

Agar MacConkey EP/USP/ISO

Para el aislamiento e identificación de Enterobacteriaceae a partir de las heces, aguas residuales de orina y alimentos.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Aislamiento selectivo	Enterobacterias
Aislamiento selectivo	Escherichia coli
Detección	Shigella

Industria: Aguas de consumo / Farmacéutica/Veterinaria / Cosmética / Clínica / Alimentación / Control de Producto Final

Regulaciones: USP / Farmacopea Europea / ISO 21150 / ISO 21567



o 1

Principios y usos

Agar MacConkey se utiliza para el aislamiento selectivo y la identificación de Enterobacteriaceae de las heces, la orina, aguas residuales y alimentos. También es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de bacterias Gram-negativas entéricas.

La muestra puede sembrarse directamente en el medio o inocularse primero en un caldo de enriquecimiento tal como Caldo Tetrathionato (Cat. 1114), Caldo Selenito Cistina (Cat 1220), Caldo de Enriquecimiento GN (Cat. 1248) o Caldo MacConkey (Cat. 1210).

La Farmacopea Europea, USP recomienda este medio en el párrafo 2.6.13: "Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms" para la prueba de E.coli en productos.

ISO 21567 recomienda este medio para la detección de Shigella spp. Se usa para obtener colonias aisladas. Después de incubar las placas de Agar MacConkey, es necesario un paso de confirmación.

ISO 21150 recomienda este medio para la detección de E.coli en muestras cosméticas.

El digerido pancreático de gelatina y peptonas (carne y caseína) proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esencial para el crecimiento. La lactosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. El cloruro sódico suministra los electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. Las sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos e inhiben organismos Gram positivos. El rojo neutro es el indicador de pH. cuando se fermenta la lactosa, el pH del medio disminuye, cambiando el color de rojo neutro a rosa. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Las colonias aisladas de Escherichia coli son de color rojo ladrillo y están rodeadas por una zona de bilis precipitada. Este precipitado biliar se debe a una caída de pH alrededor de la colonia debido a la fermentación de la lactosa.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	13,5	Sales biliares	1,5
Cristal violeta	0,001	Digerido pancreático de gelatina	17
Rojo neutro	0,03	Mezcla de peptona	3
Cloruro sódico	5	Lactosa monohidrato	10

Fórmula típica g / L * Ajustada y/o suplementada según sea necesario para cumplir con los criterios de rendimiento.

Preparación

Suspender 50 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta la disolución completamente. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 47 °C, mezclar bien y dispensar en placas. Permitir que las placas se solidifiquen y colocarlas boca abajo para evitar la humedad excesiva en la superficie del medio.

Instrucciones de uso

» Para diagnóstico clínico, el tipo de muestras es orina y heces.

- Inocular en superficie. Estrías paralelas con el asa o hisopo
- Incubar en condiciones aeróbicas a 35 ± 2 °C durante 18-24 horas.
- Lectura e interpretación de los resultados.

» Para otros usos no amparados por el marcado CE:

Prueba de microorganismos específicos (Enterobacteriaceae) según la Farmacopea Europea:

- Inocular e incubar a 30-35 °C durante 18-24 h en Caldo TSB (Cat. 1224).
- Subcultivar en Caldo MacConkey e incubar a 42-44 °C durante 24-48 h (Cat. 1210).
- Sembrar en una placa de MacConkey Agar.
- Incubar a 30-35 °C durante 18-72 horas.
- El crecimiento de colonias con precipitado biliar indica la posible presencia de *E. coli*.
- Esto se confirma mediante una prueba de identificación.
- Los productos cumplen con la prueba si no hay colonias presentes o si la prueba de identificación es negativa.

