Apartado de Correos / P.O. Box 44
28210-Valdemorillo (Madrid, Spain)
☎ (34) 91 897 46 16
E-mail: microkit@microkit.es
Web: www.microkit.es; www.microkit.org
Blog: www.medioscultivo.com

**Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde**

| | | | |
|---|---|---|---|
| MCC P/A | COSMETIKIT® | DRY PLATES® | MUGPLUS |
| CRIOTECA® | CHROMOSALM | DESINFECTEST® | CCCNT |
| PLAQUIS® | KITPRO-PLUS | CROMOKIT® | MBS |
| M-IDENT® | SEILAGUA® | SALMOQUICK | AIRESANO |
| NEOGRAM | ENVIROCOUNT | | |

# Confirmación rápida de colonias de *Pseudomonas aeruginosa*
# Eliminación de falsos positivos en sólo 2 horas: RAN

## Problema habitual en el laboratorio

Los medios selectivos utilizados para la detección de *Pseudomonas aeruginosa*:

- Agar Cetrimida (Farmacopea, ISO 22717 – cosméticos)
- Rapid Cetrimida Agar
- Agar CN (ISO 16266 – aguas envasadas)
- Rapid CN Agar (cromogénico)
- Medios cromogénicos BAP (β-alanyl aminopeptidasa)

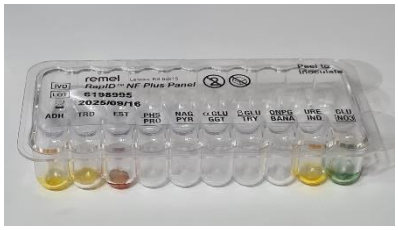
no ofrecen selectividad suficiente en muestras reales. Consecuencias:

- Alta frecuencia de **falsos positivos**
- Crecimiento de acompañantes:
  - Otros no fermentadores
  - Gram positivos (*Bacillus spp.*)
- Interferentes: colonias sospechosas que resultan ser, sobre todo:
  - *Pseudomonas monteilii*
  - *Pseudomonas putida*
  - Otras especies relacionadas

➞ Resultado: **Retención innecesaria de lotes completos o incluso su destrucción**

## Limitaciones de los métodos actuales

**Identificación clásica**



- Galerías bioquímicas o enzimáticas:
  - Resultados frecuentemente **no concluyentes**
  - Bases de datos orientadas a entorno clínico
- Tiempo de respuesta:
  - 4 horas (enzimáticas)
  - Hasta 24 horas (bioquímicas)

➞ **Información redundante**:
No se necesita identificar la especie exacta, sino confirmar o descartar *P. aeruginosa*.

## Confirmación según normativa ISO 16266 (aguas envasadas):

- Oxidasa (+) → inmediato
- King B (fluoresceína) → 1–3 semanas
- Acetamida + Nessler → 24 h

## Confirmación según Farmacopea / ISO 22717 (cosmética):

- Oxidasa (+) → inmediato
- King A (piocianina) → 2–5 días

➞ **Limitaciones:**

- Tiempos largos
- No adaptados a decisiones rápidas de liberación

## Falsos positivos persistentes

Incluso con medios avanzados, aparecen:

**"Primos" de *P. aeruginosa*:**

- *P. putida*
- *P. fluorescens*
- *Ralstonia pickettii*
- *Achromobacter xylosoxidans*

**"Hermanos" indistinguibles en cultivo:**

- *P. stutzeri*
- *P. mendocina*
- *P. balearica*
- *P. monteilii*
- *Burkholderia cepacia*

➞ Estos 9 microorganismos obligan a:

**+24 horas adicionales de confirmación (Acetamida + Nessler)**

## La solución: Reducción Aeróbica de Nitratos (RAN)

**Confirmación negativa en solo 2 horas**

Prueba clásica, robusta y altamente resolutiva.

