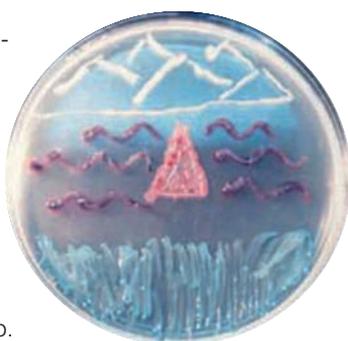


Agar selectivo para la detección simultánea confirmativa de coliformes totales/fecales y *E. coli* en aguas y alimentos (cromógenos según ISO 16649-1:2001, AFNOR V08053-4)

Laboratorios Microkit

Los sustratos cromogénicos desarrollados por los laboratorios Biosynth AG, en concreto Salmon-Gal y X-Glucuronido, permiten la detección simultánea de coliformes (colonias rojas) y *E. coli* (colonias azules) en el mismo medio de cultivo.



La acción simultánea de las peptonas seleccionadas en el medio, del piruvato y de los taponnes fosfato, garantiza un rápido crecimiento colonial, incluso para los coliformes en estado subletal. El crecimiento de la flora acompañante Gram positiva, queda inhibido gracias al lauril sulfato y a la mezcla de antibióticos cefsulodina + vancomicina.

El enzima β -galactosidasa, característica de los coliformes, actúa sobre el Salmon-GAL provocando la pigmentación roja o rosada en las colonias de coliformes.

E. coli, coliforme β -glucuronidasa positivo, actúa sobre el Salmon-GAL y sobre el X-Glucuronido (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl β -Diglucuronido) de modo que sus colonias crecen de azul oscuro-añil a violáceas.

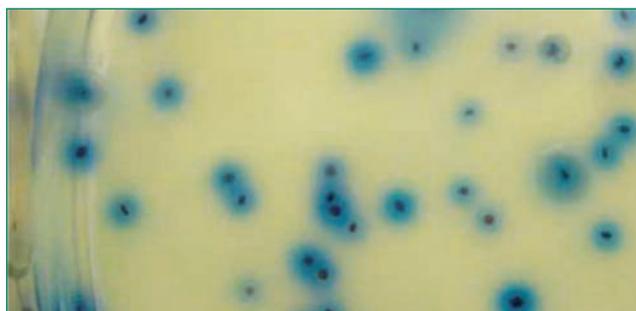
MICROKIT® MUGPLUS: Agar cromogénico para *E. coli* (colonias azules –olas–) y demás coliformes (colonias rosas –surf–). *Campylobacter* y *Shigella* crecen con colonias verdes (hierba) y otros Gram negativos con colonias crema (*Pseudomonas* –montañas–).

Composición (g/l)

Peptonas	3,0
Cloruro sódico	5,0
Dihidrógeno fosfato sódico	2,2
Hidrógeno fosfato disódico	2,7
Piruvato sódico	1,0
Triptófano	1,0
Tergitol 7	0,15
Sorbitol	1,0
Mezcla cromogénica (Salmon Gal 0,2 y X-Glu 0,2)	0,4
Agar-Agar	10,0
pH Final:	6,8 ± 0,2

Modo de empleo

Agitar el bote. Disolver 26,5 g en 1 l de agua destilada, calentando hasta ebullición. Mantener durante 1 minuto. Agitar has-



Inconfundibles colonias añil de *E. coli*.

ta su completa disolución. Añadir asepticamente, cuando el medio se haya enfriado a 55 °C, 5 mg de cefsulodina + 5 mg de vancomicina (total 5 ml de solución estéril Microkit SMS400) para mejorar la selectividad del medio y eliminar la flora acompañante Gram positiva. No autoclavar. El medio final es blanquecino. No refundir más de una vez.

En alimentos, la siembra en profundidad elimina los Gram negativos no fermentadores, que en la técnica de filtración de membrana para análisis de aguas pueden dar lugar a falsos positivos y además reducir en un 50% la recuperación de los microorganismos diana; para evitarlos, añadir sobre la membrana una segunda capa de medio agarizado, previamente enfriado a 50 °C. Esto no es tan necesario en aguas potables o poco contaminadas por flora acompañante.

Lectura de resultados

Tras 18-24 horas de incubación a unos 35-37 °C (o 44,5 °C aproximadamente para *C. fecales*), los resultados son:

E. coli: Colonias de azul oscuro-azul a violeta (Salmon GAL y X-Glucuronido positivo) que resultan indol positivas (puede comprobarse directo en la colonia).

Coliformes: Colonias rosas-rojas (Salmon GAL positivo) y azules (*E. coli*).

Otras enterobacterias: Colonias incoloras, excepto cepas como las *Salmonella* β glucuronidasa positivas, que aparecen de color azul claro a turquesa.

Muchas cepas de *Shigella* y de *Campylobacter* crecen con colonias verdes, pero también son microorganismos propios de aguas no potables.

Algunas cepas de *Enterococcus durans* crecen con colonias rojas, pero también indican contaminación fecal del agua.

Ciertas cepas de *Staphylococcus aureus* y de *Bacillus* crecen con colonias naranjas, pero nunca rosas-rojas. Otras cepas crecen con colonias crema que no se han de tener en cuenta. Las colonias con colores intermedios proceden de ufc mixtas: diluir y repetir el análisis, o mirar una placa sembrada con una dilución mayor.



Confirme *E. coli* pinchando o cubriendo sus colonias con reactivo de Kovacs. Si este vira a rojo-cereza antes de 1 minuto, la reacción es, definitivamente, confirmativa.

