

Agar Verde Brillante Modificado ISO

Cat. 1143

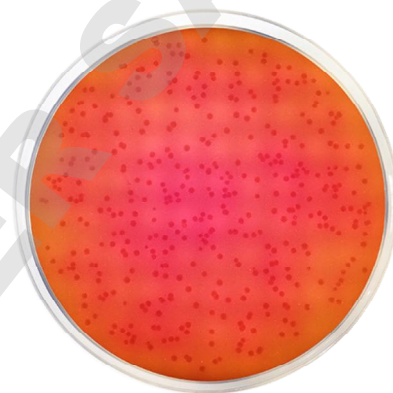
Para el aislamiento selectivo de Salmonella

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Detección	Salmonella

Industria: Aguas de consumo / Alimentación

Regulaciones: ISO 19250 / ISO 6579



Principios y usos

El 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.

Este medio 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. Si el medio se sobrecalienta, el verde brillante puede perder sus propiedades. 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. Esterilizar a 115 °C durante 15 minutos. 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 tetrato 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 incubaba 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 (10³-10⁴ CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU) / Especificidad (10³-10⁴ 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.