

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	1 de 15

1. OBJETIVO

Describir la metodología para la correcta preparación de medios de cultivo que contengan los nutrientes y condiciones necesarias (pH, temperatura, humedad, etc) y favorezcan el crecimiento de los microorganismos.

2. ALCANCE.

Este procedimiento se aplica a los Medios de cultivos preparados a partir de fórmulas comerciales deshidratadas y que se utilizan para la identificación de microorganismos aislados de muestras biológicas y muestras de alimentos que hacen parte de la vigilancia en Salud Pública.

3. RESPONSABLES.

Coordinador LDSP: aprobar el presente documento, supervisar el estricto cumplimiento de lo establecido en el mismo y avalar los resultados que de éste se generen.

Profesionales del Laboratorio de Microbiología del Laboratorio Departamental de Salud Pública: aplicar las metodologías descritas en el presente documento con estándares de calidad, oportunidad y avalar los resultados que se generen del mismo.

Auxiliar(es) Laboratorio Departamental de Salud Pública: cumplir con lo definido para la ejecución de actividades relacionadas con lavado y esterilización de material, limpieza de áreas y superficies, con el fin de que cumplan con los requerimientos necesarios para la ejecución de las actividades relacionadas con la preparación de los medios de cultivo.

4. TERMINOS Y DEFINICIONES

MEDIO DE CULTIVO: Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos.

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	2 de 15

CONSTITUYENTES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:

En general los medios de cultivo contienen los siguientes componentes:

AGAR. Se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo. En el agar bacteriológico el componente dominante es un polisacárido que se obtiene de ciertas algas marinas y que presenta la indudable ventaja de que a excepción de algunos microorganismos marinos, no es utilizado como nutriente. Un gel de agar al 1-2% se licua alrededor de los 100°C y se gelifica alrededor de los 40°C, dependiendo de su grado de pureza.

EXTRACTOS. Su preparación consiste en que ciertos órganos o tejidos animales o vegetales (ejemplo: carne, hígado, cerebro, semillas, etc.) son extraídos con agua y calor y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo. Estos preparados deshidratados son a menudo empleados en la elaboración de los medios de cultivo. Los más utilizados son el extracto de carne, de levadura y el de malta.

PEPTONAS. Son mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (soja caseína carne, etc.). Las peptonas son muy ricas en pépticos y aminoácidos, pero pueden ser deficientes en determinadas vitaminas y sales minerales

FLUIDOS CORPORALES. Con frecuencia es necesario añadir a los medios de cultivo de algunos patógenos sustancias como sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo, sobre todo para conseguir el primer aislamiento a partir del hospedador. La sangre no puede ser esterilizada, y por tanto debe de ser obtenida en condiciones asépticas directamente de un animal sano, y adicionada al medio de cultivo después de que este haya sido auto clavado. Los fluidos corporales no solo aportan factores de crecimiento sino que también aportan sustancias que neutralizan a inhibidores del crecimiento de algunas bacterias. Un ejemplo podría ser la catalasa presente en las células sanguíneas destruye el peróxido de hidrógeno que algunas bacterias que no poseen este enzima acumulan como

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	3 de 15

producto del metabolismo del oxígeno.

SISTEMAS AMORTIGUADORES. Para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano a veces, es necesario añadir algunos componentes al medio de cultivo. Debido a que la mayoría de las bacterias son neutrófilas, se suelen emplear sales del tipo de los fosfatos bisódicos o bipotásicos u otras sustancias como las peptonas para prevenir la desviación del pH.

INDICADORES DE PH. Con el objeto de poder detectar variaciones en el pH debido a fermentaciones u otros procesos, se hace necesario a veces añadir indicadores ácido-base que nos lo indiquen.

AGENTES REDUCTORES. Con el objetivo de crear en los medios de cultivo condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos o anaerobios se añaden estos agentes reductores siendo, los más empleados la cisteína y el tioglicolato entre otros.

AGENTES SELECTIVOS. La adición de determinadas sustancias a un medio de cultivo puede convertirlo en selectivo. Así, por ejemplo, la adición de cristal violeta, sales biliares, azida sódica, telurito potásico, antibióticos, etc., a la concentración adecuada hará que actúen como agentes selectivos frente a determinados microorganismos.

TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVO

MEDIOS GENERALES: Son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO: Son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.

MEDIOS SELECTIVOS: Son aquellos que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismos determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás

MEDIOS DIFERENCIALES: Son aquellos en los que se pone de manifiesto propiedades que

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	4 de 15

un determinado tipo de microorganismos posee.

