

(PROYECTO)

GUIA TECNICA SOBRE CRITERIOS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL EXAMEN MICROBIOLOGICO DE SUPERFICIES EN RELACION CON ALIMENTOS Y BEBIDAS

CAPITULO I DISPOSICIONES GENERALES

1. Finalidad

La presente Guía Técnica establece los criterios microbiológicos y los procedimientos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies que están en contacto o en relación con los alimentos y bebidas destinados al consumo humano.

2. Objetivos

- 2.1. Establecer los criterios microbiológicos destinados a evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas.
- 2.2. Uniformizar los procedimientos que se deben aplicar para la selección y toma de muestras y para los ensayos microbiológicos de superficies vivas e inertes.

3. Ámbito de aplicación

La presente Guía Técnica es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de vigilancia y control sanitario por parte de la Autoridad Sanitaria, que evalúa la efectividad de los programas de higiene y saneamiento (PHS) y de las prácticas de higiene en la manipulación de los alimentos, según el ámbito de su competencia y referencial para las personas naturales y jurídicas en las operaciones de control sanitario que realizan.

4. Procedimientos a estandarizar

Esta Guía Técnica estandariza los procedimientos para la selección y toma de muestras y los criterios microbiológicos para superficies que están en contacto o relación directa con los alimentos.

5. Definiciones Operativas

Análisis microbiológico: Procedimientos que se siguen para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación.

Calidad sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado inocuo para el consumo humano.

Criterios microbiológicos: Es la aceptabilidad sanitaria de una superficie, basada en la ausencia, presencia, o en un límite permisible de microorganismos del ámbito muestreado.

Gel refrigerante: Producto acumulador de frío, no tóxico, no comestible y reutilizable que se utiliza para mantener la cadena de frío (más de 50 horas). Tiene un descongelamiento retardado.

Hisopo: Instrumento con punta de algodón o de rayón que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

Manipulador de alimentos: Persona que está en contacto con los alimentos mediante sus manos, cualquier equipo o utensilio que emplea para manipularlos, en cualquier etapa de la cadena alimentaria.

Peligro: Agente biológico, químico o físico presente en una superficie que está en contacto con los alimentos y que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.

Riesgo: Probabilidad de un efecto nocivo para la salud y de la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos, ocasionado por el contacto con superficies contaminadas.

Vigilancia sanitaria: Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los alimentos y bebidas, en protección de la salud de los consumidores.

CAPITULO II OPERACIONES GENERALES

1. Operaciones en campo

Las operaciones en campo son aquellas que se realizan en el establecimiento donde se procesan, elaboran, almacenan, fraccionan o expendan alimentos y bebidas, sea fábrica, almacén, servicios de alimentos, quiosco, puesto, comedor, u otro.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:

- a. Procedimiento para la selección de la muestra.
- b. Selección del método de muestreo.
- c. Procedimiento para la toma de muestra.

2. Operaciones analíticas

Las operaciones analíticas son aquellas que se realizan en un laboratorio destinado y acondicionado para el control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:

- a. Determinación de los ensayos microbiológicos.
- b. Procedimiento de análisis microbiológicos.
- c. Cálculo y expresión de resultados.
- d. Interpretación de resultados de acuerdo a los criterios microbiológicos.

CAPITULO III OPERACIONES EN CAMPO

1. Procedimiento para la selección de la muestra

El procedimiento para seleccionar las muestras, debe estar en función de los riesgos sanitarios relacionados a las diferentes etapas de la cadena alimentaria, sea de la fabricación, de la elaboración y/o expendio.

1.1. En fábricas de alimentos y bebidas

a) Superficies inertes

Se seleccionarán aquellas que están o tendrán contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro que disminuya la carga microbiana.

b) Superficies vivas

Se seleccionarán a los manipuladores de alimentos, con o sin guantes, que están en contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro tratamiento que disminuya la carga microbiana.

