

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

| Catalog # | Description |
|-----------|---|
| 3563617 | MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet) , ready-to-use, 90 mm x 20 dishes |
| 3569084 | MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet) , dehydrated, 500 g |

For laboratory use only.

Intended Use

Medium used to isolate and enumerate coliform bacteria, particularly *Escherichia coli*, when testing for microbial contamination of non-sterile Pharmacopoeia products (EP 2.6.13). The medium can also be used to detect *Shigella* spp. (ISO 21567).

Principle

The principle of the medium is based on the ability of coliforms to ferment lactose which produces brick-red colonies. Due to the presence of bile salts and crystal violet, this medium inhibits Gram-positive bacteria.

Theoretical Composition

Base Medium

| | |
|------------------------------|----------|
| Peptone | 20 g |
| Bile salts | 1.5 g |
| Sodium chloride | 5 g |
| Lactose | 10 g |
| Neutral red | 30 mg |
| Crystal violet | 1 mg |
| Agar | 15 g |
| Distilled water | 1,000 ml |
| Final pH at 25°C = 7.1 ± 0.2 | |

Shelf Life and Storage

Store ready-to-use medium at 2–8°C. Store dehydrated medium at 15–25°C in carefully sealed bottles in a cool, dry place.

Required Materials Not Supplied

This list is not exhaustive.

Equipment

- All usual laboratory equipment
- Incubators or incubation room
- Scales
- Stirrer/homogenizer
- Vortexer

Supplies

- 125 ml Pyrex bottles with autoclave proof stoppers
- Sterile Petri dishes (Ø = 90 mm)
- Sterile pipettes (1 ml, etc)

Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 7218). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria
- Media that have come in contact with food samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- The time lapse between the end of preparation of the stock solution (or the 10⁻¹ dilution in the case of a solid product) and the moment when the dilutions come into contact with the culture medium must not exceed 15 min
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit bio-rad.com

Quality Control

Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file.

Protocol

Dehydrated Medium Preparation

- Shake bottle before use
- Dissolve 51.5 g of powder in 1 L of sterile distilled water
- Heat gently, agitating frequently, then bring to a boil until a homogeneous suspension is obtained
- Dispense 100 ml per bottle and sterilize in an autoclave at $121 \pm 3^\circ\text{C}$ for 15 min
- Cool to 44–47°C then pour into Petri dishes

Reconstitution ratio: 51.5 g/L (500 g of powder makes 9.7 L of medium)

Sample Preparation and Enrichment

- Prepare and enrich sample according to the standard method applicable to the product concerned

Inoculation and Incubation

- Use a sterile loop to streak the obtained culture onto a MacConkey agar plate. Incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 20–24 hr or following the appropriate protocols

Reading and Interpretation

- “Lactose-positive colonies” appear as brick-red, sometimes surrounded by an opaque halo of precipitated bile salts
- “Lactose-negative colonies” appear as colorless colonies

References

European Pharmacopeia (2019) 5.6. 2.6.13 Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms. 10th Ed.

ISO 7218:2007/AMD1:2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.

Revision History

| Release date | Document number | Change |
|--------------|-----------------|---|
| July 2022 | 5094 Ver A | - Major change - New document design - Document number change — previous version: V4_05/08/11 |

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

N° de référence Description

3563617 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, prêt à l'emploi, 90 mm x 20 boîtes
3569084 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, base déshydratée, 500 g

Uniquement pour une utilisation en laboratoire.

Usage prévu

Milieu utilisé pour isoler et dénombrer les bactéries coliformes, en particulier *Escherichia coli*, lors de la recherche de contamination microbienne dans les produits non stériles de la pharmacopée (EP 2.6.13). Le milieu peut également être utilisé pour détecter *Shigella* spp. (ISO 21567).

Principe

Le principe du milieu repose sur la capacité des coliformes à fermenter le lactose par la production de colonies de couleur rouge brique. Ce milieu inhibe le développement des bactéries à Gram positif par la présence de sels biliaires et de violet cristallisé.

Formule théorique

Milieu de base

| | |
|--------------------|----------|
| Peptone | 20 g |
| Sels biliaires | 1,5 g |
| Chlorure de sodium | 5 g |
| Lactose | 10 g |
| Rouge neutre | 30 mg |
| Violet cristallisé | 1 mg |
| Agar | 15 g |
| Eau distillée | 1 000 ml |

pH final à 25 °C = 7,1 ± 0,2

Durée de conservation et stockage

Milieu prêt à l'emploi : 2–8 °C. Milieu déshydraté : 15–25 °C en flacons soigneusement scellés, dans un endroit frais et sec.

Matériel requis non fourni

Liste non exhaustive.

Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Incubateurs ou salle d'incubation
- Balances
- Agitateur-homogénéisateur
- Agitateur-mélangeur vortex

Produits

- Flacons en Pyrex de 125 ml avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml, etc.)

Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 7218). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses.
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons alimentaires doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales
- Le temps écoulé entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment auquel les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas excéder 15 min
- Pour obtenir les informations sur la sécurité du produit (fiche de données de sécurité, FDS) et le certificat d'analyse, visiter bio-rad.com

Contrôle qualité

Chaque produit fabriqué et commercialisé par Bio-Rad est soumis à une procédure d'assurance qualité à toutes les étapes, de la réception des matières premières jusqu'à la mise sur le marché du produit fini. Chaque lot de produits finis subit un contrôle qualité conforme à EN ISO 11133 et est mis sur le marché uniquement s'il satisfait aux critères d'acceptabilité. La documentation relative à la production et au contrôle qualité de chaque lot est archivée.

Protocole

Préparation du milieu déshydraté

- Bien agiter le flacon avant utilisation
- Dissoudre 51,5 g de poudre dans 1 L d'eau distillée stérile
- Chauffer doucement en mélangeant fréquemment, puis amener à ébullition jusqu'à obtention d'une suspension homogène
- Distribuer 100 ml par flacon et stériliser à l'autoclave à 121 ± 3 °C pendant 15 min
- Refroidir à 44–47 °C puis distribuer dans des boîtes de Petri

Taux de reconstitution : 51,5 g/L (500 g de poudre donnent 9,7 L de milieu)

Préparation de l'échantillon et enrichissement

- Préparer et enrichir l'échantillon conformément à la méthode normalisée applicable au produit concerné

Inoculation et incubation

- Utiliser une anse stérile pour strier la culture obtenue sur une boîte gélosée MacConkey. Incuber à 37 ± 1 °C pendant 20–24 hr ou conformément aux protocoles appropriés

Lecture et interprétation

- Les « colonies positives au lactose » sont de couleur rouge brique, parfois entourées d'un halo opaque de sels biliaires précipités
- Les « colonies négatives au lactose » sont incolores

Références

Pharmacopée Européenne (2019) 5.6. 2.6.13 Contrôle microbiologique des produits non stériles : recherche de microorganismes spécifiés. 10^e éd.

ISO 7218:2007/AMD1 :2013. Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations

ISO 21567:2004. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for specified microorganisms.

Historique des révisions

| Date de publication | Numéro de document | Modification |
|---------------------|--------------------|---|
| Juillet 2022 | 5094 Ver A | - Modification importante - Nouvelle conception de document - Modification du numéro de document — version précédente : V4_05/08/11 |

Bio-Rad Laboratories, Inc.
2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA 94547
510-741-1000

5094 Ver A

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

Katalog-Nr. Beschreibung

3563617 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, gebrauchsfertig, 20 Agarplatten x 90 mm

3569084 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, dehydriert, 500 g

Nur für die Verwendung im Labor.

Verwendungszweck

Medium für die Isolierung und die Zählung von coliformen Bakterien, insbesondere *Escherichia coli*, beim Testen auf mikrobielle Kontamination von unsterilen Produkten der Pharmacopeia (EP 2.6.13). Das Medium kann auch zum Nachweis von *Shigella* spp. verwendet werden (ISO 21567).

Prinzip

Das Prinzip des Mediums beruht auf der Fähigkeit von coliformen Keimen zur Fermentierung von Laktose unter Bildung ziegelroter Kolonien. Aufgrund des Vorhandenseins von Gallensalzen und Kristallviolett hemmt dieses Medium das Wachstum grampositiver Bakterien.

Theoretische Zusammensetzung

Basismedium

| | |
|----------------------|----------|
| Pepton | 20 g |
| Gallensalze | 1,5 g |
| Natriumchlorid | 5 g |
| Laktose | 10 g |
| Neutralrot | 30 mg |
| Kristallviolett | 1 mg |
| Agar | 15 g |
| Destilliertes Wasser | 1.000 ml |

Finaler pH-Wert bei 25 °C = 7,1 ± 0,2

Haltbarkeit und Lagerung

Gebrauchsfertiges Medium bei 2–8 °C lagern. Dehydriertes Medium in sorgfältig verschlossenen Flaschen kühl und trocken bei 15–25 °C lagern.