5. REQUISITOS GENERALES PARA LA PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO.

Para la preparación de los medios de cultivo se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

- ✓ Realizar limpieza y desinfección de superficies, equipos y elementos antes de iniciar y al finalizar la preparación de medios de cultivo siguiendo los protocolos establecidos.
- ✓ Preparar los medios de cultivo sólo a partir de productos que provengan de fabricantes o proveedores que suministren productos de calidad.
- ✓ Utilizar agua destilada o desmineralizada con una calidad microbiológica y físico-química adecuada.
- ✓ Utilizar materiales de vidrios bien lavado, enjuagado con agua destilada o desmineralizada y debidamente esterilizado.
- ✓ Leer cuidadosamente las indicaciones del medio de cultivo deshidratado.
- ✓ Controlar el tiempo y la temperatura recomendada durante su esterilización. Nunca se deben exceder las condiciones señaladas por el fabricante.
- ✓ Definir previamente la cantidad necesaria a preparar.
- ✓ Pesar la cantidad calculada del medio deshidratado. Esta operación debe ser rápida para evitar que la humedad del ambiente no afecte el resto del contenido del frasco.
- ✓ Aplique protocolo de lavado de manos antes y después de preparar los medios de cultivo.
- ✓ Utilizar guantes y elementos de protección personal necesarios para la preparación de los medios.
- ✓ Descartar los residuos generados según lineamientos establecidos en el pgrirhsa.

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	5 de 15

6. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS.

1. Leer cuidadosamente las instrucciones de preparación del medio de cultivo.
2. Pesar la cantidad exacta del medio deshidratado. Cerrar inmediatamente el frasco de medio de cultivo.
3. Disolver la porción pesada de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Si es necesario calentar se debe tener cuidado de no sobrecalentar el medio.
4. Medición del Ph:
Ajustar el **pH final** de cada lote de medio preparado, preferiblemente a temperatura ambiente (25°C).
Para ello se debe tomar una alícuota de 50 ml, medir el pH y de ser necesario ajustar al pH indicado utilizando HCl 0,1N o NaOH 0,1N. Luego hacer el ajuste de pH al resto del medio de cultivo utilizando la solución correspondiente pero 1 N.
5. Esterilizar de inmediato el medio de cultivo siguiendo las instrucciones señaladas a 20 minutos a 121°C a 1.5 atm de presión. Colocar indicador biológico de esterilidad
6. Servir el medio en material de vidrio estéril (cajas de Petri, tubos tapa rosca, frascos shot) identificando nombre del medio, lote, y fecha de preparación.
7. Dejar enfriar y guardar los agares en el refrigerador, (cajas Petri con la tapa abajo).

	<p align="center">GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO</p> <p align="center">Laboratorio de Salud Pública.</p>	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	6 de 15

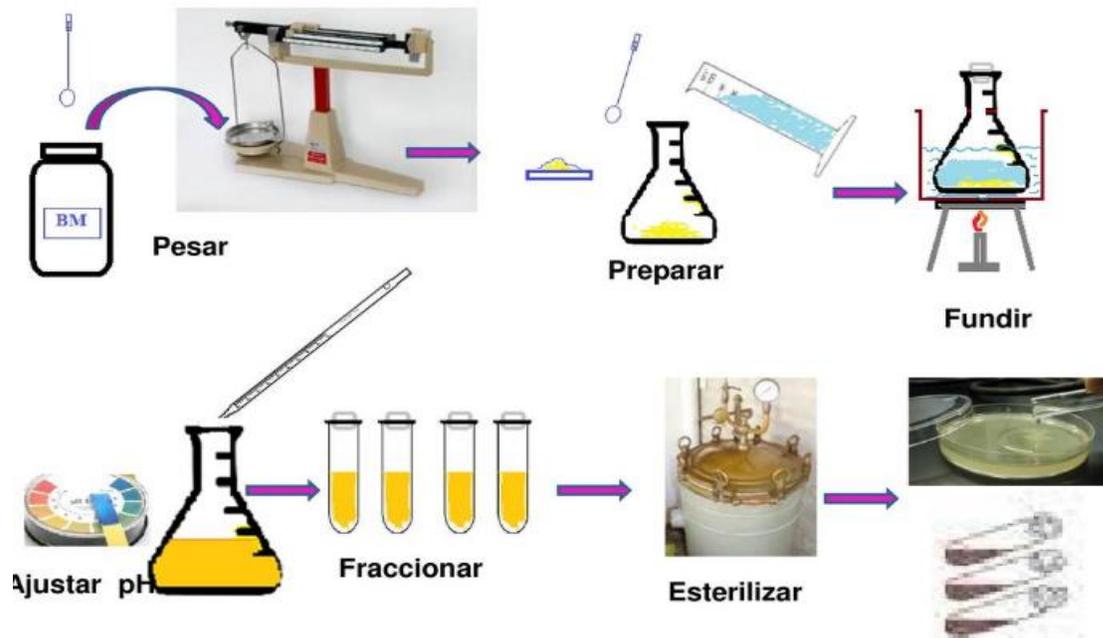
7. ALMACENAMIENTO GENERAL DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Los medios de cultivo deshidratados se deben almacenar en envases sellados bajo las condiciones que señale el fabricante. Generalmente se almacenan en un lugar fresco (entre 15 y 25°), con poca humedad y protegidos de la luz solar directa. Nunca se deben almacenar cerca de autoclaves, hornos, ni otra fuente de calor o vapor.

