MANUAL MICRODIAGNOSTICA

TERCERA PARTE

TOMA DE MUESTRAS, MEDIOS DE TRANSPORTE, MEDIOS DE CULTIVO, y PRUEBAS DIFERENCIALES

INDICE:

Toma de Muestras 3
- Normas Generales 3
- Instrucciones Específicas 4
- Recomendaciones especiales 7
- Bibliografía 8

Medios de transporte 9
- *Vibrio cholerae* 10
- Conclusiones 11
- Bibliografía 11
- T'en T'-SS 13
- T'enT' 14
- Medio Stuart 15
- Medio Amies c/s carbón 16
- Cary Blair 17
- Gel/Sol Fisiológica 18
- HydraFlocked Swab 19
- Anaerolin 20
- Trans PF-Linsan 21

Los Medios de Cultivo en Microbiología 22
- Condiciones Generales para el Cultivo de MO 23
- Tipos Básicos de Medios de Cultivo 25
- La Evolución de los Medios de Cultivo 27
- Medios Cromógenos 28
- Cromo-Check 29
- Medios en Preparados en Placas Petri 30
- DuoPlate 31
- Medios para Anaerobios 32

Medios Diferenciales 33
- Utilización de Hidratos de Carbono 34
- Medio Kligler 36
- Medio TSI 37
- Medio MIO 38
- Indol 39
- Medio LIA 40
- Medio Urea Christensen 41
- Medio Citrato Simmons 42
- Tabla de Interpretación 43
- Reacciones para No Fermentadores 44
- Reacciones para Oxidativos y Fermentativos 45
- Diferenciación de Cocáceas Gram Positivas 46
- Diferenciación de Cocáceas Gram negativas 48

Medios de Cultivo en Tubos 50

Hemocultivos 51

TOMA DE MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia del agente, de productos o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmune del individuo. El diagnóstico clínico es, en muchos casos, orientador luego de evaluar los datos que ofrecen la historia clínica y la exploración pero, la confirmación de un diagnóstico clínico requiere en enfermedades infecciosas el diagnóstico etiológico que confiere el Laboratorio de Microbiología Clínica.

Toda la información diagnóstica que el laboratorio de microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Este hecho es bien conocido por los microbiólogos, no obstante la mayoría de las muestras son obtenidas por otros profesionales de la salud en diversos servicios clínicos, por lo que es necesaria la educación continua de dicho personal sanitario, al que hay que advertir del gasto inútil y el error de los datos obtenidos a partir de un estudio realizado de forma inadecuada.

Normas generales

1. Obtención de muestras:

o Deben realizarse en condiciones de máxima asepsia, evitando contaminaciones ambientales, del personal médico y del propio enfermo.
o No debe estar en contacto con sustancias desinfectantes.

2. La Orden de solicitud de examen. Precisa:

o Identificación del paciente.
o Identificación del médico.
o Datos de la muestra (hora de recogida, tipo de muestra, Diagnóstico , localización anatómica, procedimiento de obtención de la muestra).
o Determinaciones solicitadas.

3. Identificación de la muestra:

Cada muestra debe estar acompañada siempre de una orden. El paciente debe identificarse con nombre y apellidos, tipo de muestra, fecha, y hora de extracción . La orden y la muestra deberían tener etiqueta de color según su conservación:
o Rojo: en estufa.35°C
o Azul: en refrigeración a 4°C.
o Amarillo: a Temperatura ambiente.

Conservación de las muestras

o Muestras para virus: en refrigerador, salvo sangre, médula ósea, y Ag CMV.
o Muestras para hongos: en refrigerador, salvo LCR, piel, pelo, uñas, vaginal y balano-prepucial.
o Muestras para anaerobios: a Temperatura ambiente.
o Muestras para micobacterias: en refrigerador, salvo contenido gástrico.

Muestras para Bacteriología:

o A temperatura ambiente: médula ósea, líquidos estériles (pleural, peritoneal,articular,...), muestras oculares, muestras de cavidad oral, heridas, abscesos, fístulas, adenopatías, del tracto genital, y biopsias.
o En refrigerador: orinas, heces, catéteres.
o En ESTUFA: hemocultivos, LCR, placas y tubos inoculados.

Según el microorganismo a investigar:
o ANAEROBIOS: Máxima asepsia. ASPIRAR con jeringa Conservación a Tª ambiente. Enviar en AnaeroLin.
o MICOBACTERIAS: No recoger con torula. Recoger muestra de esputo . Conservar en nevera. Enviar en envases estériles de boca ancha. Rapidez en envío.
o HONGOS: ASPIRAR Y RASPAR. Conservar en refrigerador (excepto tracto genital, uñas, pelo,...). Rapidez en envío.
o VIRUS: Tomar muestras en estadio precoz. Transporte específico. Conservación en refrigerador. (HydraFlock)

Criterios de rechazo de una muestra

- Muestras sin órden o con órdenes incompletas y/o fallo de identificación de la muestra.
- Muestras derramadas, o rotas,...
- Muestra no adecuada para la prueba solicitada.
- Muestras sin medio de transporte adecuado.

Instrucciones específicas

Sangre:

Hemocultivo:

- Muestra: sangre.
- Volumen: 1:10 ml en adultos cada uno de los 2 a 3 frascos.
- Recipiente: frascos hemocultivo aerobios o Hem-total
- Consideraciones: desinfección adecuada, evitando la entrada de aire en los frascos de anaerobiosis.

Frascos hemocultivos adultos, o Frasco hemocultivo pediátrico

Para hemocultivos con sospecha de anaerobios o microorganismos fastidiosos Frasco hemocultivo Hem-Total.

Sangre para hongos levaduriformes:

- Muestra: sangre.
- Volumen: 1:10 ml por cada frasco.
- Recipiente: frascos hemocultivo aerobios .

Frascos hemocultivos adultos , o Frasco hemocultivo pediátrico

Sangre para Mycobacterias, hongos filamentosos, microorganismos de crecimiento intracelular.

Para infecciones por catéter:

Frasco transporte PE-Lin

- Muestra: sangre.
- Volumen: de 2 a 5 ml
- Recipiente: Frasco transporte PE-Lin
- Consideraciones: para hongos filamentosos, *Mycobacterium* y microorganismos de crecimiento intracelular. Para infecciones por catéter.

Especificar .mantener larga incubación., pues pueden tardar 4 semanas en crecer.

Vías respiratorias:

Nariz:

Torulin con medio de Stuart

- Muestra: frotis de fosas nasales.
- Volumen: 1 torula.
- Recipiente: medio de transporte Stuart.

Garganta:

Torulin con medio de Stuart

- Muestra: frotis de faringe posterior, de úlceras, o lesiones purulentas.
- Volumen: 1 torula
- Recipiente: medio de transporte Stuart.

Esputo:

Envase estéril de boca ancha

- Muestra: esputo (no saliva).
- Volumen: 2 ml.
- Recipiente: envase estéril de boca ancha.

Aspirado bronquial:

Envase estéril de boca ancha, o Frasco transporte PE-Lin

- Muestra: aspirado bronquial, transtraqueal o muestra de broncoscopia.
- Volumen: 1 ml.
- Recipiente: envase estéril, o Frasco de transporte PE-Lin

Heces:

Coprocultivo habitual:

Torulin con medio Cary Blair

- Muestra: muestra de heces.
- Volumen: muestra heces.
- Recipiente: Torulin con medio Cary Blair
- Consideraciones: estudio de *Salmonella, Shigella, Vibrio y Campylobacter*.

Para *Yersinia, E. coli*:

Torulin con medio Cary Blair

- Muestra: muestra de heces.
- Volumen: muestra de heces.
- Recipiente: contenedor Torulin con medio Cary Blair

Para *Aeromonas y Plesiomonas*:
Contenedor especial
• Muestra: muestra de heces.
• Volumen: 1 g de heces.
• Recipiente: contenedor especial .

Aparato génito-urinario:

Orina:
Envase estéril de boca ancha adultos, recolector para muestras pediátricas
• Muestra: micción media.
• Volumen: 0,5 ml mínimo
• Recipiente: envase estéril de boca ancha.
• Consideraciones: primera micción de la mañana., segundo chorro

Secreciones urogenitales:
Torulin con Medio Stuart o Medio Amies.
• Muestra: secreciones vaginales o uretrales, torundas de cérvix, líquido prostático,...
• Volumen: 1 torula ó 0,5 ml.
• Recipiente: medio de transporte Stuart (en muestras líquidas usa el tubo estéril , o Frasco Transporte PE-Lin).
• Consideraciones: para estudio de *Chlamydias* utilizar medio de transporte específico.
Torulin con medio de Stuart o Amies .Tubo estéril para Chlamydias, Frasco Transporte PE-Lin

Líquidos corporales, aspirados y tejidos:

LCR:
Tubos estériles , Transporte PE-Lin , o directamente la jeringa y AnaeroLin si hay sospecha de anaerobios
• Muestra: líquido cefaloraquídeo.
• Volumen: 1 ml habitualmente, ≥ 5 ml para micobacterias.
• Recipiente: tubo estéril , Transporte PE-Lin , AnaeroLin
• Consideraciones: enviar el segundo tubo de extracción.

Líquidos corporales:
Tubos estériles (aerobios) , Anaero-Lin (anaerobios) , o Frasco transporte PE-Lin (fastidiosos)
• Muestra: líquidos aspirados de forma aséptica con jeringa.
• Volumen: 1 ml.
• Recipiente: tubo estéril .(aerobios) , AnaeroLin (anaerobios) , o Frasco transporte PE-Lin (fastidiosos)

Heridas:
• Muestra: material purulento o contenido de abscesos.
• Volumen: 2 torundas ó 0,5 ml de pus aspirado.
• Recipientes:
o para estudio de aerobios: medio de transporte Stuart.,o Medio de Transporte Amies
o para estudio de anaerobios: transporte AnaeroLin
! muestras líquidas: AnaeroLIN.
! muestras sólidas: Torulin con medio de Stuart o Medio de Amies.

!muestras con terapia antibiótica : Torulin con Medio de Amies **con** Carbón Activado.

Biopsia y materiales aspirados:
• Muestra: tejido extirpado mediante cirugía, hueso,...
• Volumen: 1 ml de líquido ó 1 gr de tejido.
• Recipientes:
o para estudio de aerobios: Torulin con Medio de transporte Stuart, o Medio de transporte Amies
o para estudio de anaerobios: AnaeroLin
! muestras líquidas: AnaeroLIN.
! muestras sólidas: Torulin con medio de Stuart o Medio de Amies.
!muestras con terapia antibiótica : Torulin con Medio de Amies **con** Carbón Activado.

Recomendaciones especiales:

Hongos:
Envase estéril de boca ancha
• Muestra: pueden utilizarse las muestras antes mencionadas. El esputo y la orina deben obtenerse de la primera muestra de la mañana.
• Volumen: 1 ml o lo especificado en cada muestra. En orina se requiere más volumen.
• Recipientes: envase estéril de boca ancha.

***Mycobacterium*:**
Envase estéril boca ancha
• Muestra: esputo, tejido, orina, líquidos corporales.
• Volumen: 10 ml ó 1 gr de tejido. No usar torulas.
• Recipientes: envase estéril de boca ancha o tubo estéril
Envase estéril de boca ancha ,Tubos estériles

Legionella / S. pneumoniae/ Neisseriae/Haemophilus:
Frasco transporte PE-Lin , o Envase estéril de boca ancha (trasladar rápidamente al laboratorio)
• Muestra: muestra de LCR, orina, liquido pleural u otros fluidos corporales.
• Volumen: 1 ml.
• Recipientes: Frasco transporte PE-Lin , o envase estéril de boca ancha.
• Consideraciones: detección de Ag de *Legionella* y *Neumococo* en orina mediante técnica de cromatografía.

Anaerobios:
• Muestra: aspirados o líquidos corporales.
• Volumen: 1 ml de líquido o 2 torulas.
• Recipientes:
o muestras líquidas: frasco transporte AnaeroLin, o directamente en la jeringa
o muestras sólidas: frasco transporte AnaeroLin

Virus:
• Muestra: secreciones respiratorias, lavado de vías respiratorias, torulas nasales TM con torulas HydraFlock
vaginales y rectales, lesiones cutáneas sospechosas, heces, sangre,...
• Volumen: 1 ml de líquido, 1 torunda, ó 1 gr de heces.
• Recipientes: medio de transporte específico para virus.
• Consideraciones: para el estudio de virus en heces se usa el envase estéril de boca ancha.
Medio de transporte para virus Envase estéril de boca ancha o con medio de transporte Universal

Bibliografía

- Apédices. Instrucciones para la recogida y transporte de muestras para cultivo. En: Harrison Principios de
- Medicina Interna. Eugene Braunwald ed. 15ª ed. Madrid: McGraw Hill; 2002. p 3093-95.
- García Somoza D. Recogida, transporte y conservación de las muestras microbiológicas en atención primaria. Jano 2000; 58 (1328): 74-6.
- Gill VJ, Pedorko DP, Witebsky FG. The clinician and the microbiology laboratory. En: Gerald L.
- Mandel, John E.Benneh, Raphael Dolin ed. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia:
- Churchill Livingstone; 2000. p.185-221.
- Sánchez Carrillo C, Guerrero Gómez C. Procedimientos en microbiología clínica. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología. [Internet]. Sociedad Española de Microbiología Clínica; 2003. [Acceso 12-6-04]. Disponible en: http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap1a.pdf

MEDIOS DE TRANSPORTE

Son utilizados para asegurar la viabilidad de la bacteria sin multiplicación significativa de los microorganismos desde el momento de su extracción hasta su posterior estudio. Se utilizan generalmente cuando las muestras deben ser enviadas de un laboratorio a otro. Se recomienda un límite de 2 horas desde la recolección de las muestras y su estudio en el laboratorio, pero cuando este límite de tiempo es superado (frecuentemente cuando se trata de muestras tomadas en un consultorio). Esta demora hace necesario el uso de medios de transporte adecuados. Los medios de transporte más frecuentemente utilizados son los de Stuart, Amies y Cary - Blair.

FUNDAMENTO:

Cuando la viabilidad de las bacterias es muy escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es grande (favoreciéndose la destrucción bacteriana) y la toma no puede realizarse en el mismo laboratorio, se usarán medios de transporte. Se trata de medios, tales como el Stuart o Amies, que no son nutritivos, sino que preservan lasbacterias existentes, sobre todo si son escasas, a la vez que impiden el crecimiento exagerado de otra flora bacteriana no deseada. Estos medios existentes pueden ser para bacterias aerobias , y aunque pueden conseguir supervivencias de hasta 24 horas a temperatura ambiente, deberán enviarse también lo más rápidamente posible al laboratorio. Mención especial requiere cualquier tipo de muestras obtenidas a partir de enfermos con presumible o demostrada hepatitis vírica o SIDA, por ser infectivos no sólo el suero, sino todas las secreciones. Las muestras serán debidamente señalizadas para prevenir la posibilidad de contagio del personal, para ello, en muchos laboratorios se utilizan etiquetas de color amarillo o rojo, con el fin de hacer más visible su procedencia.
En casos de envíos por correo, siempre se seguirán las normas existentes para el transporte de productos biológicos peligrosos.

El primer medio utilizado para el transporte de muestras para estudios microbiológicos fue el medio de Stuart. En 1964 Cary y Blair describieron un nuevo medio para el transporte de muestras fecales. Tenía un bajo contenido de nutrientes, un bajo potencial de oxido-reducción y un alto pH. En los estudios de Cary y cols., Salmonella y Shigella fueron recuperadas luego de 45 días de inoculación. Otros autores han demostrado la eficacia de ese medio de transporte para estudios microbiológicos en gastroenteritis. El medio de transporte Cary-Blair, es semisólido debido a la baja concentración de agar. Tiene un mínimo aporte de nutrientes que permite la recuperación de los microorganismos sin que haya replicación. El tioglicolato de sodio se incluye para proveer un bajo potencial redox; y el pH relativamente alto minimiza la destrucción bacteriana por acidificación.

El medio de STUART modificado permite la conservación y el transporte e un gran número de microorganismos patógenos, como *Neisseria gonorrhoeae, Heamophilus influenzae, Corynebacterium diphteriae, Trichomonas vaginalis, Streptococcus sp., Salmonella sp., Shigellas sp.,* etc. Mientras que los más lábiles, los dos primeros, pueden aguantar bien 24 horas, los dos últimos pueden hacerlo durante varios días, a veces semanas. Se trata de un medio muy reducido debido a la presencia de tioglicolato que dificulta las reacciones enzimáticas de autolisado. A su vez, la ausencia de una fuente de nitrógeno evita la proliferación de la flora acompañante.

El medio de AMIES es una modificación del medio de Cary Blair, que a su vez lo es del de Stuart. Básicamente, cambia el glicerofosfato por un fosfato inorgánico y el azul de metileno por carbón vegetal neutro farmacéutico. Además, añade iones Calcio y Magnesio, que ayudan a conservar la permeabilidad de la célula bacteriana.

Permite la supervivencia de muchos microorganismos, entre los que podemos citar a *Neisseria sp., Haemophilus sp., Corynebacterium sp., Trichomonas vaginalis, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Enterobacterias, sp., etc.* .

El medio de transporte AMIES permite la supervivencia de organismos incluso hasta 48 horas. Es un medio apto para la conservación de una gran parte de patógenos como *Niisseria, Haemophilus Salmonella*, etc. Algunos microorganismos pueden resistir en el medio durante tres o más días, sin embargo, es conveniente que la muestra llegue al laboratorio antes de las 24 horas.