1.2. En establecimientos de elaboración y expendio

a) Superficies inertes

Se seleccionarán aquellas superficies que están en contacto con los alimentos destinados al consumo directo, como utensilios, vajilla, superficies de corte, menaje, equipos, entre otros.

b) Superficies vivas

Se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que están en contacto con los alimentos destinados al consumo directo.

2. Selección del método de muestreo

La selección del método de muestreo debe estar en función de las características de la superficie a muestrear.

METODO DE MUESTREO	SUPERFICIES A MUESTREAR
Método del hisopo	Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros.
Método de la esponja	El método de la esponja se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área.
Método del enjuague:	Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

3. Procedimiento para la toma de muestra

3.1 Método del hisopo

a) Descripción:

Consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

b) Materiales:

- Hisopos de algodón u otro material equivalente, de largo aproximado de 12 cm.
- Tubo de ensayo con tapa hermética conteniendo 10 mL de solución diluyente estéril.
- Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm² (10cm x 10cm) o alternativamente, plantilla estéril, con un área en el centro de 25 cm² (5 x 5 cm).
- Gradillas
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador para vidrio.
- Caja térmica.
- Refrigerante.

c) Procedimiento:

1. Colocar la plantilla (10cm x 10cm) sobre la superficie a muestrear.
2. Humedecer el hisopo en la solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
3. Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior.
4. En el caso de utilizar la plantilla de 5cm x 5cm, repetir esta operación en 3 lugares diferentes de la misma superficie, para obtener 100 cm².
5. Colocar el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.

a) Conservación y Transporte de la muestra

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, de tal manera de asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se debe registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio a fin de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

3.2 Método de la esponja

a) Descripción:

Consiste en frotar con una esponja estéril, previamente humedecida en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

b) Materiales:

- Esponja estéril de poliuretano o de celulosa, de 5cm x 5 cm.
- Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm² (10 cm x 10 cm).
- Frascos con tapa rosca de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril.
- Pinzas estériles.
- Bolsas de polietileno de primer uso.
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador para vidrio.
- Caja térmica.
- Refrigerante.

c) Procedimiento:

1. Retirar la esponja de su envoltura con la pinza estéril o con guantes descartables o bien usar una bolsa de primer uso, invertida a manera de guante.
2. Humedecerla con la solución diluyente estéril (aproximadamente 10mL).
3. En condiciones asépticas frotar vigorosamente el área a muestrear. En el caso de superficies regulares, frotar el área delimitada por la plantilla y en el caso de superficies irregulares (cuchillas, equipos, utensilios, etc), frotar abarcando la mayor cantidad de superficie.
4. Colocar la esponja en el frasco con el resto de la solución diluyente o alternativamente colocar la esponja con la muestra en una bolsa de plástico de primer uso.
5. Para el caso específico de utensilios se podrá repetir la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con la misma esponja, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca. Si no se toman las 4 muestras, anotar en la Ficha de Toma de Muestra.
6. Las tazas, copas o vasos se muestrearán 2 a 3 cm alrededor del borde por dentro y por fuera.

d) Conservación y Transporte de la muestra

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, de tal manera de asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio a fin de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

3.3 Método del enjuague

a) Descripción:

Dependiendo de la muestra, el método consiste en realizar un enjuague (botellas, frascos, similares) o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente.

b) Materiales:

- Frascos con tapa hermética de boca ancha de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril.
- Bolsas de polietileno de primer uso.
- Pinzas estériles.
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador para vidrio.
- Caja térmica.
- Refrigerante.

c) Procedimiento:

Para manos

1. Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.
2. Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
3. Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante un (01) minuto aproximadamente.
4. Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se deja en la bolsa con la protección adecuada; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.

Para recipientes (frascos, jarras, otros)

1. Vaciar en el recipiente a muestrear una parte de la solución estéril (frasco con 100 mL) y agitar vigorosamente.
2. Regresar la solución a su frasco original.
3. Cerrar herméticamente el frasco para su traslado.

