

## Agar Bilis y Rojo Violeta

### USO

Es un medio selectivo utilizado en la identificación y cuenta de coliformes presentes en el agua, leche y otros materiales de importancia sanitaria.

### EXPLICACIÓN

Este medio es utilizado para la detección, enumeración e identificación presuntiva de microorganismos coliformes. En este medio las colonias de coliformes presentan una morfología típica que permite su identificación presuntiva y que debe ser confirmada mediante reacciones bioquímicas.

El grupo de bacterias coliformes incluye bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos no esporulados, que fermentan la lactosa y forman ácido y gas a 35°C de 24 a 48 horas.

Los coliformes resisten la presencia de bilis en el medio de cultivo; cuando se desarrollan en este medio, el ácido producido por la fermentación de lactosa, ocasiona el vire del indicador rojo neutro y la precipitación de las sales biliares, por lo que las colonias son color rojo oscuro y generalmente están rodeadas de un halo de sales biliares precipitadas de color rojo claro a rosa, y la posibilidad de contar las colonias se fundamenta en su dispersión y separación.

En este medio, la peptona provee la fuente de carbono y nitrógeno necesaria para el desarrollo de los microorganismos. El extracto de levadura provee vitaminas del complejo B para estimular el crecimiento bacteriano. Las sales biliares y el cristal violeta actúan como inhibidores de microorganismos Gram positivos. La lactosa es la fuente de carbohidratos y el rojo neutro actúa como indicador para evidenciar el cambio de pH como consecuencia de la fermentación de la lactosa. El agar actúa como agente solidificante.

### FÓRMULA POR LITRO

|                          |         |                     |        |
|--------------------------|---------|---------------------|--------|
| Extracto de levadura     | 3.0 g   | Peptona de gelatina | 7.0 g  |
| Mezcla de sales biliares | 1.5 g   | Lactosa             | 10.0 g |
| Cloruro de sodio         | 5.0 g   | Rojo neutro         | 0.03 g |
| Cristal violeta          | 0.002 g | Agar bacteriológico | 15.0 g |
| pH 7.4 ± 0.2 a 25°C      |         |                     |        |

[www.mcd.com.mx](http://www.mcd.com.mx)

#### OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,  
Huertos y Granjas de Brenamiel,  
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.  
Teléfono: (951) 512 8792

#### ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,  
Barrio Santiaguito,  
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900  
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95

## PREPARACIÓN

### Método

Suspender 41.5 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. No sobrecalentar. Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C, vaciar en placas de Petri estériles y usar inmediatamente. También se puede esterilizar en autoclave a 118-121°C durante 15 minutos.

### Procedimiento

1. Seguir las recomendaciones apropiadas para la toma y procesamiento de las muestras.
2. Colocar una alícuota de 1.0 mL de la muestra en una placa de Petri estéril.
3. Adicionar 15 mL del medio enfriado a una temperatura de 45-50°C y mezclar suavemente.
4. Permitir que el medio solidifique y adicionar 4 mL del medio enfriado a una temperatura de 45-50°C.
5. Permitir que el medio solidifique e incubar a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 18 a 24 horas. Se recomienda la incubación a  $32^\circ\text{C}$  para muestras de productos lácteos.
6. Examinar las colonias de color rojo a púrpura, de 0.5 mm de diámetro (o más grande) rodeadas por un halo con precipitado de ácidos biliares.

## CARACTERÍSTICAS

El crecimiento color de la colonia y recuperación se resumen en la siguiente tabla:

| MICROORGANISMOS                                 | ATCC  | CRECIMIENTO | COLOR DE LA COLONIA | INOCULO cfu/mL  | % DE RECUPERACIÓN |
|-------------------------------------------------|-------|-------------|---------------------|-----------------|-------------------|
| <i>Escherichia coli</i>                         | 25922 | Bueno       | Rojo intenso        | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Salmonella enterica</i> serotipo Typhimurium | 14028 | Bueno       | Incoloras           | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>                   | 13048 | Bueno       | Rojo                | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                    | 29212 | inhibido    | Rosas, puntiformes  | $10^4$ - $10^6$ | $\leq 25\%$       |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                    | 25923 | inhibido    | -                   | $10^4$ - $10^6$ | -                 |

|                                               |                                                                                |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fermentadores de Lactosa</b>               | Colonias de color rojo con o sin zona de precipitado rojizo ( <i>E. coli</i> ) |
| <b>No fermentadores de Lactosa</b>            | Colonias incoloras                                                             |
| <b>Colonias rosas o incoloras puntiformes</b> | Gram positivos                                                                 |

[www.mcd.com.mx](http://www.mcd.com.mx)

### OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,  
Huertos y Granjas de Brenamiel,  
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.  
Teléfono: (951) 512 8792

### ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,  
Barrio Santiaguito,  
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900  
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95

## PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

| CAT. No | PRESENTACIÓN                                           | ALMACENAMIENTO |
|---------|--------------------------------------------------------|----------------|
| 7011    | Medio deshidratado Frasco con 450 g                    | 2-30°C         |
| 7012    | Medio deshidratado Frasco con 500 g                    | 2-30°C         |
| 7013    | Medio deshidratado Sobres                              | 2-30°C         |
| 7013C   | Medio deshidratado Sobres (Caja/20 sobres)             | 2-30°C         |
| 7017    | Medio deshidratado Cubeta con 5 Kg                     | 2-30°C         |
| 7017A   | Medio deshidratado Cubeta con 10 Kg                    | 2-30°C         |
| 7017D   | Medio deshidratado Cuñete con 25 Kg                    | 2-30°C         |
| 7017B   | Medio deshidratado Cuñete con 50 Kg                    | 2-30°C         |
| 7014    | Medio preparado en Placa (Pqte/10 placas)              | 2-8°C          |
| 7016    | Medio Semipreparado en Frasco (Caja/12 frascos 140 mL) | 2-8°C          |



## BIBLIOGRAFÍA

1. Marshall, R. T. (ed.). 1993. Standard methods for the examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
2. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed., AOAC International, Gaithersburg, MD.
4. Allaert, V.C. y Escolá, R.M. 2002 Métodos de análisis microbiológicos de alimentos. Ed. Díaz de Santos. Págs. 248.
5. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos: Suplemento para Dispositivos Médicos. 5a. Ed. -- México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2023.

**www.mcd.com.mx**

### OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,  
Huertos y Granjas de Brenamiel,  
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.  
Teléfono: (951) 512 8792

### ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,  
Barrio Santiaguito.  
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900  
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95