Vibrio Cholerae,

Vibrio cholerae, agente causal de la enfermedad del cólera es una bacteria gram-negativa que se adapta a los medios acuáticos, donde prolifera cuando ciertos factores ambientales le son favorables, pudiendo ser transmitidos hacia la población humana, ocasionando focos infecciosos según un patrón estacional . El cólera persiste en algunas regiones naturale donde *V. cholerae* Biotipo El Tor se adaptaría debido a sus características endémicas.

Cuando aparecen casos sospechosos de cólera, el agente infeccioso es identificado mediante el coprocultivo de la muestra fecal la cual debe ser adecuadamente obtenida y trasportada hacia un laboratorio referencial . El transporte de una muestra. fecal desde una zona rural hasta un laboratorio referencial puede tardar hasta dos semanas

De acuerdo a los manuales de identificación la muestra diarreica debe ser transportada solo en el medio Cary Blair . Se asegura la viabilidad de *Vibrio cholerae* durante el tiempo de transporte y de donde la bacteria pueda ser recuperada mediante coprocultivo.

La viabilidad de la bacteria permite identificar el posible primer caso de cólera que determina a su vez la ubicación del foco infeccioso donde se pueden implementar las medidas de control y la provisión de asistencia oportuna.

V. cholerae fue aislado del medio Amies sin carbón , pero su recuperación luego de quince días no es estadísticamente aceptable. Es posible que V. cholerae haya adoptado su estado viable no cultivable, el cual no es útil para el oportuno diagnóstico clínico del cólera . Por el contrario, **V. cholerae fue recuperado en el medio Amies con carbón durante sesenta días**. Dicha persistencia puede deberse a la presencia del carbón que tiene afinidad por sus compuestos orgánicos , descomponiendo las formas reducidas de oxigeno y secuestrando los radicales libres ; sin embargo, el carbón dificulta las tinciones gram.

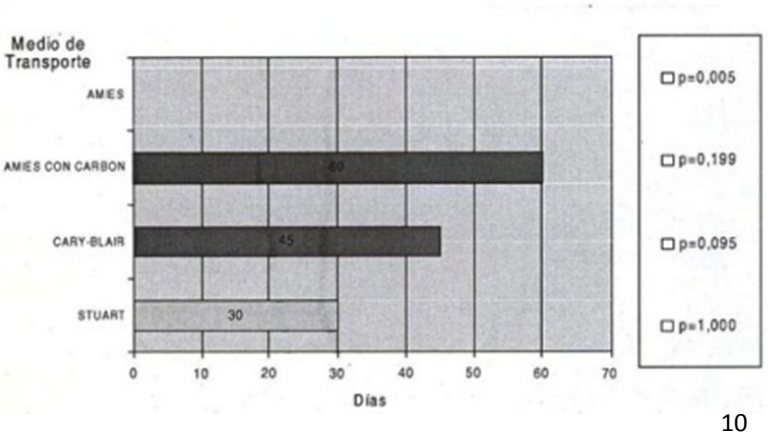
La recuperación de *V. cholerae* en el medio Stuart disminuye drásticamente después de treinta días. Se ha descrito que el medio Stuart permite el transporte de especímenes fecales debido a la presencia de una solución balanceada de sales y un amortiguador de fosfato orgánico . Es posible que la disminución de la concentración de oxigeno debido a la presencia de tioglicolato de sodio, la ausencia de cloruro de sodio y la menor oxigenación del Stuart hayan afectado a la recuperación cultivable y viable de **V. Cholerae**. Los iones sodio son necesarios para la supervivencia y el desarrollo de *V. cholerae* y la combinación de bajas concentraciones de salinidad-nutrientes afecta la recuperación de éste, logrando detectar sólo bacterias no cultivables.

En el medio Cary-Blair, *V. cholerae* tuvo un comportamiento inicial similar a los medios Stuart y Amies con carbón, manteniéndose constante hasta los treinta días, resultado reportado anteriormente **El medio Cary-Blair es recomendable para el transporte de *V. cholerae* debido a su pH alcalino (pH = 8.4) y a la presencia de cloruro de sodio** ; pero, *V. cholerae* también se establece a pH neutro como ocurre en el ambiente y como se ha podido demostrar en el presente estudio con los medios Amies con carbón y Stuart, que han sido recomendados para el transporte de las muestras, pero sólo por periodos de breves (uno o dos días), dado que aparentemente el pH de estos medios no era óptimo para V. cholerae .

1. ***V.cholerae*** **permanece viable y cultivable durante sesenta días en el medio de transporte Amies con carbón, durante cuarenta y cinco días en el medio transporte Cary Blair y durante treinta días en el medio de transporte Stuart.**

2. Los coprocultivos de las muestras transportadas por los medios evaluados deberán ser preenriquecidos en agua peptonada alcalina para asegurar la viabilidad de la bacteria.

3. *Vibrio cholerae* permanece viable y cultivable en el sistema de transporte Amies con carbón durante sesenta días y en el sistema de transporte Cary-Blair durante treinta días.



CONCLUSIONES

La sobrevivencia de las bacterias en el medio de transporte depende de muchos factores. Estos incluyen el tipo de bacteria, tiempo de transporte, temperatura de conservación, concentración de bacterias en la muestra y formulación del medio de transporte. Las muestras deben ser transportadas directamente al laboratorio y sembradas entre 24 horas. Estudios publicados han demostrado que el medio de transporte Stuart y Amies tiene la capacidad de mantener la viabilidad en una gama bacterias aeróbicas por 24 horas. Cary y Blair relatan en estudios hechos con especimenes clínicos, que se puede recuperar *Samonella y Shigella* después de conservación de temperatura ambiente por hasta 49 días. En un ensayo similar, cepas no aglutinables de Vibrión , Heiberg grupo III y IV, fueran aisladas después de 22 dias. En estudios con 162 especimenes de fecales de rutina recolectadas con el medio Cary-Blair, cepas de *Shigella* fueran recuperadas por hasta 49 días en temperatura ambiente. *Salmonella* se mantuvo aislada a pesar de la presencia *de Proteus y Pseudomonas aeruginosa*, por 45 días mínimo. En otros especímenes, los cuales no contenían estos contaminantes, *Salmonella* fue aislada hasta 62 días. *Shigella sonnei* fue recuperada hasta 34 días usando el medio Cary-Blair, ***V.cholerae*** **permanece viable y cultivable durante sesenta días en el medio de transporte Amies con carbón, durante cuarenta y cinco días en el medio transporte Cary Blair y durante treinta días en el medio de transporte Stuart.**

Neuman et al, describen que *Vibrión parahaemolyticus* sobrevive por 35 días. El medio Cary-Blair se recomienda también para el transporte de muestras en las cuales se sospecha contienen *Campylobacter jejuni*

BIBLIOGRAFÍA

- BHATTACHARYA SK, ET AL. 1992 Acute secretory traveller's diarrhoea caused by Vibrio cholera non-O1 which does not produce cholera-like or heat stable enterotoxin. J. Diarrhoeal Dis. Res. 0:161-163.g.
- BENNINGTON J. 1991. Diccionario Enciclopédico del laboratorio Clínico. P. 1348. Ed. anamericana, Argentina.
- BLOOMFIEL S, et al. 1998. The viable ut non-culturable phenomenon explained? Microbiology 44:1-2 g.
- CARY SG and BLAIR EB. 1964. New transport medium for shipment of clinical specimens. J. Bact. 8:96.
- CDC. Technical Guidelines on the detection and control of cholera epidemics. CDC Atlanta, Georgia, USA. (sin año de publicación).
- Cevallos A. 1994. Evaluación de aguas superficiales y residuales en la Provincia de Huara para aislar Vibrio cholerae antes del posible brote de cólera. Tesis. URP, Lima.
- CONSIDINE, D 1995. Van Nostrand's Scientific Encyclopaedia 8th edition. International Thomson Publishing Inc. USA New York. First volumen, 46 g
- GLASS R et al..1991. Cholera in Africa: lessons on transmission and control for Latin America. Lancet, 338:791-795 g
- HEYMANN D. 1991. Emerging Infectious Diseases. World Health, The Magazine of the WHO 1:4-6. G
- HOFFMAN PS; BELL S. 1983. Production of superoxide and hydrogen peroxide and hydrogen peroxide in medium used to culture Legionella pneumophila: catalytic decomposition by charcoal. Appl Environ Microbiol. 45:784-791 g
- INSTITUTO NACIONAL DE SALUD (INS). 1991. Manual de laboratorio de cólera. Serie de Normas Técnicas N° 2, Lima.
- iSAACSON M et al. 1974. The recent cholerae outbreak in the South African gold mining industry. South African Med. J. 49:2557-25602 g.
- KELLY MT, FHCKMAN-BRENNER and FARMER 111 1991. Vibrio, en Manual of clinical microbiology. 5h Ed. Balows. ASM, Washington, DC.
- MILLER CJ, FEACBEM RG. 1985. Cholera epidemiology in developed and developing countries: New thoughts on transmission, seasonality and control. Lancet 2:261-263 g
- OPS CDC/NCID. 1994 M6todos de laboratorio para el diagnostico de Vibrio choleare. CDC.
  PHO/WHO. 1993. Vibrio cholerae serogrupo 0139: un Nuevo serogrupo con potencial epidémico. tIMP/CDD/COLERA/581/93.
- QUEVEDO, F y GONZÁLEZ S. 1995. El cólera en Latinoamérica. Revisiones en Salud Pública 4:35-56
- RAVEL J et al. 1995. Temperature-induced recovery of Vibrio cholerae from the viable but nonculturable state: growth or resuscitation. Microbiology 141, 377-383 g.
- SINGLETON F et al. 1982. Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of Vibrio cholerae in aquatic microcosms. Appl. Environ. Microbiol. 43,1080-1085 g
- SINGLETON FL et al. 1982. Effects of temperature and salinity on Vibrio cholerae growth. Appl. Environ Microbiol. 44:1047?1058 g.
- TISON D. 1999 Vibrio. En Manual of clinical microbiology. 7h Ed. (Eds. MURRAY P, BARON E, PFALEER M, TENOVER F 'and YOLKENR)ASM, Washington, DC
- VANDEPITTE et al. 1994. The Novel epidemic strain 0139 is closely related to the pandernic strain 01 of Vibrio cholerae. J Inf Dis 17o:701-704 g.
- World Health Organisation (WHO). 1995. Le cholera en 1994. Wkly Epidem. Rec 28:201-208 g.
- World Health Organisation (WHO). 1997.60 g EMC annual report 1997. 60 g.
- World Health Organisation (WHO). 1992. Epi Info, version 5, a word processing, database and statistics system for epidemiology on microcomputers.WHO/GPA/RES/S
- ZAR, J.1984. Biostatistical analysis. Prentice?Hall inc. New Jersey, USA, 718

- Moffet, M. J. L., Young and R.D. Stuart. 1948. Centralized gonococcus culture for dispersed clinics; the value of a new transport medium for gonococci and trichomonas. Brit. Med. J. 2:421-424
- Stuart, R.D., S.R. Toshach, and Patsula. 1954. The problem of transport of specimens for culture of gonococci. Can. J. Public Health 45: 73-83.
- Stuart, R.D. 1946. The diagnosis and control of gonorrhea by bacteriological cultures. Glasgow, M.J. 27: 131-143.
- Stuart, R.D. 1959. Transport medium for specimens in public health bacteriology. Public Health Reports. 74: 431-438.
- Isenberg, H.D., F.D. Schoenkecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9. Collection and processing of bacteriological specimens. Coord. Ed. ,
- J.J. Rubin. American Society for Microbiology . Washington, D.C.
- Stuart R.D. The diagnosis and control of gonorrhoea by bacteriological cultures. Glasgow M. J. 27: 131-142, May 1946.
- Amies C.R. A modified formula for the preparation of Stuart's medium. Canadian Journal of Public Health, July 1967. Vol. 58, 296 - 300.
- Cary S. G. and Blair E.B.: New transport medium for shipment of clinical specimens. J. Bact. 88: No. 1, 96-98, July 1964.
- Cary S. G., Matthew M.S., Fussillo M.S. and Hawkins C. Survival of Shigella and Salmonella in a New Transport Medium. Am J. Clin. Path. 43: No.3, 294-296. March
- 1965.
- Neuman D. A., Benenson M. W., Hubster E and Thi Nhu Tuan Am. J. Clin Path. 57: 33-34, Feb.1971.
- Isenberg H. D., Schoenkencht F.D. and Von Graeventiz A. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating editor, S. J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1979.
- Balows A., Hausler, Jr. W. J., Herrmann K.L., Isenberg H. D., Shadomy H.J. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. American Society for Microbiology,Washington DC, 1991.
- Isenberg H. D. (Editor in Chief). Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology, Washington DC, 1992.
- Kaplan R. L. Campylobacter p. 236. In Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. Jr. and Truant J. P. (ed) .Manual of Clinical Microbiology, Third Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1980.
- Van Horn K., Tóth C. and Wegienek J. Viability of aerobic microorganisms in four swab systems. Poster Session 249/C Abstract C-436. 98th General Meeting of American Society for Microbiology, Atlanta, GA, May 1998.
- Warshauer D. M. and J.T. Paloucek. Comparison of Bacterial Recovery Rates of Four Commercial Swab Transport Systems. Poster Session 249/C. 98th General Meeting of American Society for Microbiology, Atlanta, GA, May 1998.
- Perry J. L. Inhibitory properties of a commercially available swab transport device. 97th General Meeting of American Society for Microbiology, Miami Beach, Florida,May 1997.
- Perry J. L. and Ballou D. R. Inhibitory properties of a swab transport device. J. Clin. Micro, Dec 1997, 3367-3368.
- Krepel J. The effect of different sponge (pledget) material on the survival of Group A Streptococcus (GAS) during swab transport. Abstracts from Conjoint Meeting on Infectious Diseases, Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, October 1997.
- Perry J. L. Evaluation of fastidious organism survival in swab transport systems. Abstracts of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), American Society for Microbiology, San Francisco, CA. September 1999.
- Campos J. M., Ruthman L., and Tshimanga M. Survival of fastidious bacteria on specimen collection swabs stored at room temperature. Abstract C-150. 100th General Meeting of the American Society for Microbiology, Los Angeles, CA. May 2000.

T'enT'-SS®

Torulin en Tubo con Sello Seguro

- **Segunda generación de Torulines con medio de transporte de LabLINSAN ; con**
- **Una variedad de Medios de transporte para todas las necesidades; con**
- **Una variedad de torulas: Dacrón, Rayón, Slim, Flocked .**

CARACTERÍSTICAS:

Tubo con diseño "Venturi" el cual garantiza mayor recuperación microbiana, porque impide la entrada de oxígeno al medio , y la rotura de la columna de agar. Diseño de los tubos con cintura que mejora el funcionamiento - elimina las burbujas indeseables, condiciona el swab a mantenerse en el centro de la columna de medio evitando su desplazamiento . Al introducirse el swab dentro del tubo las burbujas de aire son presionadas hacia el exterior.

Tubos de fondo redondo - carecen de orillas puntiagudas o afiladas , caben adecuadamente en las gradillas de tubos de ensayo tradicionales, **fabricado de polipropileno** irrompible para proteger no sólo a la muestra, sino también al equipo médico y técnico que la manipula.

Columna de Medio de Transporte de 5ml de profundidad ofrece máxima protección al swab, mejora la viabilidad de la muestra., evita la deshidratación de la columna de gel asegurando la calidad del medio hasta la fecha de vencimiento del producto.

Tapa de seguridad de doble acción - se desliza sobre el cuello del tubo ajustadamente por el interior y exterior del tubo, sellándolo fijamente., de **diferentes colores** para diferenciar los medios en su interior.

Etiqueta grande preadherida que sella la tapa al tubo, a prueba de manipulación indebida, mantienendo la integridad del producto y asegurando su esterilidad. Permite anotar la información de la muestra y los datos del paciente, conteniendo además , el Lote, Vencimiento , Variedad de Medio y su Trazabilidad.

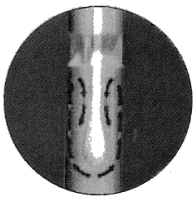
Gran recuperación microbiana después de hasta 72 hrs en el medio de transporte, la realización rutinaria de exámenes esta enfocada hacia los siguientes tipos de bacterias;
Neisseria gonorrhoeae, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae, Bordetella pertussis,Neisseria meningitidis, Escherichia coli, Bacteroides fragilis, Prevotella melaninogenica, Campylobacter jejuni, Shigella flexneri y Yersinia enterocolítica

El empaque plástico transparente totalmente reciclable y de alta visibilidad permite reconocer con facilidad la información del producto, asegurando la selección del producto correcto para la determinación solicitada.

Garantía en la integridad de los medios de transporte ya que cada lote cuenta con certificados de Calidad Microbianos y de Esterilidad,

Cada producto está garantizado hasta su fecha de vencimiento por su trazabilidad

Fabricado según Norma ISO 13485: 2003; ISO/TS 11133-1: 2009; ISO 9001-2008,



FACIL DE USAR.
Conservar los T'enT'-SS® entre 5 - 25 oC. No Congelar

TORULA=HISOPO=TORUNDA=APLICADOR=SWAB.

