

## Especificación

Medio sólido para la enumeración de enterobacterias según las norma ISO 21528 y método armonizado de las farmacopeas.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botella 500 ml con: 450 ± 5 ml	1 caja con 10 botellas de 500 ml. Tapón plástico con rosca. No se recomienda la utilización de jeringas con agujas de diámetro superior a 0,8 mm.0.	12 meses	8-25 °C

## Composición

Composición (g/l):

Extracto de levadura.....	3,000
Peptona de gelatina.....	7,000
Sales biliares.....	1,500
D(+)-Glucosa monohidrato.....	10,000
Cloruro sódico.....	5,000
Rojo neutro.....	0,030
Cristal violeta.....	0,002
Agar.....	13,000

## 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:

Fundir el frasco en microondas o al baño maría a 100°C.

Dispensar asépticamente en tubos o placas cuando el medio, mantenido en baño maría, esté a una temperatura de 50 °C y dejar solidificar.

Una vez sembradas las placas con cualquier método convencional, incubar aerobicamente a 35 ± 2 °C durante 24 horas. (según metodología pueden precisarse dos series, incubadas a distintas temperaturas).

Proceder al recuento de todas las colonias aparecidas y considerar las diluciones realizadas para calcular la carga microbiana en la muestra analizada. Deberán caracterizarse los microorganismos recuperados.

La formación de colonias de colour púrpura violeta, rodeadas de un halo del mismo colour, indica la presencia de Enterobacteriaceae.

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.

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

Color : rosa violáceo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

**Control de Fertilidad**Fusión -Preparar placas- sembrar en productividad:rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC/ 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC( Selectividad).

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

Bueno

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

Inhibido

Inhibido

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

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 PHARMAPOEIA 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. MENDERINK & 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. RATTI (1970) Rapid detection of sub-lethally impaired cells of Enterobacteriaceae in dried foods. Appl. Microbiol. 20:273-275.
- PASCUAL ANDERSON, M<sup>a</sup> 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.