Para objetos pequeños (piezas de equipos, otros)

1. Se introduce individualmente cada objeto en el frasco o bolsa con la solución estéril y agitar vigorosamente.
2. Luego con una pinza estéril, retirar el objeto pequeño del frasco o bolsa.
3. Si se muestrea más de un objeto pequeño de igual naturaleza, se debe considerar esto en el cálculo de resultados.

d) Conservación y Transporte de la muestra

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, de tal manera de asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio a fin de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

CAPITULO IV OPERACIONES ANALITICAS

1. Selección de ensayos

Los ensayos a realizar, será según el tipo de superficie y del ambiente que ha sido muestreado.

	SUPERFICIES VIVAS	SUPERFICIES INERTES
Indicadores de Higiene	Coliformes	Coliformes
Patógeno (*)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella sp</i>	<i>Salmonella sp</i>

(*) Se podrán considerar otros patógenos según sea la superficie a analizar.

2. Límites permisibles para superficies vivas

ENSAYO	SUPERFICIES VIVAS
Coliformes	<100 ufc / manos(*)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<100 ufc / manos(*)
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia / manos

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia y están en concordancia con los criterios microbiológicos establecidos para alimentos de consumo directo. (RM N°363-2005/MINSA)

3. Límites permisibles para superficies inertes regulares

ENSAYO	SUPERFICIES INERTES
Coliformes	<1 ufc / cm ² (*)
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia / 100 cm ²

(*) Ver "Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del hisopo", referencia ítem 5.2 (a)

4. Límites permisibles para superficies inertes irregulares

ENSAYO	SUPERFICIES INERTES
Coliformes	<100 ufc / utensilio (*)
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia / utensilio(s)

(*) Si se utiliza un (01) utensilio. Si se utilizan más utensilios, aplicar lo indicado en el ítem 6.2 (a) "Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método de la esponja"

5. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del hisopo

5.1 Procedimiento de análisis microbiológicos

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA, entre otros.

5.2 Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 ml) y se dividirá entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm²).

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicará por el factor de dilución.

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán

Para superficies regulares en: ufc / cm²:

Para superficies irregulares en: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora)

5.3 Interpretación de resultados de acuerdo a los criterios microbiológicos

Para superficies regulares el límite de detección aceptable debe ser: < 1.

Para superficies irregulares, el límite de detección aceptable debe ser: < 10.

6.- Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método de la esponja

6.1. Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA, entre otros.

6.2. Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 ml) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm²)

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 ml). En el caso de varias superficies muestreadas, se divide entre el número de superficies muestreadas (Ej. n° de cuchillas de licuadoras o n° de utensilios como cucharas, vasos, etc.).

b) Expresión de resultados

Para superficies regulares: ufc/ cm²

Para superficies irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cubierto, etc)

6.3 Interpretación de resultados de acuerdo a los criterios microbiológicos

- a) Para superficies regulares el límite de detección aceptable debe ser < 1.
- b) Para superficies irregulares:
Para 1 utensilio, el límite de detección aceptable debe ser < 100
Para 4 utensilios, el límite de detección aceptable debe ser < 25

7.- Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del enjuague

7.1 Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA, entre otros.

7.2 Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies vivas: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 ml).

Para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 ml). En el caso de varias superficies muestreadas, se divide entre el número de superficies muestreadas (Ej. n° de envases, n° de bolsas de plástico, etc.).

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresan en:

Para superficies vivas: ufc/ manos

Para superficies internas: ufc/ superficie muestreada (ej. Envases, bolsas de plástico, etc).

7.3. Interpretación de resultados de acuerdo a los criterios microbiológicos

- a) El límite de detección del método para superficies vivas es < 100.
- b) El límite de detección del método para superficies internas < 100.

