

# R2A Agar

IVD

## USO

Medio de cultivo recomendado por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater y por la Farmacopea Europea 6ª Edición para el recuento de microorganismos heterótrofos en aguas tratadas.

## FUNDAMENTO

Medio de cultivo desarrollado por Reasoner y Geldreich para el recuento bacteriano en aguas tratadas.

Por su bajo contenido nutricional y mediante una incubación prolongada, estimula el desarrollo de bacterias estresadas, de crecimiento lento y tolerantes al cloro, halladas por ejemplo en aguas tratadas.

En el medio de cultivo, el extracto de levadura, la proteosa peptona N° 3, la peptona ácida de caseína y la glucosa, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos.

El almidón y el piruvato de sodio favorecen la recuperación de células dañadas. La sal fosfato es la fuente de fósforo y regula el pH, mientras que el sulfato de magnesio aporta los correspondientes iones. El agar es el agente solidificante.

## CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0224705: envase x 100 g.

Código B0224706: envase x 500 g.

## FÓRMULA (en gramos por litro)

EXTRACTO DE LEVADURA .....	0.5
PROTEOSA PEPTONA N° 3 .....	0.5
PEPTONA ÁCIDA DE CASEÍNA .....	0.5
GLUCOSA .....	0.5
ALMIDÓN SOLUBLE .....	0.5
PIRUVATO DE SODIO .....	0.3
FOSFATO DIPOTÁSICO .....	0.3
SULFATO DE MAGNESIO .....	0.05
AGAR.....	15.0
pH FINAL: 7.2± 0.2	

## INSTRUCCIONES

Suspender 18.2 g en 1 litro de agua purificada. Mezclar bien y dejar

reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición para disolución total.

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

## CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige claro, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar claro.

## ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

## PROCEDIMIENTO

### Siembra

Consultar la metodología en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater sección 9215 A.

Se puede sembrar mediante las siguientes técnicas:

- **Pour plate:** inocular 0,1 a 2 ml de la muestra directa o de su dilución. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.

- **Diseminación en superficie:** inocular un volumen máximo de 0,5 ml de la muestra directa o de su dilución y esparcirla en toda la superficie del agar. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.

- **Filtración por membrana:** el volumen a filtrar dependerá de la probable contaminación de la muestra.

### Incubación

Consultar la metodología en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater sección 9215 A o en la Farmacopea Europea 6ª Edición.

En general, podemos detallar:

	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO MÍNIMO (días)	TIEMPO ÓPTIMO (días)
Farmacopea Europea 6 ° Edición	30 – 35	5	7
Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater	20 - 28	5	7

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Realizar el recuento de colonias y expresarlo teniendo en cuenta la alícuota de muestra sembrada.

### CONTROL DE CALIDAD

Se efectúa por incubación de estos microorganismos a 35-37 °C durante 48 horas en aerobiosis.

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Bacillus subtilis ATCC 6633	Colonias amarillentas anaranjadas
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Colonias blancas
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Colonias blancas
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Colonias blancas
Escherichia coli ATCC 8739	Colonias blancas
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Colonias blanco amarillentas

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

### LIMITACIONES

- El medio de cultivo R2A Agar está recomendado y se utiliza para el análisis de aguas tratadas.
- La técnica de pour plate puede afectar el crecimiento y desarrollo de bacterias estresadas debido al shock térmico que puede producirse al verter sobre la muestra el medio de cultivo esterilizado, fundido y enfriado a 44-46 °C así como también por la baja tensión de oxígeno que existe durante la incubación.

### SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO  
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE  
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE  
VENCIMIENTO



LÍMITE DE  
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES  
DE USO

- Se obtiene un mejor desempeño del medio de cultivo al sembrar la muestra mediante la técnica de diseminación en superficie pero en este caso debe sembrarse menor volumen de muestra que por otras técnicas.

- Puede requerirse mayor tiempo de incubación que el indicado para lograr mayor recuperación microbiana.

- Al ser un medio de cultivo poco nutritivo, el tamaño de colonias es menor para las bacterias de crecimiento rápido.

### MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

### PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.

- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.

- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.

- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.

- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.

- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.

- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

### REFERENCIAS

- Reasoner and Geldreich. 1985. Appl. Environ. Microbiol. 49:1.

- Clesceri, L.S., Greenberg A.E., Eaton A.D. 1998. Part 9000, Microbiological Examination., Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition, APHA.

- European Pharmacopoeia 6.0, volume 1. 2007. Microbiological Examination of Non sterile products: Test for Specified Microorganisms.

### INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.

Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

### AUTORIZACIÓN ANMAT

PM -1292 - 6

Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi