

Especificación

Medio de cultivo sólido, diferencial y selectivo, utilizado para la detección de *Leuconostoc spp* en iniciadores de fermentación de microbiota mixta.

Presentación

10 Frascos
Botellas 250 ml
con: 200 ± 5 ml

Encajado

1 caja con 10 botellas de 250 ml. Tapón inyectable:
tapón plástico con rosca. No se recomienda la
utilización de jeringas con agujas de diámetro
superior a 0,8 mm.

Caducidad Almacenamiento

12 meses 8-25 °C

Composición

Composición (g/l):

Peptona.....	10,000
Extracto de levadura.....	5,000
Gelatina.....	2,5000
Sacarosa.....	100,000
Dextrosa.....	5,000
Citrato de sodio.....	1,000
Azida de sodio.....	0,075
Agar.....	15,000

Descripción/Técnica

Descripción:

Este medio diferencial y selectivo para *Leuconostoc* fue descrito originalmente en 1961 por Mayeux, y posteriormente fue modificado por el mismo autor y sus colaboradores a la actual formulación que permite una separación muy específica de microorganismos en iniciadores de fermentación láctica con microbiota mixta.

La presencia de citrato, glucosa y gelatina ayuda al crecimiento de *Leuconostoc*, y la gran cantidad de sacarosa permite una abundante producción de dextranos por parte de *L. dextranicum*. La azida sódica evita el crecimiento de microorganismos no deseados y, al mismo tiempo, obstaculiza el desarrollo colonial de los estreptococos lácticos.

Algunos autores afirman que la adición de pequeñas cantidades (15 mcg/mL) de tetraciclina o vancomicina produce la total inhibición de los estreptococos lácticos sin afectar el crecimiento de *Leuconostoc*.

Técnica:

Fundir el frasco al baño María a 100 °C. No sobrecalentar el medio una vez fundido.

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

Las placas controladas se inoculan por siembra superficial y luego se incuban a 22 ± 1°C durante 4 días. La mayoría de las cepas de *Streptococcus lactis*, *S. cremoris* y *S. diacetylactis* no crecen o lo hacen justo después del tercer día y en estos casos, sus colonias son pequeñas, opacas y de color crema o amarillo.

Las colonias de *Leuconostoc* tienen un crecimiento mayor y más temprano. *Leuconostoc citrovorum* y *L. kefir* producen colonias pequeñas, de 0,5 a 2 mm de diámetro, translúcidas e iridiscentes. *L. cremoris* produce colonias muy semejantes pero con un toque de color azul.

L. dextranicum produce colonias grandes (1-5 mm Ø), incoloras, transparentes y con consistencia mucosa o gelatinosa.

Cada laboratorio evaluará los resultados de acuerdo a sus especificaciones.

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.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Marrón

pH: 6,9 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

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

Aerobiosis. Incubación a 22 °C ± 1. Lectura 48h - 4 días.

Microorganismo

Leuconostoc mesenteroides ATCC® 14935

Leuconostoc mesenteroides ATCC® 19255

Str. thermophilus ATCC® 19258, WDCM 00134

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Desarrollo

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Inhibido

Inhibido

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

- ALVARADO-RIVAS, C., Z. CHACÓN-RUEDA, J. OTONIEL-ROJAS, B. GUERRERO-CÁRDENAS & G. LÓPEZ-CORCUERA (2007) Isolation, Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Venezuelan Artisanal Andino Smoked Cheese and their Use as Starter. Rev. Científica FCV-LUZ XVIII:3:301-308
- BENKERROUM, N., M. MISBAH, W. E. SANDINE, & A. T. ELARAKI (1993) Development and Use of a Selective Medium for Isolation of *Leuconostoc* spp. from Vegetables and Dairy Products Appl. Environm. Microbiol. 59:2:607-609
- CUERVO-MULET, R. A., J. A. LEDESMA, J. A. DURAN-VANEGAS & F. E. ARGOTE-VEGA (2010) Isolation and Microbiological Control of *Leuconostoc mesenteroides* in to sugar refinery to optimize the performance of sugar and ethanol. Rev. Científica FCA-USB (Cali, Colombia) 8:2:31-41
- FIL-IDF Standard 149A:1997 Levains lactiques de cultures de bacteries lactiques: Norme de composition. · MATHOT, A. G., M. KIHAL, H. P. PREVOST & C. DIVIES (1994) Selective enumeration of *Leuconostoc* on vancomycin media. Intl. Dairy J. 4:459-469
- MAYEUX, J. V., & A. R. COLMER (1961) Selective Medium For *Leuconostoc* Detection. J. Bacteriol. 81:1009-1010
- MAYEUX, J. V., W. E. SANDINE & P. R. ELLIKER (1962) A Selective Medium for Detecting *Leuconostoc* in mixed-strain starter cultures J. Dairy Sci. 45:655-656.
- PEARCE, L. E. & A. C. HALLIGAN (1978) Cultural Characteristics of *Leuconostoc* Strains from cheese starters pg 520-521 in Congrilaite 20th International Dairy Congress. Paris. France