8. Preparación de medios de cultivo. (Anexo Único)

BIBLIOGRAFIA

- o Merck. Alemania, 1994. Manual de Medios de Cultivo -.
- o G-ENAC-04. Guía para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos. Rev. Noviembre 2002
- o ISO/IEC 17025:2005 (ES). Norma Internacional.
- o Norma Internacional ISO – 6888-1:1999 (E). Microbiología de alimentos y forraje animal- Método Horizontal para la numeración de *Staphylococcus coagulasa positiva* (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 1: Usando la Técnica del Medio Agar Baird Parker.
- o Procedimiento para el examen microbiológico de superficies y utensilios. Q.B.P. Ma.Cristina Parrilla C., Q.B.P. Ofelia Saldate C. Dirección General de Epidemiología. Laboratorio Nacional de Salud Pública. Departamento de Evaluación de riesgos microbianos y parasitarios. México D.F. 1990.
- o American Public Health Association. (APHA), Fourth edition 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods.

ANEXO UNICO

Cuadro sobre Preparación de Medios de Cultivo

NOMBRE:	PLATE COUNT AGAR (Agar-peptona de caseína – glucosa - extracto de levadura)		
Descripción Y Uso:	Medio de cultivo exento de sustancias inhibitoras y de indicadores. Concebido esencialmente para la determinación del número total de gérmenes en leche, productos lácteos, aguas y otros materiales.		
Composición: (g/L)	Peptona de caseína Extracto de levadura D(+)-glucosa Agar-agar pH :7,0 ± 0,1.	5,0 2,5 1,0 <u>14,0</u> 22,5	Preparación: Disolver 22,5 g/litro y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C. Las placas con el medio de cultivo son claras e incoloras.

NOMBRE:	AGAR BAIRD-PARKER		
Descripción Y Uso:	Para el aislamiento y la diferenciación de Estafilococos en alimentos y materiales farmacéuticos, según Baird-Parker (1962). Este medio de cultivo corresponde a las recomendaciones de la United States Pharmacopoeia XXI (1985), a las de la European Pharmacopoeia II, a las de la Farmacopea Alemana, a las de la International Organization for Standardization (ISO) (1977 , 1978), a las de la Federación Internacional de Lechería (1978) y a las Normas DIN 10163 y 10178.		
Forma de actuación	Este medio de cultivo contiene cloruro de litio y telurito para la inhibición de la flora acompañante, en tanto que el piruvato y la glicocola actúan favoreciendo selectivamente el crecimiento de Estafilococos. Sobre el medio de cultivo, opaco por su contenido en yema de huevo, las colonias de Estafilococos muestran dos características diagnósticas por lipólisis y proteólisis, se producen halos y anillos característicos y, debido a la reducción del telurito a telurio, se desarrolla una colonia negra. La reacción con la yema de huevo y la reducción del telurito se presentan con notable paralelismo con la coagulasa-positiva, y por tanto, pueden utilizarse como índice de esta última. Para una demostración directa de Estafilococos coagulasa-positiva, ha sido recomendado por Stadhouders y col.(1976) el incorporar al medio de cultivo plasma sanguíneo en lugar de yema de huevo. Smith y Baird-Parker (1964) recomiendan añadir sulfametacina para inhibir el crecimiento de Proteus.		
Composición: (g/L)	Peptona de caseína Extracto de carne Extracto de levadura Piruvato sódico Glicina Cloruro de litio Agar-agar Aditivos: emulsión de yema de huevo telurito (mL); eventualmente, sulfametacina (g)	10,0 5,0 1,0 10,0 12,0 5,0 <u>15,0</u> 58,0 50,0 0,05	Preparación: Disolver 58 g en 0,95 litros, esterilizar en autoclave (15 min. a 121° C), enfriar a 45-50°C, añadir mezclando 50 mL de emulsión de yema de huevo telurito y, eventualmente, 50 mg/litro de Sulfametacina. Verter en placas. pH 6,8 ± 0,2. En tanto que el medio de cultivo basal puede guardarse de 1 a 2 meses a 4°C, el medio de cultivo completo, vertido en placas ha de ser utilizado dentro de las 24 horas siguientes a su preparación.
Empleo e interpretación	Diluir convenientemente el material a investigar y extenderlo finamente sobre la superficie del medio de cultivo. Incubación: Desde 24 hasta 48 horas a 37°C Las colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> se presentan negras, lustrosas, convexas, de 1 a 5 mm. de diámetro, con borde estrecho blanquecino, rodeado por un halo claro de 2 a 5 mm de anchura. Dentro del halo claro presencia de anillos opacos no visibles antes de las 48 horas de incubación.		