**Procedimiento**

1. Inocular una colonia sospechosa en tubo RAN (sin agitar)
   - Incubar a 37 °C durante 2 horas (Máximo 4 horas si nos vamos a comer, para evitar falsos positivos)
2. Añadir, por este orden, recién agitados con fuerza:
   - 3 gotas Reactivo Nitratos B (incoloro)
   - 3 gotas Reactivo Nitratos A (pardo)

*Izda: RAN +  Dcha: RAN -*

**Interpretación de resultados**

**Resultado en < 1 minuto tras reactivos A+B:**

- **Viraje a fucsia o naranja → Más que probable *P. aeruginosa***
- **Sin viraje → Seguro que no es *P. aeruginosa***

**Especificidad del método**

**No viran (descartados en 2 h):**

*P. putida, P. fluorescens, P. stutzeri, P. mendocina, P. balearica, Burkholderia cepacia, Sphingobium xenophagus, Achromobacter xylosoxidans*

**Posibles excepciones:**

- Algunas cepas de *Ralstonia pickettii* pueden virar

## Estrategia de decisión

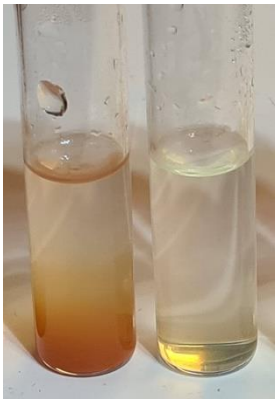
**1. Sin viraje (2 h): ➞ Descartar *P. aeruginosa:* NO LO ES ✓** Resultado definitivo

**2. Con viraje: ➞** Alta probabilidad de *P. aeruginosa*, pero no confirmación 100% absoluta

**Acción recomendada:** Confirmar con Acetamida + Nessler (24 h)

## Confirmación final (Acetamida + Nessler)

*Izda: Acetamida +, Dcha Acetamida -*



**Positivo (precipitado color ladrillo en unos segundos):**

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Burkholderia cepacia* (antes ya fue descartada por RAN)

**Negativo:**

- *P. putida*
- *P. monteilii*
- *P. balearica*
- *P. syringae*
- *Ralstonia pickettii*
- *Sphingobium xenophagus*

## Ventajas clave de la estrategia RAN

✓ Eliminación de la inmensa mayoría de falsos positivos en **2 horas**
✓ Reducción drástica del número de ensayos de 24 h (Acetamida)
✓ Método simple, robusto y reproducible
✓ Compatible con normativa existente (test incluido en las galerías de identificación)
✓ No requiere sustituir medios selectivos actuales, uso directo en ellos
✓ Evita falsos negativos de los medios cromogénicos basados en BAP

## Conclusión

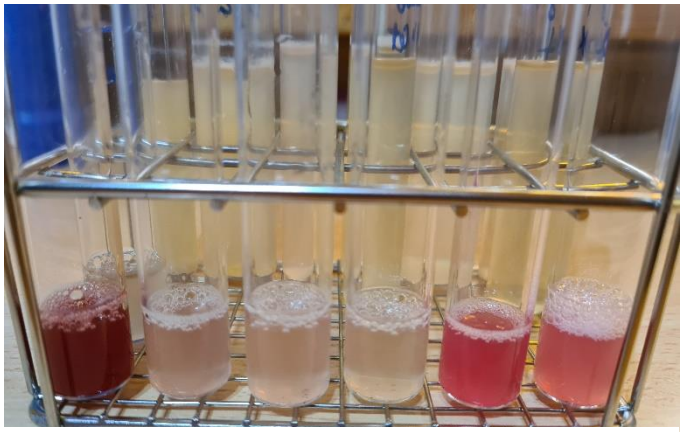
La Reducción Aeróbica de Nitratos permite:

- **Descartar *Pseudomonas aeruginosa* en la mayoría de casos en sólo 2 horas**
- Minimizar retenciones innecesarias de producto
- Optimizar tiempos de liberación de lote

Si no hay viraje a fucsia en 2 horas, no se trata de *Pseudomonas aeruginosa*. Y punto.

## Productos asociados

- Tubos RAN (Reducción Aeróbica de Nitratos) Ref. TPLRAN
- Reactivos Nitratos A + B Ref. SMN001
- Tubos de Acetamida Ref. TPL113
- Reactivo Nessler Ref. SMT007



*RAN desde colonias rojas de Rapid CN Agar (interferencia mínima)*

\+ - - - + +

El usuario final es el responsable de la destrucción de los microorganismos crecidos en los medios de cultivo, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente: Autoclavar antes de desechar en la basura.

Diseñado y Fabricado por MICROKIT bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, desde Marzo- 2026, actualizado 10/04/2026