VARIEDADES:

T en T –SS : Slim c/ medio Stuart

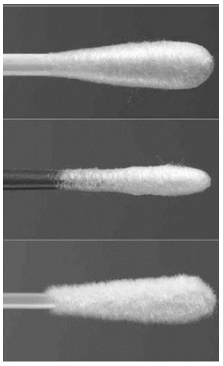
T en T– SS : Slim c/ medio Amies c/s Carbón Activado

T en T– SS : Medio Stuart

T en T—SS : Medio Amies c/s Carbón Activado

T en T—SS : Medio Cary Blair

T en T—SS : Medio Gel Fisiológico



T’ en T’ ® (ToruLin en Tubo)

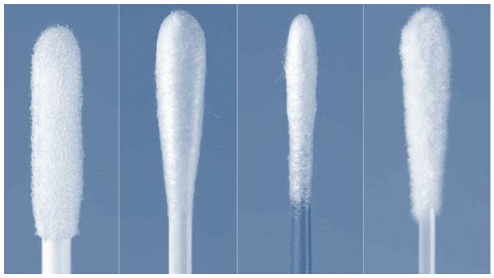
TORULA ESTÉRIL CON MEDIO DE TRANSPORTE

SISTEMA DE RECOLECCION Y TRANSPORTE DE MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS

Sistema desechable para la obtención y transporte de muestras microbiológicas a Laboratorios para su cultivo y posterior identificación. El sistema consiste en un estuche plástico estéril sellado que contiene una tórula plástica estéril con punta de Rayón y mango plástico para la recolección de la muestra, y en él ; un tubo plastico con el medio de transporte correspondiente en el cual se introduce la tórula que contiene la muestra y que permite que los microorganismos permanezcan viables hasta el momento del cultivo. Se presenta una variedad de Medios de Transporte para todo uso.

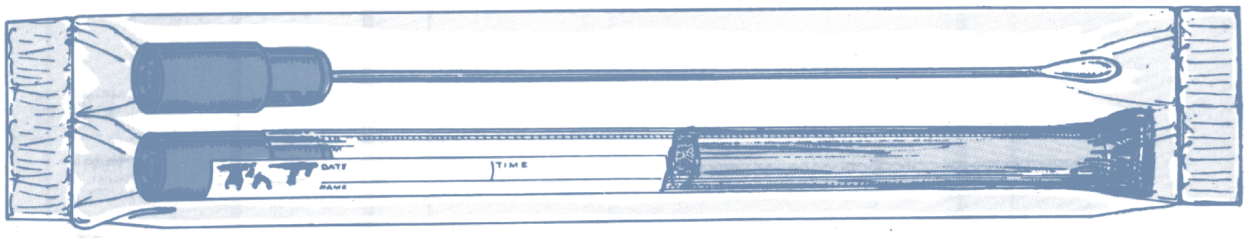
Se presenta con una variedad de torulas: Dacrón, Rayón, Slim, Flocked , Esponja.

Las torulas de algodón no deben usarse, ya que pueden contener ácidos grasos residuales. El alginato de Calcio puede liberar productos tóxicos que inhiben el crecimiento de ciertas bacterias con requerimientos nutricionales especiales (fastidiosas). Son recomendables las torulas de Dacron, o Rayon . Las torulas Slim son utilizadas para recolección de muestras pediátricas y uretrales . Las torulas Floked tienen un diseño especial para la obtención de una máxima recolección y elución bacteriana , utilizadas especialmente en transporte de muestras virales. La torula de esponja es utilizada para la recolección de muestras de superficie.



TORULA=HISOPO=TORUNDA=APLICADOR=SWAB.

El T en T se utiliza despegando ambas capas del estuche plástico: en seguida se retira la torula, la que se pone en contacto con el material purulento a investigar, introduciendo la tórula al tubo empujándola hasta el fondo y haciéndola penetrar en el medio de transporte, con un movimiento giratorio, se debe colocar firmemente el tapon en el tubo , para evitar que este se filtre o contamine. Se rotula el tubo . En estas condiciones el estuche está listo para ser enviado al Laboratorio.



VARIEDADES:

TenT Slim c/ medio Stuart

TenT Slim c/ medio Amies c/s Carbón Activado

TenT Medio Stuart

TenT Medio Amies c/s Carbón Activado

TenT Medio Cary Blair

TenT Medio Gel Fisiológico

TenT Medio Fisiológico Líquido

TenT Medio Letheen Gel Swab de esponja

TenT Medio Letheen Liquido Swab de esponja c/ plantilla

TenT DRY sin Medio de Transporte Swab Normal o Slim

Medio de Transporte de Stuart

El Medio de Transporte de Stuart es utilizado para la recolección, transporte y preservación de muestras microbiológicas , y permite mantener la viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra sin que exista un crecimiento significativo.

En 1948 Moffet, Young y Stuart describieron un medio para el transporte de gonococcos en especímenes de laboratorio. Toshach y Patsula mejoraron la formulación obteniendo lo que hoy se conoce como el medio de transporte de Stuart. La capacidaad del medio de mantener la viabilidad de los gonococos durante su transporte, dirigió las investigaciones para explorar su uso con varios especimenes. Actualmente este medio es recomendado para exudados faríngeos, vaginales y muestras de heridas. En este medio el cloruro de calcio proporciona iones esenciales para mantener el balance osmótico. El tioglicolato de sodio evita los cambios oxidativos y provee una atmósfera reducida. El glicerofosfato de sodio actúa como buffer. El azul de metileno es un colorante indicador del estado de óxido-reducción.

El medio de STUART modificado permite la conservación y el transporte de un gran número de microorganismos patógenos, como *Neisseria gonorrhoeae, Heamophilus influenzae, Corynebacterium diphteriae, Trichomonas vaginalis, Streptococcus sp., Salmonella sp., Shigellas sp*., etc. Mientras que los más lábiles, los dos primeros, pueden aguantar bien 24 horas, los dos últimos pueden hacerlo durante varios días, a veces semanas. Se trata de un medio muy reducido debido a la presencia de tioglicolato que dificulta las reacciones enzimáticas de autolisado. A su vez, la ausencia de una fuente de nitrógeno evita la proliferación de la flora compañante.

Está descrito como un medio de transporte eficaz para la recuperación y viabilidad de microorganismos como *Pneumococo, Strep.pyogenes , N. Gonnorrhoeae,Haemophilus sp*. y otros microorganismos lábiles. Se utiliza también para el transporte de muestras de secreciones oculares, óticas, faríngeas, vaginales, uretrales, heridas y abscesos. Los microorganismos permanacen viables de 6 días a 8 semanas.

V.cholerae **permanece viable y cultivable durante treinta días en el medio de transporte Stuart.**

cepas control	**ATCC**	**desarrollo 0 hs.**	**desarrollo 24 hs.**	**desarrollo 48 hs.**	**desarrollo 96 hs.**
S.aureus	6538	excelente	excelente	excelente	muy abundante
S.pyogenes	12344	excelente	muy abundante	abundante	abundante
S.faecalis	33186	muy abundante	abundante	muy bueno	muy bueno
P.aeruginosa	27853	excelente	muy abundante	muy abundante	abundante
E. coli	11775	excelente	muy abundante	muy abundante	abundante

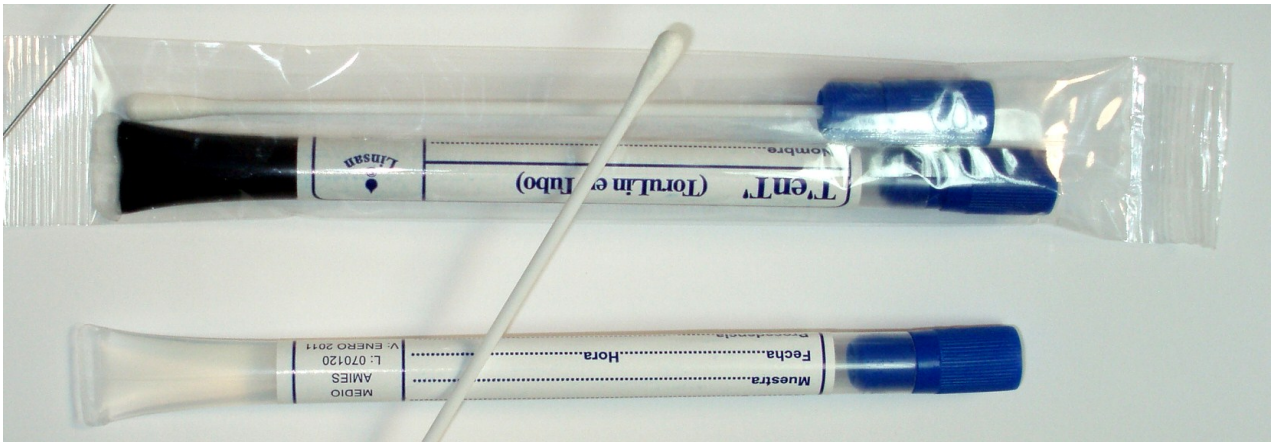
Medio de Transporte AMIES sin/con carbón activado

Este medio se obtuvo de una modificación del medio Stuart al cual se le reemplazó el glicerofosfato por un buffer inorgánico superior, la adición de carbón permitió el crecimiento de patógenos tratados con antibioterapia y mejorar el desarrollo de fastidiosos en comparación con el Stuart. Se le omitió el azul de metileno. Este medio así modificado permitió recuperar un número mayor de patógenos que en el Medio de Stuart. Básicamente, cambia el glicerofosfato por un fosfato inorgánico y el azul de metileno por carbón vegetal neutro farmacéutico. Además, añade iones Calcio y Magnesio, que ayudan a conservar la permeabilidad de la célula bacteriana.

El Medio Amies es recomendado para secreciones de garganta, vagina, heridas y urogenital causadas por flora fastidiosa o dificil de mantener viable como son: *Neisserias, Streptococcus, Haemophilus, Listerias ;* manteniéndolos en optimas condiciones para el cultivo hasta despues de 48 hrs , y **Medio Amies con carbón activado** se utiliza para secreciones de heridas y urogenital , para el cultivo y aislamiento de gérmenes fastidiosos , tratados o en tratamiento con antimicrobianos y/o expuestos a metabolitos tóxicos para su desarrollo, la presencia del carbón tiene afinidad por compuestos orgánicos , descompone las formas reducidas de oxigeno y secuestra los radicales libres .***V.cholerae*** **permanece viable y cultivable durante sesenta días en el medio de transporte Amies con carbón**. Pueden ser solicitados con

CEPAS CONTROL	ATCC	DESARROLLO 0 Hs	DESARROLLO 8 HS.	DESARROLLO 24 HS	DESARROLLO 48 HS
S.aureus	6538	excelente	excelente	excelente	excelente
S.pyogenes	12344	excelente	abundante	abundante	bueno
S.pneumoniae	6305	abundante	muy bueno	bueno	bueno
Haemophilus Influenz.	46766	abundante	muy bueno	bueno	bueno

swab normal o slim.



Medio de Transporte Cary Blair

En 1964 Cary y Blair describieron un nuevo medio para el transporte de muestras fecales. Tenía un bajo contenido de nutrientes, un bajo potencial de oxido-reducción y un alto pH. En los estudios de Cary y cols., *Salmonella y Shigella* fueron recuperadas luego de 45 días de inoculación. Otros autores han demostrado la eficacia de ese medio de transporte para estudios microbiológicos en gastroenteritis. El medio de transporte Cary-Blair, es semisólido debido a la baja concentración de agar. Tiene un mínimo aporte de nutrientes que permite la recuperación de los microorganismos sin que haya replicación. El tioglicolato de sodio se incluye para proveer un bajo potencial redox; y el pH relativamente alto minimiza la destrucción bacteriana por acidificación.

Se utiliza para el transporte de muestras fecales o raspados rectales para Coprocultivo. Se recomienda este medio, ya que permite el desarrollo de *Salmonellas y Shigellas* aún después de 49 días a 28ºC, *Vibriones y Campylobacter* permanecen viables hasta por 22 días a 28ºC.

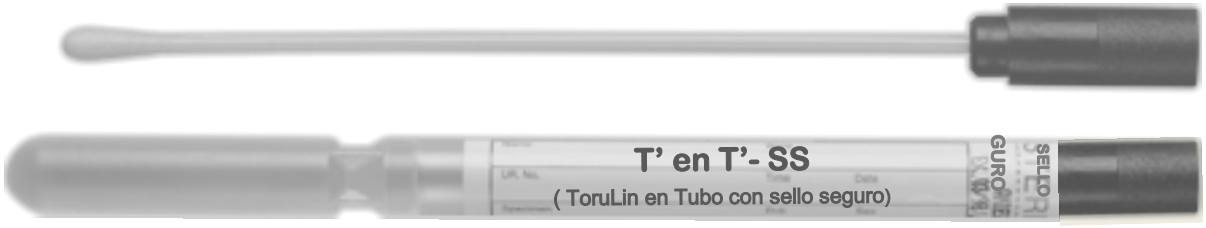
V.cholerae **permanece viable y cultivable durante cuarenta y cinco días en el medio de transporte Cary Blair**

Cepas control	ATCC	Desarrollo 24hrs	Desarrollo 4 días	Desarrollo 6 días	Desarrollo 8 días
S.sonneii	**11060**	Abndante	Abundante	Abundante	Muy bueno
S.choleraesuis	**14028**	Abundante	Abundante	Abundante	Muy bueno
S.sonneii	**11060**	Abundante	Abundante	Abundante	Muy bueno
V.cholerae		Abundante	Abundante	Abundante	Abundante
Campylobacter spp.		Abundante	Abundante	Bueno	Regular

Medio de Transporte Gel Fisiológico o
Medio de Transporte Fisiologico Líquido

Se utiliza para el examen directo de secreciones vaginales y uretrales en las cuales se debe investigar la presencia de *Trichomonas Vaginalis*. La concentración apropiada de sales , el óptimo pH del medio ,aunado a la inclusión de agarosa en éste lo hace el medio de preferencia para la observación directa de secreciones. Si el TnT se mantiene a 37ºC después de obtenida la muestra, las *Trichomonas Vaginalis* pueden permanecer vivos hasta por 6 horas.

Cepas control	ATCC	Desarrollo 0 hrs	Desarrollo 8 hrs	Desarrollo 16 hrs	Desarrollo 24 hrs
S. aureus	**6538**	excelente			
S.faecalis	**33186**	abundante			
Trichomonas vag.		Viables	Viables	Viables	visibles

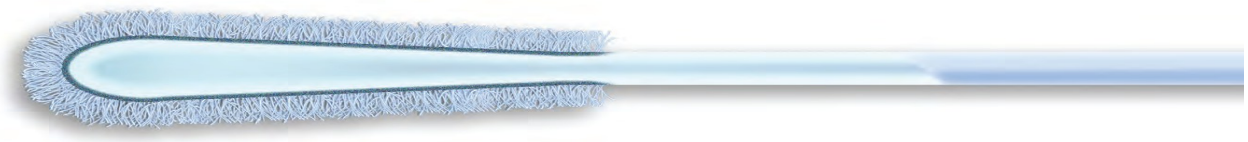


T’ en T’ -SS HydraFlocked Swab

Torula Esteril**: HydraFlocked Swab** con mango plástico

Dry o con Medios de Transporte Stuart gel / líquido o Amies c/s carbón

Sistema de recoleccion y transporte de muestras nasofaríngeas, muestras pediátricas , óticas , oculares, virales, genitourinarias, para PCR y medicina Forense.

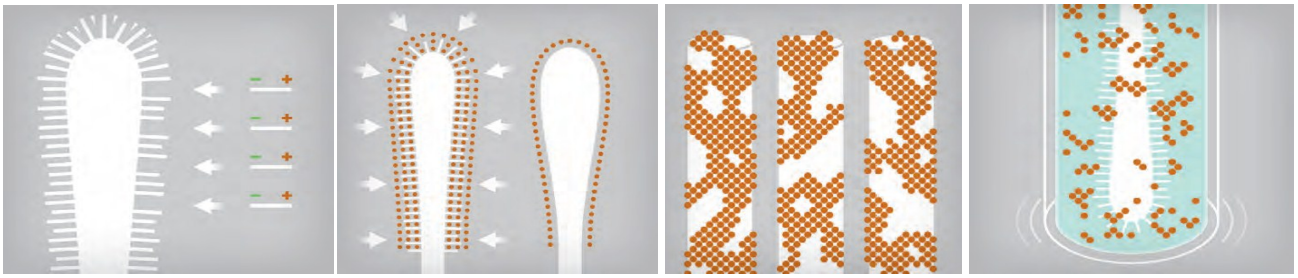


Los medios de recolección de muestras clínicas han sufrido un gran avance en los últimos tiempos debido especialmente al avance de las técnicas diagnósticas tanto para diagnóstico viral como para PCR. El éxito del diagnóstico depende en gran medida de la efectividad de las herramientas utilizadas para la toma de la muestra y de la cantidad de MO recolectados por el sistema en uso.

El tipo de fibra compactada utilizada en la punta del swab como son algodón– dacrón-poliester-rayón se ha demostrado que tienen una recuperación de MO del 10 a 17% de los organismos presentes en el sitio de la muestra.

Es por esto que se ha desarrollado la **HydraFlocked Swab** la cual es una estructura a la cual se le aplican fibras de plástico inocuo con el fin de obtener una cabeza en cepillo aterciopelada. Esta cabeza es capaz de absorber una gran cantidad de muestra entre sus fibras y a la vez la elución de la muestra se efectúa de forma más completa y rápida. Esto es especialmente importante cuando la cantidad de MO en la muestra es pequeña.

Según estudios recientes se ha obtenido una recuperación de MO del 80-95% en comparación con aspirados y lavados nasofaríngeos , siendo una técnica menos invasiva. También se ha observado una recuperación cercana al 100% en muestras de secreciones oculares, óticas , uretrales y vaginales.