NOMBRE:	CALDO DE CEREBRO – CORAZÓN (Brain Heart Broth)		
Descripción y Uso:	<p>Para el cultivo de diversos microorganismos patógenos exigentes. Estos medios de cultivo corresponden a las recomendaciones de los Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1975). El Caldo de cerebro-corazón corresponde a la Norma DIN 10163 para el análisis de carnes y a las Prescripciones según apartado 35 de la LMBG para el análisis de alimentos.</p>		
Forma de actuación	<p>Estos medios de cultivo se basan en el principio del Caldo Rosenow preparado con trozos de cerebro (Rosenow 1919) y son adecuados con trozos el cultivo de muchas bacterias exigentes, como Estreptococos, Pneumococos, Meningococos y otros. Para el cultivo Gonococos hay que añadir líquido ascítico.</p> <p>El Caldo de cerebro-corazón es especialmente adecuado para el cultivo de Estafilococos destinados al ensayo de plasma coagulasa y para la realización de hemocultivos. El crecimiento de gérmenes anaerobios o microaerófilos resulta decisivamente mejorado por la adición al Caldo de pequeñas cantidades de Agar-agar (aprox. 0,05-0,2%).</p> <p>Sobre la base del Agar-cerebro-corazón, Queiroz y col. (1987) desarrollaron un agar selectivo para <i>Campylobacter pylori</i>, denominándolo Medio Belo Horizonte (MBH).</p> <p>El Agar-cerebro-corazón, aparte de su aplicación en el terreno bacteriológico, es adecuado también para el cultivo de hongos patógenos. El crecimiento de la flora bacteriana de acompañamiento puede inhibirse notablemente por adición de 20 UI de Penicilina y 40 ug de Estreptomina por mL de medio de cultivo. Se recomienda la adición de Cicloheximida (0,05 ug/mL) y de Cloranfenicol (0,5 ug/mL) para el aislamiento selectivo de hongos exigentes, especialmente de <i>Histoplasma capsulatum</i> y <i>Blastomyces</i>, a partir de materiales policontaminados objeto de investigación.</p> <p>Este medio de cultivo es menos adecuado para el estudio de las formas hemolíticas (tras adición de sangre), debido a su contenido de glucosa.</p>		
Composición: (g/L)	<p>Substrato alimenticio (extracto de cerebro, extracto de corazón y peptona) 27,5</p> <p>D(+)-glucosa 2,0</p> <p>Cloruro sódico 5,0</p> <p>Hidrógenofosfato disódico 2,5</p> <p>Agar-agar (falta el caldo) 15,0</p> <p>52,0</p>	Preparación:	<p>Disolver 52 g/litro (Agar-cerebro-corazón) o bien 37 g/L (Caldo de Cerebro-Corazón) y esterilizar en autoclave (15 min. a 121°C).</p> <p>pH: 7,4± 0,2.</p> <p>Ambos medios de cultivo son ligeramente parduscos. El caldo tiene un aspecto claro, mientras que el agar puede presentar, a veces, opalescencia.</p>
Empleo e interpretación	De acuerdo con los correspondientes fines de empleo.		

