

# Agar Verde Brillante Modificado ISO

Cat. 1143

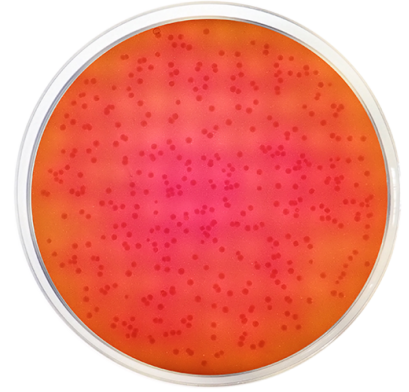
Para el aislamiento selectivo de Salmonella

## Información práctica

| Aplicaciones | Categorías |
|--------------|------------|
| Detección    | Salmonella |

Industria: Aguas de consumo / Alimentación

Regulaciones: ISO 19250 / ISO 6579



## Principios y usos

Agar Verde Brillante Modificado es un medio selectivo para el aislamiento de Salmonella, a excepción de *S. typhi*, de agua, alimentos y alimentos para animales.

Brilliant Green Agar Modified inhibe el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* e inhibe parcialmente el crecimiento de *Proteus spp.* que puede ser similar en apariencia a Salmonella.

La Salmonella puede estar presente en pequeñas cantidades y a menudo va acompañada de un número considerablemente mayor de otras Enterobacteriaceae o bacterias de otras familias. Se usa una etapa de pre enriquecimiento para permitir la detección de un número bajo de Salmonella o Salmonella lesionada.

El extracto de carne de vaca, la peptona de caseína y la peptona de carne proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B, esencial para el crecimiento bacteriano. La lactosa y la sacarosa son los carbohidratos fermentables que proporcionan carbono y energía. El rojo fenol es el indicador de pH. El verde brillante inhibe las bacterias Gram-positivas y la mayoría de Gram-negativas, excepto Salmonella. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

La norma ISO 6579 recomienda el Agar Brillante Verde como segundo medio selectivo.

## Fórmula en g/L

|                     |       |                      |      |
|---------------------|-------|----------------------|------|
| Agar bacteriológico | 15    | Extracto de carne    | 5    |
| Verde brillante     | 0,005 | Peptona de caseína   | 5    |
| Fosfato disódico    | 1     | Lactosa              | 10   |
| Peptona de carne    | 5     | Rojo fenol           | 0,09 |
| Sacarosa            | 10    | Extracto de levadura | 3    |
| Fosfato monosódico  | 0,6   |                      |      |

## Preparación

Suspender 54,7 gramos del medio deshidratado en un litro de agua destilada y dejarlo durante 15 minutos. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta disolver por completo. EVITAR EL SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR. Dispensar en recipientes apropiados.

## Instrucciones de uso

\* Para la detección de Salmonella spp. en alimentos, alimentos para animales, heces de animales y muestras ambientales:

- Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 34-38 °C durante 18 h.

- Enriquecimiento en / en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de pre-enriquecimiento, El Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) o en el Medio Semisólido Rappaport Vassiliadis Modificado (MSRV) (Cat. 1376), y el Caldo Tetratonato (Muller-Kauffmann) (Cat. 1173).

El Caldo Soja Rappaport y el Medio Semisólido Rappaport Modificado se incuban a 41,5 °C durante 24 h, y el caldo de tetraetio a 37 °C durante 24 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agares de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Agar cromogénico de Salmonella (Cat. 1122), Agar Verde Brillante (Cat. 1143), Agar Bismuto Sulfito (Cat. 1011), Agar DCLS (Cat. 1045), Agar Citrato Desoxicolato (Cat. 1067), Agar Hektoen Entérico (Cat. 1030), Agar Salmonella Shigella (Cat. 1064) y Agar XLT4 (Cat. 1159)).

Incubar las placas de XLD invertidas a 37 ° C durante 24 ± 3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de Salmonella y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

\* Para la detección de Salmonella spp. en muestras de agua:

- Preenriquecimiento en medio no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 36±2 °C durante 18±2 h.

- Enriquecimiento en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de preenriquecimiento, el Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) y el Caldo Tetratonato (Muller-Kauffmann) (Cat. 1173).

El caldo Soja Rappaport se incuba a 41,5±1 °C y el caldo Tetraetionato a 37±1 °C, ambos durante 24±3 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agar de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Por ejemplo, Agar Brillante Verde (Cat. 1143) o Agar Sulfito Bismuto (Cat. 1011))

Incubar las placas XLD invertidas a 36 ± 2 °C durante 24 ± 3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de Salmonella y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

## Control de calidad

| Solubilidad | Apariencia | Color del medio deshidratado | Color del medio preparado | Final pH (25°C) |
|-------------|------------|------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Sin restos  | Polvo fino | Rojo                         | Rojo                      | 6,9 ± 0,2       |

## Test microbiológico

Condiciones incubación: (37±1 °C / 24±3 h)

Condiciones inoculación: Productividad cualitativa (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU) / Selectividad ( 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU) / Especificidad ( 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU)

| Microrganismos                    | Especificación                | Reacción característica                        |
|-----------------------------------|-------------------------------|--|
| Salmonella enteritidis ATCC 13076 | Buen crecimiento              | Colonias rojas rodeadas de un halo rojo difuso |
| Salmonella typhimurium ATCC 14028 | Buen crecimiento              | Colonias rojas rodeadas de un halo difuso rojo |
| Salmonella typhi ATCC 19430       | Crecimiento Inhibido-Moderado | Colonias rojas                                 |
| Escherichia coli ATCC 25922       | Crecimiento Inhibido-Moderado | Colonias verde amarillas                       |
| Staphylococcus aureus ATCC 25923  | Crecimiento inhibido          |  |

## Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

## Bibliografía

UNE-EN-ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of Salmonella spp.

ISO 19250 Water quality — Detection of Salmonella spp.