Zusätzlich benötigtes Material

Diese Liste ist nicht vollständig.

Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte
- Inkubatoren oder Inkubationsraum
- Waagen
- Rührer/Homogenisator
- Vortex

Zubehör

- 125 ml-Pyrexflaschen mit autoklavierbarem Stopfen
- Sterile Petrischalen (Ø = 90 mm)
- Sterile Pipetten (1 ml usw.)

Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis zu beachten (EN ISO 7218). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen lebenden Bakterien sollte angemessene Schutzkleidung wie Handschuhe und Laborkittel getragen werden.
- Medien, die mit Lebensmittelproben in Kontakt gekommen sind, sind als kontaminiert zu betrachten und gemäß den vor Ort geltenden Vorschriften und Bestimmungen zu entsorgen.
- Der Zeitraum zwischen dem Ende der Herstellung der Stammlösung (bzw. der 10⁻¹ Verdünnung bei einem festen Produkt) und dem Zeitpunkt, an dem die Verdünnungen mit dem Kulturmedium in Kontakt kommen, darf 15 min nicht überschreiten.
- Das Sicherheitsdatenblatt (SDS) und das Analysezertifikat für das Produkt sind auf bio-rad.com erhältlich.

Qualitätskontrolle

Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte einer umfassenden Qualitätssicherung. Jede Charge des fertigen Produkts wird einer Qualitätskontrolle gemäß EN ISO 11133 unterzogen und gelangt nur dann in den Vertrieb, wenn sie die Akzeptanzkriterien erfüllt. Die Unterlagen zur Produktion und Qualitätskontrolle jeder Charge werden archiviert.

Protokoll

Herstellung des Mediums ausgehend vom dehydrierten Pulver

- Die Flasche vor der Verwendung schütteln.
- 51,5 g Pulver in 1 L sterilem destilliertem Wasser lösen.
- Unter ständigem Rühren vorsichtig erhitzen und zum Kochen bringen, bis eine homogene Suspension vorliegt.
- Jeweils 100 ml in Flaschen verteilen und in einem Autoklaven 15 min bei $121 \pm 3 \text{ °C}$ sterilisieren.
- Auf $44\text{--}47 \text{ °C}$ abkühlen lassen und dann in Petrischalen gießen.

Rekonstitutionsverhältnis: 51,5 g/L (500 g Pulver ergeben 9,7 L Medium)

Probenvorbereitung und Anreicherung

- Die Probe nach der für das jeweilige Produkt geltenden Standardmethode vorbereiten und anreichern.

Beimpfung und Inkubation

- Die erhaltene Kultur mit einer sterilen Impföse auf einer Platte mit MacConkey Agar ausstreichen. Bei $37 \pm 1 \text{ °C}$ für 20–24 hr oder nach den Vorgaben entsprechender Protokolle inkubieren.

AbleSEN und Auswerten der Ergebnisse

- „Laktose-positive Kolonien“ sind ziegelrot und mitunter von einem trüben Hof ausgefallter Gallensalze umgeben.
- „Laktose-negative Kolonien“ sind farblos.

Literatur

Europäisches Arzneibuch (2019) 5.6. 2.6.13 Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.10. Ausgabe

ISO 7218:2007/AMD1:2013. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen

ISO 21567:2004. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für den Nachweis von *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.

Revisionshistorie

| Versionsdatum | Dokumentnummer | Änderung |
|---------------|----------------|---|
| Juli 2022 | 5094 Ver A | - Bedeutende Änderung - Neues Dokumentdesign - Änderung der Dokumentnummer — vorhergehende Version: V4_05/08/11 |

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

Numero catalogo Descrizione

3563617 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, pronto all'uso, 90 mm x 20 piastre
3569084 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, in forma disidratata, 500 g

Esclusivamente per uso in laboratorio.

Uso previsto

Terreno utilizzato per isolare e conteggiare i batteri coliformi, in particolare *Escherichia coli*, durante il test per la contaminazione microbica dei prodotti non sterili della Farmacopea (EP 2.6.13). Il terreno può essere utilizzato anche per il rilevamento di *Shigella* spp. (ISO 21567).