NOMBRE:	AGAR TSA		
Composición: (g/L)	<p>Triptona 15,0</p> <p>Soytona. 5,0</p> <p>Cloruro de sodio 5,0</p> <p>Agar 15,0</p> <p>40,0</p> <p>pH : 7,3.</p>	Preparación:	<p>Diluir 40 gramos del medio de cultivo en 1000 ml de agua destilada, dejar reposar por 15 minutos, calentar en baño maría hasta disolver por completo. Distribuir en tubitos de 13 x 100 mm a razón de 3 mL, llevar a esterilizar en autoclave 121°C, 15 libras durante 15 minutos, dejar enfriar. Los tubos destinados al cepario no necesitan inclinación.</p>

NOMBRE:	EMULSIÓN YEMA DE HUEVO TELURITO (Egg-yolk Tellurite Emulsión)		
Descripción y Uso:	La emulsión yema de huevo-telurito, se emplea como aditivo en el Agar Baird Parker (base), y posibilita la demostración de la actividad lecitinasa y la reducción del telurito.		
Composición: (g/L)	Yema de huevo estéril 500,00 Cloruro de sodio 4,25 Telurito potásico 2,10 Agua destilada hasta 1000 ml	Preparación:	Agitar el frasco con fuerza para resuspender el posible sedimento formado. 50 mL de la emulsión de yema se mezclan con 950 mL del medio de cultivo esterilizado y enfriado a 45-50 °C. Verter en placas. Al tomar la emulsión del frasco, cuidar de que se efectúe de forma estéril. Al contrario que las placas para cuya preparación se añaden por separado la emulsión y el telurito potásico, aquellas placas que se preparan con emulsión yema de huevo-telurito son estables aproximadamente 2 meses almacenadas a 4°C.

NOMBRE:	SOLUCIÓN DILUYENTE (Solución amortiguadora de fosfatos)		
Composición:	KH ₂ PO ₄ 34 g Agua destilada 1000 mL	Preparación:	Disolver el fosfato en 500 mL de agua destilada y ajustar el pH a 7.2 con hidróxido de sodio 1N. Llevar a un litro con agua destilada. Esterilizar durante 15 minutos a 121°C. Conservar en refrigeración. Transferir 1.25 mL de la solución a un matraz aforado, llevar a un litro con agua destilada, ésta última es la solución de trabajo. Distribuir en frascos con tapa de rosca en volúmenes de 50 ml o las cantidades que se requieren en cada método. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Para el análisis de superficies de manos. Transferir 1.25 mL de solución concentrada a un matraz aforado de un litro, agregar un mL de Triton X – 100. Llevar a un litro con agua destilada. Distribuir en frascos en volúmenes de 50 mL. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

NOMBRE:	AGAR OGY (Agar-Oxitetraciclina-glucosa-extracto de levadura)		
Descripción y Uso:	Agar selectivo según Mossel y col.(1970) para la demostración y numeración de mohos y levaduras en todo tipo de material de investigación (alimentos, material clínico, etc.). El agar-oxitetraciclina-glucosa-extracto de levadura ha sido recomendado como medio de rutina para la investigación de mantequilla. En la investigación de muestras de heces procedentes de pacientes tratados con Tetraciclina, las Enterobacteriáceas sólo son inhibidas de manera insuficiente. En tales casos, es preferible el empleo de Gentamicina en vez de la Oxitetraciclina.		
Composición: (g/L)	Extracto de levadura 5,0 D(+)-glucosa 10,0 Agar-agar 15,0 Aditivo: Oxitetraciclina 0,1 o Gentamicina 0,05.	Preparación	Disolver 30 g/litro, esterilizar en autoclave (15 min. A 121°C), dejar enfriar hasta unos 50°C, incorporar 0,1 g/litro de Oxitetraciclina en forma de solución acuosa o 0,05 g/litro de Gentamicina (1 mL/litro de Gentamicina en solución) y verter en placas. pH: 6.5 ± 0,2 Las placas con medio de cultivo son claras e incoloras.
Empleo e interpretación	El material objeto de investigación se homogeniza, eventualmente, con solución Ringer (Tabletas de RINGER), se diluye y se extiende sobre las placas mediante espátula. Incubación: hasta 5 días a temperatura ambiente (aprox. 22°C). Contar el número de colonias de hongos por placa y mediante el factor de dilución, calcular el número de gérmenes del material objeto de investigación.		