidratos, minerales y vitaminas^{1, 2-7}.

La selectividad del medio de cultivo está dada por la combinación de inhibidores selectivos como el acetato de talio y el ácido nalidíxico, los cuales inhiben de manera total o parcial el crecimiento de los microorganismos gramnegativos. La efectividad de los mismos se debe a la capacidad del ácido nalidíxico de interferir en la síntesis del ADN bacteriano⁸, mientras que el acetato de talio se acumula en la célula bacteriana y compite con el potasio y lo reemplaza, modificando la activación enzimática de la ATPasa de Na⁺/K⁺; también interfiere con la estabilidad de los ribosomas y la síntesis de proteínas y con sitios activos de varias enzimas y su interacción con los grupos amino-sulfhidrilo en este grupo bacteriano⁹.

La dextrosa es fuente fundamental de energía para el metabolismo microbiano y el contenido de cloruro de sodio permite su utilización como nutriente, así como el mantenimiento del equilibrio osmótico de la célula bacteriana. El fosfato dipotásico garantiza el valor adecuado del pH del medio de cromogénico, lo que favorece el crecimiento de las diferentes especies microbianas a detectar.

La presencia en la formulación de los sustratos cromogénicos y el suplemento estéril adicionado al medio de cultivo luego de su esterilización, permite detectar la actividad de diferentes enzimas tales como beta-glucosidasa, beta-glucuronidasa y fosfatasa alcalina en las células microbianas. Esto garantiza la diferenciación de las bacterias grampositivas por el color desarrollado en las colonias y en el medio alrededor de las mismas, luego de 18 a 24 h de incubación.

La DL-fenilalanina permite detectar la actividad de la enzima fenilalanina desaminasa en *Proteus mirabilis*, microorganismo, que, junto a *Pseudomonas aeruginosa*, es capaz de crecer en el medio cromogénico, mientras que el citrato de hierro (III) y amonio permite observar una coloración oscura en las colonias y alrededor de las mismas de estas bacterias gramnegativas.

Las especies de *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Staphylococcus* se diferencian según las siguientes características culturales:

Microorganismo	Características de las colonias aisladas	Pruebas adicionales	
		CATALASA	PYR
<i>Enterococcus</i> spp.	Diferentes tonalidades de rosado	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Incoloras-blancas con cambio de coloración del medio a amarillo	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Azul-verdosas con cambio o no de coloración del medio a amarillo	-	-
<i>Streptococcus canis</i>	Diferentes tonalidades de rosado con o sin centro más oscuro	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Incoloras-blancas opacas con cambio de coloración del medio a amarillo	+	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Blancas	+	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Diferentes tonalidades de rosado	+	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Azul-verdosas	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	Grises, en forma de velo, con el medio de color marrón a negro	Gram-negativo	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grises, en forma rugosa, con pigmento de verdoso a negro	Gram-negativo	
<i>Escherichia coli</i>	Azul-verdosas con cambio o no de coloración del medio a amarillo	Gram-negativo	
Otros gramnegativos	Inhibidos		

Algunos microorganismos pueden presentar características culturales similares por lo que se recomienda realizar las pruebas adicionales descritas anteriormente y la tinción de Gram.

Algunas cepas de *Escherichia coli* pueden desarrollarse en el medio cromogénico, pero generalmente este microorganismo se encuentra inhibido.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: las placas con el medio preparado pueden ser conservadas hasta 7 días a temperatura de 2 - 8 °C, protegidas de la luz y de la deshidratación.

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno	rosadas
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	bueno	azul-verdosas con cambio de coloración del medio a amarillo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	bueno	blancas opacas con cambio de coloración del medio a amarillo
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	inhibido	-

Referencias

1. Durán Vila A, Rodríguez Martínez C. Inventors; National Center of Biological products, assignee. Selective culture medium for the isolation and/or detection of species in the Streptococcus genus. EP patent 1 600 514 B1. 2011 Ago 31.

2. Hongfei Z, Fengling B, Fang Z, Walczak P, Xiangning J, Bolin Z, et al. Characterization of soybean protein hydrolysates able to promote the proliferation of *Streptococcus thermophilus* ST. J Food Sci. 2013;78(4):575-81.

3. Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Díaz Pérez M, Durán Vila A, López Hernández OD, Viera Oramas DR, et al. Caracterización de la peptona de soya para el cultivo de microorganismos. Rev Cubana Med Trop. 2006;58(2):109-18.

4. Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C. Bases nutritivas para el cultivo de los microorganismos: Parte 1. Procesos tecnológicos. Salud(i)Ciencia. 2008;16(4):420-5.

5. Osmanov SK. Poluchenie I experimentalnoie izuchenie pitatielnikj sried s gidrlizatami krovi zhivtnikj dlia mikrobiologicheskoi diagnostiki streptkokkovikj infektsii (Tesis doctoral). Moskva: MNIIVSIIIM; 1983.

6. Meli F, Lazzi C, Neviani E, Gatti M. Effect of protein hydrolysates on growth kinetics and aminopeptidase activities of *Lactobacillus*. Curr Microbiol. 2014;68:82-7.

7. Tsoraeva A, Zhurbenko R. Development and Characterization of a Mixed Nutrient Base for the Culture of a Wide Range of Microorganisms. Rev Latinoam Microbiol. 2000;42:155-61.

8. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009;27(1):44-52.

9. Rodríguez JJ, Altamirano MA. Genetic toxicology of thallium: a review. Drug Chem Toxicol 2013;36:369-83.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® CND-C

CÓDIGO: 4447

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para el cultivo, aislamiento y diferenciación de especies de *Candida*.

Fórmula	g/L
Extracto vegetal	20,0
Extracto de levadura	10,0
Mezcla cromogénica	0,2
Fosfato monopotásico	1,0
Sulfato de magnesio heptahidratado	0,5
Desoxicolato de sodio	0,5
Ácido nalidíxico sal sódica	0,03
Agar	15

pH 6.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 47,2 g en 1 L de agua destilada o desionizada, adicionar 10 mL de suplemento glicerol. Mezclar bien. Hervir durante 1 min. Enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles. No esterilizar en autoclave.

Descripción

La Base de Medio CromoCen CND-C, desarrollada por Lobaina *et al.*, 2007^{1,2} está destinada a la preparación del medio cromogénico diseñado para el cultivo, aislamiento y diferenciación de las especies de *Candida* de mayor importancia en la clínica. Siendo identificadas las especies *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida kefyr*, de acuerdo al color y la morfología colonial característicos para cada especie, tras su incubación a 30-37 °C durante 24-48 h.

El fundamento del medio consiste en la detección de actividades enzimáticas presentes en el género *Candida* (hexosaminidasas y glucosidasas) mediante la hidrólisis específica de los sustratos cromogénicos en presencia de un indicador de la enzima.

La combinación de nutrientes en el medio, dado por la incorporación de un extracto vegetal, obtenido a partir de la raíz reservante de *Ipomoea batatas* y del extracto de levadura, le confieren a la fórmula una rica concentración de macro y micronutrientes, vitaminas y elevadas concentraciones de carbohidratos, esenciales para el rápido desarrollo de las levaduras, conjuntamente con sustancias inhibidoras de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, permite el aislamiento y cultivo de las principales especies del género *Candida*³. La aparición del color está favorecida por los elementos minerales y aminoácidos contenidos en el extracto vegetal⁴⁻⁶.

La presencia en la composición del ácido nalidixico y el desoxicolato de sodio permiten la inhibición de la flora bacteriana gram-positiva o gram-negativa acompañante, sólo la especie *Pseudomonas aeruginosa* tiene la facultad de crecer en el medio de cultivo, y es distinguible por su morfología color y fluorescencia con facilidad.

El medio puede ser utilizado para el aislamiento primario o, con fines de identificación, después del aislamiento de las levaduras en los medios convencionales. Una de las principales ventajas del producto consiste en permitir diferenciar fácilmente los cultivos mixtos.²

Las reacciones típicas de las especies de *Candida* que el medio es capaz de diferenciar se mantienen estable más allá de las 48 horas recomendadas de incubación. El color de las colonias se mantiene e incluso se intensifica y su tamaño aumenta.

El método recomendado para llevar a cabo la inoculación del medio CromoCen CND-C es el de estriado hasta el agotamiento del inóculo, con el objetivo de obtener colonias aisladas. Las placas deben colocarse sobre una superficie lisa, se levanta ligeramente la tapa de la placa de Petri y se inocula la suspensión microbiana o la porción (colonia aislada) con un asa estéril. En caso de que la muestra esté contenida en un hisopo, siembre con el mismo la muestra directamente en el primer cuadrante. Para lograr obtener colonias aisladas con la ayuda de un asa estéril, flameada a la llama, arrastre parte del inóculo inicial a los demás cuadrantes de la placa.

Para la interpretación de los resultados, debe tenerse en cuenta que en el medio CromoCen CND-C, el crecimiento típico de *Candida albicans* responde a colonias de color verde o verde azul, redondas, lisas con bordes regulares, *Candida tropicalis* presenta colonias de color azul, redondas, lisa con bordes regulares, la especie *Candida kefyr*, presenta colonias de color rosado violáceo, bien definido, son redondas, lisas y con bordes regulares. Las colonias de *Candida krusei* se distinguen por su color blanco, de aspecto algodonoso, superficie rugosa, opacas y aplanadas, con bordes irregulares.

Otras colonias que pueden detectarse en el medio con color blanco, pueden responder a las especies de *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata*. Algunas colonias de color rosa pálido que pueden desarrollar una coloración azul en la parte inferior de la placa se identifican como *Candida guilliermondii*.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo	Color de las colonias aisladas	Morfología de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
<i>Candida albicans</i> sp.	verde o verde azul	redondas, lisas	-
<i>Candida tropicalis</i> sp.	azul	redondas, lisas	-
<i>Candida kefyr</i> sp.	rosado violáceo	redondas, lisas	-
<i>Candida krusei</i> sp.	blanco opaco	planas e irregulares	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	semitransparente	planas e irregulares	+ (verde-azul)

CONTROL NEGATIVO

Medio no inoculado

Suplemento

Suplemento Glicerol. Bulbo por 5 mL. Código: 4448

Referencias

- Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, García Marichal JM, Zayas Ruiz Y. Medio nutritivo para el cultivo de levaduras. Patente Cubana No. 23499. Febrero 4, 2010.

2. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, García Marichal JM, Zayas Ruiz Y. Nutrient medium for yeast culture. WO/2007/071204. World Intellectual Property Organization.
3. Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, García Marichal JM. Base nutritiva a partir de raíz reservante de *Ipomoea batatas* y método para su obtención. Patente Cubana No. 23507. Febrero 26, 2010.
4. Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R y García Marichal JM. Nueva Base Nutritiva a partir de raíz reservante de *Ipomoea batatas*. en: Memorias del IV Congreso Internacional, XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Editado por: Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos A. C. Morelia-Michoacan.
5. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, García Marichal JM. Aplicación de un extracto nutritivo de origen vegetal para el cultivo de microorganismos de interés biotecnológico. en: Memorias del IV Congreso Internacional, XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Editado por: Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos A. C. Morelia-Michoacan, México, D.F.; p 1456-62.
6. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Characterization of *Ipomoea batatas* extract to be used as nutrient basis for culture media. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2007, Vol 59, No. 3. ISSN 0375-0760. Editorial Ciencias Médicas.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® CND-F

CÓDIGO: 4450

Base destinada a la preparación del medio cromogénico-fluorogénico para el aislamiento, diferenciación e identificación de especies de *Candida*.

Fórmula	g/L
Extracto vegetal	20,0
Extracto de levadura	10,0
Mezcla cromogénica	0,3
Fosfato monopotásico	1,0
Sulfato de magnesio anhidro	0,24
Desoxicolato de sodio	0,5
Ácido nalidíxico sal sódica	0,03
Agar	15,0

pH 6.6 ± 0.2

Preparación

Suspender 47,1 g en 1 L de agua destilada o desionizada, adicionar 10 mL de Suplemento Glicerol (cód. 4448). Mezclar bien. Hervir durante 1 min. Enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles. No esterilizar en autoclave.

Descripción

La Base de Medio CromoCen CND-F, está destinada a la preparación del medio cromogénico-fluorogénico para el cultivo, aislamiento, detección, identificación y enumeración de las especies *C. albicans*, *C.dublinsiensis*, *C. kefyi*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. inconspicua*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. famata* y *C. guilliermondii*, procedentes de muestras clínicas, por el color y morfología colonial, luego de su incubación a 30 – 37 °C en un período máximo de 48 h.^{1,2}

La formulación contiene una mezcla de dos extractos nutritivos, el extracto vegetal a partir de *Ipomoea batatas* y el extracto de levadura, los cuales aportan una elevada concentración de carbohidratos, vitaminas, macro- y micro-elementos, fundamentales para la recuperación y promoción del crecimiento de las especies del género *Candida*^{3,4}. Así mismo, la composición contiene sustancias inhibidoras para bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, que formando parte de la microbiota pueden acompañar las muestras clínicas, lo que garantiza un aislamiento selectivo del germen de interés. Sólo *Pseudomonas aeruginosa* tiene la facultad de crecer en el medio de cultivo y se distingue con facilidad por su morfología, color y fluorescencia propia².

