



**CHEMUNEX**  
The Rapid Microbiology Company



Distribuciones Industriales y Científicas S.L.

**REBECCA™**  
Rapid Enterobacteriaceae Escherichia Coli Coliform Agar

Uso *In vitro* Mantener entre  
2 & 8°C

Página 1/2



**MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA EL ANALISIS EN AGROALIMENTACION**

Validado por AFAQ AFNOR

www.afnor.fr Método

REBECCA™ base o REBECCA™ + EB

(Enumeración de *E. coli*) N° de certificado de

VALIDACION AFNOR :AES 10/06-01/08

Para comidas y comidas animales.

Final de validación : 17/01/2012

Método REBECCA™ + EB (Enumeración de Enterobacteria) N° de certificado de VALIDACION AFNOR N° AES 10/07-01/08

Para comidas y comidas animales.

Final de validación: 17/01/2012

**PRINCIPIO**

REBECCA™ es un medio cromogénico para la enumeración directa, sin confirmación, en los productos de consumo humano y animal además de en aguas de:

- > *E. coli* B- D-glucuronidasa positiva,
- > *E. coli* B- D-glucuronidasa positiva y de enterobacterias.
- > *E. coli* B- D-glucuronidasa positiva y de coliformes<sup>(2)</sup>,

La enumeración de *E. coli* se realiza mediante la detección de B- D-glucuronidasa que colorea las colonias en azul, con o sin halo azul.

El screening de las otras enterobacterias (no *E. coli*) se realiza añadiendo suplementos específicos a la base REBECCA™, que colorean las colonias de rosa a rojo.

El medio REBECCA™ CF<sup>(2)</sup> existe en frascos preparados para la enumeración tanto de *E. coli* como de coliformes.

Los coliformes que expresan B-D-galactosidasa se colorearán de rosa a púrpura debido a un sustrato cromogénico específico.

La mezcla de unos agentes selectivos inhiben el crecimiento de la demás flora.

*m<sup>2)</sup> no está en el marco del certificado de validación AFAQ AFNOR)*

**FORMULA (REBECCA base)**

En gramos por litro de agua pura	18,0
Peptonas & Extractos	0
Agentes selectivos	5,25
Sustrato cromogénico	0,25
Agar	
pH final: 7,3 + 0,2 a 25 °C	

**- Suplemento REBECCA™ Enterobacteriaceae (EB)**

Mezcla de agentes selectivos y sustratos cromogénicos.

**FORMULA REBECCA™ CF**

En gramos por litro de agua pura

Peptonas & Extractos	18,00
Agentes selectivos	5,25
Sustrato cromogénico	0,45
Agar	14,00
pH final: 7,3 + 0,2 a 25 °C	

**PREPARACION**

- **Medio deshidratado:** Ver indicaciones de la botella
- **Frascos preparados:**

Calentar el frasco REBECCA base a 100°C hasta que esté perfectamente líquido. Enfriar hasta 44-47°C.

**Aplicación 1 :** Enumeración de *E. coli* B- D-glucuronidasa positiva: No requiere suplemento.

**Aplicación 2:** Enumeración simultánea de *E. coli* B-D-glucuronidasa positiva y Enterobacteria (REBECCA™ suplemento EB):

Hidratar el medio con 6 ml de una solución agua/etanol (50/50) y pasar por vortex hasta que esté completamente disuelto. Añadir 1 ml del suplemento por cada frasco de 200ml.

Homogenizar delicadamente.

**Aplicación 3 :** Enumeración simultánea de *E. coli* B-D-glucuronidasa positiva y coliformes: (REBECCA™ CF): *No requiere suplemento.*

**PROCEDIMIENTO**

Cual sea la necesidad del medio REBECCA™, se pueden aplicar varias metodologías. En todos los casos, usar 1 placa por dilución:

a) En masa

1 ml de la muestra o su dilución decimal, en una sola capa, aprox. 15 ml ((090 mm placa)

b) En superficie:

- Extendiendo 0,1 ml de la muestra o dilución decimal.
- Por extensión en espiral automatizado.

c) Filtración por membrana (Agua no incluida en validación):

Tras filtrar la muestra, se transfiere la membrana (marca hacia arriba) sobre el agar. Para esto también se pueden usar placas de 55 mm. Incubar las placas 24 horas +2 horas a 37°C +1 °C.



