

**Especificación**

Medio líquido para la recuperación y enumeración de pequeñas poblaciones de estafilococos coagulasa-positivos en alimentos, de acuerdo a las normas ISO, FIL-IDF y EN-ISO.

**Fórmula \* en g/L**

Triptona.....	10,0
Extracto de carne.....	5,0
Extracto de levadura.....	5,0
Cloruro de litio.....	5,0
D-Manitol.....	20,0
Cloruro sódico.....	5,0
Glicina.....	1,2
Piruvato sódico.....	3,0
Polisorbato 80.....	1,0

pH final a 25°C, 6,9 ±0,2

\*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

**Reconstitución**

Disolver 55,2 g del polvo en 1 L de agua destilada. El medio puede prepararse a concentración simple o doble usando doble cantidad del polvo. Distribuir en tubos a razón de 10 mL/tubo (concentración simple) o 20 mL/tubo (concentración doble) y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C. Dejar enfriar y añadir la Solución Estéril al 1% de Telurito Potásico (Ref. 06-089), dosificando 0,1 mL/tubo para la concentración simple y 0,2 mL/tubo para la concentración doble.

**Descripción**

Este medio de enriquecimiento selectivo para estafilococos, formulado por Giolitti y Cantoni en 1966, basa su eficacia en la acción combinada del piruvato, la glicina y la alta concentración de manitol que favorecen el crecimiento, mientras que el cloruro de litio inhibe el desarrollo de las bacterias Gram negativas y el telurito impide el crecimiento de las Gram positivas que no son capaces de reducirlo. La adición del Polisorbato 80 es necesaria para recuperación de los *Staphylococcus aureus* y las condiciones anaeróbicas reprimen el crecimiento de los micrococos y favorecen a los estafilococos. Generalmente, el crecimiento de estos últimos se puede reconocer por un ennegrecimiento del medio o la aparición de precipitados negros debidos a la reducción del telurito a telurio metal.

El medio basal preparado, sin la adición del telurito, se mantiene eficaz durante 1-2 semanas, pero debe usarse el mismo día que se añade el inhibidor. En cualquier caso es recomendable que antes de la adición del telurito, el medio basal almacenado se someta unos minutos a la acción del baño maría para eliminar el aire que pueda haber incorporado.

### Técnica

Para productos específicos se recomienda seguir los protocolos normalizados (Alimentos y piensos, norma EN-ISO 6888-3:2003; leche y productos lácteos normas FIL-IDF 60:2001 y ISO 59-449), sin embargo, como pauta general se sugiere la siguiente:

Utilizar un macerado del alimento o sus diluciones decimales e inocular 1 mL a los tubos de medio a concentración simple. Si se quiere rebajar el límite de detección se pueden inocular 10 mL de la muestra a examinar, si es líquida o de la primera dilución si no lo es, a los tubos de concentración doble. El procedimiento de enumeración por el NMP como mínimo tres tubos de por lo menos tres diluciones sucesivas. Si no se dispone de jarra de anaerobiosis se recomienda cubrir la superficie del medio con vaselina estéril (Ref. 06-077) o vaspar. La incubación debe hacerse en anaerobiosis, a 37°C durante 24-48 horas.

A las 24 horas se examinan los tubos y, a partir de todos aquellos que manifiesten ennegrecimiento o precipitados negros, se subcultivan sobre Agar de Baird-Parker (Ref. 01-030). Los tubos restantes se incuban durante otras 24 horas y pasado este tiempo se subcultivan sobre Agar Baird-Parker todos los que hayan manifestado crecimiento, sin considerar ennegrecimientos o precipitados.

Para la enumeración de estafilococos por el método del Número Más Probable, todos los tubos con crecimiento se consideran presuntamente positivos y se confirmarán como verdaderamente positivos sólo aquellos que den positiva la prueba de la coagulasa.

### Control de calidad

**Temperatura de incubación:** 35°C ±2,0

**Tiempo de incubación :** 24-48 h

**Inóculo:** 10-100 UFC (Productividad) // 1.000-10.000 UFC (Selectividad). (ISO/TS 11133-1/2)

#### Microorganismo

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538

*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

*Escherichia coli* ATCC 8739

*Bacillus subtilis* ATCC 6633

#### Crecimiento

Bueno

Bueno

Pobre

Inhibido

Inhibido

#### Observaciones

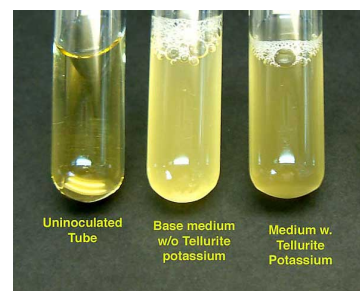
Precipitado negro a 48 h

Precipitado negro a 48 h

-

-

-



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
*Staphylococcus aureus* ATCC 6538  
 48h

---

**Bibliografía**

- CHOPIN, A. *et al.* (1985) ICMSF Methods Studies XV. Comparison of four media and methods for enumerating *Staphylococcus aureus* in powdered milk. J. Food Protect. 48:21-27.
- EN-ISO 6888-3 Standard (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coagulase positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 3: Detection and MPN technique for low numbers.
- FIL-IDF (2001) Milk and milk based Products. Detection of coagulase-positive staphylococci. MPN technique. Standard 60:2001. Brussels.
- GIOLITTI, G. A. CANTONI, C. (1966) A medium for the isolation of staphylococci from foodstuffs. J.Appl. Bact. 29, 395-398.
- HARRIGAN, WF. & McCANCE, M.E. (1976) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press. London.
- ISO 5944 Standard (2001) Milk and milk based Products. Detection of coagulase-positive staphylococci. MPN technique.
- ISO/TS 11133-1: 2009. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
- ISO/TS 11133-2: 2003 Corr. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs.- Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.

**Almacenamiento**

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).