Principio

Il principio del terreno si basa sulla capacità dei coliformi di fermentare il lattosio che producendo colonie di colore rosso-mattone. Per la presenza di sali biliari e violetto di genziana, il terreno inibisce i batteri Gram-positivi.

Composizione teorica

Terreno di base

| | |
|-------------------------|----------|
| Peptone | 20 g |
| Sali biliari | 1,5 g |
| Cloruro di sodio | 5 g |
| Lattosio | 10 g |
| Rosso neutro | 30 mg |
| Violetto di genziana | 1 mg |
| Terreno di coltura agar | 15 g |
| Acqua distillata | 1.000 ml |

pH finale a 25 °C = 7,1 ± 0,2

Durata e conservazione

Conservare il terreno pronto per l'uso a 2–8 °C. Conservare il terreno disidratato a 15–25 °C in flaconi attentamente sigillati in un luogo fresco e buio.

Materiali richiesti non in dotazione

Il presente elenco non è esaustivo.

Apparecchiatura

- Tutta la normale apparecchiatura di laboratorio
- Incubatori o camera di incubazione
- Bilance
- Agitatore/omogeneizzatore
- Vortex

Materiali

- Flaconi in pyrex (125 ml) con tappi sterilizzabili in autoclave
- Piastre di Petri sterili (Ø = 90 mm)
- Pipette sterili (1 ml, ecc.)

Precauzioni

- Rispettare le buone pratiche di laboratorio (EN ISO 7218). Indossare protezioni adeguate, come guanti e camici da laboratorio, quando si manipolano batteri vivi potenzialmente infettivi
- I terreni entrati in contatto con campioni di alimenti devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali
- L'intervallo di tempo tra la fine della preparazione della soluzione madre (o la diluizione 10⁻¹ nel caso di un prodotto solido) e il momento in cui le diluizioni entrano in contatto con il terreno di coltura non deve superare i 15 min
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto (schede dati di sicurezza) e il certificato di analisi, visitare bio-rad.com

Controllo qualità

Tutti i prodotti fabbricati e commercializzati dalla società Bio-Rad sono sottoposti a un sistema di assicurazione qualità dal momento del ricevimento delle materie prime fino alla commercializzazione dei prodotti finiti. Ciascun lotto di prodotto finito è soggetto a un controllo di qualità conformemente alla norma EN ISO 11133 e viene messo in commercio soltanto se risulta conforme ai criteri di accettazione. La documentazione relativa alla produzione e al controllo di qualità di ciascun lotto è conservata a cura del fabbricante.

Protocollo

Preparazione del terreno disidratato

- Agitare il flacone prima dell'uso
- Sciogliere 51,5 g di polvere in 1 L di acqua distillata sterile
- Riscaldare lentamente, agitando frequentemente, quindi portare a ebollizione fino ad ottenere una sospensione omogenea
- Dispensare 100 ml per flacone, quindi sterilizzare in un'autoclave a 121 ± 3 °C per 15 min
- Raffreddare a 44–47 °C, quindi versare nelle piastre di Petri

Rapporto di ricostituzione: 51,5 g/L (500 g di polvere producono 9,7 L di terreno)

Arricchimento e preparazione del campione

- Preparare e arricchire il campione secondo il metodo standard applicabile al prodotto in questione

Inoculazione e incubazione

- Utilizzare un'ansa sterile per strisciare la coltura ottenuta su una piastra di agar MacConkey. Incubare a 37 ± 1 °C per 20–24 hr oppure seguire i protocolli adeguati

Lettura e interpretazione

- Le "colonie lattosio-positive" appaiono di colore rosso-mattone, a volte circondate da un alone opaco di sali biliari precipitati
- Le "colonie lattosio-negative" appaiono come colonie trasparenti

Riferimenti

European Pharmacopeia (2019) 5.6. 2.6.13 Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms. 10th Ed.

ISO 7218:2007/AMD1:2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.

Cronologia delle revisioni

| Data di pubblicazione | Numero di documento | Modifica |
|-----------------------|---------------------|---|
| Luglio 2022 | 5094 Ver A | - Modifica importante - Nuova struttura del documento - Modifica al numero di documento — versione precedente: V4_05/08/11 |

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

Nº do catálogo Descrição

3563617 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, pronto para a utilização, 90 mm x 20 placas
3569084 **MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)**, desidratado, 500 g

Somente para uso em laboratório.