La identificación y detección de las especies fundamentales del género *Candida*, se logra por la acción de sus enzimas específicas, tales como, glucosaminidasa, beta- y alfa-glucosidasa que actúan sobre tres sustratos incorporados a la composición. La interpretación de los resultados se complementa con las características morfológicas que exhiben las colonias en el medio de cultivo. Siendo las colonias de color verde o verde azul características de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, las de color azul identifican la especie *C. tropicalis*, las colonias de color rosa a rosa pálido indican la detección de las especies *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* y *C. famata*. Todas las especies descritas anteriormente, de acuerdo al color que desarrollan, presentan, además, una fluorescencia azul bajo luz UV de 366 nm. Por otro lado, otras especies de *Candida* se muestran de color blanco y entre ellas es posible lograr la identi-

cación de *C. parapsilosis* y *C. krusei*. Las cepas de *C. parapsilosis* pueden mostrar diferentes características macro-culturales desde colonias redondas y lisas, hasta colonias con una superficie rugosa, estrellada y de consistencia seca, sin embargo, todas poseen color blanco y con una fluorescencia azul intensa bajo luz UV. *C. krusei*, presenta color blanco opaco y con su morfología típica de colonias planas, con bordes irregulares, superficie algodonosa y sin fluorescencia. Otras especies de color blanco, redondas y lisas, sin fluorescencia pueden ser detectadas, entre ellas, *C. glabrata* y *C. rugosa*⁴⁻⁶.

Las reacciones típicas de las especies de *Candida* en el medio de cultivo se mantienen estables más allá de las 48 h de incubación recomendadas. El color de las colonias se mantiene o se intensifica y su tamaño aumenta.

El medio puede ser utilizado para ejecutar el cultivo primario con vistas a la identificación rápida de *Candida*, siendo una de las principales ventajas del producto, que permite diferenciar fácilmente los cultivos mixtos. Puede emplearse para la identificación con posterioridad al aislamiento utilizando los medios convencionales.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

CONTROL POSITIVO

Microorganismo	Color de las colonias aisladas	Características de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
<i>C. albicans</i> sp.	verde o verde azul	redondas, lisas	+
<i>C. tropicalis</i> sp.	azul	redondas, lisas	+
<i>C. kefyr</i> sp.	rosado violáceo	redondas, lisas	-
<i>C. lusitaniae</i> sp.	rosado	redondas, lisas	+
<i>C. krusei</i> sp.	blanco opaco	planas e irregulares	-
<i>C. glabrata</i> sp.	blanco crema	redondas, lisas	-
<i>C. parapsilosis</i> sp.	blanco	redondas lisas o rugosas	+
<i>C. guilliermondii</i> sp.	rosado pálido	redondas, lisas	+
<i>C. famata</i> sp.	rosado pálido	redondas, lisas	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	translúcidas	planas e irregulares	+ (verde azul)

CONTROL NEGATIVO

Microorganismo	Crecimiento (inóculo de 1000-2000 UFC/placa)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso
<i>E. coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso

Suplemento

Suplemento Glicerol. Bulbo por 5 mL. Código: 4448

Referencias

1. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Composición para el aislamiento e identificación de especies fúngicas. Patente Cubana No. 23509. Marzo 1, 2010.
2. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, García Marichal JM, Zayas Ruiz Y. Nutrient medium for yeast culture. WO/2007/071204. World Intellectual Property Organization.
3. Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, García Marichal JM. Base nutritiva a partir de raíz reservante de *Ipomoea batatas* y método para su obtención. Patente Cubana No. 23507. Febrero 26, 2010.
4. Rodríguez Martínez C, Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R y García Marichal JM. Nueva Base Nutritiva a partir de raíz reservante de *Ipomoea batatas*. en: Memorias del IV Congreso Internacional, XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Editado por: Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos A. C. Morelia-Michoacan.
5. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, García Marichal JM. Aplicación de un extracto nutritivo de origen vegetal para el cultivo de microorganismos de interés biotecnológico. en: Memorias del IV Congreso Internacional, XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Editado por: Colegio Mexicano de Ingenieros Bioquímicos A. C. Morelia-Michoacan, México, D.F.; p 1456-62.
6. Lobaina Rodríguez T, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Characterization of *Ipomoea batatas* extract to be used as nutrient basis for culture media. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2007, Vol 59, No. 3. ISSN 0375-0760. Editorial Ciencias Médicas.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® SALM

CÓDIGO: 4582

Base destinada a la preparación del medio de cultivo cromogénico y fluorogénico para la detección, aislamiento y diferenciación de *Salmonella* de otras bacterias Gram-negativas.

Fórmula	g/L
Bases nutritivas	11.0
Sales biliares	1.3
Sodio tiosulfato	2.5
Amonio y hierro (III) citrato	0.5
L-lisina monoclорhidrato	10
Rojo neutro	0.03
Mezcla cromogénica-fluorogénica	4.2
Agar	14.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Adicionar 10 mL del suplemento líquido (cód. 4261) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Suspender 43,5 g de la base y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición repetidas veces, si fuera necesario, hasta la total fusión del agar. No calentar a temperaturas mayores de 100 °C. Enfriar hasta 45 °C. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. No esterilizar en autoclave.

Descripción

El medio de cultivo CromoCen® SALM basa su funcionamiento en la combinación de reacciones cromogénicas y fluorogénicas, para detectar actividades glucosidasas y reacciones bioquímicas.

La mezcla cromogénica y fluorogénica posibilita la detección de algunos serotipos de *Salmonella* y su diferenciación de otros géneros microbianos Gram-negativos, mientras que, otros serotipos del género pueden ser identificados por la capacidad de fermentar una fuente de carbono, en combinación con el indicador rojo neutro presente en el diagnosticador^{1,2}.

La inclusión en el medio de cultivo de un compuesto que contiene azufre (tiosulfato de sodio) combinado con un indicador (amonio y hierro III citrato) posibilita la detección de los microorganismos productores de gas sulfhídrico, reacción característica de determinados géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, por la aparición de un punto negro en el centro de la colonia.

Además, la presencia en la formulación de L-lisina monoclорhidrato, aminoácido descarboxilado comúnmente por *Salmonella*, permite la diferenciación del género de interés de otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae*². Esta propiedad diferencial se visualiza por un cambio en el color del medio de cultivo de rosado rojizo a amarillo naranja.

La combinación de todas estas reacciones permite la diferenciación de todos los serotipos de *Salmonella*, incluyendo aquellas con reacciones “atípicas”.

La mezcla nutritiva contenida en el medio de cultivo garantiza los niveles necesarios de macro- y microelementos, vitaminas y compuestos nitrogenados de naturaleza proteica, para el crecimiento adecuado de los microorganismos de interés y las sales biliares, como agente selectivo, impiden el crecimiento de bacterias Gram-positivas y levaduras.

El medio brinda las posibilidades de diferenciación para el personal debidamente entrenado según se explica a continuación.

Microorganismo	Color de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi	Colonias de color verde-grisáceo con centro más oscuro y con o sin ligero cambio en el color del medio de cultivo alrededor de la colonia a amarillo-naranja.	-
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A		-
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium	Colonias de color violeta intenso con centro negro y bordes más claros.	-
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis		-
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	Colonias de color verde-grisáceo con centro negro y bordes más claros.	+
<i>Citrobacter freundii</i>	Colonias de color rosado intenso con centro negro y bordes más claros.	+
<i>Escherichia coli</i>	Colonias de color verde-azul.	+

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Índice de recuperación a partir del inóculo de 100-300 UFC con respecto al Agar Triptona Soya	Características de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
CONTROL POSITIVO <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi ATCC 19430	≥ 70 %	colonias de color verde-grisáceo con centro más oscuro y un ligero cambio en el color del medio de cultivo alrededor de la colonia a amarillo-naranja	-

<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium ATCC 14028	≥ 70 %	colonias de color violeta intenso con centro negro y bordes más claros	-
CONTROL NEGATIVO			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥ 10 ⁵ UFC)	incoloras, si las hay	-

Referencias

1. Rambach, A. 1990. New plate medium for facilitated of Salmonella spp from Proteus spp. And other enteric bacteria. Appl Environ Microbiol. 56(1):301-3.
2. MacFaddin, JF. 2006. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3er ed.: Editorial Ciencias Médicas, La Habana.

BASE DE MEDIO CROMOCEN® SC

Código: 4226

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para la detección, aislamiento y diferenciación de *Salmonella* (excepto *S. Typhi*) y coliformes totales de otras bacterias Gram- negativas.

Fórmula	g/L
Mezcla cromogénica	5.4
Bases nutritivas	11.0
Agar	15.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Adicionar el suplemento líquido (cód. 4261) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Suspender 31.4 g de la base y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición repetidas veces, si fuera necesario, hasta la total fusión del agar. No calentar a temperaturas mayores de 100 °C. Enfriar hasta 45 °C. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar.

Descripción

En el medio preparado es posible la identificación y el aislamiento de *Salmonella* no Typhi por el centro de color rojo con bordes más claros de las colonias aisladas.

La detección de coliformes (excepto *Klebsiella* y *Citrobacter*) en el medio, se realiza fundamentalmente por la coloración azul-verdosa de las colonias aisladas.

Dentro de los coliformes totales, las cepas de *Klebsiella* y *Citrobacter* pueden ser identificadas por la coloración violeta de las colonias aisladas, debido a la combinación de los dos colores descritos anteriormente.

El balance de nutrientes e inhibidores en el medio permite una buena recuperación de los microorganismos de interés, por lo que el medio se ha probado con éxito en muestras de carne contaminadas con *Salmonella* sin enriquecimiento previo¹⁻².

Otras bacterias Gram-negativas pueden presentarse como colonias de color naranja, incoloras o con pigmentación propia.

Los organismos Gram-positivos son inhibidos en el medio.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	de rosa fucsia con diferentes intensidades a rojas con el centro más oscuro y bordes, generalmente, regulares
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	azul verdosas
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	azul verdosas
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	bueno	violetas
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	bueno	violetas
CONTROL NEGATIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥ 105 UFC/mL)	incoloras, si las hay

Suplemento

Suplemento Líquido PLG. Bulbo por 5 mL. Código: 4261

Referencias

1. Quesada V, Rodríguez C, Tsoraeva A. 2000. Medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos para el análisis de agua y alimentos. Revista CENIC de Ciencias Biológicas, 31:25-28.
2. Quesada Muñoz VdeJ, Rodríguez Martínez C. 2005. Composición y método para la detección y el recuento temprano y diferenciado de microorganismos Gram-negativos. Patente Europea EP1196625.

BASE DE MEDIO m-CROMOCEN® AGN

CÓDIGO: 4377

Base destinada a la preparación del medio cromogénico para la identificación rápida y simultánea de *Aeromonas* y *Pseudomonas*, apropiado además para la identificación y/o recuento de *Escherichia coli* y coliformes por el método de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica P	5.0
Extracto de levadura	4.0
Hidrolizado enzimático de caseína	4.0
Desoxicolato de sodio	1.0
Rojo neutro	0.045
Leche descremada	10.0
Mezcla cromogénica	2.262
Agar	15.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Adicionar 10 mL del suplemento líquido (cód. 4261) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Suspender 41,3 g de la base y agitar suavemente. Calentar hasta disolución completa hasta la total fusión del agar. No se debe calentar a temperaturas mayores de 100 °C. Enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. Almacenar las placas protegidas de la luz. No se debe esterilizar en autoclave.

Descripción

El medio contiene una compleja composición de nutrientes que promueven un crecimiento rápido y adecuado de los microorganismos de interés y posee inhibidores de los microorganismos Gram-positivos¹⁻³.

Se combinan en la composición proteínas lácteas y fuentes de carbono, así como una sustancia inerte contrastante, que posibilita la detección de la actividad proteolítica¹⁻³.

Es el primer medio con tecnología cromogénica para la identificación de *Aeromonas*. Esta identificación se basa en la combinación de varios marcadores para un mismo microorganismo tales como la capacidad de utilizar un sustrato cromogénico específico para actividad beta-galactosidasa e hidrolizar una fuente de carbono que modifica el pH del medio provocando un cambio de color¹⁻³.

El medio posibilita la identificación de especies de *Pseudomonas* por la aparición de colonias de color rosado a naranja, en la mayoría de los casos con fluorescencia verdosa o azulosa, favorecida por la presencia de determinados iones.

La combinación de sustratos cromogénicos para detectar la actividad β-galactosidasa y β-glucuronidasa, posibilita la identificación de *E. coli* y de los coliformes. La incorporación del indicador de pH, que reacciona al acidificarse el medio por la actividad enzimática específica proveniente de las fuentes de carbono, provoca cambios de color y brinda, conjuntamente con los colores derivados de la descomposición de los sustratos cromogénicos, posibilidades adicionales de diferenciación de *Aeromonas*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* no Typhi¹⁻³.

Dentro de los coliformes, las especies de *Klebsiella* pueden ser presuntivamente identificadas por la aparición de colonias mucoides de diferentes tonalidades de violeta.

Las colonias incoloras o con pigmentación propia son características de otras bacterias Gram-negativas¹⁻³.

Los organismos Gram-positivos son inhibidos en el medio.

El medio se ha ensayado exitosamente por el método de filtración por membrana en un período de incubación de 24 horas⁴.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas a 366 nm	Fluorescencia
CONTROL POSITIVO			
<i>Aeromonas</i> sp.	bueno	verde claras o verde azules, o violetas*	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bueno	de rosado a naranjas	+ (verdosa)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	bueno	violeta azulosas intensas**	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	bueno	violetas	-

CONTROL NEGATIVO

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥ 10 ⁵ UFC/mL)
--	---

* Algunas especies de *Aeromonas* aisladas de muestras clínicas pueden presentar colonias violetas sin halo, por lo que se recomienda su confirmación con la prueba rápida de oxidasa.

** En la mayoría de los casos se podrá observar el halo violeta más claro.

Suplemento

Suplemento Líquido PLG. Bulbo por 5 mL. Código: 4261

Referencias

1. Rodríguez C, Quesada VdeJ, Zhurbenko R. 2002. Culture medium and method for identifying Gram-negative microorganisms. PCT. WO 02/20829 A1.

