

**Especificación**

Medio sólido para la enumeración de enterobacterias según método armonizado de las farmacopeas.

**Presentación**

	<b>Encajado</b>	<b>Caducidad</b>	<b>Almacenamiento</b>
20 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de PPBO y desecante. ETIQUETADO LATERAL	6 meses	15-25 °C

**Composición**

Composición (g/l):	
Extracto de levadura.....	3,00
Peptona de Gelatina.....	7,00
Mezcla Sales biliares .....	1,50
D(+)-Glucosa.....	10,0
Sodio cloruro.....	5,00
Rojo neutro.....	0,03
Violeta cristal.....	0,002
Agar.....	13,0

**Descripción/Técnica**Descripción:

Este medio es una modificación del Agar Rojo Bilis Violeta y del A. MacConkey descrita por Mossel y cols. Estos autores demostraron que la adición de la glucosa al Agar Rojo Bilis Violeta, facilitaba el crecimiento de las enterobacterias más exigentes y la recuperación de aquellas que habían sido sometidas a condiciones adversas. Posteriormente el mismo Mossel comprobó que suprimiendo la lactosa y manteniendo la glucosa no variaba la eficacia del medio y sin embargo se obtenía una mejora económica puesto que por la misma cantidad de producto se pueden reconstituir más litros. Con la adición de MUG antes de esterilizarlo, este medio puede ser usado para la detección presuntiva de *E. coli* por su reacción de Fluorescencia.

Técnica:

El medio Agar Rojo Bilis Violeta glucosa se emplea profusamente en el examen de alimentos, fármacos, cosméticos etc. y es particularmente eficaz en la recuperación de bacterias dañadas por los tratamientos de preparación. En estos casos se recomienda un proceso progresivo de enriquecimiento, primero en Caldo de Triptona y Soja y posteriormente en Caldo EE . A partir de estos cultivos enriquecidos se puede ya sembrar por picadura en tubos de A. Rojo Bilis Violeta Glucosa. Si se trata de hacer una enumeración de enterobacterias se utilizará la técnica de siembra en masa .

La lectura se realiza tras 24 horas de incubación a 37°C±1. Las colonias de enterobacteriáceas presentan un color púrpura intenso rodeadas de un halo de color más claro. Los enterococos que eventualmente puedan desarrollarse aparecen muy diminutos y de color rosado. Y los estafilos se inhiben totalmente.

Nota: Según la metodología del laboratorio escogida ( Farmacopeas, o Normas ISO), pueden existir ligeras variaciones en los tiempos y temperaturas de incubación.

**Control de Calidad****Control Físico/Químico**

Color : rosa violáceo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

**Control de Fertilidad**

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación: 30-35 °C. Lectura a 24h (E.P.) / 37± 1 °C. Lectura a 24 h (ISO)

Nota: result.: ATCC® 8739/6538/9027 (30-35 °C) &amp; ATCC® 8739/25922/19433/14028 (37 °C).

**Microorganismo**

*Enterococcus faecalis* ATCC® 19433, WDCM 00009  
*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, WDCM 00032  
*Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, WDCM 00031  
*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013  
*Ps. aeruginosa* ATCC® 9027, WDCM 00026  
*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012 (37°C)  
*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012 (32,5°C)

**Desarrollo**

Inhibido  
Inhibido  
Bueno (50%)- Colonias Rojas /purpura - precipitado biliar  
Bueno (50%)- Colonias Rojas /purpura - precipitado biliar  
Bueno (≥50%) -Colonias incoloras  
Bueno (50%)- Colonias Rojas /purpura - precipitado biliar  
Bueno (50%)- Colonias Rojas /purpura - precipitado biliar

**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**

- 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.
- ISO Norma 21528-1: 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- MOSSEL, D.A.A. (1985) Media for Enterobacteriaceae. Int. J. Food Microbiol. 2:27-35.
- MOSSEL, D.A.A., H. MENGERINK & H.H. SCHOLTS (1962) Use a Modified MacConkey Agar Medium for the selective growth and enumeration of all Enterobacteriaceae. J. Bact. 84:381.
- MOSSEL, D.A.A., M. VISER & A.M.R. CORNELISSEN (1963) The examination of foods for Enterobacteriaceae using a test of the type generally adopted for the detection of salmonellae. J. Appl. Bact. 26:444-452.
- MOSSEL, D.A.A. & M.A. RATTO (1970) Rapid detection of sub-lethally impaired cells of Enterobacteriaceae in dried foods. Appl. Microbiol. 20:273-275.
- PASCUAL ANDERSON, Mª R. (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.
- JAPANESE PHARMACOPOEIA, 16th Ed. Chapter 4.05 Microbiological Examination of Non-sterile Products and Chapter 4.06 Sterility Test