Uso previsto

Meio usado para isolar e enumerar bactérias coliformes, particularmente *Escherichia coli*, ao testar para contaminação microbiana de produtos de farmacopeia não estéreis (EP 2.6.13). O meio também pode ser usado para detectar *Shigella* spp. (ISO 21567).

Princípio

O princípio do meio é baseado na capacidade dos coliformes de fermentar lactose, que produz colônias de coloração vermelho-tijolo. Devido à presença de sais biliares e violeta cristal, este meio inibe a bactéria Gram-positiva.

Composição teórica

Meio de Base

| | |
|------------------|----------|
| Peptona | 20 g |
| Sais biliares | 1,5 g |
| Cloreto de sódio | 5 g |
| Lactose | 10 g |
| Vermelho neutro | 30 mg |
| Violeta cristal | 1 mg |
| Ágar | 15 g |
| Água destilada | 1.000 ml |

pH final em 25°C = 7,1 ± 0,2

Prazo de validade e armazenamento

Armazene o meio pronto para uso a 2–8°C. Armazene o meio desidratado a 15–25°C em frascos cuidadosamente fechados em um local fresco e seco.

Materiais necessários não fornecidos

Essa lista não é exaustiva.

Equipamento

- Todo o equipamento comum de laboratório
- Incubadoras ou sala de incubação
- Balanças
- Misturador/homogeneizador
- Agitador

Suprimentos

- Frascos de pirex de 125 ml com rolhas à prova de autoclave
- Placas de Petri estéreis (Ø = 90 mm)
- Pipetas estéreis (1 ml, etc.)

Precauções

- Respeite as Boas Práticas de Laboratório (EN ISO 7218). Proteção adequada, como luvas e jalecos, deve ser usada ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas
- O meio que entrou em contato com amostras de alimentos deve ser considerado contaminado e descartado de acordo com as regras e regulamentos locais
- O tempo entre o final do preparo da solução de reserva (ou diluição 10⁻¹ no caso de um produto sólido) e quando as diluições entram em contato com o meio de cultura não deve exceder 15 min
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite bio-rad.com

Controle de Qualidade

Todos os produtos fabricados e comercializados pela Bio-Rad estão sujeitos aos procedimentos de garantia de qualidade em todas as etapas, desde o recebimento da matéria-prima até a comercialização do produto final. Cada lote de produto acabado passa por um controle de qualidade de acordo com a EN ISO 11133 e é comercializado apenas quando satisfaz os critérios de aceitabilidade. A documentação relativa à produção e ao controle de qualidade de cada lote é mantida arquivada.

Protocolo

Preparação do Meio Desidratado

- Agite o frasco antes de usar
- Dissolva 51,5 g de pó em 1 L de água destilada estéril
- Aqueça suavemente, agitando com frequência, em seguida, leve à fervura até que uma suspensão homogênea seja obtida
- Dispense 100 ml por frasco e esterilize em autoclave a $121 \pm 3^\circ\text{C}$ por 15 min
- Refrigere a $44\text{--}47^\circ\text{C}$ e despeje nas placas de Petri

Taxa de reconstituição: 51,5 g/L (500 g de pó faz 9,7 L de meio)

Preparação de amostra e enriquecimento

- Prepare e enriqueça a amostra de acordo com o método padrão aplicável ao respectivo produto

Inoculação e Incubação

- Use uma alça estéril para estriar a cultura obtida em uma placa de ágar MacConkey. Incube a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 20–24 hr ou seguindo os protocolos apropriados

Leitura e Interpretação

- As "colônias positivas para lactose" apresentam coloração vermelho-tijolo, por vezes rodeadas por um halo opaco de sais biliares precipitados
- As "colônias negativas para lactose" se apresentam como colônias incolores

Referências

European Pharmacopeia (2019) 5.6. 2.6.13 Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms. 10th Ed.

ISO 7218:2007/AMD1:2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.

Histórico de Revisão

| Data de lançamento | Número do documento | Alteração |
|--------------------|---------------------|--|
| Julho de 2022 | 5094 Ver A | - Alteração importante - Novo design de documento - Alteração do número do documento — versão anterior: V4_05/08/11 |

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais usadas neste documento são de propriedade de seus respectivos proprietários.

MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet)

| Referencia # | Descripción |
|--------------|--|
| 3563617 | MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet) , listo para su utilización, 90 mm x 20 placas |
| 3569084 | MacConkey Agar (Lactose with Crystal Violet) , deshidratado, 500 g |

Sólo para uso en laboratorio.

Uso previsto

Medio utilizado para aislar y enumerar las bacterias coliformes, en particular *Escherichia coli*, cuando se realizan pruebas de contaminación microbiana de productos de farmacopea no estériles (EP 2.6.13). El medio también puede utilizarse para detectar *Shigella* spp. (ISO 21567).

Principio

El principio del medio se basa en la capacidad de los coliformes de fermentar la lactosa, lo que produce colonias de color rojo ladrillo. Debido a la presencia de sales biliares y cristal violeta, este medio inhibe las bacterias Gram-positivas.

Composición teórica

Medio base

| | |
|---------------------|----------|
| Peptona | 20 g |
| Sales biliares | 1,5 g |
| Cloruro de sodio | 5 g |
| Lactosa | 10 g |
| Rojo neutro | 30 mg |
| Violeta de genciana | 1 mg |
| Agar | 15 g |
| Agua destilada | 1.000 ml |

pH final a 25 °C = 7,1 ± 0,2

Vida útil y almacenamiento

Almacenar listo para su uso a 2–8 °C. Almacenar el medio deshidratado a 15–25 °C en frascos bien cerrados en un lugar fresco y seco.

Materiales necesarios, pero no suministrados

Esta lista no es exhaustiva.

Equipos

- Todo el equipo habitual del laboratorio
- Incubadoras o sala de incubación
- Balanzas
- Agitador/homogeneizador
- Vórtex

Fungibles

- Frascos de Pyrex de 125 ml con tapones resistentes a la esterilización en autoclave
- Placas de Petri estériles (Ø = 90 mm)
- Pipetas estériles (1 ml, etc.)

Precauciones

- Deben respetarse las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 7218). Usar protección adecuada, como guantes y batas de laboratorio, cuando se trabaja con bacterias vivas potencialmente infecciosas
- Los medios que han estado en contacto con muestras de alimentos deben considerarse potencialmente contaminados y deben eliminarse de conformidad con las normas y reglamentos locales
- El lapso de tiempo entre el final de la preparación de la solución de reserva (o la dilución 10⁻¹ en el caso de un producto sólido) y el momento en que las diluciones entran en contacto con el medio de cultivo no debe superar los 15 min
- Visite bio-rad.com para obtener información de seguridad del producto (SDS) y certificados de análisis

Control de calidad

Todos los productos fabricados y comercializados por Bio-Rad están sujetos a un protocolo de garantía de calidad en todas las etapas, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos terminados. Cada lote de producto terminado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y sólo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y al control de calidad de cada lote se mantiene archivada.

Protocolo

Preparación del medio deshidratado

- Agitar el frasco antes de usar
- Disolver 51,5 g de polvo en 1 L de agua destilada estéril
- Calentar suavemente, agitando con frecuencia, y luego llevar a ebullición hasta obtener una suspensión homogénea
- Dispensar 100 ml por frasco y esterilizar en autoclave a $121 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 15 min
- Enfriar a $44\text{--}47^\circ\text{C}$ y verter en placas de Petri

Proporción de reconstitución: 51,5 g/L (con 500 g de polvo se obtienen 9,7 L de medio)

Preparación de la muestra y enriquecimiento

- Preparar y enriquecer la muestra según el método estándar aplicable al producto en cuestión

Inoculación e incubación

- Utilizar un asa estéril para esparcir el cultivo obtenido en una placa de agar MacConkey. Incubar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20–24 hr o siguiendo los protocolos adecuados

Lectura e interpretación

- Las "colonias positivas a lactosa" aparecen de color rojo ladrillo, a veces rodeadas de un halo opaco de sales biliares precipitadas
- Las "colonias negativas a lactosa" aparecen como colonias incoloras

Referencias

European Pharmacopeia (2019) 5.6. 2.6.13 Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms. 10th Ed.

ISO 7218:2007/AMD1:2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

US Pharmacopeia National Formulary 2021 Issue 1. <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.

Historial de revisiones

| Fecha de publicación | Número de documento | Cambio |
|----------------------|---------------------|--|
| Julio 2022 | 5094 Ver A | - Cambio significativo - Nuevo diseño del documento - Cambio en el número de documento — versión anterior: V4_05/08/11 |

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.