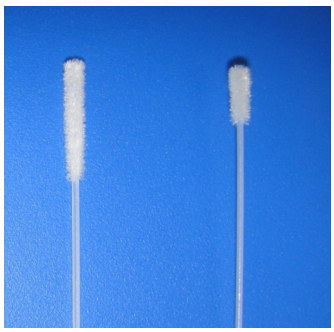
VERSIONES:

HydraFlocked Swab Dry sin medio de transporte Regular o Baby

HydraFlocked Swab con Medio Stuart Líquido o Gel Regular o Baby

HydraFlocked Swab con Medio Amies Clear Regular o Baby

HydraFlocked Swab con Medio Amies con Carbón Activado Regular o Baby



Regular **Baby**

AnaeroLin

Sistema de Transporte para bacterias Anaeróbicas

La mayoría de los aislamientos de muestras seleccionadas y recolectadas en forma adecuada en el laboratorio clínico corresponden a la categoría de anaerobios obligados moderados. Estos microorganismos son más tolerantes a los efectos tóxicos de oxígeno que los anaerobios obligados estrictos sin embargo el oxígeno los mata a pesar de que las condiciones se mantengan de manera apropiada durante la recolección y el transporte de las muestras hacia el laboratorio y durante los pasos requeridos para el procesamiento, aislamiento e identificación . Los factores limitantes fundamentales que pueden afectar el crecimiento de los anaerobios son: el efecto inhibitorio de oxígeno atmosférico y sus derivados tóxicos ; y el potencial de oxido-reducción de los medios de cultivo.

Los anaerobios obligados estrictos mueren cuando se exponen al oxígeno atmosférico durante 10 minutos o más. Las razones por la que los anaerobios varían su tolerancia al oxígeno depende de su producción de superóxido dismutasa, catalasa, y posiblemente enzima peroxidasa, que son protectoras contra los productos tóxicos del la reducción del oxígeno.

El potencial de óxido-reducción (Redox o Eh) en un medio de cultivo se expresa en voltios o miliVoltios y está afectado por el pH . Un potencial Redox positivo significa que está oxidado . En la naturaleza el límite superior es de +820 mV que puede encontrarse en algunos ambientes que tienen una oxigenación considerable. Las condiciones oxidantes prevalecen el el tejido humano sano que está bien oxigenado y tiene un suministro de sangre continua que presenta un Eh de +150mV. Un medioambiente humano anaerobio como son los abscesos, o un tejido necrótico y el intestino grueso humano tiene un EH de alrededor de –250mV. Lo que facilita el desarrollo de los anaerobios ya sean comensales o patógenos.

Lo anterior implica que para obtener un buen diagnóstico de una muestra en que se sospecha la presencia de anaerobios obligados , ya sean moderados o estrictos , las condiciones en que se transporta la muestra es de primordial importancia.

AnaeroLin es un sistema de recolección de muestras anaerobias que está compuesto por un frasco –ampolla con tapón de goma y sello de aluminio que contiene un medio líquido especial para recolección y desarrollo de anaerobios al cual se le han agregado sustancias reductoras como son el **tioglicolato y la L –cistina** que aseguran la reducción del medio. La atmósfera del frasco se encuentra reducida .Se adjunta una jeringuilla de 1 ml con la cual se debe recolectar la muestra cuidando que no entre oxígeno a la jeringa , para sembrar el medio se debe puncionar el tapón de goma e inyectar el material dentro del frasco sin sacar la tapa. Incubar directamente el frasco por 1 a 3 días a 36°C , una vez obtenido el desarrollo se saca medio con una jeringa y se efectúan los subcultivos y la identificación de los anaerobios obtenidos.

Instrucciones de uso: Sacar el frasco del frío 30 minutos antes de ser utilizado, observar el medio por turbidez o grumos .Si hay turbidez o grumos descartar el frasco ya que puede tratarse de contaminación. Levantar la parte central de la tapa de aluminio desinfectarla con algodón con alcohol o povidona yodada y dejar secar.(30 a 60 seg) . Usar la jeringa estéril para recoger 500 uLt (0,5 ml) de muestra e inyectar la muestra al frasco a través del tapón de goma asegurando de no inyectar aire dentro del frasco. Etiquetar con la información del paciente. Mantener a temperatura ambiente hasta el arribo al laboratorio donde deberá ser incubado a 35°C por un mínimo de 15 días observando cada 24 hrs en busca de desarrollo.

AnaeroLin se debe conservar de 4 a 12 °C , **no congelar.**

Utilización hasta 12 meses desde su fecha de producción

Trans PF– Linsan

Sistema de Transporte Bifásico para Patógenos Fastidiosos

Medio de Transporte Bifásico, especialmente formulado para la conservación, transporte y desarrollo de bacterias con requerimientos nutricionales especiales (fastidiosas) , y ambiente reducido. Se desarrolló para el cultivo primario de muestras como: Líquido Cefalorraquídeo de pacientes con sospecha de Meningitis bacteriana, y otros líquidos corporales como: líquidos pleurales, peritoneales o articulares en los cuales se sospecha la presencia de organismos fastidiosos como son: *Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Campylobacter, o Streptococcus pneumoniae .*

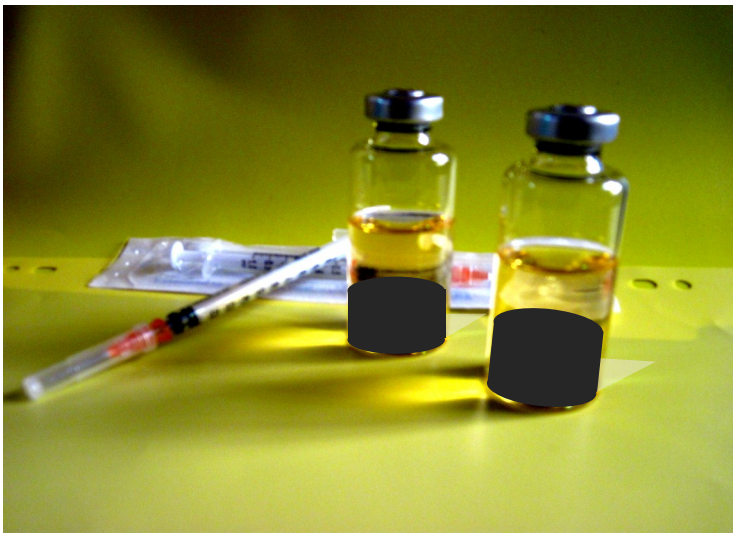
Los microorganismos microaerófilos requieren oxígeno como aceptor final de electrones, pero estas bacterias no crecen en la superficie de los medios sólidos en una estufa de incubación aerobia (21% de O2), y casi no hay desarrollo en condiciones anaeróbicas. Las especies microaerófilas se desarrollan en forma óptima en 5% de O2 , 10% de CO2, y 85% de N2.

Trans PF-Linsan : Este Sistema de transporte Bifásico está compuesto por un frasco-ampolla conteniendo un medio sólido en su base compuesto por Charcoal Agar suplementado , más una fase líquida nutritiva y enriquecida con un ambiente pre-reducido para obtener desarrollo de bacterias microaerófilas fastidiosas. Se adjunta al frasco con tapón de goma y sello de aluminio una jeringuilla de 1 ml con la cual se toma la muestra y se inyecta por el tapón de goma al frasco sin destaparlo para evitar que entre oxígeno al frasco. Se incuba en el mismo frasco y una vez que se obtiene desarrollo se hacen subcultivos en los medios apropiados para cada cepa obtenida.

Instrucciones de uso: Sacar el frasco del frío 30 minutos antes de ser utilizado, observar el medio por turbidez o grumos .Si hay turbidez o grumos descartar el frasco ya que puede tratarse de contaminación. Levantar la parte central de la tapa de aluminio desinfectarla con algodón con alcohol o povidona yodada y dejar secar.(30 a 60 seg) . Usar la jeringa estéril para recoger 500 uLt (0,5 ml) de muestra e inyectar la muestra al frasco a través del tapón de goma asegurando de no inyectar aire dentro del frasco. Etiquetar con la información del paciente. Mantener a temperatura ambiente hasta el arribo al laboratorio donde deberá ser incubado a 35°C por un mínimo de 15 días observando cada 24 hrs en busca de desarrollo.

Conservarse de 4 a 12 °C en la oscuridad, **no congelar**.

Utilización hasta 12 meses desde su fecha de producción



Los medios de cultivo en microbiología

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el **Medio de Cultivo** y el crecimiento de los microorganismos es el **Cultivo**. Se han preparado más de 10.000 medios de cultivo diferentes.

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuadas, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante.

La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano. Por eso, la base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y Peptona a la que se añadirán otros ingredientes.

El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se licúa completamente a la temperatura del agua hirviendo y se solidifica al enfriarse a 40 grados. Con mínimas excepciones no tiene efecto sobre el crecimiento de las bacterias y no es atacado por aquellas que crecen en él.

La Gelatina es otro agente solidificante pero se emplea mucho menos ya que bastantes bacterias provocan su licuación.

En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de Carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.

También se añaden colorantes que actúan como indicadores de pH para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras (el Rojo Fenol se usa como indicador ya que es rojo en pH básico y amarillo en pH ácido. La Violeta de Genciana se usa como inhibidor ya que impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram-positivas).

El aislamiento de bacterias a partir de muestras naturales se realiza, en la mayoría de los casos, mediante la producción de **colonias aisladas** en cultivos sólidos.

El crecimiento explosivo de las bacterias produce un gran número a partir de una única célula inicial de forma que, tras un periodo de tiempo de **incubación** en las condiciones ambientales adecuadas, se produce una colonia de individuos iguales.

Para crecer, un microorganismo necesita nutrientes que le aporten energía y elementos químicos para la síntesis de sus constituyentes celulares.

Dependiendo de la fuente de carbono que utilizan, los microorganismos se pueden clasificar en:

- **autotrofos:** si es el CO_2 atmosférico (microorganismos que fotosintetizan)
- **heterotrofos** si utilizan carbono orgánico.

Los microorganismos de importancia clínica son todos ellos heterótrofos.

La **fórmula elemental** de un microorganismo es, aproximadamente, **C4H7O2N** lo que supone que los componentes de las células son: **carbono** que representa alrededor del 50% del peso seco, **oxígeno** (32%), **nitrógeno** (14%) y debe estar disponible, normalmente, en forma de NH4 o de aminoácidos a los que se pueda tomar su grupo amino; **fósforo** (3%) y debe estar en forma de PO4; **azufre** que representa en torno al 1% y procede de aminoácidos sulfurados o de SO4; y otros **elementos traza** entre los que se encuentran Fe, K, Mg, Mn, Co, Mb, Cu y Zn.

La elaboración de **medios de cultivo** que permitan aislar microorganismos a fin de iniciar posteriores **cultivos puros** requiere proporcionar los nutrientes antes citados y, en ciertos casos, algunos aminoácidos o **vitaminas** que determinados tipos de microorganismos no pueden sintetizar.

Los medios de cultivo se pueden clasificar en **definidos** cuando su composición química se conoce totalmente y **complejos** cuando no es el caso porque están compuestos por mezclas de extractos de materiales complejos (extracto de levadura, extracto de carne, etc.).

Condiciones generales para el cultivo de microorganismos

El desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio.

1- disponibilidad de nutrientes adecuados

Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancia inductoras del crecimiento. Siempre han de estar presentes las sustancias adecuadas para ejercer de donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar.

Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de levadura. Sin embargo, la preparación de estas sustancias para su aplicación a los medios de cultivo provocaban la pérdida de los factores nutritivos lábiles.

Actualmente, la forma más extendida de aportar estas sustancias a los medios es utilizar peptona que, además, representa una fuente fácilmente asequible de nitrógeno y carbón ya que la mayoría de los microorganismos, que no suelen utilizar directamente las proteínas naturales, tienen capacidad de atacar los aminoácidos y otros compuestos más simples de nitrógeno presentes en la peptona.

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas por lo que se añade a muchos medios sustancias como suero, sangre, líquido ascítico, etc. Igualmente pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales minerales como las de calcio, magnesio, manganeso, sodio o potasio y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica.

Muy a menudo se añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas o bien por sus capacidades de ejercer de inhibidores selectivos de ciertos microorganismos.

2- consistencia adecuada del medio

Partiendo de un medio líquido podemos modificar su consistencia añadiendo productos como albúmina, gelatina o agar, con lo que obtendríamos medios en estado semisólido o sólido.
Los medios solidificados con gelatina tienen el gran inconveniente de que muchos microorganismos no se desarrollan adecuadamente a temperaturas inferiores al punto de fusión de este solidificante y de que otros tienen la capacidad de licuarla.

Actualmente los medios sólidos son de uso universal, por su versatilidad y comodidad, pero hay también gran cantidad de medios líquidos cuyo uso está ampliamente extendido en el laboratorio.

3- presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases

Potencial redox: nos indica la capacidad del substrato para aceptar o donar electrones, esto es: sus características **oxidantes o reductoras**. Uno de los factores que intervienen en el potencial redox, aunque no el único, es la concentración de oxígeno [O2].

Gran cantidad de bacterias pueden crecer en una atmósfera con tensión de oxígeno normal. Algunas pueden obtener el oxígeno directamente de variados sustratos. Pero los microorganismos anaerobios estrictos sólo se desarrollarán adecuadamente en una atmósfera sin oxígeno ambiental. En un punto intermedio, los microorganismos microaerófilos crecen mejor en condiciones atmosféricas parcialmente anaerobias (tensión de oxígeno muy reducida), mientras los anaerobios facultativos tienen un metabolismo capaz de adaptarse a cualquiera de las citadas condiciones.

4- condiciones adecuadas de humedad

Un nivel mínimo de humedad, tanto en el medio como en la atmósfera, es imprescindible para un buen desarrollo de las células vegetativas microbianas en los cultivos. Hay que prever el mantenimiento de estas condiciones mínimas en las estufas de cultivo a 35-37ºC proporcionando una fuente adecuada de agua que mantenga la humedad necesaria para el crecimiento de los cultivos y evitar así que se deseque el medio.

5- Luz ambiental

La mayoría de los microorganismos crecen mucho mejor en la oscuridad que en presencia de luz solar. Hay excepciones evidentes como sería el caso de los microorganismos fotosintéticos.

6- pH

La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales.

7- Temperatura

Los microorganismos mesófilos crecen de forma óptima a temperaturas entre 15 y 43ºC. Otros como los psicrófilos crecen a 0ºC y los temófilos a 80ºC o incluso a temperaturas superiores (hipertemófilos). En líneas generales, los patógenos humanos crecen en rangos de temperatura mucho más cortos, alrededor de 37ºC, y los saprofítos tienen rangos más amplios.

8- Esterilidad del medio

Todos los medios de cultivo han de estar perfectamente estériles para evitar la aparición de formas de vida que puedan alterar, enmascarar o incluso impedir el crecimiento microbiano normal del o de los especimenes inoculados en dichos medios. El sistema clásico para esterilizar los medios de cultivo es el autoclave (que utiliza vapor de agua a presión como agente esterilizante)

Tipos básicos de medios de cultivo

Atendiendo a su estado físico:

- ☐ líquidos
- ☐ semisólidos
- ☐ sólidos

Atendiendo a su utilidad práctica:

Medios de Transporte : Medios que garantizan que los microorganismos permanecen viables desde el momento de la toma de la muestra hasta su procesa-Miento en el laboratorio.

Medios de Resucitación: medios formulados para el control de superficies y puntos críticos después de ser tratados con amonios cuaternarios. Los microorganismos estresados son "resucitados" por estos medios y se desarrollan posteriormente.

Para Usos Generales: no selectivos, para cultivo de una amplia variedad de organismos difíciles de hacer crecer. A menudo están enriquecidos con materiales como: sangre, suero, Hemoglobina, FX, FV, glutamina, u otros factores accesorios para el crecimiento de las bacterias (Agar Sangre, Schaeadler, etc)

Selectivos: (pueden ser de moderada o de alta selectividad) se añaden sustancias que inhiban el crecimiento de ciertos grupos de bacterias, permitiendo a la vez el crecimiento de otras. Variando las sustancia añadidas, se varía el tipo y grado de selectividad (Mac Conkey, Kanamicina-Vancomicina)

Para Enriquecimiento: ralentizan/suprimen el crecimiento de la flora competitiva normal potenciando el cultivo y crecimiento deseado (Selenito, medio con Vitamina K). Estos medios pueden ser de Enriquecimiento selectivo o no selectivo.

Para Aislamiento : formulaciones nutritivas especiales que satisfacen requerimientos de grupos específicos de bacterias, ayudando a su identificación Estos medios pueden ser específicos y no específicos .
Para Pruebas de Sensibilidad: medios estandarizados en sus concentraciones iónicas para ser utilizados por la técnica de difusión con discos para determinar MICs de los antibióticos en las pruebas de sensibilidad.

Para Preservación: medios diseñados para mantener viables por largos períodos de tiempo cepas en estado "dormante" o latente .

Medios para identificación:

Diferenciales: formulaciones especiales en las que se estudian las peculiaridades fisiológicas, como sus características bioquímicas (nutrición y respiración sobre todo) específicas de las bacterias. Seleccionando los medios adecuados se puede llegar a la identificación de casi cualquier bacteria (Oxidación-Fermentación).

Medios Cromogénicos: Formulas que se basan en las características enzimáticas de algunas bacterias que son capaces de desdoblar un sustrato cromogénico en un cromóforo que al quedar libre intracelular le otorga el color a la colonia . Esta es una reacción específica enzimática.