2. Rodríguez C, Quesada VdeJ, Zhurbenko R. 2002. Medio de cultivo y método para la identificación de microorganismos Gram-negativos. Certificado de Autor No. 22 844. Cuba.

3. Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ, Zhurbenko R. 2006. Medio de cultivo y método para identificar microorganismos Gram-negativos. Patente Europea 1323832.

4. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, Govín Raveiro Y. 2006. Evaluación del desempeño de los medios cromogénicos CromoCen CC y CromoCen AGN por el método de filtración por membrana. XXIII Conferencia Científica del CIMEQ. XVIII Jornada de Enfermería y Tecnólogos de la Salud.

CALDO CROMOCEN® CC

CÓDIGO: 4390

Medio cromogénico-fluorogénico para la detección de *E. coli*.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	3.0
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Sales biliares	1.3
Cloruro de sodio	5.0
Mezcla cromogénica	0.125

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

De acuerdo con la cantidad deseada, pesar el polvo en proporción de 17,4 g/L de agua destilada o desionizada. Calentar hasta ebullición y distribuir en tubos estériles. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE.

Descripción

Por más de 100 años en las aguas potables se determina *Escherichia coli* en calidad de indicador de contaminación fecal¹ y alternativamente este microorganismo se determina formando parte del grupo de los coliformes termotolerantes (coliformes fecales).

Los medios de cultivo con la utilización de los sustratos cromogénicos y fluorogénicos son, por lo general, más rápidos y de mayor exactitud diagnóstica que los medios “convencionales” empleados en los procedimientos microbiológicos tradicionales².

El primer reporte sobre la presencia de β-D-glucoronidasa en cepas de *E. coli* fue realizado por Buehler *et al.* en 1951³. Con el transcurso de los años varios autores han estudiado la capacidad de las enzimas de *E. coli* de catalizar la hidrólisis de diferentes sustratos cromogénicos y fluorogénicos⁴.

El Caldo CromoCen CC es un diagnosticador líquido para la detección de *Escherichia coli*, basado en la actividad β-D-glucuronidasa y β-D-galactosidasa de este germen. La evaluación del desempeño del medio demostró su capacidad para detectar la presencia de *Escherichia coli* por las características cromáticas y fluorogénicas del cultivo fresco de esta bacteria. Las bacterias Gram-positivas resultan inhibidas⁵.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color del medio	Fluorescencia a 366 nm
CONTROL POSITIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	verdoso	+ (azul)
CONTROL NEGATIVO <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso para el inóculo ≥ 10 ⁵ UFC/mL	-	-

Referencias

1. Stevens M, Ashbolt N and Cunliffe D. 2003. Recommendations to Change the Use of Coliforms as Microbial Indicators of Drinking Water Quality. National Health and Medical Research Cpuncil. Australian Government.
2. Suwansonthichai S, Rengpipat S. 2003. Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* in frozen black tiger shrimp *Penaeus monodon* by conventional and rapid methods. *Int. J. Food Microbiol.*, 81(2): 113-121.
3. Buehler HJ, Katzman PA and Doisy ED. 1951. Studies on β-glucoronidasa *from E. coli*, Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine. 76:672-676.
4. Manafi M. 2000. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *Int. J. Food Microbiol.*, 60: 205-218.
5. Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Abreut Torres Y, Viera Oramas DR. 2006. Detección de *Escherichia coli* en el medio cromogénico-fluorogénico líquido. XXIII Conferencia Científica del CIMEQ. XVIII Jornada de Enfermería y Tecnólogos de la Salud.

CALDO CROMOCEN® CCL

CÓDIGO: 4412

Medio cromogénico-fluorogénico para la detección de *E. coli* y coliformes.

Fórmula	g/L
Bases nutritivas	5.0
Lactosa	5.0
Sorbitol	0.5
Fosfato dipotásico	2.75
Fosfato monopotásico	2.75
Cloruro de sodio	5.0
Mezcla cromogénica-fluorogénica	2.9

pH 6.8 ± 0.2

Preparación

De acuerdo a la cantidad deseada, pesar el polvo en proporción de 23,9 g/L de agua destilada o desionizada. Calentar hasta ebullición y distribuir en tubos estériles. No esterilizar en autoclave.

Descripción

La reemergencia de *E. coli* como indicador de contaminación fecal requiere de la introducción de nuevos métodos para la identificación rápida de esta especie de microorganismos.

El sustrato fluorogénico 4-metilumbelliferil-β-D-glucurónido (MUG) se ha empleado exitosamente en los medios de cultivo, y varios métodos que lo emplean han sido internacionalmente reconocidos y acogidos como estándar para identificar *E. coli*¹.

Los sustratos cromogénicos para la detección de la actividad β-galactosidasa, presente tanto en *E. coli*, como en el resto de los coliformes, se emplean conjuntamente con los sustratos que revelan la actividad β-glucuronidasa e igualmente forman parte de la composición de diferentes medios de cultivo recomendados por la AOAC para el recuento de coliformes en alimentos².

La nueva definición de coliformes totales en el análisis de las aguas, se basa en la presencia de la enzima β-D-galactosidasa y la de *E. coli* en la presencia de β-D-glucoronidasa^{3,4}.

El primer reporte sobre la actividad β-D-glucoronidasa en cepas de *E. coli* fue realizado por Buehler *et al.*⁵, en 1951. Buerger⁶, en 1967 describe la transformación de p-nitrofenol-galactopiranosido y del 6-bromo-2-naftil-β-D-galactopiranosido por la acción de la β-D-galactosidasa de los coliformes.

Especial interés ocupa la detección simultánea de *E. coli* y coliformes⁷ y, sobre todo, mediante el método de Presencia-Ausencia⁸, por ser un método más sencillo, económico y eficiente⁹.

El Caldo CromoCen CCL es un diagnosticador líquido para la detección simultánea de *Escherichia coli* y coliformes, basada en las actividades β-D-glucuronidasa y β-D-galactosidasa^{10,11}.

Las cepas de *E. coli* y de los coliformes degradan el sustrato cromogénico específico o-nitrofenil-β-galactopiranósido para detectar actividad β-galactosidasa presente en estos microorganismos, mientras que la fluorescencia azul bajo luz ultravioleta de longitud de onda de 366 nm, es característica sólo de *E. coli* (β-glucuronidasa).

En los cultivos *E. coli* proporciona una reacción de indol positiva caracterizada por la aparición del anillo de color rojo (producto de la acción de la enzima triptofanasa). De esta manera, los cultivos de coliformes se aprecian de color amarillo sin fluorescencia, y las de *E. coli*, amarillos con fluorescencia azul bajo luz ultravioleta e indol positivos.

La flora Gram-positiva resulta total o parcialmente inhibida.

Es posible el empleo de este medio en técnicas microbiológicas tales como la del Número Más Probable (NMP) y de Presencia-Ausencia de coliformes y *E. coli*.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C

Control de la Calidad

Microorganismo de ensayo	Crecimiento (para el inóculo ≥ 100 UFC)	Color del medio	Fluorescencia a 366 nm	Indol
CONTROL POSITIVO <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	amarillo	+ azul	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	amarillo	-	-
CONTROL NEGATIVO <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (para el inóculo de 10 ⁵ UFC)	-	-	-

Referencias

- US FDA/CFSAN. Bacteriological Analytical Manual ONLINE. Chapter 4 Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. September 2002.
- AOAC Official Method 986.33. Microbiological Methods / Coliforms Bacterial and Coliform Counts in Milk. Dry Rehydratable Film Methods (Petrifilm Aerobic Count Plate® and Petrifilm Coliform Count Plate®) Methods.
- Manafi M. 1998. New approaches for the fast detection of indicators, in particular enzyme detection methods (EDM). In: terlaken ´98.

4. Stevens M, Ashbolt N and Cunliffe D. 2003. Recommendations to Change the Use of Coliforms as Microbial Indicators of Drinking Water Quality. National Health and Medical Research Cpuncil. Australian Government.

5. Buehler HJ, Katzman PA and Doisy ED. 1951. Studies on β-glucoronidasa from E. coli, Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine. 76:672-676.

6. Buerger H. 1967. Bichemische Leitungen nichtprofilierender MikroorganismenII. Nachweis von Glycosid-Hydrolasen, Phosphatasen, Esterasen und Lipasen. Zbl. Bact. Abt 1 Org. B 202:97-109.

7. EPA. Method 1604: Total Coliform and Escherichia coli in water by a membrane Filtration Using a Simultaneus Detection Technique (MI Medium). 2002.

8. Edberg SC, Allen MJ and Smith DB. 1988. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous evaluation of total coliform and Escherichia coli from drinking water: comparison with the standard multiple tube technique. Appl. Environ. Microbiol., 54: 1595-1601.

9. Clark JA and Vlassoff LT. 1973. Relationships among pollution indicator bacteria isolated from raw water and distribution systems by the presence-absence (P-A) test. Health Lab. Sci., 10: 163-172.

10. Zhurbenko R, Rodríguez C, Mezquida I, Ortega A, Abreut Y. Development of a liquid medium (CromoCen CCL) for the simultaneous detection and confirmation of *Escherichia coli* and other coliforms in biotechnological industrial water samples. En: Proceedings of the International Biotechnology Havana 2007. ISSN – 1027-2860, Ciudad de La Habana, Cuba, 2007: GP-62.

11. Zhurbenko R, Rodríguez C, Mezquida I, Ortega A, Abreut Y. Potencialidad del empleo del CromoCen CCL para la detección rápida y simultánea de *Escherichia coli* y coliformes totales en aguas en las industrias biotecnológica y biofarmacéutica. V Taller de Procesamiento Aséptico. Proceasep 2009. Cuba. 2009.

CROMOCEN®CC

CÓDIGO: 4227

Medio cromogénico-fluorogénico para la detección y enumeración de *E. coli* y coliformes.

Fórmula	g/L
Bases nutritivas	11,0
Cloruro de sodio	5,0
Mezcla cromogénica selectiva	1,4
Agar	13,0

pH 7.1 ± 0.2

Preparación

De acuerdo a la cantidad deseada, pesar el polvo en proporción de 30,4 g/L de agua destilada o desionizada. Para preparar 500 mL de medio, suspender el contenido del frasco de 15,2 g en 500 mL de agua destilada o desionizada. Hervir hasta disolución completa y distribuir. No esterilizar en autoclave.

Descripción

Este medio fue desarrollado en BioCen a partir de experiencias reportadas para la detección de la actividad enzimática β-galactosidasa, presente en los microorganismos del grupo coliformes¹ y de la actividad β-glucuronidasa, muy útil para la identificación de *E. coli*.

Según una revisión de la bibliografía científica disponible elaborada por Manafi² en 1991, entre un 94 y 96 % de las cepas de este microorganismo poseen esta actividad β-glucuronidasa. En CromoCen CC se combinan las reacciones antes mencionadas, que se visualizan gracias a la utilización de un sustrato cromogénico y otro fluorogénico.

La presencia de organismos coliformes y de *E. coli* se detecta por la coloración azul-verdosa de las colonias, y en el caso de *E. coli*, además, se observan las colonias fluorescentes bajo luz ultravioleta (366 nm).

CromoCen CC se ha ensayado con resultados satisfactorios para el recuento de *E. coli* y coliformes en muestras de agua y alimentos, tales como leche y productos lácteos, carnes y productos cárnicos³.

Ha resultado un medio útil en el diagnóstico de *E. coli* y coliformes en muestras de orina^{4,5}.

Otros organismos Gram-negativos, incluyendo enterobacterias, crecen sin dificultad en el medio, observándose colonias incoloras.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Fluorescencia a 366 nm	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	+	centro azul verdoso, bordes blancos
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 12048	bueno	-	azul verdosas
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	-	incoloras
CONTROL NEGATIVO			
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación $\leq 0,01$ % para el inóculo $\geq 10^5$ UFC/mL)	-	incoloras, si las hay

Referencias

1. Edberg SC, Allen MJ, Smith DB. and the National Collaborative Study. 1988. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. Appl. Environ. Microb. 54: 1595-1601.
2. Manafi M and Kneifel W. 1991. Fluorogenic and Chromogenic Substrates Used in Bacterial Diagnostics. Microbiological Reviews, 55, 335.
3. Quesada V, Rodríguez C, Tsoraeva A. 2000. Medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos para el análisis de muestras de agua y alimentos. Revista CENIC de Ciencias Biológicas, 31: 25-28.
4. Quesada V, Rodríguez C, Muñoz JL, Infante T. 1999. Utilización del Medio Cromogénico-Fluorogénico CromoCen CC en la Identificación de Patógenos Urinarios. Avances en Biotecnología Moderna, 5: D21.
5. Quesada V, Rodríguez C, Muñoz JL, Infante T, Hernández E y Pérez J. 1999. Identificación de *Escherichia coli* y Coliformes en Sepsis Urinaria Infantil con la Utilización del Medio Cromogénico-Fluorogénico CromoCen CC. Revista Latinoamericana de Microbiología, 41: 291-294.

CROMOCEN® ECCS

CÓDIGO: 4293

Medio cromogénico-fluorogénico para el aislamiento e identificación rápida de *E. coli* O157:H7, apropiado además para la identificación y/o recuento de coliformes y otras bacterias Gram-negativas.

Fórmula	g/L
Triptosa	17.0
Sorbitol	7.5
Sales biliares	1.3
Cloruro de sodio	5.0
Rojo neutro	0.03
Mezcla cromogénica/fluorogénica	0.15
Agar	13.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

De acuerdo a la cantidad deseada, pesar el polvo en proporción de 44,0 g/L de agua destilada o desionizada. Hervir hasta disolución completa y distribuir. No esterilizar en autoclave.

