

Especificación

Medio selectivo y diferencial para la detección, aislamiento y enumeración de Salmonella y coliformes, de acuerdo al método armonizado de las farmacopeas

Presentación

	Acondicionado	Caducidad	Almacenamiento
100 Placas 90 mm	1 caja con 10 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa C/Barrera de Oxígeno. Con etiquetado lateral.	6 meses	15-25 °C

Composición

Composición (g/l): Según Armonización USP/BP/JP

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.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : rosa violáceo

pH: 7,1 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Control fertilidad 50-100 UFC según métodos y monografías armonizados en farmacopeas e ISO 11133:2014

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.

Aerobiosis. Incubación a 30-35 °C. Lectura a las 18-72h

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

Microorganismo

Staphylococcus aureus ATCC® 6538, WDCM 00032

Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012

Salmonella typhimurium ATCC® 14028, WDCM 00031

Ps. aeruginosa ATCC® 9027, WDCM 00026

Desarrollo

Inhibido

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

Bueno (≥ 50%) - colonias incoloras sin precipitado

Bueno- colonias incoloras sin precipitado *Ps.*

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.