La evolución de los medios de cultivo

Medio de cultivo de Primera generación:

Podemos decir que la microbiología empieza su verdadero desarrollo como ciencia en el momento en que se descubre el microscopio y comienza la observación de los primeros microorganismos, pero es indudable que la puesta a punto de los medios de cultivo y la utilización del agar como solidificante, marcan dos importantes puntos de inflexión en su evolución.

La primera noticia de la utilización de medios de cultivo nos llega del micólogo Brefeld, que consiguió aislar y cultivar esporas de hongos en medios sólidos realizados a base de gelatina.
Sin embargo este sistema no era adecuado para las bacterias (por su menor tamaño) y no fue hasta el año 1878 cuando Lister popularizó un método enfocado al cultivo puro basado en diluciones seriadas en un medio líquido.

Koch realizó sus investigaciones utilizando en un primer momento rodajas de patata como soporte nutritivo sólido, pero no tardó en recurrir al caldo de carne líquido, diseñado por Loeffler, al que, en 1881, añadió gelatina, logrando un medio sólido transparente ideal para la observación de la morfología macroscópica de las colonias microbianas.

En el año 1882 tiene lugar uno de los grandes avances de la microbiología en relación con los medios de cultivo: el médico alemán Walter Hesse introduce el agar-agar (polisacárido extraído de algas rojas) como solidificante, como resultado de la sugerencia de su esposa Angelina Hesse, la cual utilizaba dicho polisacárido en sus recetas culinarias.

En 1887 un ayudante de Koch llamado Petri, comienza a utilizar placas de cristal planas, que se llaman desde entonces placas de Petri, para sustituir a las clásicas bandejas de vidrio cubiertas con campanas que se usaban hasta entonces.

Beijerinck y Winogradsky, que desde de 1888 realizaron sus investigaciones sobre las bacterias quimioautótrofas (utilización de nitrógeno y azufre sobre todo) tuvieron gran importancia en el desarrollo de los medios selectivos y de enriquecimiento. Diseñaron este tipo de medios de tal forma que su especial composición química favorecía el crecimiento de ciertos tipos de microorganismos que, en función de sus procesos metabólicos, eran los únicos capaces de utilizar para su desarrollo ciertos nutrientes del medio.

En 1892 Würtz impulsó el uso de los medios diferenciales, incorporando indicadores de pH a la composición de ciertos medios con lo cual se podía observar la producción de ácidos en la fermentación en ciertos microorganismos.

Medios de cultivo de Segunda generación:

Medios Cromogénicos

Los medios Cromogénicos fueron desarrollados por el Dr.Alain Rambach, quien en 1973 comenzó su trabajo de Ingeniería Genética en el Institute Pasteur junto a su Profesor Francois Jacob, Premio Nobel de Genética.

En 1979, Presentó un trabajo revolucionario "Detección de E.coli utilizando Diferenciación Cromogénica en los Medios de Cultivo", después de esta publicación patentó su descubrimiento.

En 1990, funda la Compañía CHROMagar, después de haber trabajado en GENETICA Y Rhone-Poulenc donde patentó el primer Medio Cromógeno para Salmonella : **Rambach Agar**

MEDIOS CROMOGENOS

Ejemplo de Medio Cromógeno mostrando diferentes cepas ,pudiendo ser identificadas por sus diferentes colores

INTRODUCCION:

Los Medios Cromógenos son medios de cultivo específicos para la detección rápida de bacterias según sus características enzimáticas , las cuales se visualizan directamente en el medio por substratos cromógenos incorporados a éstos.

El medio base incorpora substancias nutrícionales especiales para incrementar el desarrollo de la bacteria requerida, a la vez que sus enzimas específicas actúan en en forma óptima sobre el sustrato incorporado. La identificación de esta reacción se observa directamente en el medio por las substancias cromógemas que otorgan un color característico a las colonias del germen sin necesidad de utilizar otros aditivos.

El color se mantiene estable por varios días sin sufrir cambios en relación a los cambios de pH. El color no difunde al medio lo que posibilita la identificación de colonias aisladas aún cuando el desarrollo sea mixto y abundante.

La elección de diferentes sustratos enzimáticos y substancias cromógenas permite diferenciar e identificar diferentes gérmenes por los diferentes colores de sus colonias debido a sus diferentes caracterisficas enzímáticas.

El control de calidad de estos Medios de Cultivo Cromógenos incluye, además de las características de crecimiento de las bacterias el color de las colonias como un criterio fundamental en la identificación de éstas.

Cromo-Check

Medios Cromogénos específicos para detectar patógenos en los Alimentos . Placas preparadas aprobadas por la AOAC.

DESCRIPCION:

¨ Medio cromógenos preparados listos para su uso, en diferentes presentaciones según la conveniencia de cada Laboratorio , en placas de 10 , 5 y dobles. Selladas y rotuladas individualmente con serie y vencimiento.

¨ Fabricadas con materias primas de primerísima calidad asegurando un producto en óptimas condiciones en cuanto a calidad , disponibilidad , rapidez , economía y confianza.

¨ Cada producto va acompañado de su Protocolo de Control de Calidad respectivo , efectuado según las normas del NCCLS y con cepas tipo originales del ATCC (American Type Culture Collection)

¨ Disponible toda la variedad de medios cromógenos existentes en el mundo, hasta los más modernos y novedosos.

¨ Con este sistema los Laboratorios pueden utilizar todos los medios cromógenos disponibles en el mercado según su conveniencia , con un gran ahorro y economía.

¨ Duración de las placas: 100 días hasta la fecha de su vencimiento, mantener las placas entre 8 a 12 °C y en la obscuridad ya que las substancias cromógenas son sensibles a la luz.

CROMOGENOS EN PLACAS 5 CM

Agar CromoCandida

Agar CromoAureus

Agar CromoColi

PRESENTACION: 10 Unidades por articulo

CROMOGENOS EN PLACAS 10 CM.

Agar CromoSalmonella

Agar CromoColi

Agar CromoColi O157:H7

Agar CromoListeria (ALOA)

PRESENTACION: 10 Unidades por articulo

CROMOGENOS EN DUOPLATE

DuoCC=CrColi/CrSalmonella

DuoRctoTot/CrColi

Duo CrColi/CrAureus

Duo CrColi/Baird Parker

PRESENTACION: 10 Unidades por artículo

Preparado segun especificaciones del fabricante y segun norma ISO/TS11133-1:2009

CONTROL DE CALIDAD segun especificaciones del standar ISO/TS 11133-2:2004

Incubación : 24 hrs. a 35ºC en aerobiosis.

MEDIOS DE CULTIVO

PREPARADOS EN PLACAS PETRI DESCARTABLES

DESCRIPCIÓN:

- Medios Selectivos- preparados, listos para su uso, en placas Petri desechables alemanas de alta tecnología de 10 cm. de diámetro , selladas y rotuladas individualmente con serie y vencimiento.
- Fabricadas con materias primas de primerísima calidad asegurando un producto en óptimas condiciones en cuanto a calidad, disponibilidad, rapidez, economía y confianza.
- Cada producto va acompañado de su protocolo de control de calidad respectivo , efectuado según las normas del NCCLS y con cepas tipo del ATCC (American Type Culture Collection).
- Gran variedad de medios , para las diferentes necesidades de los Laboratorios.
- Con este sistema todos los Laboratorios pueden efectuar todos los cultivos con conveniencia y economía.

PLACAS CON MEDIOS SELECTIVOS

PLACAS DE 10 CM

Agar Regan Lowe (*Bordetella*)

Agar HTM *(Haemophylus* Test Media)

Medio Skirrow (*Campylobacter)*

Medio Oxford (*Listeria)*

Medio CIN (*Yersinia*)

Medio Hb (human Blood-*Gardnerella*)

Medio MRSA (*S.aureus* Meticilina resistentes)

Medio CHAB (*Pisirikettzia salmonis)*

Medio Dixon *(Malasezzia)*

Agar VRE+Vancomicina 6ug/ml (*Enterococos* Vancomicina resistentes)

PLACAS CON MEDIOS PARA SEMSIBILIDAD

PLACAS DE 15 CM

Mueller Hinton (CLSI)

Mueller Hinton+Sangre

Medio HTM

Medio Casitona

PLACAS CON MEDIOS DE CULTIVO

PLACAS DE 10 CM.

Agar Bilis Esculina

Agar Bismuto Sulfito

Agar Chocolate + Suplemento

Medio Lactosado CLED

Agar Corn Meal

Medio CromoUTI

Agar DNAsa + Indicador

Agar Feniletilalcohol

Agar Hektoen

Medio LB + Ampicilina

Agar MacConkey

Agar MacConkey+MUG

Agar Manitol-Sal-Rojo Fenol

Medio Mueller Hinton (NCCLS)

Medio Mueller Hinton+Sangre

Agar Nutriente

Medio Sabouraud Dextrosa 4%+Inhib.

Medio Sabouraud Dextrosa 2%+Inhib.

Agar SS

PLACAS CON MEDIOS DE CULTIVO

PLACAS DE 5 CM.

Agar Chocolate + Suplemento

Medio CromoUTI

Agar DNAsa + Indicador

Medio Sabouraud Dextrosa 4%+Inhib.

Agar Sangre Cordero Base TSA

Medio Thayer Martin

Medio Brettanonomyces /mostos

Medio Brettanomyces / vino

Medio MRS

Medio Cromocoli

Medio W/I Nutriente

Medio W/L Diferencial

Medio Cromoaureus

Medio SFP

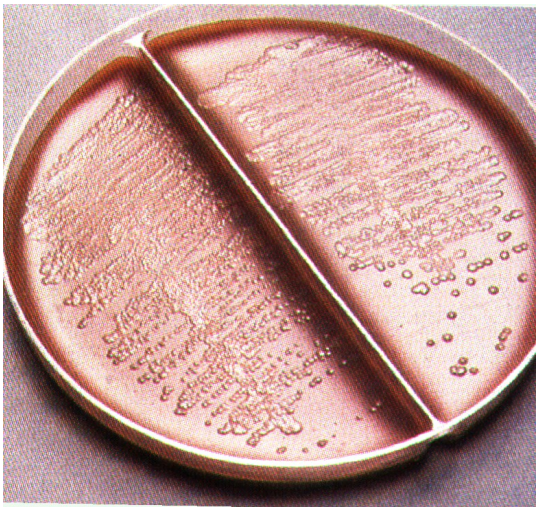
Medio Slanets & Bartley

Agar Triptosa Sulfito

Agar MFC + Ac.Rosólico

Agar Green Yeast & Mold

DUO-Plate : SISTEMA DE CULTIVO DESECHABLE DE DOS MEDIOS COMPLEMENTARIOS POR PLACA



DESCRIPCION:

- Sistema de cultivo de muestras bacteriológicas, en el cual se proveen dos medios diferentes y complementarios en cada placa desechable, y dividida ; lo que permite : cultivar, enumerar e identificar la flora existente en una sola placa por muestra.
- Sistema altamente eficiente, los medios han cuidadosamente elegidos por su complementariedad, eficiencia y seguridad en la recuperación de la flora presumiblemente existente.
- Placas de alta calidad, desechables ultra transparentes, elaboradas con materias primas de óptima calidad.
- Se entregan listas para su uso , selladas y etiquetadas individualmente con su protocolo de control de calidad respectivo.
- Alta economía y conveniencia , se siembra una muestra por placa lo que economiza medios , espacio en la estufa y en la bodega.
- Sistema fácilmente controlable en inventario, organización y costos por muestras.
- Alta eficiencia a la mitad del costo.

DUO Plate

PLACAS DOBLES CON 2 MEDIOS

Duo Dermatofito /Sabouraud

Duo UCS=MacConkey/Sangre

Duo CV=Sangre/Chocolate

Duo GC=Sangre/Thayer Martin

Duo Hb/TM=Gardenella/TM

Duo CCS= SS/MacConkey

Duo Hb/Chocolate

Duo SS/Yersinia

Duo MacConkey/Cled

PLACAS DOBLES C/ MED. CROMOGENOS

Duo UC=CrUTI/Sangre

Duo HL=CrCandida/Sabour

Duo CC=CrColi/CrSalmonella

Duo =RctoTot/CrColi

Duo =CrColi/CrAureus

Duo =CrColi/Baird Parker

PLACAS DOBLES ALIMENTOS

Duo Rcto Tot /CrColi

Duo Baird Parker doble

Duo Baird Parker/EMB

Medios de Cultivo para Anaerobios

Placas 10 cm., Tubos 12 x 120

MEDIOS PARA ANAEROBIOS

- **Agar Sangre+Suplemento**
- **Agar Sangre+ Suplemento+ Inhibidores (Medio CNA)**
- **Agar Sangre Brucella**
- **Agar SFP Clostridium Perfringens**
- **Agar Clostridium Difficile**
- **Medio E.Y.A. (Egg Yolk Agar)**
- **Medio Líquido Enriquecido**
- **Medio Tioglicolato con Indicador**

Medio Liquido Enriquecido:

Tubos 12 x120 de 5ml por 30 unidades.

La base de este medio es el medio tioglicolato enriquecido con hemina , vitamina K y suero animal. Este medio antes de ser sembrado debe regenerarse por lo menos 10 minutos en baño de agua hirviendo con el tapón muy suelto . Al finalizar la regeneración se le agrega Bicardonato de Sodio estéril al fondo del tubo hasta una concentración final de 1 mg por ml de medio con una pipeta Pasteur estéril cuidando de no introducir aire al medio.

Se siembra depositando una gota del inóculo al fondo del tubo cuidando de no incorporar aire al medio. Se incuba en la jarra anaeróbica por 48 hrs., después de ese tiempo se observa el desarrollo.

MEDIOS DIFERENCIALES

TUBOS 12 x 120 ; 13 x 100 y 75 x 100

<u>Tubos 12 x 120 : 13 x 100</u>

Medio TSI

Medio LIA

Medio MIO

Medio Citrato Simmons

Medio Urea de Christensen

Medio Kligler

Medio Bilis Esculina

Medio Agar Sal

Medio Manitol-Sal-Rojo Fenol

Medio Fenilalanina

Medio OF+glucosa

Medio CTA+azúcares

Medio RM-Voges Proskauer

Preparado segun especificaciones del fabricante y segun norma ISO/TS11133-1:2009

CONTROL DE CALIDAD segun especificaciones del standar ISO/TS 11133-2:2004

Conservación: De 8 a 12 ºC hasta la fecha de vencimiento, **No congelar**.

MEDIOS DIFERENCIALES

Uno de los requerimientos más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. Una vez obtenidas las colonias un preparado teñido con Tinción de Gram puede poner en evidencia células de bacilos, cocos o cocobacilos gramnegativos o grampositivos , grandes o pequeños. Sin embargo no es posible diferenciar las especies sólo sobre la base de la morfología en la tinción de Gram.

La morfología característica de las colonias de un microorganismo que crece en un medio sólido puede proporcionar un segundo dato importante. La hemólisis en Agar Sangre en la mayoría de los bacilos es variable y no es característica, puede ser de importancia en cocos positivos y no siempre determinante.

La diferenciación de las bacterias se basa principalmente en la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. Estas enzimas dirigen el metabolismo bacteriano a lo largo de una de varias vías que puede detectarse mediante medios especiales utilizados en técnicas de cultivo en vitro. Se incorporan al medio de cultivo sustratos sobre los cuales pueden reaccionar estas enzimas, junto con un indicador que puede detectar la utilización del sustrato o la presencia de productos metabólicos específicos. Mediante la selección de una serie de medios que miden diferentes características metabólicas de los microorganismos por evaluar es posible determinar un perfil bioquímico para la diferenciación de la especie.

UTILIZACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO

Principios De la Fermentación: Los estudios de Pasteur de mediados del siglo XIX sobre la acción de las levaduras en el vino proporcionaron la base de nuestro conocimiento actual de la fermentación de los hidratos de carbono. Pasteur observó que algunas bacterias contaminantes producían una caída del pH del vino por la producción de distintos ácidos . Poco después surgieron descripciones completas de las vías fermentativas por las cuales se degrada un monosacárido como la glucosa.. Mediante una serie de escisiones glucolíticas y transformaciones enzimáticas, la molécula de glucosa se divide en tres compuestos de carbono , el más importante de los cuales es el ácido pirúvico. La secuencia química mediante la cual la glucosa se convierte en ácido pirúvico se conoce como la Vía de Embden Meyerhoff . Muchas bacterias entre ellos todas las Enterobacterias fermentan la glucosa a través de esta vía , sin embargo la forma cómo se origina el ácido pirúvico varía según la especie bacteriana . Los destinos alternativos del ácido pirúvico son el resultado de distintas vías de fermentación, que arrojan productos bastantes diferentes.

Las bacterias se diferencian por los hidratos de carbono que metabolizan y por los tipos de y las cantidades de ácidos producidos. Estas diferencias en la actividad enzimática son una de las principales características por las cuales se reconocen las diversas especies.

El gas resultante de las fermentaciones bacterianas es fundamentalmente una mezcla de hidrógeno, dióxido de carbono que se forma a través de la escisión del ácido pirúvico.

La fermentación bacteriana de la lactosa es más compleja . La lactosa es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa , conectado por un enlace de oxígeno conocido como enlace galactosídico . Con la hidrólisis este enlace se corta y libera glucosa y galactosa. Para que una bacteria metabolice lactosa deben presentarse dos enzimas 1) la β-galactósido permeasa que permite el transporte de un β-galactósido como la lactosa a través de la pared bacteriana , y 2) la β– Galacosidasa necesaria para hidrolizar el enlace β-galactósido una vez que el disacárido ha entrado a la célula. La degradación ácida final es el resultado de la degradación de la glucosa.

