

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

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos			
Botella 125 ml	1 caja con 10 botellas de 125ml, tapón metálico,	12 meses	8-25°C
con: 100 ± 3 ml	No inyectable .		

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.....	15,0

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.

Técnica:

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.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : rosado

pH: 7,1 ± 0,2 a 25°C

Control de FertilidadFusión -Preparar placas- sembrar en productividad:rango práctico 100±20 UFC; Min. 50 UFC/ 10⁴-10⁶ UFC(Selectividad).

Aerobiosis. Incubación a 30-35°C. Lectura a las 24 horas

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

Desarrollo

Inhibido

Bueno - Colonias rojo púrpura - Precipitado biliar

Bueno - Colonias rojo púrpura - Precipitado biliar

Inhibido

Colonias incoloras sin precipitado biliar

Colonias incoloras sin precipitado biliar

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C y 48 horas 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 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.