

Especificación

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

Presentación

10 Frascos
Botella 125 ml
con: 100 ± 3 ml

Encajado

1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón inyectable:
tapón plástico con rosca. No se recomienda la
utilización de jeringas con agujas de diámetro
superior a 0,8 mm.

Caducidad Almacenamiento

12 meses 2-25 °C

Composición

Composición (g/l):

Peptona de gelatina.....	17,0
Peptona de caseína y carne.....	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 neutro permitiendo unas lecturas más fáciles y precisas. Con el avance en los conocimientos sobre la fisiología bacteriana, se ha conseguido adaptación del medio para facilitar la detección de coliformes. Las modificaciones más sustanciales de la fórmula original han sido las siguientes:

- La sustitución de la bilis por sales biliares, que mejora la selectividad al medio, y elimina la turbidez inherente a las sustancias grasas de la bilis. La capacidad inhibidora de las sales biliares es muy variable y depende esencialmente de la concentración relativa de taurocolato y desoxicolato.

- 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.

Las bacterias fermentadoras de lactosa producen colonias rojas debido a la gran acidificación y *Escherichia coli* llega a formar halos de precipitación de las sales biliares alrededor de sus colonias.

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben los microorganismos gram-positivos. Eventualmente pueden desarrollarse enterococos que pueden diferenciarse fácilmente de los coliformes por tener un tamaño de colonia muy pequeño y no precipitar las sales biliares.

Instrucciones de Uso:

Recopilar, diluir y preparar muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, reglamentos oficiales estándar y / o resultados esperados.

Fundir el contenido de las botellas en baño de agua (100°C) o en microondas, evitando su sobrecalentamiento. Antes de fundir cualquier envase con medio de cultivo, debe aflojarse el tapón roscado para evitar que se rompan los recipientes. Verter en placas de Petri y enfriar a temperatura ambiente.

Una vez solidificado en una superficie plana. Sembrar las placas por un método convencional (siembra en estría, o método en espiral) e incubarlas aeróbicamente a 30-35 ° C durante 18-72h.

(Tiempos de incubación más largos o diferentes temperaturas de incubación pueden ser necesarios dependiendo de la muestra o normativas. Este medio se puede inocular directamente o después de caldo de enriquecimiento)

Después de la incubación, enumerar todas las colonias que han aparecido sobre la superficie del agar. Los coliformes desarrollarán colonias de color rojizo. Para confirmar la presencia de coliformes fecales debe incubarse a 44± 1°C.

El aislamiento presuntivo de *E. coli* se debe confirmar con ensayos microbiológicos y bioquímicos.

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

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 : Rosado a rojo

pH: 7,1 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Fusión- Preparar placas- inocular: 50-100 UFC según Farm. Eur., USP y normas ISO 11133.

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

Aerobiosis. Incubación a 30-35 °C. Lectura a 18-24h

S. sonnei incubación a 37°C durante 20-24h**Microorganismo***Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, WDCM 00032*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013*Enterococcus faecalis* ATCC® 19433, WDCM 00009*Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, WDCM 00031*Ps. aeruginosa* ATCC® 9027, WDCM 00026*Shigella sonnei* ATCC® 9290**Desarrollo**

Inhibido

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

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

Inhibido

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.