Un estudio comparativo independiente (1) de validación cuantitativa entre este medio, otros cromogénicos, Endo y MFC demuestra que MUG PLUS® es el mejor medio de recuento de *E. coli* en aguas. La validación interna realizada por Microkit con centenares de muestras y la revalidación trimestral en Seilagua®, Seilalimentos y Seilaparfum, lo confirman para agua y para todo tipo de matrices alimentarias y cosméticas.

Presentación

- Botes de 100 g de medio de cultivo deshidratado en polvo agarizado. Ref. DMT400.
- Suplemento en frasco de 100 ml, con 100 mg de solución estéril de cefsulodina + vancomicina, para 20 l de medio (5 ml/l). Ref. SMS400.
- Frascos de 100 ml de agar MUG PLUS® preparado con cefsulodina + vancomicina. Ref. RPL444.

Color de la colonia	Salmon-GAL	X-Glucuronido	Indol	Rto. PCA estandarizado*
<i>E. coli</i>	Azul oscuro-azul-(violeta)	+	+	+ 86-112%**
<i>Citrobacter freundii</i>	Rojo-rosa	+	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Lila-Granate	+	-	>99%
<i>Enterobacter cloacae</i>	Rojo-rosa	+	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	Incoloro	-	-	29-202%
<i>Shigella flexneri</i>	Incoloro (azul en superficie)	-	-	-
<i>Salmonella</i> MUG+	Azul claro	-	+	-
<i>E. coli</i> O157: H7	Rojo-rosa	+	-	+ 230%

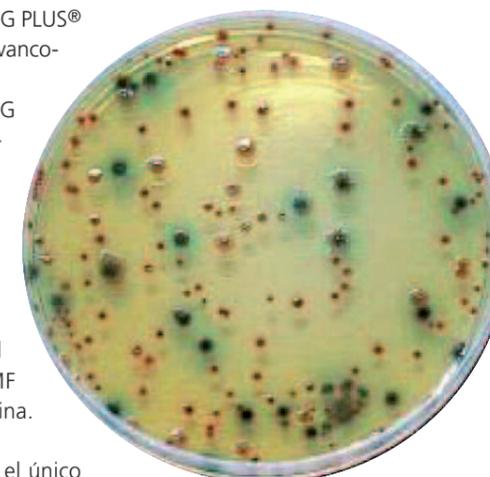
*El que cumple con recuperación superior al 92-125% con respecto a cepas cuantitativas trazables a cepa tipo.

Incertidumbres detectadas entre todos los lotes a lo largo de un año (la mayoría de la incertidumbre se debe a la cepa y a la proporción de cepas acompañantes inoculadas, no al medio).

**En superficie, ya que en masa recupera el 200% más que en superficie.

- Frascos de 200 ml de agar MUG PLUS® preparado con cefsulodina + vancomicina. Ref. RPL244.
- Tubos de 20 ml de agar MUG PLUS® preparado con cefsulodina + vancomicina. Ref. TPL400.
- Viales 2 ml de caldo MUG PLUS® de MF con cefsulodina + vancomicina. Ref. FPL400.
- Viales pinchables de 100 ml de caldo MUG PLUS® de MF con cefsulodina + vancomicina. Ref. RPL400.

(Se recuerda que el usuario es el único responsable de la eliminación de los microorganismos según la legislación ambiental vigente. Autoclavar antes de desecharlo a la basura.)



Hacemos notar que la composición del MUGPLUS Agar es exactamente la expuesta en la Orden SCO/778/2009 del ministerio de Sanidad y Consumo (17 de marzo de 2009), publicada en el BOE 31/Marzo/2009 sobre métodos alternativos para el análisis microbiológico del agua de consumo humano. Y que el MCC P/A Broth también busca exactamente las dos enzimas que en él se indican como definición de coliforme (β-D-galactosidasa) y de *E. coli*. (β-D-galactosidasa y β-D-glucuronidasa). Dicha orden habla de métodos ("se podrán utilizar asimismo los métodos incluidos en el anexo de esta orden") y no de marcas comerciales. Felicitamos al ministerio de Sanidad por su compromiso con la optimización de los análisis microbiológicos de aguas y a la casa comercial de la que partió el estudio que ha llevado a la Orden Ministerial, por su encomiable iniciativa.

Bibliografía

- Frampton, E.W.; Restaino, L., and Blaszkowski, N. 1988. Evaluation of the β glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D glucuronide (x-gluc) in 24 hour direct plating method for *E. coli*. *J. Food Prot.* 51: 402-404.
- Kilian, M. and Bulow, P. 1976. Rapid diagnosis of enterobacteriaceae. i. detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol. Microbiol. Scand Sect. b84*: 245-251.
- Le Minor, I., and Ben Hamida, F. 1962. Avantages de la recherche de la β-galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bacteriologique des enterobacteriaceae. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 102
- Manafi, M. and Kneifel, W. 1989. A combined chromogenic/fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and *E. coli* in water. *zentralbl.hyg.* 189: 225-224.

(1) Santos, C.J.; Araujo, M.; Gómez, M.J. y Garrido, M.J. Evaluación de medios de cultivo para la detección de *Escherichia coli* en aguas. Lab. Microbiología, Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios. Universidad de Santiago de Compostela.

Revisión de texto: 18 de junio de 2009

www.microkit.es

(Véase anuncio en la sección Guía del Comprador.)