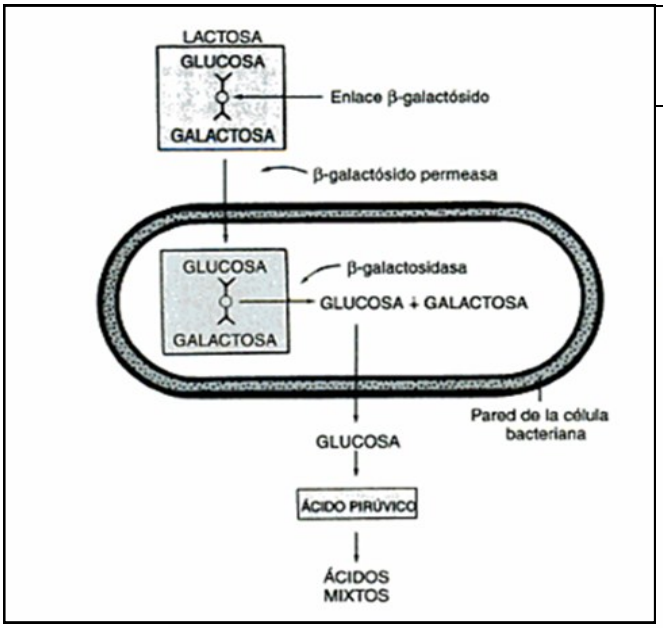
Un microorganismo no fermentador de lactosa es aquel que carece de una o ambas enzimas necesarias para el metabolismo de la lactosa o que carece de la capacidad para atacar la glucosa.

β-galactosidasa y pueba ONPG: El *o*-nitrofenil-β-*D*-galactopiranósido (ONPG) es un compuesto estructuralmente similar a la lactosa excepto que la glucosa ha sido remplazada por un grupo *o*-nitrofenilo . Esta prueba detecta la enzima β-galactosidasa mucho más rápido que la fermentación . El ONPG penetra en la célula más fácilmente que la lactosa y bajo la acción de la β-galactosidasa se hidroliza en galactosa y *o*-nitrofenol, el cual es un cromóforo incoloro cuando está ligado a *D*-galactopiranósido, pero es amarillo en su forma libre .

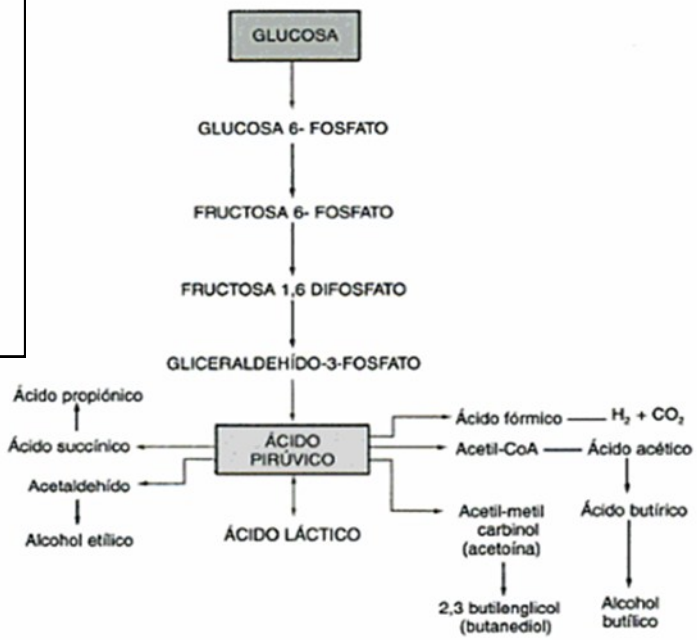
Actividad de Citocromooxidasa: Las especies que presentan actividad de esta enzima son detectados por la prueba de la Oxidasa , se utiliza un reactivo con tetrametil-*p*-fenilendiamina o discos de *N*-dimetil parafenildiamina, la prueba positiva se debe interpretar dentro de los 10 a 20 segundos , se produce color Violeta oscuro.

Reducción del Nitrato: Cualquier medio basal que contenga ana concentración de 0,1% de Nitrato de Potasio es apropiado para esta prueba. La enzima nitrato reductasa tiene una actividad máxima en condiciones anaerobias. Se recomienda la utilización de un agar semisólido, ya que éstos también aumentan el crecimiento de muchas especies y proporcionan el ambiente anaerobio para la actividad enzimática.

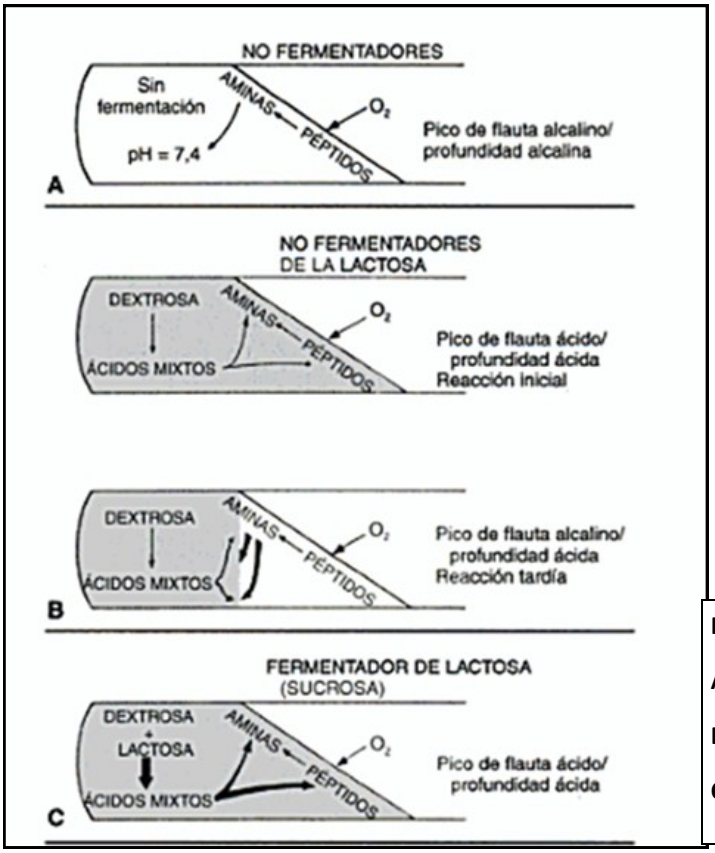
La mayoría de los microorganismos que reducen los nitratos lo hacen dentro de las 24 horas, algunos pueden producir cantidades detectables dentro de 2-4 horas. El compuesto diazonio que se forma a partir del nitrato reducido y los reactivos también son relativamente inestables y el color tiende a borrarse, en consecuencia, se deben realizar las lecturas poco después de agregar los reactivos.



MECANBISMO DE FERMENTACIÓN DE LA LACTOSA



MECANBISMO DE FERMENTACIÓN DE LA GLUCOSA



REACCION DE FERMENTACIÓN EN KLIGLER / TSI

A.-Reacción de no fermentadores

B.-Reacción de no fermentadores de la lactosa

C.-Reacción de fermentadores de lactosa y glucosa

En el laboratorio disponemos de numerosas técnicas para la caracterización bioquímica de una especie.

Además de los productos finales de los procesos metabólicos, también se necesita conocer con detalle como se producen estos cambios, como ocurren paso a paso las reacciones químicas, cuáles enzimas intervienen, cuales son los productos intermediarios , además de que se deben reconstruir las secuencias de las reacciones bioquímicas que tienen lugar dentro de la célula.

En general el microorganismo se cultiva en medios que contienen una sustancia nutritiva específica o sustrato y después de la incubación del cultivo se examina para ver los cambios químicos que hayan ocurrido.

MEDIO DE KLIGLER:

Medio de cultivo frecuentemente usado en microbiología de alimentos para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa y lactosa, y a la producción de ácido sulfhídrico.

Fundamento

•En el medio de cultivo, la peptona de carne y la tripteína, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano.

•La lactosa y la glucosa son los hidratos de carbono fermentables.

•El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el citrato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe3+, los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro.

•El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agar es el agente solidificante.

•Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido.

•El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

Resultados

1-Tendido alcalino/fondo ácido (Tendido rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glu cosa.

2-Tendido ácido/fondo ácido (Tendido amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, y lac tosa.

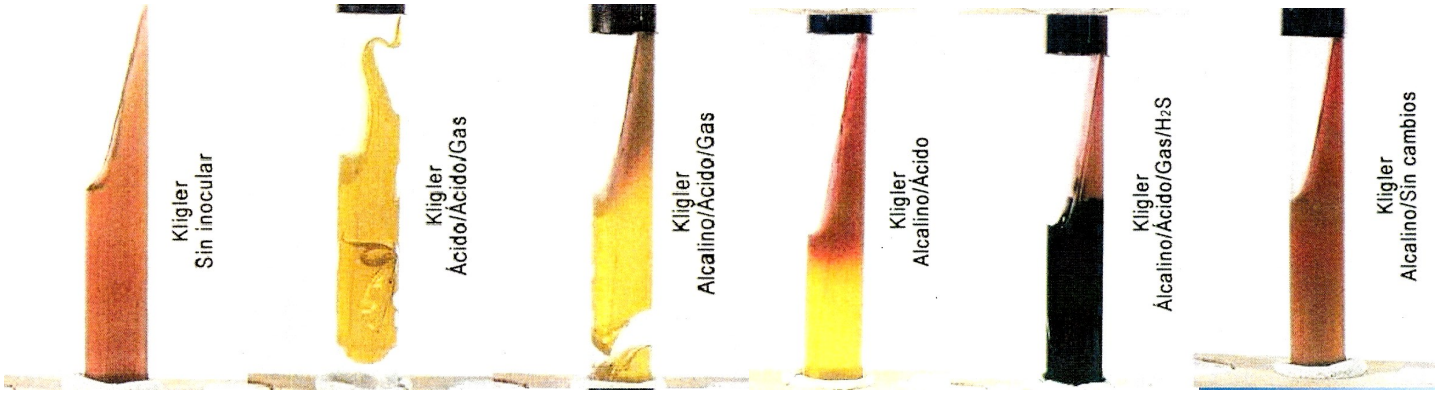
3-Tendido alcalino/fondo alcalino (Tendido rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúca res.

4-La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.

5-El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

Características del Medio

Medio preparado color rojo.



MEDIO TSI (TriSugar Iron)

Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico.

Fundamento

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano.

La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables.

El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro.

El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol,el cual vira al color amarillo en medio ácido.

El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

Resultados:

1-Tendido alcalino/fondo ácido (Tendido rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.

2-Tendido ácido/fondo ácido (Tendido amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lacto sa y/o sacarosa.

3-Tendido alcalino/fondo alcalino (Tendido rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azú cares.

4-La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.

5-El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

Microorganismo	Pico/Fondo	Producción de gas	Producción deácido sulfhídrico
E. coli ATCC 25922	**A/A**	**+**	**-**
K. pneumoniae ATCC 700603	A/A	+	-
P. mirabilis ATCC 43071	K/A	+	+
S. typhimurium ATCC 14028	**K/A**	**-**	**+**
S. enteritidis ATCC 13076	K/A	+	+
S. flexneri ATCC 12022	K/A	-	-
P. aeruginosa ATCC 27853	K/K	-	-

MEDIO MIO (Movilidad Indol Ornitina)

Medio usado para la identificación de Enterobacteriaceas en base a su movilidad, actividad de ornitina decarboxilasa y producción de indol.

Fundamento

Medio de cultivo semisólido, altamente nutritivo debido a la presencia de extracto de levadura, peptona y tripteína. Además, la tripteína aporta grandes cantidades de triptofano, sustrato de la enzima triptofanasa, para la realización de la prueba del indol.

La dextrosa es el hidrato de carbono fermentable, la ornitina es el sustrato para la detección de la enzima ornitina decarboxilasa, el púrpura de bromocresol es el indicador de pH, que en medio alcalino es de color púrpura y en medio ácido es amarillo.

Por su composición, es posible detectar 3 reacciones en un mismo tubo: movilidad, presencia de ornitina decarboxilasa e indol.

La movilidad se demuestra por un enturbiamiento del medio o por crecimiento que difunde mas allá de la línea de inoculación.

La reacción positiva a la ornitina está dada por un color púrpura del medio.

Debido a la fermentación de la glucosa se reduce el pH produciendo una condición ácida y originando que el indicador de pH púrpura de bromocresol vire al amarillo.

La presencia de acidez, otorga condiciones óptimas para la actividad de la enzima ornitina decarboxilasa, la cual decarboxila la ornitina presente.

Por decarboxilación, se alcaliniza el medio, con el consecuente viraje del indicador hacia el color púrpura.

El indol, es producido a partir del triptofano por los microorganismos que contienen la enzima triptofanasa. El desarrollo de un color rojo luego de agregar unas gotas de reactivo de Kovac´s o de Erlich, indica un resultado positivo.

Resultados

1-Movilidad:

-Resultado positivo: presencia de turbidez o crecimiento mas allá de la línea de siembra.

-Resultado negativo: crecimiento solamente en la línea de siembra.

2-Ornitina decarboxilasa:

-Resultado positivo: color púrpura.

-Resultado negativo: color amarillo. A veces se puede desarrollar un color violáceo en la superficie del medio.

3-Prueba del indol:

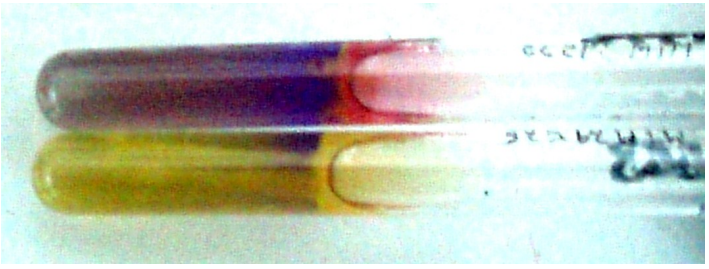
La prueba de indol se realiza una vez que se ha determinado la movilidad y la prueba de ornitina.

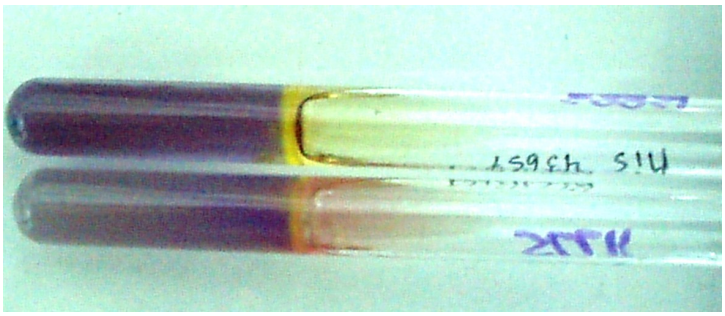
-Resultado positivo: color rojo al agregar el reactivo revelador.

-Resultado negativo: el color del reactivo revelador permanece incoloro o amarillento.

Características del medio

Medio preparado: púrpura transparente a ligeramente opalescente.





INDOL

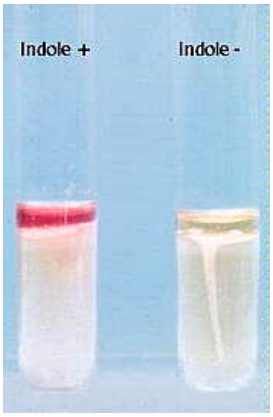
La **prueba del indol** es una prueba bioquímica realizada en especies bacterianas para determinar la habilidad del organismo de romper el indol del aminoácido triptófano. Esta división molecular es lograda por una serie de enzimas intracelulares diferentes, un sistema que en conjunto se le llama con frecuencia *triptofanasa*.

Se genera el indol por una deaminación reductiva del triptófano via la molécula intermediaria ácido indolpirúvico. Las triptofanasas catalizan la reacción de deaminación, durante el cual se remueve el grupo amino (NH_2) de la molécula de triptófano. Los productos finales de la reacción son el indol, ácido pirúvico, amoníaco (NH_3) y energía. Como coenzima de la reacción se requiere al fosfato de piridoxal.

Tal como ocurre con muchas pruebas bioquímicas, los resultados de una prueba de indol se indican con el cambio de color que sigue a la reacción. El cultivo bacteriano puro debe ser sembrado en un medio con triptofano o peptona estériles o ambos por 24 a 48 horas antes de realizar la prueba. Luego de la incubación, se añaden cinco gotas de reactivo Kovacs (alcohol isoamilico, *p*-dimetilaminobenzaldehído y ácido clorhídrico concentrado) al medio de cultivo.

Una variante de la prueba se realiza usando el reactivo de Ehrlich's (usando alcohol etílico en lugar del alcohol isoamilo, desarrollado por Paul Ehrlich), en especial si se tiene un organismo que no sea fermentador y en organismos anaeróbicos.

Los resultados positivos se muestran por la presencia de un color rojo o rojo-violeta en la superficie de la capa de alcohol en el cultivo. Un resultado negativo se muestra amarillo. Un resultado variable puede ocurrir cuando se muestra un color anaranjado. Ello es debido a la presencia de escatol, también conocido como metil-indol o indol metilado, otro posible producto de la degradación del triptófano.



Bacteria indol positiva

Las bacterias que resultan indol positivas al romper el indol del triptófano, incluyen:

Aeromonas hydrophilia, Aeromonas punctata,

Bacillus alvei,

La mayoría de los Citrobacter spp.,

Edwardsiella spp.,

Escherichia coli,

Flavobacterium spp.,

Haemophilus influenzae,

La mayoría de los Proteus spp. (más no el P. mirabilis),

Plesiomonas shigelloides,

Pasteurella multocida, Pasteurella pneumotropica, y

Pasteurella haemolytica, Pasteurella ureae,

Proteus mirabilis,

Pseudomonas spp.,

Salmonella spp.,

Serratia spp.,

Yersinia spp.