Distribuir el medio en placas de Petri estériles. Inocular las muestras por las técnicas de inundación de la superficie (de 0.1 a 0.5 mL) o por agotamiento del inóculo hasta obtener colonias aisladas, e incuba a 35 °C por 18-24 h. (Si la prueba está dirigida a la detección de bacterias coliformes fecales, incube a 44 °C).

Descripción

El medio basa su funcionamiento en una compleja composición de nutrientes que promueven un crecimiento rápido y adecuado de los microorganismos de interés y posee inhibidores de los Gram-positivos¹⁻⁴.

La combinación de sustratos cromogénicos y fluorogénicos para detectar la actividad β-galactosidasa y β-glucuronidasa, conjuntamente con la degradación del sorbitol, posibilita la identificación de los coliformes y de *E. coli* O157:H7, diferenciando a esta última de otras bacterias (*Hafnia*, *Pantoea*, *Vibrionaceae* y algunas especies de *Enterobacter*), además por las pruebas rápidas de glutamato descarboxilasa (GAD)5 y OXIDASA, ejecutadas al momento de la interpretación de los resultados para confirmar la identificación a partir de las colonias sospechosas (azul verdosas). La prueba rápida de indol puede ser incluida en adición o sustitución del ensayo de GAD.

Microorganismo	Características de las colonias aisladas	Pruebas adicionales rápidas
<i>E. coli</i> O157:H7	Azul verdosas, bordes traslúcidos, sin fluorescencia	Oxidasa (-) GAD (+)
Coliformes (excepto <i>E. coli</i> O157:H7)	Violetas o azul verdosas con fluorescencia azul Diferentes tonalidades de violeta Rojas con centro verdoso o violetas con fluorescencia amarilla o verdosa Azules con o sin halo azul	

GAD- prueba rápida de glutamato descarboxilasa

OXIDASA- prueba rápida sobre papel de filtro

El medio brinda las posibilidades adicionales de diferenciación para el personal debidamente entrenado según se explica a continuación.

Los coliformes pueden ser presuntivamente identificados, como sigue:

Características de las colonias aisladas	Identificación por fluorescencia a 366 nm	Microorganismo
Colonias violetas, mucoides, con o sin fluorescencia amarilla o verdosa	+	<i>Klebsiella</i> sp.
Colonias rojas con centro verdoso y fluorescencia amarilla	+	<i>Enterobacter</i> sp.
Colonias azules con o sin halo azul	-	<i>Pantoea agglomerans</i>
Colonias de diferentes tonalidades de violeta	-	<i>Citrobacter</i> sp. o <i>Serratia</i> sp.

E. coli puede ser identificada presuntivamente por la aparición de colonias de coloración violeta o azul verdosa con fluorescencia azul (en ocasiones, algunas cepas glucuronidasa tardías pueden requerir más de 24 h para mostrar fluorescencia y un número muy reducido puede no presentarla).

Las especies de *Salmonella* se distinguen por la aparición de colonias rojas o rojas con centro beige, bordes traslúcidos con o sin fluorescencia amarilla (confirmar con serología directa para diferenciar de una posible confusión con *Enterobacter*).

Pseudomonas aeruginosa se puede diferenciar por la aparición de colonias de color rosa pálido, con fluorescencia verdosa.

Características de las colonias aisladas	Identificación por fluorescencia a 366 nm	Microorganismo
Colonias violetas o azul verdosas, en su mayoría con fluorescencia azul	+	<i>E. coli</i>
Colonias rojas o rojas con centro beige, bordes traslúcidos con o sin fluorescencia amarilla y con o sin precipitado biliar	+	<i>Salmonella</i>
Colonias rosa pálidas con fluorescencia verdosa	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Las colonias incoloras o con pigmentación propia son características de otras bacterias Gram-negativas.

Los organismos Gram-positivos son inhibidos en el medio.

El medio se ha ensayado exitosamente, tanto para la identificación (*E. coli* O157:H7), como para el recuento (coliformes totales y fecales) en muestras clínicas (heces fecales y orina); aguas residuales y altamente contaminadas; alimentos tales como carnes y productos cárnicos (carne molida, embutidos, salchichas, jamones), pollos y derivados (embutidos), huevos, leche y productos lácteos (leche cruda y pasteurizada, quesos de diferentes humedades), vegetales frescos semielaborados (zanahoria, col, lechuga) con elevada Sensibilidad (~ 98 %) y Especificidad (de 95 a 100 %) diagnósticas para los organismos de interés en un intervalo máximo de incubación de sólo 24 horas⁴⁻⁶.

Los recuentos arrojaron resultados comparables con las técnicas y medios tradicionales, recomendados por la AOAC y otros organismos regulatorios de diferentes países.

La recuperación de *E. coli* O157:H7 en el medio fue superior a la lograda con el Medio MacConkey con Sorbitol y aún mayor, con los ensayos adicionales realizados al momento de la lectura de los resultados.

Igualmente se han identificado de manera presuntiva otras bacterias Gram-negativas, con valores de Sensibilidad (de 89 a 100 %) y Especificidad (de 95 a 100 %) superiores a los medios convencionales, permitiendo orientar al personal en la ulterior identificación y confirmación de los aislamientos de interés. Tal es el caso de *E. coli* (colonias azul verdosas o violetas en su mayoría con fluorescencia azul), *Salmonella* (colonias de color rojo con o sin precipitado biliar) y algunas *Shigella* β-glucuronidasa + (colonias irregulares de color azul verdoso y fluorescencia azul), identificadas principalmente en muestras de heces fecales⁷.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 oC.
- Medio preparado: de 2 a 8 oC

Control de calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas	Fluorescencia a 366 nm
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7 ATCC 35150	bueno	azul verdosas, bordes traslúcidos*	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	violetas o azul verdosas	+ (azul)
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	rojas con centro verdoso	+ (amarilla)
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	bueno	violetas	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥ 10 ⁵ UFC/mL)	incoloras, si las hay	

* Pruebas adicionales rápidas: Oxidasa (-), GAD (+)

Referencias

1. Tsoraeva A, Rodríguez Martínez C. 2006. Nutritional mixture and method for early identification and count of Gram-negative organisms. Patent. RU 2275429.
2. Tsoraeva A, Rodríguez Martínez C. 2002. Mezcla nutritiva para la identificación y recuento temprano de organismos Gram-negativos y procedimiento para su empleo. Certificado de Autor No. 22789. Cuba.
3. Tsoraeva A, Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ. 2002. Nutritional mixture and method for early identification and count of Gram-negative organisms. PCT. WO 02/00921 A1.
4. Quesada Muñiz V, Rodríguez Martínez C, Tsoraeva A. 2000. Medios de cultivo cromogénicos y fluorogénicos para el análisis de muestras de agua y alimentos. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 31, No. 1:25-28.
5. Tsoraeva A, Hernández Robledo E, García Suárez AV, Quesada Muñiz VdeJ y Durán Vila A. 2002. Prueba rápida para la identificación confirmativa del principal patógeno urinario. Revista Latinoamericana de microbiología, Vol. 44, No. 4, Oct-Dic, p. 479. Suplemento.
6. Zhurbenko R, Quesada Muñiz VdeJ, Heidtmann S, Wolf B, Rodríguez Martínez C, Hiroshi Nakamatsu E, Tozelli Lopes H, dos Reis AP. 2002. Identificación y recuento de bacterias Gramnegativas en alimentos con empleo de un medio cromogénico-fluorogénico. Revista Latinoamericana de microbiología, Vol. 44, No. 4, Oct-Dic, p. 488. Suplemento.
7. Tsoraeva A, Muñoz del Campo JL, Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Quesada Muñiz VdeJ, Valdés Dapena M, Pérez Amarillo J. 2002. Empleo de un nuevo diagnosticador – CromoCen ECCS en el análisis de muestras clínicas. Revista Latinoamericana de microbiología, Vol. 44, No. 4, Oct-Dic, p. 480. Suplemento.

CROMOCEN® ENT

CÓDIGO: 4401

Medio cromogénico para el aislamiento y diferenciación rápida de especies del género *Enterococcus* de otras bacterias Gram-positivas.

Fórmula	g/L
Triptosa	5.0
Extracto de carne	3.0
Xilosa	10.0
Fosfato dipotásico	5.0
Dihidrógeno fosfato de potasio	1.5
Mezcla cromogénica	0.085
Acetato de talio	0.476
Agar	13.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 38,06 g de medio en 1 L de agua destilada o desionizada y agitar suavemente. Calentar hasta ebullición para lograr la total fusión del agar. Esterilizar en autoclave a 115 °C durante 10 min. Enfriar hasta 45 °C. Dispensar en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. Almacenar las placas protegidas de la luz. No esterilizar en autoclave a temperaturas mayores de 115 °C. Evitar el sobrecalentamiento.

PRECAUCIONES: El medio contiene una sustancia tóxica (acetato de talio) por contacto con la piel, ingestión o inhalación. Para manipular el medio tome las medidas de protección necesarias. Mantenga el frasco bien cerrado. Deseche el medio de forma segura y adecuada.

Descripción

El uso de sustratos cromogénicos y fluorogénicos para la detección de la actividad β-D-glucosidasa presente en las especies del género *Enterococcus* ha recibido considerable atención¹.

CromoCen ENT es el primer medio cromogénico selectivo para Gram-positivos obtenido en BioCen el cual se incluye un sustrato cromogénico escindido por la enzima β-D-glucosidasa presente en *Enterococcus*, produciéndose el desarrollo de colonias de coloración de rosado claro a oscuro. Contiene inhibidores que previenen resultados falsos positivos por la acción de otras bacterias β-D-glucosidasa positivas.

El medio es capaz de promover el crecimiento microbiano de las especies de *Enterococcus* en sólo 24 horas. Otros microorganismos pueden crecer incoloras que interfieren en la interpretación de los resultados. No contiene antibióticos ni sustancias carcinogénicas ni teratogénicas¹.

El medio ha sido evaluado en muestras clínicas (urocultivos, coprocultivos, endocervicales, hemocultivos, vaginales y uretrales), mostrando una sensibilidad de 100 %, especificidad de 96 % y una exactitud diagnóstica de 93 % para el total de muestras evaluadas².

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: a 4 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Color de las colonias
CONTROL POSITIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	bueno	de rosado claro a oscuro
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 6056	bueno	de rosado claro a oscuro
<i>Enterococcus avium</i> ATCC 14025	bueno	de rosado claro a oscuro
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso	incoloras, si las hay

Referencias

1. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C. 2004. Desarrollo de un nuevo medio cromogénico CromoCen ENT para el aislamiento e identificación de enterococos. Tesis de maestría. Universidad de la Habana.
2. Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, Hernández Robledo E, Muñoz del Campo JL, Bello Rodríguez O. 2005. Evaluación del desempeño de un nuevo medio de cultivo en la búsqueda de *Enterococcus* en muestras clínicas. Revista CNIC Ciencias Biológicas.

CROMOCEN® TBX

Código: 4594

Medio de cultivo cromogénico para el aislamiento e identificación de *Escherichia coli* en alimentos.

Fórmula*	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	20,0
Sales biliares	1,5
5-bromo-4-cloro-3-indoxil-beta-D-glucurónido, sal ciclohexilamonio	0,075
Agar	15,0
*Esta fórmula aproximada puede ser reajustada para obtener los mejores resultados.	

pH 7.2 ± 0.2

Preparación

Suspender 36,6 g en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 min hasta disolución completa, esterilizar a 121 °C por 15 min y distribuir.

Descripción

El medio CromoCen TBX se basa en la formulación original de Agar Triptona Bilis, formulado desde un inicio para su utilización en los métodos para la detección de *Escherichia coli* en alimentos^{1,2}.

CromoCen TBX tiene incluido en su composición el sustrato cromogénico 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucurónido (X-glu-curónido), para la detección de la actividad glucuronidasa, específica de *E. coli*³. Las células de *E. coli* absorben este sustrato intacto y como producto de su metabolismo lo degradan en el cromóforo y glucurónido, proporcionando el cromóforo el color azul-verdoso a las colonias de *E. coli*.

Aproximadamente 3-4% de las especies de *E. coli* son glucuronidasa negativas, incluyendo *E. coli* O157 ⁴.

El resultado se obtiene directamente contando las colonias características tras sólo 24 h de incubación a 35 ± 2 °C o a 44 °C y no se precisa ninguna confirmación⁵⁻⁶.

Otros organismos Gram-negativos, incluyendo enterobacterias, crecen sin dificultad en el medio, observándose colonias incoloras.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	azul verdosas

<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	blancas
CONTROL NEGATIVO		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo ≥10 ⁵ UFC)	incoloras, si las hay

Referencias

1. Gross R.J. and Rowe B. (1985) *J. Hyg. Camb.* 95. 513-550.
2. Anderson J.M. and Baird-Parker A.C. (1975) *J. Appl. Bact.* 39. 111-117.
3. Hansen W. and Yourassowsky E. (1984) *J. Clin. Microbiol.* 20. 1177-1179.
4. Ratnam S., March S.B., Almed R., Bezanson G.S. and Kasatiya S. (1988) *J. Clin. Microbiol.* 26. 2006-2012.
5. PHLS Standard Methods for Microbiological Examination of Food, Dairy and Water Samples. F20: Direct Enumeration of *Escherichia coli*.
6. ISO 16649-2: 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* . Part 2: Colony-count technique a 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indoyl-beta-D-glucuronide.

m-CROMOCEN® CC

Código: 4378

Medio cromogénico-fluorogénico para la detección y enumeración de *Escherichia coli* y coliformes por el método de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Peptona bacteriológica	5.0
Extracto de levadura	3.0
Hidrolizado enzimático de caseína	3.0
Sales biliares	2.0
Cloruro de sodio	5.0
Mezcla cromogénica	0.1563
Agar	13.0

pH 7.1 ± 0.1

Preparación

Suspender 31,16 g en 1 L de agua destilada o desionizada, hervir hasta disolución completa, enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. Almacenar las placas protegidas de la luz. No esterilizar en autoclave.

