

**AGAR / MEDIO PARA LA DIFERENCIACIÓN DE ENTEROBACTERIACEAE**

IVD

**1- USO PREVISTO**

El agar citrato Simmons (medio de citrato sódico con mineral mínimo) se usa para la diferenciación de los bacilos gramnegativos. Permite la detección de citrato sódico como fuente única de carbono y energía para las bacterias. Este medio contribuye a la demostración de las características de identificación de las Enterobacteriaceae.

**2- PRINCIPIO**

Las bacterias capaces de usar el citrato sódico como fuente exclusiva de carbono pueden crecer en este medio. La fermentación del citrato sódico induce acidificación, produciendo un cambio de color **azul** del medio en presencia de azul bromotimol (indicador de pH).

**3- CÓMO SE SUMINISTRA**

- Medio listo para usar:
  - 25 tubos tubos inclinados de 7 ml código 61834
- Medio deshidratado
  - frasco de 500 g código 64834

**4- COMPOSICIÓN TEÓRICA (g/l de agua destilada)**

El agar citrato Simmons se elabora de acuerdo con la fórmula descrita por Simmons (1).

Citrato sódico	1
Cloruro sódico	5
Sulfato magnésico	0,2
Fosfato de amonio dihidrogenado	1
Fosfato dipotásico	1
Azul bromotimol	0,08
Agar	15
pH final	6,8 ± 0.2

**Preparación del medio:**

Homogeneice el polvo contenido en el frasco.

Añada **23 gramos** de medio deshidratado a un litro de agua destilada estéril. Caliente suavemente, agitando con frecuencia y luego caliente hasta hervir durante 1 minuto. Esterilice en el autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dispense en tubos o frascos. Enfríe los tubos en una posición inclinada para obtener una pendiente larga sin una masa de agar en el fondo del tubo.

**5- CONSERVACIÓN**

- Medio listo para usar: a +2-8°C en un lugar oscuro.
  - Medio deshidratado: frasco cerrado herméticamente en un lugar seco a +15-25°C.
- La fecha de caducidad y el número de lote están indicados en el envasado.

**6- INSTRUCCIONES****Material:**

- Material suministrado: Medio citrato Simmons

**Inoculación:**

Este medio debe inocularse con un cultivo puro, fresco, de Enterobacteriaceae cultivado en medio agar. Nunca debe usarse un cultivo en caldo o agua peptona, porque estos medios aportarían otros nutrientes que pueden conducir a resultados erróneos. Inocule sobre la superficie, mediante una línea central, longitudinal.

**Incubación:**

Incube en el incubador a 37°C durante 1 a 7 días.

**Lectura:**

Observe el cultivo diariamente.

Las bacterias "citrato positivas" vuelven **azul** este medio y a menudo muestran un crecimiento abundante.

Las bacterias "citrato negativas" no crecen en este medio y no lo vuelven azul, incluso después de varios días de incubación.

(+): positivo en la mayoría de los casos.

Citrato +	Citrato –	Citrato variable (dependiendo del tipo bioquímico)
<i>Salmonella</i> subespecie 1 (en general) <i>S. arizonae</i> BE II <i>Citrobacter</i>	<i>S. paratyphi</i> A <i>S. typhi</i> <i>Edwardsiella</i>	<i>S. paratyphi</i> B: (+) <i>S. typhimurium</i> : (+) <i>S. enteritidis</i> : (+)
<i>Levinea</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>E. coli</i> biotipo A.D. <i>Shigella</i>	
<i>P. rettgeri</i> <i>Providencia</i>	<i>P.morganii</i>	<i>P. mirabilis</i> <i>P. vulgaris</i>
<i>K. pneumoniae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. agglomerans</i> (en general) <i>Serratia</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>  <i>Hafnia alvei</i> (utilización tardía a 22-30°C)	<i>K. ozaenae</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> (excepto el serotipo 4) <i>Plesiomonas</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>  <i>Vibrio</i> NAG
<i>P. aeruginosa</i> Esp. de <i>Pseudomonas</i>	<i>X. maltophilia</i> <i>Pasteurella</i>	<i>Acinetobacter</i>

#### 7- RENDIMIENTO / CONTROL DE CALIDAD DE LA PRUEBA

- Aspecto del medio listo para usar: agar transparente **verde**
- Aspecto del medio deshidratado: polvo **verdusco**.
- Los rendimientos de crecimiento del medio citrato Simmons se verifican con las siguientes cepas:

CEPAS	RESULTADO DEL CULTIVO DESPUÉS DE 1 a 7 DÍAS a 37 °C
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	Positivo
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Positivo
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	Negativo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negativo

#### 8- CONTROL DE CALIDAD DEL FABRICANTE

Todos los reactivos fabricados se elaboran según nuestro sistema de calidad, que va desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización final del producto. Cada lote se somete a valoraciones de control de calidad y sale al mercado sólo cuando está de acuerdo con los criterios de aceptación predefinidos. Los registros relativos a la producción y al control de cada lote se conservan en Bio-Rad.

#### 9- LÍMITES DE USO

- Es muy importante no añadir ningún otro nutriente al medio durante la inoculación, puesto que cualquier nutriente adicional puede llevar a resultados erróneos.
- Determinadas bacterias "citrato-positivas" pueden tardar varios días en volver azul el medio.
- Deben realizarse pruebas complementarias para identificar la especie de la cepa aislada.
- Deben usarse siempre cultivos puros, frescos, para obtener resultados interpretables.

#### 10- BIBLIOGRAFÍA

1. SIMMONS, J.S. 1926. A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. J. Infect. Dis., 1926, **39** : 209.



**Bio-Rad**  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette France  
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00  
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



11/2005