**CHEMUNEX**  
The Rapid Microbiology Company

**REBECCA™**

Rapid Enterobacteria Escherichia Coli Coliform Agar

Uso *In vitro*

Almacenar entre 2 y 8°C

Página 2/2

En todos los casos, solo considerar aquellas placas que tengan menos de 150 colonias típicas. Referirse a la tabla de interpretación (Anexo 1) para el análisis.

*Nota* : Para el método de siembra en masa, si se sospecha una contaminación de la matriz por microorganismos que puedan invadir la superficie del agar, puede ser necesario, el uso de una segunda capa (aprox. 5ml) del mismo medio que haya sido mantenido al baño maría a 44-47°C.

### **MANTENIMIENTO & ALMACENAGE**

- Medio preparado (Fascos, suplemento & placas) se almacenan entre 2 & 8°C hasta caducidad.
- Las placas preparadas a partir de la base deshidratada o de los fascos preparados se pueden mantener durante 15 días entre 2-8°C.
- Los fascos preparados a partir de la base REBECCA™ deshidratada y REBECCA™ CF se pueden mantener 1 mes cuando se almacena entre 2-8°C.
- Una vez regenerado el suplemento EB, se puede mantener 24 horas entre 2-8°C, o 7 días si se congela (alícuotas). Los suplementos solo se pueden congelar/descongelar 1 vez.

### **LIMITES & PRECAUCIONES**

- Una vez regenerado el suplemento REBECCA™ EB, este puede mostrar un ligero precipitado que no tendrá consecuencias sobre la función del producto.
- Una vez licuado el frasco de la base REBECCA™ o REBECCA™ CF, se puede mantener al baño maría durante 7 horas entre 44-47°C antes de ser usado. Sobrellevan 2 ciclos de licuado.
- Lo ideal es que la base se suplemente antes del vertido, aún así es posible mantener el medio completo (base + suplemento) durante 2 horas entre 44-47°C. Un frasco REBECCA™ suplementado no puede sobrellevar el procedimiento de licuado (100°C).
- Existen varias cepas de *E. coli* p-D-glucuronidasa negativa, por ejemplo: *E.coli* O157.
- Algunas cepas, aparte de las *E. coli*, tienen una encima p-D-glucuronidasa, esto tendría como resultado el crecimiento de unas colonias azules, por ejemplo: *Salmonella* ...

### **BIBLIOGRAFIA**

- 1 - NF ISO 16649 -2 Méthode dénombrement glucuronidasa technique de Microbiologie des aliments horizontale pour le des *Escherichia coli* p-D-positif - partie 2 : comptage des colonies á 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl p-D-glucuronate. (2001).
- 2- NF ISO 21528-2 : Microbiologie des aliments Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae - Partie 2 : méthode par comptage des colonies (2004).
- 3- NF ISO 4832 : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des conformes - Méthode par comptage des colonies.(2006)

### **PRESENTACION**

#### **Medio preparado :**

#### **REBECCA™ Base:**

AEB620027 : Caja de 6 fascos - 200 ml

#### **REBECCA™ EB suplemento**

AEB184135 : vial para 1,2 L de REBECCA™ base

#### **REBECCA™ EB**

AEB520020 : Caja de 20 placas de 0 90mm

#### **REBECCA™ CF**

AEB620037: 6 Fascos de 200 ml

Fabricado por:

AES CHEMUNEX - Combours - Francia

620027: 17/01/08- A



Almería	Cordoba	Granada	Jaen	Malaga	Sevilla
902.10 43 07	902.10 43 07	902.10 43 07	902.10 43 07	902.10 43 07	902.10 43 07
Fax 950 55 34 34	Fax 957 32 25 49	Fax 958 13 34 97	Fax 953 75 83 83	Fax 952 35 63 60	Fax 954 92 17 37
<a href="mailto:Ventas@dicsa.es">Ventas@dicsa.es</a>	<a href="mailto:cordoba@dicsa.es">cordoba@dicsa.es</a>	<a href="mailto:granada@dicsa.es">granada@dicsa.es</a>	<a href="mailto:jaen@dicsa.es">jaen@dicsa.es</a>	<a href="mailto:malaga@dicsa.es">malaga@dicsa.es</a>	<a href="mailto:sevilla@dicsa.es">sevilla@dicsa.es</a>