Bacteria indol negativa

Las bacterias que resultan un indol negativo en esta prueba, incluyen:

Actinobacillus spp.,

Aeromonas salmonicida,

Alcaligenes spp.,

La mayoría de los Bacillus spp.,

Bordtella spp.,

Enterobacter spp.,

La mayoría de los Haemophilus spp.,

La mayoría de los Klebsiella spp.,

Neisseria spp.,

MEDIO LIA (Lisine Iron Agar)

Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, especialmente Salmonella spp., basado en la decarboxilación / desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico.

Fundamento

En el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano.

La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas decarboxilasa y deaminasa.

El citrato de hierro y amonio, y el tiosulfato de sodio, son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico.

El purpura de bromocresol, es el indicador de pH, el cual es de color amarillo a pH igual o menor a 5.2, y de color violeta a pH igual o mayor a 6.8.

Por decarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta.

La decarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada.

Resultados

Los microorganismos que no producen lisina decarboxilasa, pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje de la totalidad del medio de cultivo al amarillo, pero a las 24 hs de incubación se observa el tendido de color violeta debido al consumo de las peptonas, y el fondo amarillo.

La producción de sulfuro de hidrógeno, se visualiza por el ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro de hierro.

Las cepas de los géneros Proteus, Providencia y algunas cepas de Morganella, desaminan la lisina, esto produce un ácido alfa-ceto-carbónico, el cual, con la sal de hierro y bajo la influencia del oxígeno forma un color rojizo ladrillo en la superficie del medio.

1- Decarboxilación de la lisina:

-Prueba Positiva: Tendido violeta/fondo violeta.

-Prueba Negativa: Tendido violeta/fondo amarillo.

2-Desaminación de la lisina:

Tendido rojizo/fondo amarillo. Esto sucede con cepas del género Proteus, Providencia y cepas de Morganella spp.

3-Producción de ácido sulfhídrico:

-Prueba positiva: Ennegrecimiento del medio (especialmente en el límite del Tendido y fondo)

Microorganismos	Color del tendido	Color en el fondo	Ennegrecimiento del medio
Proteus mirabilis ATCC 43071	Rojo	Amarillo	Negativo
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Púrpura	Púrpura	Positivo
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Púrpura	Púrpura	Positivo
Providencia spp.	Rojo	Amarillo	Negativo
Citrobacter freundii	Púrpura	Amarillo	Positivo
Morganella spp.*	Rojo	Amarillo	Negativo
Edwarsiella spp.	Púrpura	Púrpura	Positivo
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Púrpura	Púrpura	Negativo
Escherichia coli ATCC 25922	Púrpura	Púrpura	Negativo

MEDIO UREA DE CHRISTENSEN

Medio utilizado para la identificación de microorganismos, en base a la actividad ureásica. Es particularmente útil para diferenciar Proteus spp. de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae.

Fundamento

Este medio de cultivo, formulado por Rustigian y Stuart, presenta bajo contenido de nutrientes y alta capacidad buffer.

El extracto de levadura es la única fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y cofactores, y aporta los nutrientes esenciales para el desarrollo bacteriano.

Las sales de fosfatos constituyen el sistema buffer, el rojo de fenol es el indicador de pH y la urea es el sustrato de la enzima ureasa.

Aquellas bacterias que poseen la enzima ureasa, pueden utilizar el nitrógeno proveniente de la urea, la hidrolizan, liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos metabólicos alcalinizan el medio, haciendo virar el indicador rojo fenol del amarillo al rojo.

Su uso, se recomienda para diferenciar Proteus spp. de otros géneros.

cepas control	ATCC	desarrollo	Ureasa	viraje del medio
E coli	11775	muy bueno	negativa	amarillo
S.flexneri	29903	muy bueno	negativo	amarillo
S.choleraesuis	14028	muy bueno	negativo	amarillo
P vulgaris	13315	muy bueno	positivo	rojo
P.mirabilis	29906	muy bueno	positivo	rojo

CITRATO SIMMONS

Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía

Fundamento

En el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano.

Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático.

El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino.

El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad

El metabolismo del citrato se realiza, en aquellas bacterias poseedoras de citrato permeasa, a través del ciclo del ácido tricarboxílico. El desdoblamiento del citrato da progresivamente, oxalacetato y piruvato. Este último, en presencia de un medio alcalino, da origen a ácidos orgánicos que, al ser utilizados como fuente de carbono, producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos. El medio entonces vira al azul y esto es indicativo de la producción de citrato permeasa.

Resultados

-Positivo: crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad.

-Negativo: el medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano y no hay cambio de color.

Microorganismo	Citrato permeasa	Color del medio
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Positivo	Azul
S. typhimurium ATCC 14028	Positivo	Azul
E. coli ATCC 25922	Negativo	Verde
S. flexneri ATCC 12022	Negativo	Verde

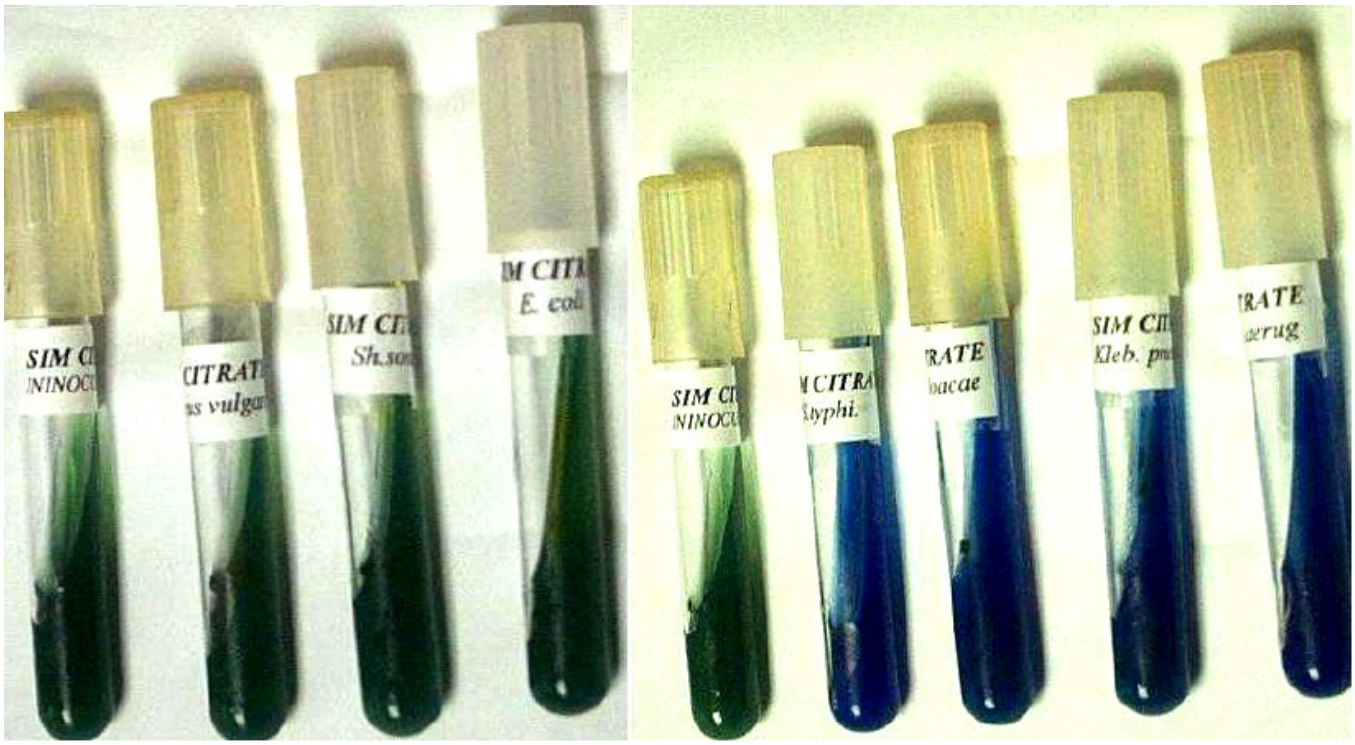


TABLA DE INTERPRETACIÓN PRUEBAS DIFERENCIALES

								Citrobacter			Klebsiella		Enterobacter						Serratia			Proteus			Providencia			Yersenia		
	Escherichia coli	Shigellae Sonnei	Shigellas otras	Edwardsiella Tarda	Salmonella otras	Salmonella Typhi	Arizona	Freundii	Diversus	Amalonaticus	Pneumonaie	Oxytoca	Cloacae	Aerogenes	Agglomerans	Sakazakii	Gergoviae	Hafnia Alvei	Marcenses	Liquefaciens	Rubidaea	Vulgaris	Mirabilis	Morganella Morganii	Rettgeri	Alcalifaciens	Stuartii	Entero-colitica	Pseudo-tuberculosis	Pestis
Indol	+	–	V	+	–	–	–	–	+	+	–	+	–	–	V	V	–	–	–	–	–	+	–	+	+	+	+	V	–	–
Simmons citrato	–	–	–	–	V	–	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	+	+	(V)	V	(V)	–	+	+	+	–	–	–
H_2S (TSI)	–	–	–	+	+	+w	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–
Urea	–	–	–	–	–	–	–	Vw	Vw	V	+	+	Vw	–	Vw	–	+	–	Vw	Vw	Vw	+	V	+	+	–	V	+	+	–
Movilidad	V	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	V	+	+	+	+	+	V	+	+	V	+	+	V	–37C +22C	–37C +22C	–37 C –22 C
Decarboxilasa Lisina	V	–	–	+	+	+	+	–	–	–	+	+	–	+	–	–	(V)	+	+	(V)	(V)	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ornitina Decarboxilasa	V	+	–	+	+	–	+	V	+	+	–	–	+	+	–	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–
Deaminación	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	V	V	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–
Gas Glucosa	+	–	–b	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	+	V	V	V	V	+	V	V	V	–	–	–	–
Lactosas	+	–a	–	–	–	–	V	(V)	V	V	+	+	(V)	+	V	+	V	V	–	V	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Sacarosa	V	–a	–	–	–	–	–	V	V	V	+	+	+	+	V	+	+	V	+	+	+	+	V	–	V	V	V	+	–	–

+ = 90% o más positivo dentro de las 48 horas.
– = Menos del 10% son positivos dentro de 48 horas.
V = 10% a 89.9% positivos dentro de las 48 horas.
(V) = Más del 50% positivos dentro de las 48 horas.

w = Reacción débil.
a = Positivo tardío.
b = Algunas Shiguellas Flexneri producen gas en glucosa.

PRUEBAS DIFERENCIALES PARA NO FERMENTADORES DE LA LACTOSA

Prueba para diferenciar bacilos grarn negativos no fermentadores.

1 tubo medio Kligler
1 tubo medio Movilidad
1 Prueba Oxidasa

Este set se utiliza a partir de una cepa pura de bacilos gram negativos no ferrnentadores.

1.-**Tubo medio Kligler**: Se siembra en la superficie tendida del agar y en profundidad en picadura. Se incuba 18 horas a 35^0C. En este medio se verifica la no fermentación de Carbohidratos.

Fermentación: Medio vira al Amarillo
No Fermentación: Medio no vira

2. **Tubo medio Movilidad**: Se siembra por picadura, se incuba 18 horas a 23^0C.

Movilidad (+) = Opacamiento del medio
(-) = Desarrollo sólo en picadura

3.-**Prueba Ox idasa**: Los gérmenes del género Pseudomona (Excepto la Pseudomona maltophilia) poseen una oxidasa que se pone de manifiesto por medio de la dimetilparafenildiamina

Técnica: Se requiere de:
Cultivos recientes del gérmen a investigar
1 disco de papel impregnado con N, dimetilparafenildiamina.

Se coloca el disco previamente sumergido en agua destilada estéril sobre un portaobjeto o en el fondo de una placa petri. Con el asa se toma una colonia a investigar y se deposita sobre el disco ya empapado. Se observa después de 10 a 60 segundos.

Interpretación: Oxidasa (+) = Las colonias se ven color Violeta oscuro
Oxidasa (-) = Las colonias no cambian de color.

CUADRO DE INTERPRETACIÓN

CEPAS	Kligler	Movilidad	Oxidasa
Pseudomona sp.	K/K	+	+
Acinetobacter sp.	K/K	–	–
Moraxella sp.	K/K	–	+

NOTA: K/K =Superficie tendida Roja/Fondo Rojo.

Diferenciación de bacilos Gram negativos oxidativos y fermentativos

Medio OF + azúcares

Este medio fue descrito por Hugh & Leifson , en este medio se observa la fermentación de los azúcares en ambiente arerobico y anaeróbico , utilizando dos tubos con cada azúcar por muestra , uno abierto y uno cerrado con petrolato o aceite mineral .Los microorganismos fermentativos producirán reacción ácido en ambos tubos (abierto y cerrado) Los organismos oxidativos producirán una reacción ácida en el tubo abierto y no habrá reacción o muy escasa en el tubo cerrado.
Los organismos que no están clasificados como fermentativos u oxidativos no producen ningún cambio en el tubo abierto y producen una reacción alcalina en el tubo abierto.

Esta prueba se puede efectuar con este medio conteniendo Glucosa, Lactosa y Sacarosa , y con estas azúcares se pueden determinar los siguientes grupos:

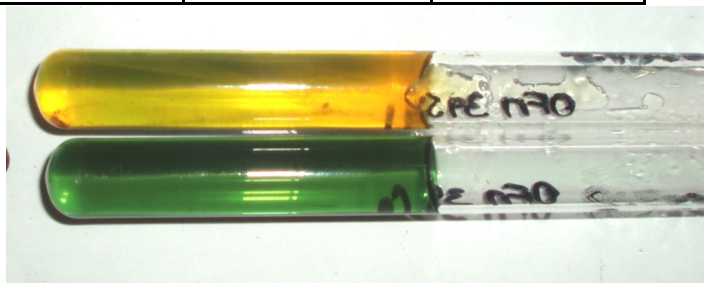
Grupo II : Oxidativos—no fermentativos
Grupo IIIa : Fermentadores anaerogénicos
Grupo IIIb : Fermentadores aerogénicos
Grupo IIIc : Oxidativos-Fermentadores.

Organismo	Glucosa Abierto/cerrado		Lactosa Abierto/cerrado		Sacarosa Abierto/cerrado		Grupo
Pseudomona aeruginosa	AC	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	II
Bacteriumanitratum	AC	NEG	AC	NEG	NEG	NEG	Oxidativos
Agrobacterium tumefaciens	AC	NEG	AC	NEG	AC	NEG	No
Malleomyces pseudomalei	AC	NEG	AC	NEG	AC	NEG	fermentadores
Shigella disenteriae	AC	AC	NEG	NEG	NEG	NEG	IIIa
Shigella sonnei	AC	AC	AC	AC	NEG	NEG	Fermentadores anaerogénicos
Vibrio cholerae							
Salmonella enteritidis	AG	AG	NEG	NEG	NEG	NEG	IIIb
Escherichia coli	AG	AG	AG	AG	NEG	NEG	Fermentadores
Aeromona liquefaciens	AG	AG	NEG	NEG	AG	AG	aerogénicos
Enterobacter aerogenes	AG	AG	AG	AG	AG	AG	
Especies no clasificadas	AC	AC	AC	NEG	Variable		IIIc
Paracolon especies	AG	AG	AC	NEG	Variable		Fermentadores oxidativos

AC= producción de acido

AG= producción de acido y gas

NEG= no hay cambio , reacción alcalina.



PRUEBAS ADICIONALES PARA COCACEAS GRAM POSITIVAS:

Género Staphylococcus.

Prueba Coagulasa:

2 tubos con plasma conejo + EDTA
1 tubo con caldo cerebro corazón

Se traspasa la colonia a investigar al tubo caldo cerebro corazón, se incuba 18 horas a 35°C.
A uno de los tubos con plasma de conejo se le agregan 0.2 mi de cultivo del gérmen de 18 horas en caldo cerebro corazón. El otro se utiliza de control negativo.
Incubar a 35°C.
Observar periódicamente hasta por 4 horas de incubación.

Interpretación:
Reacción Positiva: Formación de coágulo, que puede variar de tamaño.
Reacción Negativa: No hay formación de coágulo, se evidencia precipitado fibroso floculento.

Cepas de control.
Control Positivo: Staphvlococcus aureus
Control Negativo: Staphylococcus epidermidis

Prueba Catalasa:

1 tubo agar cerebro corazón
1 tubo con H202 al 3 %

Se traspasa la colonia a investigar al tubo con agar cerebro corazón. Se incuba a 35^0C por 16 a 18 horas.
Se colocan 1 ó 2 gotas de H202 al 3% en un portaobjeto y ahí se hace una emulsión espesa con cultivo a partir del agar cerebro corazón.

Interpretación: Catalasa (+) = Burbujeo intenso (Oxidación de peróx ido)
(-) = No hay Burbujas

Prueba Sensibilidad a Novobiocina:

1 placa Agar Mueller Hinton 5 cm.
1 disco Novobiocina 5 mcgr.

Se inocula la placa con la cepa a investigar. Se coloca el disco, se incuba 24 horas a 35^0C. Se mide el halo de inhibición.
Sensibilidad = (+) halo mayor de 6 mm.
(-) halo menor de 5 mm.

CUADRO DIFERENCIACION GENERO STAPHYLOCOCCUS

Prueba	S. Aureus	S. Epidermis	S. Saprophyticus	S. Hominis
Catalasa	+	+	+	+
Coagulasa	+	–	–	–
Hemolisis	+	-(+)	–	-(+)
Novobiocina	–	–	+	–

Género Streptococcus.

