

Agar Chapman Stone

Cat. 1017

Medio selectivo y diferencial para el aislamiento de estafilococos patógenos en alimentos

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Diferenciación	Staphylococcus

Industria: Alimentación

Principios y usos

Champan Stone Agar se utiliza para el aislamiento de estafilococos patógenos en alimentos. Es un medio similar al Agar Estafilococos N°10 (Cat. 1032), pero contiene sulfato de amonio para detectar la actividad de la gelatinasa (reacción de Stone), y la concentración de cloruro de sodio se reduce al 5,5%.

La principal modificación es la inclusión de sulfato de amonio en el medio, que permite la observación directa de la hidrólisis de la gelatina en lugar de agregar reactivos al medio ya en la placa. Debido a la presencia de sulfato de amonio en el medio en sí, no hay necesidad de inundar la placa con la solución de amonio para detectar la licuefacción de gelatina (método de Stone). El sulfato de amonio precipita la gelatina no hidrolizada, por lo que aparecerá un halo transparente alrededor de las colonias gelatinasa (+).

La peptona de caseína proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. D-Manitol es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. El cloruro de sodio, en altas concentraciones, inhibe la mayoría de las bacterias, excepto los estafilococos. La gelatina es una proteína derivada de la hidrólisis del colágeno, que se encuentra abundantemente en los huesos, la piel, los tendones, el cartilago y el tejido animal. Se utiliza en medios de cultivo para determinar la capacidad de las bacterias de lisar la gelatina. Las gelatinasas producidas por los microorganismos hidrolizan la gelatina licuando un medio sólido o impidiendo la gelificación de un medio que contiene gelatina. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Las colonias estafilocócicas son de color amarillo, amarillo-dorado o naranja, fermentan el manitol, son coagulasa positivas, producen β -hemólisis en medios como el Agar Sangre (Cat. 1108) y son positivas a la gelatinasa (reacción de Stone positiva). Cualquier colonia pigmentada (amarilla o naranja suave) que esté rodeada por una zona clara, es probablemente un estafilococo patógeno. Las colonias pálidas, que carecen prácticamente de color o que no producen pigmento, no deben considerarse positivas, incluso si están rodeadas por una zona clara (halo), y se identifican como presuntas colonias de *S. epidermidis*.

Se recomienda recoger la colonia e inocularla en 0,1-0,2 ml de Caldo Infusión Cerebro Corazón (Cat. 1400) y realizar la prueba de coagulasa. Al mismo tiempo, agregar una gota de púrpura de bromocresol a la colonia para determinar la fermentación del manitol: el color amarillo indica una reacción positiva. Los halos claros alrededor de las colonias indican una degradación del medio por la enzima gelatinasa (hidrólisis de la gelatina).

Fórmula en g/L

Sulfato amónico	75	Agar bacteriológico	15
Peptona de caseína	10	Fosfato dipotásico	5
D-manitol	10	Gelatina	30
Cloruro sódico	55	Extracto de levadura	2,5

Preparación

Suspender 202,5 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 10 minutos. Enfriar a 50 °C, mezclar bien y distribuir en placas.

Instrucciones de uso

Método de siembra en superficie:

- En una placa de Petri, agregar 12-15 ml de agar fundido y deje que solidifique.
- Inocular 10 μ l de la suspensión inicial y / o muestra diluida.
- Extender el inóculo con asa de siembra estéril sobre la superficie del agar.
- Incubar las placas en posición invertida a una temperatura de 30 \pm 2 °C durante 18-48 horas.
- Examinar el crecimiento y la presencia o ausencia de zonas claras (halos) alrededor de las colonias.

- Para determinar la fermentación de manitol, agregar unas gotas de púrpura de bromocresol. Cualquier cambio en el color del indicador, comparado con el medio no inoculado, indica la fermentación del manitol.

Resultados previstos:

- Fermentación de manitol: Positivo = cambio en el color del indicador a amarillo. Cualquier colonia positiva a manitol, amarillas o anaranjadas rodeadas por una zona clara, se identifican como presuntos estafilococos.

- Actividad de la gelatinasa: reacción de Stone positiva = formación de zonas claras (halos) alrededor de las colonias.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige claro	Ámbar, ligeramente opalescente	7,0±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (30±2 °C / 18-48 h)

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Buen crecimiento	Manitol (-), Halo (+)
Escherichia coli ATCC 25922	Crecimiento inhibido	Manitol (-), Halo (-)
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Buen crecimiento	Manitol (+), Halo (+)

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

Chapman J. Bact. 1945. 50: 201 Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods APHA. Inc. New York 1958. Standards Methods for Examination of Dairy Products, 1st Ed. APHA. Inc. New York, 1960.