

Especificación

Medio selectivo para el aislamiento de estafilococos patógenos según el método armonizado de las farmacopeas y muestras clínicas.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botellas 125 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón plástico con rosca.	12 meses	2-25 °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.

Instrucciones de Uso:

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

Dispensar asépticamente 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 físico-químicas del medio (pH, caramelización azúcar). No re-calentar 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 30-35 °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 inoocuos (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: De acuerdo con la metodología elegida por el laboratorio (farmacopeas u otras normas internacionales), puede haber ligeras variaciones en los tiempos y temperaturas de incubación, así como la inhibición de *E. coli*, que puede variar según la población bacteriana inoculada. Este medio normalmente puede reducir la carga bacteriana hasta 3 logaritmos decimales.

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro. No reutilizar. Para uso por parte de personal de laboratorio debidamente formado.

No utilizar el producto si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Rojizo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Fusión - Preparación Placas - Método según Farm. Eur.

Inocular 10-100 UFC s. métodos y monografías armonizados en Farmacopea, o con 100-1000 UFC para Selectividad.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

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

Control microbiológico según ISO 11133:2014/ A1:2018; A2: 2020.

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 (≥ 50%). Colonias blancas. Medio amarillo

Bueno (≥ 50%). Colonias blancas. Medio amarillo

Escaso a bueno- Colonias blancas - medio rojo

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h 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 11.0 (2023) 11th 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.