

Especificación

Medio selectivo y diferencial para la detección, aislamiento y enumeración de Salmonella en muestras clínicas y coliformes, de acuerdo al método armonizado de las farmacopeas y en muestras de alimentos y pienso, según la norma ISO 21150.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
20 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de celofán.	3 meses	2-14 °C

Composición

Composición (g/l):

Peptona de gelatina.....	17,0
Peptona de carne y caseína.....	3,00
Lactosa.....	10,0
Sales biliares	1,50
Cloruro sódico.....	5,00
Cristal violeta.....	0,001
Rojo neutro.....	0,03
Agar.....	13,5

Descripción/Técnica

Descripción:

MacConkey formuló su medio a principio de siglo e inicialmente incluyó bilis bovina como inhibidor de la flora Gram positiva y tornasol como indicador de la producción de ácido cuando fermenta la lactosa. Posteriormente el mismo autor cambió el indicador por rojo de fenol que permitía unas lecturas más fáciles y precisas. A medida que se han incrementado los conocimientos sobre la fisiología bacteriana, se han producido modificaciones en el medio original para adaptarlo cada vez más a la finalidad que se destina: la detección de coliformes. Las modificaciones más sustanciales han sido las siguientes:

- La sustitución de sales biliares en lugar de la bilis lo cual confiere una mayor selectividad al medio, al mismo tiempo que elimina la turbidez inherente a las sustancias grasas de la bilis entera. La concentración de este inhibidor es muy variable dependiendo esencialmente de la riqueza en taurocolato y desoxicolato.

- Otra modificación importante ha sido la inclusión de otros inhibidores como el cristal violeta y/o el verde brillante, versión ésta que goza de mayor popularidad en América que en Europa donde se prefiere el medio con menor selectividad debida solamente a las sales biliares.

- Aunque no debe considerarse como una verdadera modificación, de todas las formulaciones líquidas se han hecho medios sólidos añadiendo la cantidad suficiente de agar-agar para ello. Se consigue así un medio diferencial de baja selectividad en el que las bacterias fermentadoras de lactosa producen colonias rojas debido a la gran acidificación y, concretamente *Escherichia coli* llega a precipitar las sales biliares que forman un halo alrededor de sus colonias que se distingue fácilmente.

Eventualmente pueden desarrollarse enterococos que pueden diferenciarse de los coliformes por tener un tamaño de colonia muy pequeño y no precipitar las sales biliares.

Técnica:

La técnica más utilizada para la enumeración de coliformes en medio sólido,

Para enumerar los coliformes por esta técnica se eligen las placas que contengan entre 30 y 150 colonias características. Estas colonias deben ser confirmadas como coliformes para lo cual se toman 10 colonias representativas de cada tipo característico y se siembran en un medio líquido con lactosa, para la verificación de formación de gas.

El método de siembra e incubación puede variar según la normativa a seguir o las muestras analizadas, y se recomienda seguir las especificaciones establecidas en el laboratorio de control.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro. No reutilizar. Para uso por parte de personal de laboratorio debidamente formado.

No utilizar el producto si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : rosa violáceo

pH: 7,1 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (productividad)/ 10⁴-10⁶ UFC(selectividad) y <100 UFC (especificidad-PhEur) y ≥10³ UFC. (especificidad-ISO).
Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 30-35 °C. Lectura a las 18h (Productividad) y 72h (Selectividad)

S. sonnei incubación a 37°C durante 20-24h

Microorganismo

Enterococcus faecalis ATCC® 19433, WDCM 00009
Staphylococcus aureus ATCC® 6538, WDCM 00032
Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012
Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013
Salmonella typhimurium ATCC® 14028, WDCM 00031
Ps. aeruginosa ATCC® 9027, WDCM 00026
Shigella sonnei ATCC® 9290

Desarrollo

Inhibido

Inhibido

Bueno (≥ 50%) - Colonias rojo púrpura - Precipitado biliar

Bueno (≥ 50%) - Colonias rojo púrpura - Precipitado biliar

Bueno (≥ 50%) - colonias incoloras sin precipitado

Bueno- colonias incoloras sin precipitado

Bueno- colonias incoloras sin precipitado

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO
Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- CLESCERI, L.S., A.E. GEENBERG & A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWA-WEF. Washington. DC. USA.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0 (2014) 8th ed. § 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- HITCHINS, A.D., P. FENG, W.D. WATKINS, S.R. RIPEY & C.A. CHANDLER (1998) E. coli and coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. AOAC Intl. Gaithersburg. MD. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO Standard 21567: 2004. Microbiology of Foods and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.
- ISO 4973:2023. Quality control of culture media and diluents used in cosmetics standards
- ISO 21150: 2015. Standard. Cosmetics - Detection of *E. coli*.
- MacCONKEY, A.T. (1905) Lactose-fermenting Bacteria in faeces. J. Hyg 5:333.
- MURRAY, P.R., E.J. BARON, M.A. PFALLER, F.C. TENOVER, & R.H. YOLKEN (Eds) (1995) Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. A.S.M. Washington. DC. USA.
- RAPPAPORT, F. & E. HENING (1952) Media for the isolation and differentiation of pathogenic *E. coli* (serotypes O111 and O55) J. Clin. Pathology 5:361-362.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.
- VARNAM, A.H. & M.G. EVANS (1991) Foodborne pathogens. Manson Publishing Ltd. London. UK.
- WHO (1963) International Standards for Drinking Waters. 7th ed. Churchill Ltd. London.