Descripción

Según las experiencias recogidas en diferentes reportes científicos elaborados por Manafi¹ en 1991, entre el 94 y 96 % de las cepas de *Escherichia coli* poseen actividad β-glucuronidasa. La actividad enzimática β-galactosidasa se evidencia en el grupo coliformes².

En m-CromoCen CC se combinan las reacciones de la actividad enzimática β-galactosidasa presente en los microorganismos del grupo coliforme y la actividad β-glucuronidasa muy útil para la identificación de *E. coli*, que se visualizan gracias a la utilización de sustratos cromogénicos y fluorogénicos presentes en el medio³.

Los organismos Gram-positivos son inhibidos en el medio o presentan escaso crecimiento (recuperación ≤ 0,01 % para una concentración de ≥ 10⁵ UFC/mL de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) en comparación con el medio Agar Triptona Soya³.

Las colonias de coloración azul-verdosa indican la presencia de organismos coliformes y de *E. coli*, en las colonias de *E. coli* se observa, además, la presencia de fluorescencia azul bajo luz ultravioleta (366 nm)³.

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 2 a 8 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Crecimiento	Características de las colonias aisladas a 366 nm	Fluorescencia
CONTROL POSITIVO			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	bueno	centro azul verdoso, bordes blancos	(+) azul
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	bueno	azul verdosas	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	bueno	incoloras	-
CONTROL NEGATIVO			
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	de inhibido a escaso (recuperación $\leq 0,01$ % para el inóculo $\geq 10^5$ UFC/mL		

Referencias

- Manafi M and Kneifel W. 1991. Fluorogenic and Chromogenic Substrates Used in Bacterial Diagnostics. Microbiological Reviews, 55: 335.
- Edberg SC, Allen MJ, Smith DB and the National Collaborative Study. 1988. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliformes and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. Appl. Environ. Microb. 54: 1595-1601.
- Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R, Govín Raveiro Y. 2006. Evaluación del desempeño de los medios cromogénicos CromoCen CC y CromoCen AGN por el método de filtración por membrana. XXIII Conferencia Científica del CIMEQ. XVIII Jornada de Enfermería y Tecnólogos de la Salud.

m-CROMOCEN® ENT

CÓDIGO: 4451

Medio cromogénico selectivo para el aislamiento, diferenciación rápida y recuento de especies del género *Enterococcus* de otras bacterias Gram-positivas por el método de filtración por membrana.

Fórmula	g/L
Triptosa	5.0
Extracto de carne	3.0
Xilosa	10.0
Fosfato dipotásico	5.0
Dihidrógeno fosfato de potasio	1.5
Mezcla cromogénica	0.586
Agar	13.0

pH 7.0 ± 0.2

Preparación

Suspender 38,1 g de medio en 1 L de agua destilada o desionizada, calentar hasta disolución completa, esterilizar en autoclave a 115 °C durante 10 minutos, enfriar hasta 45 °C y distribuir en placas de Petri estériles, agitando suavemente para homogeneizar. Almacenar las placas protegidas de la luz. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE A TEMPERATURAS MAYORES DE 115 °C. EVITAR EL SOBRECALENTAMIENTO.

Descripción

Las bacterias pertenecientes al género *Enterococcus* son consideradas indicadores de la calidad sanitaria de las aguas y de algunos alimentos, por lo que su presencia en el ambiente indica contaminación de origen fecal¹⁻⁵.

El uso de sustratos cromogénicos y fluorogénicos para la detección de la actividad β-D-glucosidasa presente en este género ha recibido considerable atención⁶.

m-CromoCen ENT es un medio cromogénico selectivo desarrollado en BioCen para la detección de *Enterococcus* en muestras de aguas por el método de filtración por membrana. El medio basa su funcionamiento en la inclusión de una sustancia cromogénica que es escindida de forma directa por la enzima β-D-glucosidasa característica del género, produciéndose el desarrollo de colonias de coloración de rosado claro a oscuro sobre la membrana después de transcurrir de 18-24 horas. Contiene inhibidores que previenen resultados falsos positivos por la acción de otras bacterias β-D-glucosidasa positivas⁷.

El medio es capaz de promover el crecimiento microbiano de las especies de *Enterococcus* en sólo 24 horas. Otros microorganismos pueden crecer en el diagnosticador de manera moderada sin color, por lo que no interfieren en la interpretación de los resultados. No contiene antibióticos ni suplementos que puedan afectar la estabilidad del producto⁷.

El medio ha sido evaluado con muestras de agua, resultando ser la Sensibilidad de 97,92 %, la Especificidad de 100 % y la Exactitud Diagnóstica de 98,44 % para el total de muestras evaluadas.⁷

Almacenamiento

- Medio deshidratado: de 15 a 30 °C
- Medio preparado: de 4 °C

Control de la Calidad

Microorganismo	Índice de recuperación de 20-200 UFC/placa con respecto al Agar Triptona Soya	Características de las colonias aisladas
CONTROL POSITIVO		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	≥ 50 %	de rosado claro a oscuro
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434	≥ 50 %	de rosado claro a oscuro
CONTROL NEGATIVO		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	de inhibido a escaso (recuperación ≤ 0,01 % para el inóculo 10 ⁴ - 10 ⁶ UFC/placa)	incoloras, si las hay.

Referencias

1. Federal-Provincial Working Group on Recreational Water Quality. Guidelines for Canadian Recreational Water Quality. Canada: Minister of National Health and Welfare; 1992. p. 22-5.
2. Clesceri L, Greenberg A, Eaton A. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1998. 20th Edition.
3. Norma Española UNE-EN ISO 7899-2. Calidad del agua. Detección y recuento de enterococos intestinales. Parte 2: Método de filtración por membrana (ISO 7899-2: 2000) Mayo 2001.
4. Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. Revista Cubana Higiene Epidemiología 2002; On-line ISSN 1561-3003; 40(1): 0-0.
5. Giraffa G. 2002. *Enterococci* from foods. *FEMS Microbiol*; 26:163-71.
6. Díaz Pérez, M. Rodríguez Martínez, C. 2004. Desarrollo de un nuevo medio cromogénico CromoCen ENT para el aislamiento e identificación de enterococos. Tesis de maestría. Universidad de la Habana.
7. Díaz M, Rodríguez C, Zhurbenko R, Govín Y. 2009. Identificación de *Enterococcus* como indicador más eficiente de las aguas utilizadas en los procesos Biofarmacéuticos. Presentación en Póster. Biotecnología' Habana, 3-5 Noviembre, Habana, Cuba.

MEDIOS PARA HEMOCULTIVOS

HEMOCEN AEROBIO

CÓDIGOS: 4482

Medio de cultivo de enriquecimiento general, líquido, listo para el uso, destinado al cultivo de microorganismos aerobios en san- gre, para uso en adulto.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17
Peptona bacteriológica P	3
Peptona bacteriológica Z	3
Peptona de soya	3
Extracto de levadura S	2
Extracto vegetal	1
Dextrosa	3.5
Sacarosa	1
Cloruro de sodio	5
Fosfato dipotásico	2.5
Polianetol sulfonato de sodio	0.3
Hemina	0.01
L-cisteína clorhidrato	0.2
Menadiona	0.00025

pH 7.3 ± 0.2

Principio de funcionamiento

La detección de microorganismos en sangre en el menor intervalo de tiempo constituye una herramienta valiosa para la aplica- ción de una terapia antimicrobiana adecuada y oportuna en pacientes con alto riesgo de padecer enfermedades que ponen en peligro la vida.

HemoCen ha sido diseñado para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos aerobios más exi- gentes a partir de muestras de sangre. El medio de cultivo basa la promoción del crecimiento en la inclusión de los componentes del caldo triptona soya, enriquecido con bases nutritivas, factores de crecimiento, vitaminas y otros componentes que satisfacen los requisitos nutricionales de bacterias y hongos.

HemoCen contiene polianetol sulfonato de sodio (SPS), con actividad anticoagulante, antifagocitaria de los eritrocitos, anti- complementaria y de inactivación de polipéptidos (polimixina) y aminoglucósidos (estreptomicina, kanamicina, gentamicina). Para contrarrestar el posible efecto inhibitor, reportado del SPS sobre algunos microorganismos (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptobacillus moniliformis*, *Frencisella tularensis*, entre otros), se incluye en la formulación hemina.

HemoCen incluye factores de crecimiento para especies con requerimientos nutricionales especiales, tales como menadiona y hemina, requeridos para ciertas especies de *Bacteroides malaninogenicus* y la cisteína que, además de aportadora de grupos tiol- para ciertos mutantes de *Streptococcus* spp., mantiene una tensión de oxígeno. La dextrosa es fuente fundamental de energía para

el metabolismo. El contenido de cloruro de sodio coadyuva una adecuada presión osmótica y el fosfato dipotásico garantiza el valor adecuado del pH del medio que debe favorecer el crecimiento de las diferentes especies microbianas a detectar. El volumen de medio en los frascos y su relación con el volumen de muestra recomendado para cada grupo etario (adulto, pediátrico y neonato), posibilita atenuar el efecto inhibitorio de los antimicrobianos que pueden contener las muestras y evita la coagulación excesiva de la sangre.

Procedimiento

Antes de procesar la muestra, se recomienda conocer el estado del paciente (diagnóstico presuntivo y terapia antimicrobiana aplicada, entre otros aspectos). Ejecute todo el procedimiento empleando guantes estériles y manteniendo condiciones de asepsia. Compruebe el estado del frasco de HemoCen, que no muestre turbiedad, cambio de color, opalescencia, precipitados, rajaduras del envase, ni ausencia del protector plástico del casquillo. Deseche el frasco defectuoso. Desinfecte la piel en el sitio donde realizará la punción para extraer la sangre y en sus alrededores con solución de yodo-povidona. Una vez desinfectado el sitio, éste no puede volver a tener contacto. Tire del protector del casquillo del frasco y desinfecte el tapón con solución de yodo-povidona. Para la extracción de la sangre utilice jeringuillas estériles. Ventile el frasco antes de adicionar la muestra, ponchando el tapón con una aguja estéril. Extraiga la sangre, transfiera el contenido al frasco de HemoCen perforando el tapón e inyectando asépticamente. El volumen de sangre recomendado es de 8 a 10 mL para el hemocultivo de adultos, de 4 a 5 mL para el pediátrico y de 0,5 a 1 mL para neonatos. Nunca extraiga la sangre directamente al frasco con cualquier otro procedimiento. Limpie la piel del paciente en el punto de extracción con alcohol. Mezcle el contenido del frasco con la sangre y voltéelo varias veces. Rotule la etiqueta del frasco con la información del paciente. Coloque el frasco en la incubadora e incube a 35 ± 2 °C. Registre los datos según los protocolos establecidos en el laboratorio para garantizar la trazabilidad de la muestra. Se recomienda agitar con la mayor frecuencia posible el frasco para coadyuvar el crecimiento microbiano. La presencia de microorganismos se detecta al observar visualmente turbidez, hemólisis, producción de gas, aparición de sangre “achocolatada”, de colonias, o la formación de una capa de crecimiento en la superficie. La mayoría de los autores recomiendan la colecta de 3 muestras seriadas en períodos consecutivos de 24 h para descartar la contaminación casual ya que el incremento del volumen de sangre analizada de 10 mL a 30 mL aumenta la posibilidad de detectar menores niveles de contaminación (de 1 a 10 UFC/mL o incluso menos). Para la identificación de los microorganismos a partir del hemocultivo agite cuidadosamente el frasco, extraiga un volumen apropiado del contenido con una jeringuilla estéril e inocule en medios apropiados para el aislamiento de microorganismos aerobios. Medios cromogénicos selectivos tales como CromoCen AGN (cód. 4228) (para Gram negativos), CromoCen ENT (cód. 4401) (*Enterococcus*), CromoCen CND-C (cód. 4447) y CND-F (cód. 4450) (hongos y levaduras), entre otros, pueden acelerar el proceso de identificación primaria. De no observar crecimiento en ninguno de los medios, continúe la incubación de los frascos por un período de 5 a 7 días a temperatura de 35 ± 2 °C y realice un subcultivo final en los medios seleccionados. La identificación final puede ser completada con pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa, coagulasa, indol, PYR, DNasa, galactosidasa, producción de lecitinasa, fermentación de lactosa, urea, producción de sulfuro de hidrógeno, fenilalanina desaminasa y lisina decarboxilasa, entre otras) o con galerías comerciales. El procedimiento de identificación debe conllevar a la discriminación de contaminantes casuales procedentes de la piel o de otras fuentes. De detectarse este tipo de contaminación se recomienda repetir todo el procesamiento desde la toma de nuevas muestras de sangre del paciente. Un hemocultivo negativo, no necesariamente significa la ausencia de patógenos en sangre, pues diferentes factores pueden provocar que se obtengan resultados falsos-negativos de las muestras, entre ellos la presencia de antimicrobianos, de microorganismos en extremo exigentes o de muy lento crecimiento o la colecta de un volumen limitado de muestra con respecto al nivel del microorganismo en sangre.