Los medios de cultivo deshidratados son higroscópicos. Cuando los envases de estos medios de cultivo deshidratados son abiertos para su uso inicial, se debe tener la precaución de cerrarlos tan pronto como sea posible y mantenerlos bien cerrados para prevenir la entrada de humedad. La absorción de agua produce cambios de pH, formación de grumos, decoloraciones del polvo, etc., lo cual indica que deben ser descartados porque pueden haber sufrido cambios químicos o estar contaminados. Una vez que el medio de cultivo ha sido preparado y esterilizado, será almacenados **bajo refrigeración entre 2 y 8°C** . Los medios de cultivo se deben mantener en recipientes bien cerrados para evitar su deshidratación y cuando se usa tapón de algodón, se debe colocar por encima una envoltura de papel (Craft).

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	7 de 15

PREPARACION DE UN MEDIO DE CULTIVO SOLIDO



7. CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

7.1 Prueba de esterilidad

1. Tomar una caja Petri de Agar preparado, así como un tubo y etiquetarlas.
2. Colocar los tubos y las cajas Petri en la incubadora ajustada a 35 ± 2 °C durante 24-48 horas. Las cajas Petri se colocarán con la tapa hacia abajo.
3. Revisar los tubos y cajas Petri para detectar la presencia de contaminantes, por la aparición de turbidez, nata superficial y/o depósito de material en el fondo de los tubos con medio líquido, así como la formación de colonias microbianas en la superficie de los medios sólidos.

7.2 Prueba de crecimiento

Según las características del medio se realiza control de crecimiento utilizando

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	8 de 15

CEPAS PATRON, que se indican en las fichas técnicas de medios de cultivo.

En el Laboratorio de Salud Pública de Santander se cuenta con las siguientes cepas patrón:

- Escherichia coli ATCC 25922
- Staphylococcus aureus subsp. aureus (ATCC® 25923™)
- Bacillus cereus ATCC 11778
- Saccharomyces cerevisiae (ATCC® 9763™)
- Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium (ATCC® 14028™)
- Listeria monocytogenes (ATCC® 19115™)
- Pseudomonas aeruginosa (ATCC® 27853™)

8. PREPARACION DE MEDIOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO.

AGAR PLATE COUNT

Pesar 17.5 gr de medio de cultivo Agar Plate Count -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Enfriamiento con agua tipo 1 hasta 45°C -----► vertido aséptico en cajas o almacenamiento en nevera a 4°C posterior a la solidificación en frascos schott de 500 ml.

AGAR EMB (Eosina azul de Metileno)

Pesar 36 gr de medio de cultivo Agar EMB -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Enfriamiento con agua tipo 1 hasta 45°C -----► vertido aséptico en cajas o almacenamiento en nevera a 4°C.

AGAR BP (Baird Parker)

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	9 de 15

Pesar 63 gr de medio de cultivo Agar BP -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----►Esterilización a 121°C por 15 minutos -----►Enfriamiento con agua tipo 1 hasta 45°C-----►adicionar 50 ml de emulsión huevo – telurito -----►vertido aséptico en cajas de Petri para su utilización inmediata posterior solidificación o almacenamiento en cajas de Petri en nevera entre 2 a 8°C posterior a la solidificación.

AGAR NUTRITIVO

Pesar 28 gr de Agar Nutritivo -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----►vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----►Esterilización a 121°C por minutos -----►determinar y ajustar el pH -----►Servir en cajas de Petri.

AGUA PEPTONA BUFERADA

Pesar 20 gr de agua peptona bufferada -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----►vertido aséptico en frascos schott estériles -----►Esterilización a 121°C por 15 minutos -----►Determinar y ajustar el PH.