Prueba de Sensibilidad a Bacitracina:
Se utiliza para diferenciar en forma presuntiva el "Streptococcus grupo A" del resto de los Streptococcus beta hemolíticos.

1 placa Agar Sangre 5 cm
1 disco Bacitracina 0,04 u

Se recomienda sembrar una colonia beta hemolítica en 3 mi de caldo cerebro corazón. Después de 5 a 6'horas de incubación a 35^{0}C. se siembra la placa de agar sangre a partir del caldo. Se coloca sobre la superficie de la placa el disco de Bacitracina.
Se incuba por 18 horas a 35^{0}C. Se lee el halo de inhibición.

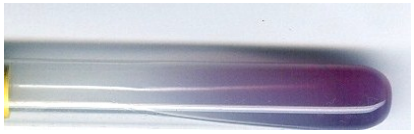
Reacción Positiva: Corresponde a cualquier zona de inhibición, independiente del diámetro del disco.
Reacción Negativa: No hay halo inhibición.

Agar Bilis Esculina:
Se utiliza para el diagnóstico presuntivo del "Streptococcus grupo D".

1 tubo medio bilis Esculina Tendido.

Se siembra el germen a investigar en la superficie tendida del agar. Los Streptococcus grupo D incluyendo enterococos y no enterococos) ennegrecen el medio.

Prueba Tolerancia a la sal:
1 tubo Agar sal 6,5%
Se siembra el gérmen a investigar en la superficie tendida del agar sal 6,5%. Se incuba por 18 horas a 35^{0}C.
Se observa si hay desarrollo.
Los enterococos se desarrollan en este medio, los no enterococos no se desarrollan.



Test de Camp:
Se utiliza para el diagnóstico presuntivo del "Streptococcus grupo B".
1 placa 10 cm. agar sangre cordero
1 cepa Staphylococcus aureus productora de beta lisina.

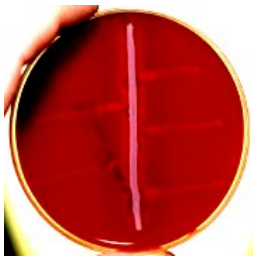
Se siembra con el Staphylococcus aureus una estría en el centro de la placa, utilizando un asa de punta. En estrías perpendiculares a la estría central y sin llegar a tocarla, se siembran las cepas de Streptococcus beta hernolíticos que se quieren investigar. Se debe dejar una distancia mínima de 0,5 cm entre las estrías de los Streptococcus para evitar confusiones.
Se incuba la placa a 35^{0}C por 18 horas.

Interpretación:
El Streptococcus grupo B posee un factor que se llama "Factor Camp " que estimula la hemólisis del Staphylococcus. Esto se visual iza por la formación de una punta de flecha de beta hemólisis entre los dos gérmenes

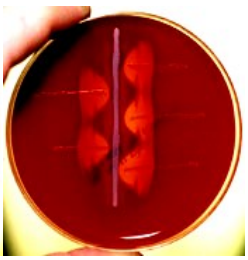
CUADRO DIFERENCIACION GENERO STREPTOCOCCUS

	Grupo A	Grupo B	NoGrupo A,B,D	Grupo D Entero-coco	Grupo D No ente-rococo	No Grupo D Viridans
Hemolisis	Beta	Beta	Beta	Beta Alfa o ninguna	Alfa o ninguna	Alfa o ningu-na
Bacitracina	+	–	–	–	–	–
Bilis esculina	–	–	–	+	+	–
Agar sal	–	±	–	+	–	–
Test camp	–	+	--	–	–	–

CAMP NEGATIVO



CAMP POSITIVO



IDENTIFICACION DEL STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Prueba de Sensibilidad a la Optoquina:

Esta prueba se utiliza para identificar el Streptococcus pneumoniae de los otros Streptococcus viridans.

1 placa agar sangre 5 cm cp

1 disco Optoquina 5 rncgrs.

Para realizar la prueba se toman con el asa tres o cuatro colonias sospechosas sembrando con ellas la placa de agar sangre. En la zona del mayor inóculo se coloca el disco de Optoquina de 5 rncgrs.

La placa se incuba en Jarra de C02, para estimular el desarrollo, por 16 a 18 horas. Se mide el halo de inhibición.

Interpretación: (+) halo de inhibición mayor 14 mm. Se informa presuntivamente como S. pneumoniae

(+) Halo de inhibición entre 7,14 mm la cepa es dudosa.

(=) halo es menor o inexistente. .

PRUEBAS ADICIONALES PARA COCACEAS GRAM NEGATIVAS:

Género Neisserias

Prueba Oxidasa Positiva:

Los gérmenes del género Neisseria que son patógenos *(N. meningitidis, N. gonorrhoeae*) poseen una oxidasa que se pone de manifiesto por medio de la dimetilparafeniIdiamina.

Técnica:

Se requiere de:

Cultivos recientes en placa Thayer Martin, agar Chocolate o agar Mueller Hinton con sangre.

1 disco de papel impregnado con N, dimetilparafenildiamina.

Se coloca el disco previamente sumergido en agua destilada estéril sobre un portaobjeto o en el fondo de una placa petri. Con el asa se toma una colonia a investigar y se deposita sobre el disco empapado. Se observa después de 10 a 60 segundos.

Interpretación: OXIDASA (+) = Las colonias se ven color violeta oscuro.

OXIDASA (-) = Las colonias no cambian de color.

NOTA: A toda colonia positiva se le practica tinción de gram donde se observarán los diplococos gram negativos característicos.

Diferenciación Neisseriae:

Los métodos de diagnóstico de certeza son la acción del gérmen sobre los carbohidratos.

1 tubo medio CTA con Glucosa

1 tubo medio CT A con Maltosa

1 tubo medio CT A con Sacarosa

Se requiere un cultivo reciente del gérmen en agar chocolate o agar Mueller Hinton con sangre, a partir de este cultivo se realiza una emulsión en caldo Mueller Hinton o suero fisiológico. Los tres tubos con medio CTA con los carbohidratos se siembran en picadura con la emulsión descrita.

Se incuban en Jarra de C02 por 18 horas.

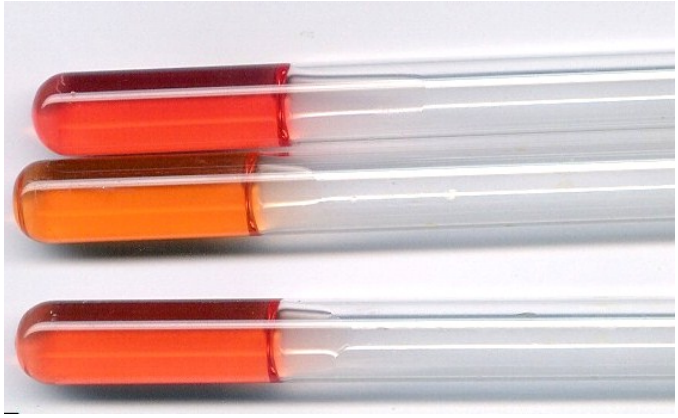
Interpretación: (+) = La parte superior del medio vira ,al Amarillo. Fondo Rosado.

(-) =No vira de color el medio.

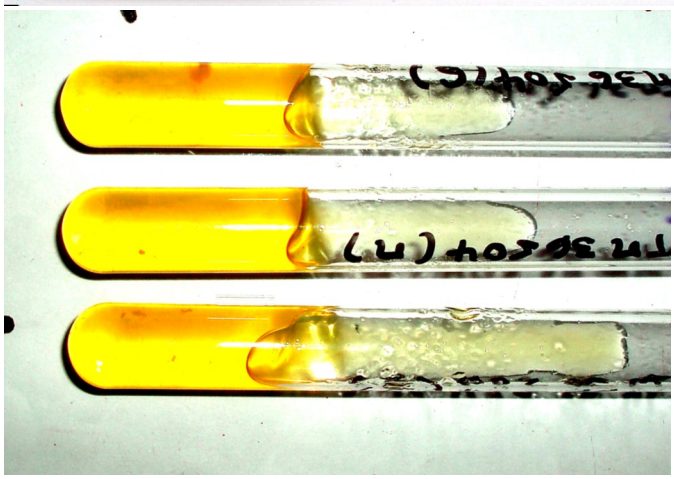
CUADRO DIFERENCIACION NEISSERIAS:

Medio CTA con:	N. Meningitidis	N. Gonorrhoeae	.N.Catarralis	N. Sicca
Glucosa	+	+	(-)	+
Maltosa	+	(-)	(-)	+
Sacarosa	(–)	(–)	(–)	+

Reacción Negativa



Reacción Positiva



MEDIOS DE CULTIVO EN TUBOS

CALDOS— MEDIOS ANAEROBIOS—CALDOS ENRIQUECIMIENTO

Tubos 12 x 120:y 13 x 100:

Agua Peptonada Tamponada

Agua Peptonada alcalina

Caldo Cerebro Corazón

Caldo Peptonado

Caldo Mueller Hinton

Caldo Soya Tripticase

Caldo Todd Hewitt

Caldo Todd Hewitt + Inhibidor

Medio Tioglicolato

Medio Conservación Cepas

Medio Líquido Enriquecido

Medio Selenito

Medio TSA tendido

Tubos 16 x 160:

Agar Sabouraud Dextrosa 2%

Agua Peptonada Tamponada 9 ml

Agua Peptonada Tamponada 9,9 ml

Caldo EC Modificado

Caldo Selenito

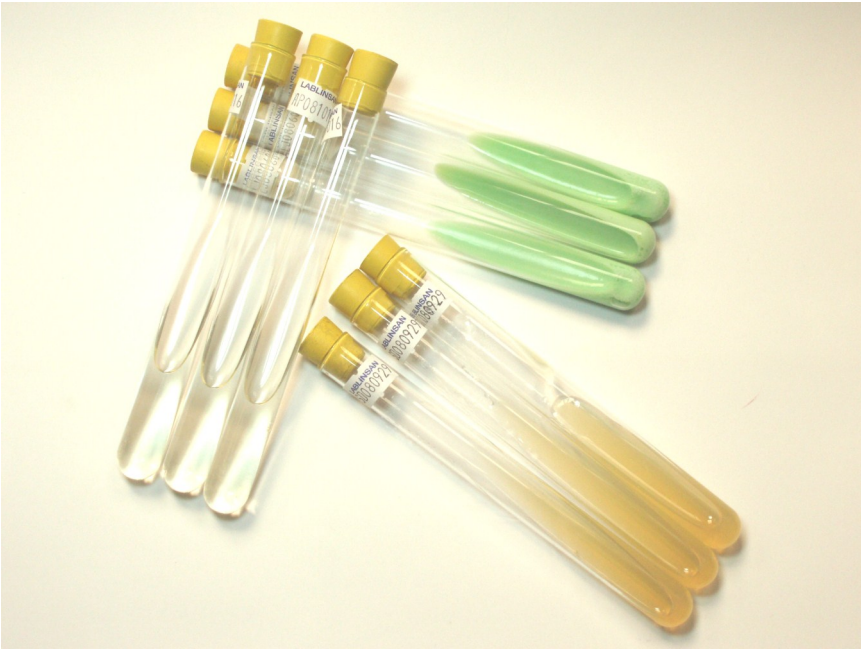
Medio Lowenstein Jensen

Medio para Gram-positivos

Medio para hongos y levaduras

Salmonella ID

Listeria ID



Preparado segun especificaciones del fabricante y segun norma ISO/TS11133-1:2009

CONTROL DE CALIDAD segun especificaciones del standar ISO/TS 11133-2:2004

Conservación: De 8 a 12 ºC hasta la fecha de vencimiento,**No congelar**.

HEMOCULTIVOS

HEMOCULTIVOS AEROBICOS Y HEMOCULTIVOS MULTIUSO Hem-total

El Hemocultivo

es la prueba bacteriológica más útil y más frecuentemente usada para la detección de microorganismos en la sangre.Los frascos para Hemocultivo de LINSAN se presentan con medios diferentes, lo que permite el desarrollo de gérmenes aerobios y anaerobios, con presión reducida y atmósfera de CO2, como un estimulante del crecimiento para gran variedad de microorganismos.

El S.P.S. (Polianetol sulfonado de Sodio) se incorpora como anticoagulante y ha probado ser superior a los anticoagulantes comunes reemplazando al Citrato de Sodio.

Además posee la capacidad de neutralizarla acción bactericida del suero,evitar la fagocitosis e inactivar factores antimicrobianos en sangre fresca y otros fluidos.

La L.Cistina, actúa como agente reductor ayudando a bajar el potencial redox (Eh) del medio multiuso .

Hemina y Vitamina K, proveen de los factores de crecimiento para ciertas cepas de

Bacteroides melaninogenicus, B. fragilis y otros microorganismos anaerobios estrictos.La estabilidad de estos medios es de 12 meses a temperatura ambiente (18º-25º C).

Se recomienda sembrar en cada ocasión un frasco de hemocultivo aerobico y un Hem-total multiuso con la misma muestra para obtener una mayor posibilidad de pesquiza bacteriana especialmente cuando el paciente ha sido sometido a cirugía abdominal o toráxica.

HEMOCULTIVOS AEROBICOS

HEMOCULTIVO ADULTO 40 ML

HEMOCULTIVO MINI PEDIÁTRICO 20 ML

HEMOCULTIVO MINI NEONATAL 10 ML

Hem'total

HEMOCULTIVO MULTIUSO DE AMPLIO ESPECTRO

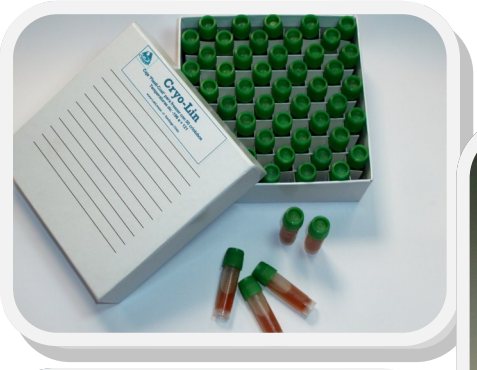
PRESENTACIÓN : FRASCO 40 ML

Preparado segun especificaciones del fabricante y segun norma ISO/TS11133-1:2009

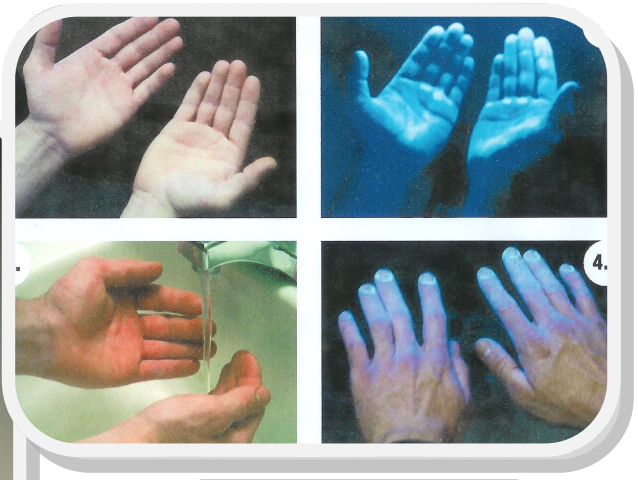
CONTROL DE CALIDAD segun especificaciones del standar ISO/TS 11133-2:2004

Incubación : 24 a 72 hrs. a 35ºC en aerobiosis.

Conservación: Temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento, **No congelar**.


Cyto-Lin

CITODIAGNOSTICA
CITO-FIX
FIJADOR CITOLOGICO
ROCIAR TRES VECES
ESTE PRODUCTO
EFECTIVAMENTE
NO DAÑA LA
CAPA DE OZONO

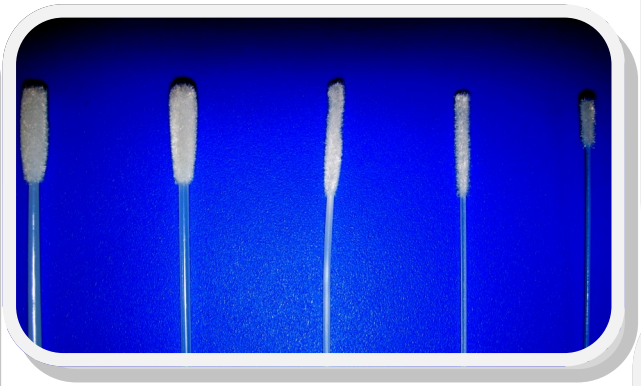

4.

WWW.LABLINSAN.CL
MAY GRUNWALD
MANTENER EN LUGAR
FRESCO Y SECO
GIEMSA
HAYEM II
MANTENER EN LUGAR
FRESCO Y SECO

LABORATORIO LINSAN S. A.
FONOS : 2239462 - FAX : 2238329
E- mail : info@lablinsan.cl
Pág. Web : www.lablinsan.cl
T'nT' (Torulin en Tubo)
Medio
Letheen
Líquido

T'enT' - SS
(TorulIn en Tubo CON SELLO SEGURO)
Transport Swab T' en T' - SS
www.lablinsan.cl
STERILE

T'enT'® (TorulIn® en Tubo)
Nombre
T'enT'® (TorulIn® en Tubo)
Nombre



WWW.LABLINSAN.CL
COD: 8154 AGAR WD
AGAR WL DIFERENCIAL 50mm.
LOTE: WD 081010
VENCE 10 ENERO 2009
MANTENER REFRIGERADO
NO CONGELAR