Precauciones

Las muestras de sangre para hemocultivo son sospechosas a la presencia de microorganismos patógenos y pueden transmitir infecciones de origen viral, por lo que se deben extremar los cuidados durante su manipulación. Se deben manejar los frascos con cuidado para no provocar roturas y posibles heridas o el derrame del contenido contaminado. No emplear el medio si está turbio. Todos los frascos deben ser esterilizados en autoclaves a 121 °C por 30 min antes de descartarlos.

Almacenamiento

HemoCen se formula y envasa en condiciones asépticas, el medio se esteriliza por filtración final y la esterilidad se verifica en los laboratorios de control de la calidad de BioCen. Mantenga el frasco a temperatura de 15 a 25 °C, protegido de la luz, alejado de fuentes de calor. No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta.

Control de la Calidad

Requisitos de calidad		Límite de aceptación
Esterilidad		Estéril
CONTROL POSITIVO		
Microorganismo	Apariencia del cultivo (inóculo 10-100 UFC/frasco)	Tiempo de incubación
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Opalescente	24-48 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Opalescente	24-48 h
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Opalescente	24-48 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Opalescente	24-72 h
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Opalescente	24 h-7 días

Nota:

Durante la manipulación de los frascos de HemoCen Aerobio en la evaluación microbiológica, estos deben ser ventilados previamente (introducir una aguja estéril en el tapón durante la manipulación).

Presentación

Frascos de vidrio transparentes, con tapón de clorobutilo, sello metálico y cierre flip off.

Producto	Código Envase
HemoCen Aerobio 4482	Caja por 6 frascos de 80 mL

Referencias

- Bouza E; Loza E; Planes A; Rodríguez Cobacho A. Procedimientos en Microbiología Clínica, Hemocultivos. 1993. Ed J Picazo. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid.
- Dune WM Jr, Nolte FS, Wilson ML. Cumitech 1B, Blood cultures III. 1997. Coordinating ed, JA Hindler. American Society for Microbiology, Washington DC.
- Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. Clin Lab Med 1994; 14: 69-82.

HEMOCEN AEROBIO NEONATAL

Códigos: 448o

Medio de cultivo de enriquecimiento general, líquido, listo para el uso, destinado al cultivo de microorganismos aerobios en san- gre de neonatos.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17
Peptona bacteriológica P	3
Peptona bacteriológica Z	3
Peptona de soya	3
Extracto de levadura S	2
Extracto vegetal	1
Dextrosa	3.5
Sacarosa	1
Cloruro de sodio	5
Fosfato dipotásico	2.5
Polianetol sulfonato de sodio	0.3
Hemina	0.01
L-cisteína clorhidrato	0.2
Menadiona	0.00025

pH 7.3 ± 0.2

Principio de funcionamiento

La detección de microorganismos en sangre en el menor intervalo de tiempo constituye una herramienta valiosa para la aplica- ción de una terapia antimicrobiana adecuada y oportuna en pacientes con alto riesgo de padecer enfermedades que ponen en peligro la vida.

HemoCen ha sido diseñado para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos aerobios más exi- gentes a partir de muestras de sangre. El medio de cultivo basa la promoción del crecimiento en la inclusión de los componentes del caldo triptona soya, enriquecido con bases nutritivas, factores de crecimiento, vitaminas y otros componentes que satisfacen los requisitos nutricionales de bacterias y hongos.

HemoCen contiene polianetol sulfonato de sodio (SPS), con actividad anticoagulante, antifagocitaria de los eritrocitos, anti- complementaria y de inactivación de polipéptidos (polimixina) y aminoglucósidos (estreptomicina, kanamicina, gentamicina). Para contrarrestar el posible efecto inhibidor, reportado del SPS sobre algunos microorganismos (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptobacillus moniliformis*, *Frencisella tularensis*, entre otros), se incluye en la formulación hemina.

HemoCen incluye factores de crecimiento para especies con requerimientos nutricionales especiales, tales como menadiona y hemina, requeridos para ciertas especies de *Bacteroides malaninogenicus* y la cisteína que, además de aportadora de grupos tiol- para ciertos mutantes de *Streptococcus* spp., mantiene una tensión de oxígeno. La dextrosa es fuente fundamental de energía para

el metabolismo. El contenido de cloruro de sodio coadyuva una adecuada presión osmótica y el fosfato dipotásico garantiza el valor adecuado del pH del medio que debe favorecer el crecimiento de las diferentes especies microbianas a detectar. El volu- men de medio en los frascos y su relación con el volumen de muestra recomendado para cada grupo etario (adulto, pediátrico y neonato), posibilita atenuar el efecto inhibitorio de los antimicrobianos que pueden contener las muestras y evita la coagulación excesiva de la sangre.

Procedimiento

Antes de procesar la muestra, se recomienda conocer el estado del paciente (diagnóstico presuntivo y terapia antimicrobia- na aplicada, entre otros aspectos). Ejecute todo el procedimiento empleando guantes estériles y manteniendo condiciones de asepsia. Compruebe el estado del frasco de HemoCen, que no muestre turbiedad, cambio de color, opalescencia, precipitados, rajaduras del envase, ni ausencia del protector plástico del casquillo. Deseche el frasco defectuoso. Desinfecte la piel en el sitio donde realizará la punción para extraer la sangre y en sus alrededores con solución de yodo-povidona. Una vez desinfectado el sitio, éste no puede volver a tener contacto. Tire del protector del casquillo del frasco y desinfecte el tapón con solución de yodo-povidona. Para la extracción de la sangre utilice jeringuillas estériles. Ventile el frasco antes de adicionar la muestra, pon- chando el tapón con una aguja estéril. Extraiga la sangre, transfiera el contenido al frasco de HemoCen perforando el tapón e inyectando asépticamente. El volumen de sangre recomendado es de 8 a 10 mL para el hemocultivo de adultos, de 4 a 5 mL para el pediátrico y de 0,5 a 1 mL para neonatos. Nunca extraiga la sangre directamente al frasco con cualquier otro procedimiento. Limpie la piel del paciente en el punto de extracción con alcohol. Mezcle el contenido del frasco con la sangre y voltéelo varias veces. Rotule la etiqueta del frasco con la información del paciente. Coloque el frasco en la incubadora e incube a 35 ± 2 °C. Re- gistre los datos según los protocolos establecidos en el laboratorio para garantizar la trazabilidad de la muestra. Se recomienda agitar con la mayor frecuencia posible el frasco para coadyuvar el crecimiento microbiano. La presencia de microorganismos se detecta al observar visualmente turbidez, hemólisis, producción de gas, aparición de sangre “achocolatada”, de colonias, o la formación de una capa de crecimiento en la superficie. La mayoría de los autores recomiendan la colecta de 3 muestras seriadas en períodos consecutivos de 24 h para descartar la contaminación casual ya que el incremento del volumen de sangre analizada de 10 mL a 30 mL aumenta la posibilidad de detectar menores niveles de contaminación (de 1 a 10 UFC/mL o incluso menos). Para la identificación de los microorganismos a partir del hemocultivo agite cuidadosamente el frasco, extraiga un volumen apro- piado del contenido con una jeringuilla estéril e inocule en medios apropiados para el aislamiento de microorganismos aerobios. Medios cromogénicos selectivos tales como CromoCen AGN (cód. 4228) (para Gram negativos), CromoCen ENT (cód. 4401) (*Enterococcus*), CromoCen CND-C (cód. 4447) y CND-F (cód. 4450) (hongos y levaduras), entre otros, pueden acelerar el pro- ceso de identificación primaria. De no observar crecimiento en ninguno de los medios, continúe la incubación de los frascos por un período de 5 a 7 días a temperatura de 35 ± 2 °C y realice un subcultivo final en los medios seleccionados. La identificación final puede ser completada con pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa, coagulasa, indol, PYR, DNasa, galactosidasa, producción de lecitinasa, fermentación de lactosa, urea, producción de sulfuro de hidrógeno, fenilalanina desaminasa y lisina decarboxilasa, entre otras) o con galerías comerciales. El procedimiento de identificación debe conllevar a la discriminación de contaminantes casuales procedentes de la piel o de otras fuentes. De detectarse este tipo de contaminación se recomienda repetir todo el pro- cesamiento desde la toma de nuevas muestras de sangre del paciente. Un hemocultivo negativo, no necesariamente significa la ausencia de patógenos en sangre, pues diferentes factores pueden provocar que se obtengan resultados falsos-negativos de las muestras, entre ellos la presencia de antimicrobianos, de microorganismos en extremo exigentes o de muy lento crecimiento o la colecta de un volumen limitado de muestra con respecto al nivel del microorganismo en sangre.

Precauciones

Las muestras de sangre para hemocultivo son sospechosas a la presencia de microorganismos patógenos y pueden transmitir infecciones de origen viral, por lo que se deben extremar los cuidados durante su manipulación. Se deben manejar los frascos con cuidado para no provocar roturas y posibles heridas o el derrame del contenido contaminado. No emplear el medio si está turbio. Todos los frascos deben ser esterilizados en autoclaves a 121 °C por 30 min antes de descartarlos.

Almacenamiento

HemoCen se formula y envasa en condiciones asépticas, el medio se esteriliza por filtración final y la esterilidad se verifica en los laboratorios de control de la calidad de BioCen. Mantenga el frasco a temperatura de 15 a 25 °C, protegido de la luz, alejado de fuentes de calor. No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta.

Control de la Calidad

Requisitos de calidad		Límite de aceptación
Esterilidad		Estéril
CONTROL POSITIVO:		
Microorganismo	Apariencia del cultivo (inóculo 10-100 UFC/frasco)	Tiempo de incubación
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Opalescente	24-48 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Opalescente	24-48 h
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Opalescente	24-48 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Opalescente	24-72 h
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Opalescente	24 h-7 días

Nota: Durante la manipulación de los frascos de HemoCen Aerobio Neonatal en la evaluación microbiológica, estos deben ser ventilados previamente (introducir una aguja estéril en el tapón durante la manipulación).

Presentación

Frascos de vidrio transparentes, con tapón de clorobutilo, sello metálico y cierre flip off.

Producto	Código Envase
HemoCen Aerobio Neonatal 4480	Caja por 30 frascos de 9 mL

Referencias

- Bouza E; Loza E; Planes A; Rodríguez Cobacho A. Procedimientos en Microbiología Clínica, Hemocultivos. 1993. Ed J Picazo. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid.
- Dune WM Jr, Nolte FS, Wilson ML. Cumitech 1B, Blood cultures III. 1997. Coordinating ed, JA Hindler. American Society for Microbioogy, Washington DC.
- Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. Clin Lab Med 1994; 14: 69-82.

HEMOCEN AEROBIO PEDIÁTRICO

Códigos: 4481

Medio de cultivo de enriquecimiento general, líquido, listo para el uso, destinado al cultivo de microorganismos aerobios en san-gre, para uso pediátrico.

Fórmula	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17
Peptona bacteriológica P	3
Peptona bacteriológica Z	3
Peptona de soya	3
Extracto de levadura S	2
Extracto vegetal	1
Dextrosa	3.5
Sacarosa	1
Cloruro de sodio	5
Fosfato dipotásico	2.5
Polianetol sulfonato de sodio	0.3
Hemina	0.01
L-cisteína clorhidrato	0.2
Menadiona	0.00025

pH 7.3 ± 0.2

Principio de funcionamiento

La detección de microorganismos en sangre en el menor intervalo de tiempo constituye una herramienta valiosa para la aplica-ción de una terapia antimicrobiana adecuada y oportuna en pacientes con alto riesgo de padecer enfermedades que ponen en peligro la vida.

HemoCen ha sido diseñado para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos aerobios más exi-gentes a partir de muestras de sangre. El medio de cultivo basa la promoción del crecimiento en la inclusión de los componentes del caldo triptona soya, enriquecido con bases nutritivas, factores de crecimiento, vitaminas y otros componentes que satisfacen los requisitos nutricionales de bacterias y hongos.

HemoCen contiene polianetol sulfonato de sodio (SPS), con actividad anticoagulante, antifagocitaria de los eritrocitos, anti-complementaria y de inactivación de polipéptidos (polimixina) y aminoglucósidos (estreptomicina, kanamicina, gentamicina). Para contrarrestar el posible efecto inhibidor, reportado del SPS sobre algunos microorganismos (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptobacillus moniliformis*, *Frencisella tularensis*, entre otros), se incluye en la formulación hemina.

HemoCen incluye factores de crecimiento para especies con requerimientos nutricionales especiales, tales como menadiona y hemina, requeridos para ciertas especies de *Bacteroides malaninogenicus* y la cisteína que, además de aportadora de grupos tiol-para ciertos mutantes de *Streptococcus* spp., mantiene una tensión de oxígeno. La dextrosa es fuente fundamental de energía para

el metabolismo. El contenido de cloruro de sodio coadyuva una adecuada presión osmótica y el fosfato dipotásico garantiza el valor adecuado del pH del medio que debe favorecer el crecimiento de las diferentes especies microbianas a detectar. El volumen de medio en los frascos y su relación con el volumen de muestra recomendado para cada grupo etario (adulto, pediátrico y neonato), posibilita atenuar el efecto inhibitorio de los antimicrobianos que pueden contener las muestras y evita la coagulación excesiva de la sangre.

