

**Especificación**

Medio de cultivo sólido y selectivo para la enumeración de estafilococos coagulasa positivos, en muestras diversas, según la norma ISO 6888-2.

**Presentación**

10 Frascos	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
Botella 125 ml con: 90 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón inyectable: tapón plástico con rosca. No se recomienda la utilización de jeringas con agujas de diámetro superior a 0,8 mm.	12 meses	8-25 °C

**Composición**

Composición (g/l):	
Peptona de caseína.....	10,0
Piruvato sódico.....	10,0
Extracto de carne.....	5,00
Extracto de levadura.....	1,00
Glicina.....	12,0
Cloruro de litio.....	5,00
Agar.....	15,0

**Descripción/Técnica**

Recoja, diluya y prepare muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, normas oficiales y / o resultados esperados.

Fundir el medio de cultivo contenido en las botellas en un baño María (100 °C) o en microondas, previamente desenroscado. No recalentar. Enfriar a 40-45°C y añadir un Vial del Suplementario RPF reconstituido estéril en agua templada (1 vial / 90 ml Base). No usar esta base con Yema de huevo + Telurito. Homogenizar y verter en placas.

Una vez solidificado en una superficie plana, sembrar las placas con cualquier método convencional (siembra estria, diluciones, método espiral, o seguir el procedimiento de la ISO).

Incubar las placas aeróbicamente a 37 ± 1°C durante 24-48 h.

Después de la incubación, enumere todas las colonias que han aparecido en la superficie del agar. *S. aureus* forma colonias negras brillantes (reducción del telurito) siempre rodeadas por un halo precipitado de fibrina.

Cada laboratorio debe evaluar los resultados de acuerdo con sus especificaciones. El aislamiento presuntivo de *S.aureus* debe confirmarse mediante pruebas microbiológicas y bioquímicas adicionales.

Calcule el recuento microbiano total por ml de la muestra multiplicando el número promedio de colonias por placa por el factor de dilución. Informe los resultados como la Unidad formadora de colonias (UFC) por ml o g junto con el tiempo de incubación y la temperatura.

**Control de Calidad**Control Físico/Químico

Color : Amarillo pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Previa adición de 1 vial de suplemento RPF

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (productividad)/ 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC(selectividad) y <100 UFC (especificidad).

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

Aerobiosis. Incubación a 37 °C ± 1, lectura a las 24-48 ± 2h

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Microorganismo

*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012

*Stph. aureus* ATCC® 25923, WDCM 00034

*Stph. saprophyticus* ATCC® 15305, WDCM 00159

*Stph. epidermidis* ATCC® 12228, WDCM 00036

Desarrollo

Inhibido

Bueno ≥ 50%. Colonias negras/grises con halo de opacidad

Colonias negras/grises sin halo de opacidad

Colonias negras/grises sin halo de opacidad

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.

Revision date: 21/05/24

## Bibliografía

- ATLAS R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. London.
- BAIRD-PARKER, A.C. (1962) An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase-positive staphylococci. J. Appl. Bact. 25:12.
- COLIPA (1997) Guidelines on Microbial Quality Management (MQM). Brussels.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4<sup>th</sup> ed. APHA. Washington. USA.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2007) 5<sup>th</sup>ed. Suppl. 5.6 § 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- FIL-IDF 60:2001 Standard. Lait et produits à base de lait - Detection des staphylocoques à coagulase positive - Technique du nombre le plus probable. Brussels.
- ISO 5944:2001 Standard. Milk and Milk based products - Detection of coagulase positive staphylococci - MPN Technique. Geneva.
- ISO 6888-1:2021 / Adm 1:2023. Standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)- Part 1 Technique using Baird-Parker Agar medium. Adment 2: Inclusion of an alternative confirmation test using RPFA stab method.
- ISO 6888-2:2021 Standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci - Part 1 Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium. Geneva.
- 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 31 - NF 26 (2008) <61> Microbial Limit Tests. US Phamacopoeial Conv. Inc. Rockville. MD. USA.
- ZANGERL, P. & H. ASPERGER (2003) Media used in the detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. In Handbook.