Detección de *Shigella* spp según ISO 21567:

- Sembrar la muestra en Caldo *Shigella* (Cat. 2078) con 0,5 µg/mL de novobiocina. Incubar en anaerobiosis a $41,5 \pm 1$ °C durante 16-20 horas.
- A partir del caldo *Shigella*, sembrar Agar MacConkey (Cat. 1052), Agar XLD (Cat. 1274) y Agar Entérico Hektoen (Cat. 1030). Incubar a una temperatura de 37 ± 1 °C durante 20-24 horas.
- Realizar las pruebas bioquímicas con las colonias características y sospechosas.

Detección de *E. coli* según ISO 21150:

- Suspender 1 g o 1 ml del producto en 9 ml de caldo de enriquecimiento Eugon LT 100 (Cat. 2110). De acuerdo con las indicaciones de la ISO, puede usarse de manera diferente dependiendo de si se analizan productos miscibles o inmiscibles o si las muestras son productos filtrables. Incubar a $32,5 \pm 2,5$ °C durante al menos 20 horas (máximo 72 h).
- A partir del caldo de enriquecimiento, se inocula Agar MacConkey para obtener colonias aisladas. Incubar a $32,5 \pm 2,5$ °C durante al menos 24 horas (máximo 48 h).
- La confirmación se hace con colonias sospechosas.

Se recomienda sembrar las muestras en otros medios selectivos como Agar Eosina Azul Metileno (Cat. 1039), Agar SS (Cat. 1064), Agar XLD (Cat. 1080), Agar Entérico Hektoen (Cat. 1030), Agar Sulfito de Bismuto (Cat. 1011), especialmente para *Salmonella typhi* y / o Agar Verde Brillante (Cat. 1078), especialmente para *Salmonella*.

CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS:

Escherichia coli: rojo o rosa; No mucoide; Redonda; Precipitado opaco de sales biliares.

Klebsiella: grande, roja, mucoide.

Enterobacter aerogenes: rosada a roja.

Serratia: Roja a rosa, no mucoide.

Arizona y *Citrobacter*: incolora, transparente; Roja si se fermenta la lactosa.

Proteus: incolora y transparente. Agar amarillo alrededor de la colonia.

Salmonella: incolora, transparente o ámbar. Agar amarillo alrededor de la colonia.

*Shigella sonnei** : incolora a rosa pálido, traslúcida, lactosa negativo

Shigella, otras especies: Incolora, traslúcida, lactosa negativo.

* *Shigella sonnei* puede fermentar la lactosa después de más de 40 horas de incubación, lo que da una reacción débil similar a *Escherichia coli* después del mismo tiempo.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige-rosa	Violeta-rojo	7,1±0,2

Test microbiológico

De acuerdo a Farmacopea europea; *Escherichia coli* ATCC 8739:

Condiciones de incubación: (30-35 °C / 18-72 h)

Condiciones de inoculación: (<=100 CFU)

De acuerdo a ISO 21567; *Shigella dysenteriae*:

Condiciones de incubación: (37 ± 1 °C / 20-24 h)

De acuerdo a ISO 21150; *Escherichia coli* ATCC 8739:

Condiciones de incubación: (30-35 °C / 24-48 h)

Resto de cepas; *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922:

Condiciones incubación: (35 ± 2 °C / 24 h).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
----------------	----------------	-------------------------

Klebsiella aerogenes ATCC 13048	Buen crecimiento	Colonias de color rojo-rosa
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Buen crecimiento	Colonias incoloras
Shigella dysenteriae ATCC 13313	Buen crecimiento	Colonias incoloras
Proteus vulgaris ATCC 13315	Buen crecimiento	Colonias incoloras
Escherichia coli ATCC 25922	Buen crecimiento	Colonias de color rojo-rosa (con precipitado biliar)
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Inhibición	
Escherichia coli ATCC 8739	Buen crecimiento	Colonias de color rojo-rosa (con precipitado biliar)

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

MacConkey J. H. 5:33. 1905. Joseph Md. State. Dept. Health. Procedures, 1960.
Harmonized European Pharmacopoeia

ISO 21567. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of Shigella spp.

ISO 21150. Cosmetics Microbiology. Detection of Escherichia coli

o 2

o 3