Procedimiento

Antes de procesar la muestra, se recomienda conocer el estado del paciente (diagnóstico presuntivo y terapia antimicrobiana aplicada, entre otros aspectos). Ejecute todo el procedimiento empleando guantes estériles y manteniendo condiciones de asepsia. Compruebe el estado del frasco de HemoCen, que no muestre turbiedad, cambio de color, opalescencia, precipitados, rajaduras del envase, ni ausencia del protector plástico del casquillo. Deseche el frasco defectuoso. Desinfecte la piel en el sitio donde realizará la punción para extraer la sangre y en sus alrededores con solución de yodo-povidona. Una vez desinfectado el sitio, éste no puede volver a tener contacto. Tire del protector del casquillo del frasco y desinfecte el tapón con solución de yodo-povidona. Para la extracción de la sangre utilice jeringuillas estériles. Ventile el frasco antes de adicionar la muestra, ponchando el tapón con una aguja estéril. Extraiga la sangre, transfiera el contenido al frasco de HemoCen perforando el tapón e inyectando asépticamente. El volumen de sangre recomendado es de 8 a 10 mL para el hemocultivo de adultos, de 4 a 5 mL para el pediátrico y de 0,5 a 1 mL para neonatos. Nunca extraiga la sangre directamente al frasco con cualquier otro procedimiento. Limpie la piel del paciente en el punto de extracción con alcohol. Mezcle el contenido del frasco con la sangre y voltéelo varias veces. Rotule la etiqueta del frasco con la información del paciente. Coloque el frasco en la incubadora e incube a 35 ± 2 °C. Registre los datos según los protocolos establecidos en el laboratorio para garantizar la trazabilidad de la muestra. Se recomienda agitar con la mayor frecuencia posible el frasco para coadyuvar el crecimiento microbiano. La presencia de microorganismos se detecta al observar visualmente turbidez, hemólisis, producción de gas, aparición de sangre “achocolatada”, de colonias, o la formación de una capa de crecimiento en la superficie. La mayoría de los autores recomiendan la colecta de 3 muestras seriadas en períodos consecutivos de 24 h para descartar la contaminación casual ya que el incremento del volumen de sangre analizada de 10 mL a 30 mL aumenta la posibilidad de detectar menores niveles de contaminación (de 1 a 10 UFC/mL o incluso menos). Para la identificación de los microorganismos a partir del hemocultivo agite cuidadosamente el frasco, extraiga un volumen apropiado del contenido con una jeringuilla estéril e inocule en medios apropiados para el aislamiento de microorganismos aerobios. Medios cromogénicos selectivos tales como CromoCen AGN (cód. 4228) (para Gram negativos), CromoCen ENT (cód. 4401) (*Enterococcus*), CromoCen CND-C (cód. 4447) y CND-F (cód. 4450) (hongos y levaduras), entre otros, pueden acelerar el proceso de identificación primaria. De no observar crecimiento en ninguno de los medios, continúe la incubación de los frascos por un período de 5 a 7 días a temperatura de 35 ± 2 °C y realice un subcultivo final en los medios seleccionados. La identificación final puede ser completada con pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa, coagulasa, indol, PYR, DNasa, galactosidasa, producción de lecitinasa, fermentación de lactosa, urea, producción de sulfuro de hidrógeno, fenilalanina desaminasa y lisina decarboxilasa, entre otras) o con galerías comerciales. El procedimiento de identificación debe conllevar a la discriminación de contaminantes casuales procedentes de la piel o de otras fuentes. De detectarse este tipo de contaminación se recomienda repetir todo el procesamiento desde la toma de nuevas muestras de sangre del paciente. Un hemocultivo negativo, no necesariamente significa la ausencia de patógenos en sangre, pues diferentes factores pueden provocar que se obtengan resultados falsos-negativos de las muestras, entre ellos la presencia de antimicrobianos, de microorganismos en extremo exigentes o de muy lento crecimiento o la colecta de un volumen limitado de muestra con respecto al nivel del microorganismo en sangre.

Precauciones

Las muestras de sangre para hemocultivo son sospechosas a la presencia de microorganismos patógenos y pueden transmitir infecciones de origen viral, por lo que se deben extremar los cuidados durante su manipulación. Se deben manejar los frascos con cuidado para no provocar roturas y posibles heridas o el derrame del contenido contaminado. No emplear el medio si está turbio. Todos los frascos deben ser esterilizados en autoclaves a 121 °C por 30 min antes de descartarlos.

Almacenamiento

HemoCen se formula y envasa en condiciones asépticas, el medio se esteriliza por filtración final y la esterilidad se verifica en los laboratorios de control de la calidad de BioCen. Mantenga el frasco a temperatura de 15 a 25 °C, protegido de la luz, alejado de fuentes de calor. No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta.

Control de la Calidad

Requisitos de calidad		Límite de aceptación
Esterilidad		Estéril
CONTROL POSITIVO		
Microorganismo	Apariencia del cultivo (inóculo 10-100 UFC/frasco)	Tiempo de incubación
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Opalescente	24-48 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Opalescente	24-48 h
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Opalescente	24-48 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Opalescente	24-72 h
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Opalescente	24 h-7 días

Nota:

Durante la manipulación de los frascos de HemoCen Aerobio Pediátrico en la evaluación microbiológica, estos deben ser ventilados previamente (introducir una aguja estéril en el tapón durante la manipulación).

Presentación

Frascos de vidrio transparentes, con tapón de clorobutilo, sello metálico y cierre flip off.

Producto	Código Envase
HemoCen Aerobio Pediátrico 4481	Caja por 6 frascos de 40 mL

Referencias

- Bouza E; Loza E; Planes A; Rodríguez Cobacho A. Procedimientos en Microbiología Clínica, Hemocultivos. 1993. Ed J Picazo. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid.
- Dune WM Jr, Nolte FS, Wilson ML. Cumitech 1B, Blood cultures III. 1997. Coordinating ed, JA Hindler. American Society for Microbioogy, Washington DC.
- Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. Clin Lab Med 1994; 14: 69-82.

DESCRIPCIÓN DE LAS BASES NUTRITIVAS BioCEN

DESHIDRATADAS

EXTRACTO DE CARNE

CÓDIGO: 4049

Descripción

Extracto nutritivo de tejido animal rico en compuestos nitrogenados. Se recomienda su empleo, conjuntamente con otras bases nutritivas, en la preparación de una amplia gama de medios de cultivo.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 10.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.5

pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5
----------------------	-----------

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

EXTRACTO DE CEREBRO Y CORAZÓN

CÓDIGO: 4140

Descripción

Extracto de cerebro y músculo de corazón de animales domésticos rico en compuestos nutritivos. Se recomienda su empleo en el cultivo de gérmenes exigentes.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 6.0
Nitrógeno total	≥ 10.0
Nitrógeno amínico	≥ 3.5

pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5
----------------------	-----------

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

EXTRACTO DE LEVADURA C

CÓDIGO: 4051

Descripción

Autolisado de levadura rico en sustancias nitrogenadas y vitaminas, especialmente del grupo B. Se recomienda como ingrediente en una amplia gama de medios para la promoción del crecimiento de muchos microorganismos. Puede utilizarse como componente de los medios para la producción de vacunas y otros productos biológicos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 8.0
Nitrógeno amínico	≥ 3.0

pH (solución al 2 %)	6.5 -7.5
----------------------	----------

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

EXTRACTO DE LEVADURA S

CÓDIGO: 4354

Descripción

Extracto soluble en agua obtenido a partir de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Debido a su elevado contenido de vitaminas puede ser empleado solo o en combinación con otros ingredientes en medios para el cultivo de una gran variedad de microorganismos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 6.5
Nitrógeno amínico	≥ 2.5
pH (solución al 2 %)	6.5 -7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

HIDROLIZADO ÁCIDO DE CASEÍNA

CÓDIGO: 4046

Descripción

Base nutritiva obtenida mediante la hidrólisis de la caseína con ácido clorhídrico que posee un bajo contenido de triptófano y cistina. Se recomienda su empleo en medios para el cultivo de microorganismos, para los cuales el alto contenido de cloruro de sodio no resulta inhibitorio. Es un ingrediente fundamental de los medios Caldo y Agar de Mueller-Hinton.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 7.0
Nitrógeno amínico	≥ 5.0
pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

HIDROLIZADO ÁCIDO DE CASEÍNA C

CÓDIGO: 4115

Descripción

Base nutritiva obtenida mediante la hidrólisis de la caseína con ácido clorhídrico. Puede utilizarse en medios para el cultivo de microorganismos donde el alto contenido de sal no interfiere.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 7.0
Nitrógeno amínico	≥ 4.8
pH (solución al 2 %)	4.0 - 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

LECHE PEPTONIZADA

CÓDIGO: 4189

Descripción

Digerido pancreático de leche en polvo descremada. Puede ser empleado solo o en combinación con otros ingredientes en medios para el aislamiento de *Lactobacillus* y análisis bacteriológico de productos alimenticios.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 5.0
Nitrógeno amínico	≥ 1.8
pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA BACTERIOLÓGICA

CÓDIGO: 4116

Descripción

Digerido enzimático de tejido animal empleado en una amplia gama de medios de cultivo. Puede utilizarse en el diagnóstico de rutina, para las investigaciones en bacteriología y en medios industriales para la fabricación de vacunas y otros productos biológicos

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 11.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.0
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA BACTERIOLÓGICA Z

CÓDIGO: 4038

Descripción

Digerido enzimático de tejido animal empleado como peptona bacteriológica en medios para el diagnóstico de rutina y para investigaciones en bacteriología. Puede utilizarse en medios industriales para la fabricación de vacunas y otros productos biológicos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 11.5
Nitrógeno amínico	≥ 2.6
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA BACTERIOLÓGICA P

CÓDIGO: 4287

Descripción

Digerido pancreático de tejido animal empleado en medios de cultivo para el diagnóstico de rutina y para investigaciones en bacteriología. Por su elevado grado de hidrólisis puede utilizarse para el cultivo de microorganismos exigentes.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 10.0
Nitrógeno amínico	≥ 3.5
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA BACTERIOLÓGICA S

CÓDIGO: 4039

Descripción

Digerido enzimático de proteínas de origen animal empleado conjuntamente con otras bases nutritivas en la confección de medios de cultivo. Se ha usado satisfactoriamente en calidad de proteosa peptona en amplia gama de medios de cultivo.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 12.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.3
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA C

CÓDIGO: 4042

Descripción

Digerido enzimático de tejido animal empleado en calidad de peptona bacteriológica. Se utiliza en medios para el diagnóstico de rutina, investigaciones en bacteriología, fabricación de vacunas y otros productos biológicos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 13.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.5
pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA DE GELATINA

CÓDIGO: 4041

Descripción

Digerido enzimático de gelatina caracterizado por la ausencia de carbohidratos en su composición y por su bajo contenido de cistina y triptófano. Puede ser empleada como única base nutritiva en medios para el cultivo de microorganismos exigentes.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 15.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.5
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA DE SOYA

CÓDIGO: 4040

Descripción

Base nutritiva obtenida mediante la hidrólisis de la harina de soya con papaína. Se caracteriza por su alto contenido de carbohi-
dratos y vitaminas, por lo que su empleo permite el crecimiento abundante de las bacterias más exigentes y de los hongos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 8.0
Nitrógeno amínico	≥ 1.4
pH (solución al 2 %)	7.0

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA ESPECIAL

CÓDIGO: 4113

Descripción

Mezcla de peptonas destinada a la promoción del crecimiento de diferentes especies de microorganismos. Puede utilizarse para
el cultivo de la mayoría de los microorganismos exigentes.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 11.2
Nitrógeno amínico	≥ 3.5
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PEPTONA MICOLÓGICA

CÓDIGO: 4262

Descripción

Base nutritiva especialmente diseñada para el cultivo de hongos patógenos y saprófitos. Garantiza un crecimiento característico de hongos patógenos y no patógenos en medios sólidos.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 9.5
Nitrógeno amínico	≥ 2.7
pH (solución al 2 %)	5.0 – 5.7

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

PROTEOSA PEPTONA

CÓDIGO: 4118

Descripción

Peptona de alto valor nutritivo utilizada como sustrato para el cultivo de diferentes bacterias y la producción de toxinas. Puede utilizarse en medios para el cultivo de *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Pasteurella* y *Corynebacterium*.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 11.0
Nitrógeno amínico	≥ 2.3
pH (solución al 2 %)	6.5 – 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

TRIPTONA

CÓDIGO: 4045

Descripción

Digerido pancreático de caseína, utilizado como ingrediente en medios de cultivo en microbiología. Puede ser empleada en medios para la detección de la producción de indol, la diferenciación de microorganismos por su capacidad de fermentar los carbohidratos, ensayos de esterilidad, análisis de antimicrobianos, análisis bacteriológico de alimentos y aguas.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 11.5
Nitrógeno amínico	≥ 4.3

pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5
----------------------	-----------

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

TRIPTONA C

CÓDIGO: 4117

Descripción

Digerido enzimático de caseína, utilizado como ingrediente en medios de cultivo en microbiología. Puede ser empleada en medios para la detección de la producción de indol, ensayos de esterilidad, análisis de antimicrobianos y para el cultivo de microorganismos exigentes.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 10.0
Nitrógeno amínico	≥ 3.1

pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5
----------------------	-----------

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

TRIPTOSA

CÓDIGO: 4286

Descripción

Mezcla de bases nutritivas, con un alto contenido de hidrolizado pancreático de caseína. Es adecuada para el cultivo de microorganismos exigentes, como ciertas especies de *Brucella* y *Streptococcus*, así como para la preparación del medio Agar Sangre.

Análisis típico	%, p/p
Pérdida por desecación	≤ 7.0
Nitrógeno total	≥ 10.0
Nitrógeno amínico	≥ 4.0
pH (solución al 2 %)	6.5 - 7.5

Almacenamiento

- Base deshidratada: de 15 a 30 °C

OTROS INGREDIENTES
DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

AGAR BACTERIOLÓGICO A

CÓDIGO: 4036

Descripción

Agar de propósito general empleado como agente gelificante para la preparación de medios de cultivo. Se recomienda su empleo en medios de cultivo que no requieren de una claridad y compatibilidad extremas.