CALDO TETRACIONATO

Pesar 77 gr de caldo tetracionato -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----►vertido aséptico en tubos tapa rosca estériles -----►Esterilización a 121°C por 15 minutos-----►Se enfrían a 45 °C-----►Opción 1 se almacena en nevera de 2 a 8 °C hasta su utilización -----►Opción 2 se le añade 20 ml de solución de yodo al caldo tetracionato enfriado se mezcla bien y quedan listos para su utilización inmediata.

AGAR SABOURAUD

Pesar 65 gr de Agar Sabouraud -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebullición -----►vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	10 de 15

► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían con agua tipo 1 o destilada a 45 °C----
 ---► se vierte en cajas de Petri.

CALDO LACTOSA

Pesar 13 gr de Caldo Lactosa -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en tubos tapa rosca estériles con tubos Durham en su interior -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían hasta llegar a 45 °C----► quedan listas para su utilización.

AGAR OGY (Agar oxitetraciclina glucosa extracto de levadura.)

Pesar 18.5 gr de Agar OGY -----► 500 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir ----► vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----► Esterilización a 115°C por 10 minutos-----► Se enfrían con agua tipo 1 o destilada a 50 °C -----► Se le adiciona vial de suplemento de oxitetraciclina/Cloranfenicol y se homogeniza -----► Se almacena de 4°C- 8°C.

AGAR DEMI - FRASER

Pesar 55 gr de Agar Demi-Fraser -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----
 ► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se almacenan de 2°C - 8°C ----► queda listo para su utilización.

CALDO BRILLA (Caldo lactosado bilis verde brillante).

Pesar 40 gr de Caldo Brilla -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebullición.-----► vertido aséptico en tubos tapa rosca con tubos Durham en su interior estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían a 45 °C ----► quedan listas para su utilización.

AGAR TCBS (Agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa.

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	11 de 15

Pesar 88 gr de Agar TCBS -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en Cajas de Petri desechables -----► queda listo para su utilización según lo dicta el POE DE DETERMINACION DE VIBRIO CHOLERAEE.

AGAR XLD (Agar xilosa lisina desoxicolato).

Pesar 55 gr de Agar XLD -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en Cajas de Petri desechables -----► almacenar de 2°C-8°C.

AGAR SELECTIVO PARA CLOSTIDIUM PERFRINGES- SPS (Sulfito polimixina sulfadiazina)

Pesar 40 gr de Agar SPS -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían con agua tipo 1 o destilada hasta llegar a 45°C ----► queda listo para su utilización según lo dicta el POE PARA LA DETERMINACION DE ESPORAS CLOSTRIDIUM SULFITO REDUCTOR EN ALIMENTOS.

AGUA PEPTONA BUFFERADA AL 0.1%

Pesar 1 gr de agua peptona bufferada -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en frascos de vidrio de 100 ml estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían con agua tipo 1 o destilada hasta 45 °C y quedan listos para su utilización inmediata o almacenamiento en nevera de 2 a 8 °C.

AGAR SELENITO – CISTINA

Pesar 4 gr de Biselenito sódico ---► 1000 ml agua tipo 1 o destilada ---► 19 gr de Agar Selenito – Cistina ----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en recipientes de 60 mm ----► Determinar y ajustar pH ----► Queda listo para su utilización.

AGAR TSI (Triple Sugar Iron.)

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	12 de 15

Pesar 65 gr de Agar TSI -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----►vertido aséptico en tubos tapa rosca con tubos Durham en su interior estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----►Se enfrían hasta llegar a 45 °C ----► Verterlo en tubos tapa rosca estériles (Ver POE De Material Esterilizado) en posición inclinada de forma que quede un fondo de 2 cm de altura quedan listas para su utilización.

AGAR MULLER KAUFFMAN.

Pesar 89.5 gr de Agar Muller Kauffman ----►1000 ml agua tipo 1 o destilada ----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir ----►Enfriamos hasta los 45 °C ----► Añadimos 20 ml de solución Iodo - Ioduro----►Luego se añade 1 (uno) vial de suplemento de novobiocina reconstituido----► Se mezcla bien y se distribuye asépticamente en cajas de Petri estériles

AGAR RAPPAPORT VASSILIADIS .

Pesar 26.75gr de Agar RAPPAPORT VASSILIADIS ----►1000 ml agua tipo 1 o destilada ----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----►vertido aséptico en tubos tapa rosca en volúmenes de 10 ml -----► Esterilización a 115°C por 15 minutos -----►Se enfrían a 45 °C ----► Quedan listos para su utilización según lo dicte el POE DE DETERMINACION DE SALMONELLA SP EN ALIMENTOS.

