

Especificación

Medio selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos según el método armonizado de las farmacopeas y la norma ISO 22718:2006.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botellas 125 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas 125 ml .tapón metálico- no pinchable .	12 meses	8-25°C

Composición

Composición (g/l):

Extracto de carne.....	1,000
Digerido pancreático de caseína...	5,000
Peptona de carne.....	5,000
Cloruro sódico.....	75,000
D-Manitol.....	10,000
Rojo fenol.....	0,025
Agar.....	15,000

Descripción/Técnica

Descripción:

El Agar de Manitol Hipersalino es un medio clásico para la detección y enumeración de estafilococos descrito por Chapman y adoptado por numerosos organismos oficiales. A partir de él, se han desarrollado posteriormente distintas modificaciones más o menos eficaces y diagnósticas con la misma finalidad.

Este medio aprovecha la elevada tolerancia de los estafilococos a la salinidad para utilizar el cloruro sódico como agente selectivo, ya que a la concentración empleada únicamente las bacterias halófilas y los estafilococos crecen libremente, mientras que las restantes bacterias permanecen inhibidas. También se aprovecha la correlación que existe entre la patogenia y la capacidad fermentadora del manitol entre los estafilococos para establecer un diagnóstico presuntivo. La fermentación del manitol con acúmulo de productos ácidos se manifiesta por el viraje del indicador a amarillo produciéndose un halo de ese color alrededor de las colonias presuntamente patógenas, mientras que el resto del medio permanece de color rojo anaranjado.

Técnica:

Fundir el frasco en microondas o al baño maría a 100°C.

Dispensar asépticamente en tubos o placas cuando el medio, mantenido en baño maría, esté a una temperatura de 50 °C y dejar solidificar.

No aplicar nunca calor directo, que puede afectar las propiedades fisico-químicas del medio (pH, caramelización azúcar). No recalentar innecesariamente. Puede sembrarse por cualquier método convencional: aislamiento en estria, siembra en espiral, o en profundidad.

Se recomienda un inóculo masivo en superficie y una incubación de 36 horas a 37 °C o de 3 días a 32 °C. El aspecto típico de las colonias después de una incubación adecuada es el siguiente:

- Los estafilococos presuntamente patógenos (coagulasa +) suelen ser manitol positivo y darán colonias grandes con halo amarillo.
- Los estafilococos inocuos (coagulasa -) suelen ser manitol negativo y darán colonias pequeñas sin halo ni cambio de color.

De cualquier forma la presencia de coagulasa debe comprobarse por el método clásico después de un cultivo puro en medio líquido para establecer verdaderamente su potencial patógeno.

Nota: Según la metodología escogida por el laboratorio (Farmacopeas, o Normas ISO), pueden existir ligeras variaciones en los tiempos y temperaturas de incubación.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Rojizo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Control de FertilidadFusión - Preparar placas- sembrar en productividad: rango práctico 100±20 UFC; Min. 50 UFC / 10⁴-10⁶ UFC (selectividad)

Aerobiosis. Incubación a 30-35°C. Lectura a las 18-72h

Microorganismo*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012*Stph. aureus* ATCC® 25923, WDCM 00034*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, WDCM 00032*Stph. epidermidis* ATCC® 12228, WDCM 00036**Desarrollo**

Inhibido

Bueno. Colonias blancas. Medio amarillo.

Bueno. Colonias blancas. Medio amarillo.

Escaso a bueno- Colonias blancas - medio rojo

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C v 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C.PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. Boca Raton. Fla. USA.
- CHAPMAN (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bact 50:201.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington. DC. USA.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0 (2014) 8th ed. § 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1995) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Revision A. AOAC Internacional Inc. Gaithersburg. MD. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 22718 Standard (2015) . Cosmetics - Microbiology - Detection of *Staphylococcus aureus*.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.