Análisis típico

Pérdida por desecación, % (p/p)	≤12.0
pH (solución al 1,5 %)	6.5 ± 0.6

Almacenamiento

- A temperatura de 15 a 30 °C

AGAR E

CÓDIGO: 4146

Descripción

Agar extraduro. Se recomienda para el cultivo de plantas “in vitro” y para aquellas aplicaciones donde sea necesario obtener un soporte de gel con pequeñas cantidades de agar.

Análisis típico

Pérdida por desecación, % (p/p)	≤ 12.0
pH (solución al 1,5 %)	6.5 ± 0.6

Almacenamiento

- A temperatura de 15 a 30 °C

BILIS BACTERIOLÓGICA

CÓDIGO: 4114

Descripción

Bilis de buey purificada y deshidratada. Puede utilizarse en microbiología analítica como ingrediente de medios de cultivo.

Análisis típico

- Pérdida por desecación, %	≤ 7.0
- Contenido de ácido cólico, %	≥ 45.0
- Sustancias insolubles (en etanol al 84 %), %	≥ 0.1
- Color del polvo, %	Beige
- pH de la solución acuosa al 2 %	6.5 - 7.5
- Solubilidad en agua	Completamente soluble

Almacenamiento

- A temperatura de 20 a 25 °C.

SALES BILIARES

Cód. 4037

Descripción

Mezcla purificada y deshidratada de sales biliares. Se recomienda como agente selectivo inhibidor para el aislamiento de microorganismos Gram-negativos en los medios de cultivo.

Análisis típico

Pérdida por desecación, % (p/p)	≤ 7
pH (solución al 2 %)	5.8 – 7.5

Almacenamiento

- Mezcla de sales biliares deshidratada: de 20 a 25 °C

SUPLEMENTOS PARA
EL ENRIQUECIMIENTO DE MEDIOS

SOLUCIÓN DE UREA ESTÉRIL AL 40 %

CÓDIGO: 4050

Descripción

Solución de urea esterilizada por filtración para su adición en medios de cultivo.

Análisis típico

- Contenido de urea, %	40 ± 2
- Apariencia	Transparente, sin presencia de partículas

Almacenamiento

- A temperatura de 2 a 8 °C.

SUPLEMENTO LÍQUIDO PLG

CÓDIGO: 4261

Descripción

Suplemento líquido para medios cromogénicos BioCen que incluyen dentro de sus principios de identificación de su metabolización.

Análisis típico

- | | |
|----------------------|--|
| - Apariencia y color | Incoloro, transparente, sin presencia de partículas |
| - Volumen | No menor del volumen declarado en la etiqueta (5 mL) |

Almacenamiento

- A temperatura de 15 a 30 °C.

SUPLEMENTO GLICEROL

CÓDIGO: 4448

Descripción

Suplemento líquido para medios de cultivo.

Análisis típico

- | | |
|----------------------|--|
| - Apariencia y color | Incoloro, transparente |
| - Volumen | No menor del volumen declarado en la etiqueta (5 mL) |

Almacenamiento

- A temperatura de 15 a 30 °C.

REACTIVOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

—

Reactivo de Kovac

CÓDIGO: 4456

Descripción

Reactivo líquido para la prueba de indol.

Fórmula	por/L
4-dimetil-amino-benzaldehído	50 g
Alcohol n-amílico	750 mL
Ácido clorhídrico concentrado 37 %	250 mL

Descripción

El reactivo de Kovac es un producto diseñado para uso microbiológico con el objetivo de revelar la actividad triptofanasa presente en algunas especies de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Staphylococcus*, entre otros.

La prueba de indol está basada en la formación de un complejo rojo cuando el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Este es el principio activo del reactivo de Kovac. El medio de cultivo utilizado debe ser rico en triptofano.

El reactivo es inflamable, nocivo por ingestión, irrita las vías respiratorias y la piel. La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo. Presenta riesgo de lesiones oculares graves. Para manipular el reactivo, tome las medidas de protección necesarias. Mantenga el frasco bien cerrado. Deseche el reactivo de forma segura y adecuada. Aléjalo de temperaturas altas debido a que es inflamable.

Análisis típico

- Apariencia y color	Diferentes tonalidades de amarillo
- Volumen	No menor del volumen declarado en la etiqueta (50 mL)

Microorganismo de ensayo	Color del halo después de adicionar 0,5 mL (10 gotas) del reactivo a un cultivo a partir de 10 a 100 UCF en Agua Triptona	Tiempo de lectura del resultado	Método de ensayo
CONTROL POSITIVO C- <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Rojos	30 seg	Inspección visual
CONTROL NEGATIVO D- <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Incoloro o amarillo	30 seg	

Almacenamiento

Mantener el envase herméticamente cerrado en lugar seco, protegido de la luz, a temperatura de 2 a 8 °C.

ÍNDICE DE PRODUCTOS

—

Medios de Cultivo BioCen Deshidratados

No.	Producto	Código	Página
1.	Agar Azul Bromotimol Lactosa	4380	47
2.	Agar Bilis Esculina	4468	48
3.	Agar Bilis Esculina Azida	4457	50
4.	Agar Cerebro Corazón	4169	52
5.	Agar Cistina Tripticasa	4494	54
6.	Agar Citrato de Simmons	4008	55
7.	Agar de Czapek-Dox (Modificado)	4055	57
8.	Agar de Littman con Bilis de Buey	4215	59
9.	Agar de MacConkey	4014	61
10.	Agar de MacConkey con Sorbitol	4213	63
11.	Agar de MacConkey sin Cristal Violeta ni Sal	4214	65
12.	Agar de Mueller-Hinton	4013	67
13.	Agar Desoxicolato	4002	69
14.	Agar Desoxicolato y Citrato	4168	71
15.	Agar Dextrosa de Sabouraud	4018	73
16.	Agar Dextrosa Sabouraud de Emmons	4396	75
17.	Agar Dextrosa y Triptona	4101	76
18.	Agar Entérico de Hektoen	4216	78
19.	Agar Eosina Azul de Metileno (Modificado)	4108	80
20.	Agar Extracto de Levadura	4100	82
21.	Agar Extracto de Malta	4105	81
22.	Agar Fenilalanina	4449	84
23.	Agar Gelatina	4363	86
24.	Agar Hierro de Kligler	4012	88
25.	Agar Leche	4165	90
26.	Agar Lisina y Hierro	4010	91
27.	Agar Malta	4015	93
28.	Agar Maltosa de Sabouraud	4056	95
29.	Agar Manitol Salado	4104	97
30.	Agar Nutriente	4009	99

No.	Producto	Código	Página
31.	Agar Papa y Dextrosa	4017	101
32.	Agar para Conteo en Placas	4003	103
33.	Agar S.S.	4021	105
34.	Agar S.S. (Modificado)	4209	107
35.	Agar Slanetz y Bartley	4458	108
36.	Agar Sulfito Bismuto	4171	110
37.	Agar Tres Azúcares y Hierro	4004	112
38.	Agar Triptona Glucosa Extracto	4167	115
39.	Agar Triptona Soya	4019	117
40.	Agar Verde Brillante	4103	119
41.	Agar Verde Brillante Modificado	4368	121
42.	Agar Violeta Rojo Bilis	4011	123
43.	Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa	4382	125
44.	Agar X.L.D.	4217	127
45.	Agua de Peptona Buferada	4222	129
46.	Agua Peptona	4455	130
47.	Agua Triptona	4164	131
48.	Base de Agar Baird-Parker	4221	133
49.	Base de Agar Bordet-Gengou	4006	135
50.	Base de Agar Cetrimida	4220	137
51.	Base de Agar Endo	4007	139
52.	Base de Agar GC	4020	141
53.	Base de Agar MRS	4219	143
54.	Base de Agar para Bacillus cereus	4351	145
55.	Base de Agar Sangre	4005	147
56.	Base de Agar Sangre Columbia	4059	149
57.	Base de Agar Selectivo para Yersinia	4218	151
58.	Base de Agar Urea	4058	153
59.	Base de Caldo MRS	4172	155
60.	Base de Caldo Rojo Fenol	4031	157
61.	Base de Caldo Selenito	4026	159
62.	Base de Caldo Tetrionato	4106	161
63.	Base de Caldo Urea	4179	163

No.	Producto	Código	Página
64.	Base de Medio Brucella	4060	165
65.	Base de Medio OF	4473	167
66.	Base de Medio para Descarboxilación de Aminoácidos	4180	170
67.	Base de Medio para la Prueba de Asimilación de Carbohidratos	4484	172
68.	Base de Medio para Leptospira F	4183	175
69.	Caldo Asparagina	4379	176
70.	Caldo Azida Dextrosa	4499	177
71.	Caldo Bilis Verde Brillante	4029	179
72.	Caldo Brucella	4182	181
73.	Caldo Cerebro Corazón	4035	183
74.	Caldo Corazón	4027	185
75.	Caldo de Czapek-Dox (Modificado)	4054	186
76.	Caldo de Mueller-Hinton	4030	187
77.	Caldo EC	4223	189
78.	Caldo EC con MUG	4454	191
79.	Caldo Etil Violeta Azida	4489	193
80.	Caldo Extracto de Malta	4170	195
81.	Caldo GN	4280	196
82.	Caldo Lactosado	4028	198
83.	Caldo Lauril Triptosa	4224	200
84.	Caldo Lisina para Descarboxilasa	4034	202
85.	Caldo Malonato Fenilalanina	4383	205
86.	Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato-Novobiocina	4588	207
87.	Caldo Nitrato	4511	209
88.	Caldo Nutriente	4032	211
89.	Caldo Púrpura de MacConkey	4107	212
90.	Caldo Rappaport-Vassiliadis	4336	214
91.	Caldo Selenito Cistina	4581	217
92.	Caldo Triptona Soya	4033	219
93.	Caldo Triptosa Fosfato	4279	221
94.	Medio C.L.E.D.	4022	222
95.	Medio Fluido Tioglicolato (USP)	4504	224

No.	Producto	Código	Página
96.	Medio Leche de Crossley	4166	227
97.	Medio Líquido de Sabouraud	4102	229
98.	Medio MR-VP	4292	230
99.	Medio SIM	4329	232
100.	Medio T.C.B.S.	4024	234
101.	Medio Tioglicolato	4023	236
102.	Medio Transporte de Cary-Blair	4525	238
103.	Medio Transporte de Stuart (Modificado)	4025	241

Medios de Cultivo BioCen para la Técnica de Filtración por Membrana

No.	Producto	Código	Página
1.	Base de Agar m-Endo LES	4414	247
2.	m-Base de Medio Endo	4177	249
3.	m-Caldo Glucosa y Triptona	4175	251
4.	m-Caldo Triptona Glucosa Extracto C	4173	253
5.	m-Caldo Triptona Glucosa Extracto L	4174	254
6.	m-Medio Azida	4255	256
7.	m-Medio de Chapman	4178	258
8.	m-Medio de Sabouraud	4176	260

Medios de Cultivo BioCen Cromogénicos y Fluorogénicos

No.	Producto	Código	Página
1.	Base de Medio CromoCen AE	4524	263
2.	Base de Medio CromoCen AGN	4228	266
3.	Base de Medio CromoCen CGP	4404	270
4.	Base de Medio Cromocen CND-C	4447	274

No.	Producto	Código	Página
5.	Base de Medio Cromocen CND-F	4450	277
6.	Base de Medio CromoCen SALM	4582	280
7.	Base de Medio CromoCen SC	4226	283
8.	Base de Medio m-CromoCen AGN	4377	285
9.	Caldo CromoCen CC	4390	288
10.	Caldo CromoCen CCL	4412	290
11.	CromoCen CC	4227	293
12.	CromoCen ECCS	4293	295
13.	CromoCen ENT	4401	299
14.	Cromocen TBX	4594	301
15.	m-CromoCen CC	4378	303
16.	m-CromoCen ENT	4451	305

Medios para Hemocultivos

No.	Producto	Código	Página
1.	HemoCen Aerobio	4482	309
2.	HemoCen Aerobio Neonatal	4480	312
3.	HemoCen Aerobio Pediátrico	4481	315

Bases Nutritivas BioCen Deshidratadas

No.	Producto	Código	Página
1.	Extracto de Carne	4049	321
2.	Extracto de Cerebro y Corazón	4140	322
3.	Extracto de Levadura C	4051	323
4.	Extracto de Levadura S	4354	324
5.	Hidrolizado Ácido de Caseína	4046	325
6.	Hidrolizado Acido de Caseína C	4115	326
7.	Leche Peptonizada	4189	327
8.	Peptona Bacteriológica	4116	328
9.	Peptona Bacteriológica Z	4038	329

No.	Producto	Código	Página
10.	Peptona Bacteriológica P	4287	330
11.	Peptona Bacteriológica S	4039	331
12.	Peptona C	4042	332
13.	Peptona de Gelatina	4041	333
14.	Peptona de Soya	4040	334
15.	Peptona Especial	4113	335
16.	Peptona Micológica	4262	336
17.	Proteosa Peptona	4118	337
18.	Tryptona	4045	338
19.	Tryptona C	4117	339
20.	Tryptosa	4286	340

Otros Ingredientes de los Medios de Cultivo

No.	Producto	Código	Página
1.	Agar Bacteriológico A	4036	343
2.	Agar E	4146	344
3.	Bilis Bacteriológica	4114	345
4.	Sales Biliares	4037	346
5.	Solución de Urea Estéril al 40 %	4050	349
6.	Suplemento Líquido PLG	4448	350
7.	Suplemento Glicerol	4261	351
8.	Reactivo de Kovac	4454	355