AGAR TBX (TRIPTONA BILIAR X- GLUCURÓNIDO)

Pesar 36,6 gr de Agar RAPPAPORT VASSILIADIS ----►1000 ml agua tipo 1 o destilada ----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----►vertido aséptico en frascos Schott -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----►Se enfrían a 45 °C ----► Quedan listos para su utilización.

AGAR M Y P (AGAR SELECTIVO PARA CEREUS SEGÚN MOSSEL.

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	13 de 15

Pesar 21.5 gr de Agar M Y P -----► 450 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir-----► vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos-----► Se enfrían con agua tipo 1 o destilada a 49 °C -----► Se le adiciona vial de suplemento de Polymixyn B además de 50 ml de Emulsión huevo estéril y se homogeniza -----► Se vierte en cajas de Petri junto con las muestras de alimentos y quedan listas para su utilización según lo dicta el POE PARA LA DETERMINACION DE BACILLUS CEREUS EN ALIMENTOS.

AGAR BASE PALCAM

Pesar 27.75 gr de Agar Base listeria selectivo -----► 500 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se enfrían a 50 °C -----► Se le adiciona vial de Listeria suplemento selectivo y se homogeniza -----► Se vierte en cajas de Petri junto con las muestras de alimentos y quedan listas para su utilización según lo dicta el POE PARA LA DETERMINACION DE LISTERIA MONOCYTOGENES EN ALIMENTOS.

DESOXICOLATO SODICO AL 0.5%

Pesar 0.5 gr de DESOXICOLATO SODICO -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en frascos schott de 500 ml y almacenamiento en nevera entre 2 - 8°C. Su utilización lo dicta el POE PARA LA DETERMINACION DE VIBRIO CHOLERAEE.

MEDIO SIM (MOVILIDAD, INDOL Y DE SULFURO DE HIDRÓGENO) .

Pesar 30 gr de Medio SIM -----► 1000 ml agua tipo 1 o destilada -----► Se homogeniza y calienta hasta ebulir -----► vertido aséptico en tubos tapa rosca estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos -----► Se colocan en posición vertical hasta su solidificación. Si se van a utilizar de forma inmediata o si se almacenan en nevera de 2 a 8 °C por 8 días que es la fecha límite que nos brinda el medio de cultivo.

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	14 de 15

AGAR BASE SANGRE

Pesar 40 gr de Agar base sangre -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir-----►vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos-----►Se enfrían a 49 °C -----►Se vierte en cajas de Petri o viales de 1,5 ml junto y quedan listas para su utilización.

CALDO BHI (INFUSIÓN, CEREBRO, CORAZON)

37 gr de Agar base CALDO BHI -----►1000 ml agua tipo 1 o destilada -----►Se homogeniza y calienta hasta ebulir-----►vertido aséptico en frascos schott de 500 ml estériles -----► Esterilización a 121°C por 15 minutos-----►Se enfrían a 49 °C y se almacena de guarda hasta su utilización.

9. BIBLIOGRAFIA

- Ortega, Y; Quevedo F. 1991. Garantía de la Calidad de los Laboratorios de Microbiología Alimentaria. Organización Panamericana de la Salud. Harla S.A. México .
- Barry, A. y S. Gibson. 2002. Control de calidad en microbiología, en Dharan, M. Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos. Ed. Reverté. Sevilla, España.
- Collins C.H. y Lyne Patricia M. 1989. Métodos Microbiológicos. ACRIBIA. 524 pp
- Díaz, R., G. Gamazo e I. López Goñi.1995. Manual Práctico de Microbiología. 1ª edición. MASSON, S. A. España.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko y J. Parker. 2003. *Brock. Biología de los microorganismos*. 10ª edición. Prentice Hall Iberia. España.
- Ramírez-Gama, R. M., B. Luna Millán, O. Velásquez Madrazo, L. Vierna García, A. Mejía Chávez, G. Tsuzuki Reyes, L. Hernández Gómez, I. Müggenburg, A. Camacho Cruz y M del C. Urzúa Hernández. 2006. Manual de Prácticas de Microbiología General. 5ª edición. Facultad de Química, UNAM. México.

	GUIA DE PREPARACION, ESTERILIZACION Y CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO Laboratorio de Salud Pública.	CÓDIGO	MI-GS-GI-79
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	07/11/2019
		PÁGINA	15 de 15

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	05/07/2019	EMISION INICIAL	MAGDA CHACON. Profesional Universitario Microbiología de alimentos SANDRA BAYONA VERGEL Coordinador Grupo LSP. JOSE ORLANDO QUINTERO C. Director de Salud Integral.	LUIS ALEJANDRO RIVERO OSORIO Secretario de Salud de Santander.