

## Especificación

Medio recomendado para la colimetría de aguas por filtración, según la norma ISO 9308-1:2000.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
20 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de celofán.	3 meses	2-14 °C

## Composición

Composición (g/l):

Peptona de carne.....	10,000
Extracto de carne.....	5,000
Lactosa.....	20,000
Extracto de levadura.....	6,000
Azul de bromotimol.....	0,050
Tergitol® 7.....	0,100
Agar.....	15,000
Solución estéril de TTC.....	2,5ml

## Descripción/Técnica

### Descripción:

La formulación de este medio se ajusta a la norma ISO 9308-1:2000 para el control presuntivo de coliformes en aguas de consumo por la técnica de filtración a través de membrana.

### Técnica:

Al utilizar el método de filtración para el ensayo presuntivo de colimetría en agua, hay que tener en cuenta los volúmenes mínimos a filtrar según el tipo de agua y, si es preciso, diluirlos con tampón fosfato estéril para obtener números de colonias fáciles de contar sobre la membrana.

De cada muestra de agua deben filtrarse dos volúmenes sobre membranas diferentes e incubarlos sobre el medio Chapman TTC a 35°C y 44°C respectivamente.

A las 48 horas las colonias típicas presentan el siguiente aspecto:

- *E. coli* / *Citrobacter spp.*: Amarillas, con núcleo anaranjado en el medio, situado bajo la membrana.
- *Klebsiella spp.*: Rojo ladrillo o amarillas, pero sin núcleo. El medio bajo la membrana es amarillo.
- *Enterobacter spp.*: Amarillo oscuro o rojo ladrillo con núcleo anaranjado. El medio también queda amarillo.
- No fermentadoras de lactosa: Colonias violáceas o índigo. El medio queda azulado.

La mayoría de coliformes no pueden desarrollarse sobre éste medio cuando se incuba a 44°C, excepto *E. coli* que presenta un aspecto característico.

La expresión de resultados se refiere siempre a 100 mL de muestra, teniendo en cuenta las diluciones efectuadas. La estima se hace tomando las colonias típicas crecidas a 35°C. como coliformes fecales y las crecidas a 44°C. como *E. coli*. Sin embargo y a pesar de la buena selectividad del medio, de acuerdo a la normalización establecida, estos resultados sólo deben tomarse como presuntivos y deberán confirmarse todas las colonias de coliformes de acuerdo a los siguientes criterios:

Aspecto típico en EMB Agar, o en medio A. Endo; reacciones características en medio Kligler y en definitiva para la confirmación de *E. coli* fecal, la verificación de ser un bacilo Gram negativo móvil, fermentador de la lactosa, con producción de ácido y gas que da negativas las pruebas de citrato y producción de indol.

Según muestra, normativa, metodología,.....puede precisarse preparar dos series de filtraciones de la muestra, para poder incubar a varias temperaturas.

Proceder al recuento de todas las colonias, que hayan prosperado en la superficie de la membrana. La fermentación de la lactosa se pone de manifiesto por el viraje del indicador, por lo que las lactosa positivas se presentan con un halo amarillo. Las colonias capaces de reducir el TTC adquieren un colour rojo ladrillo, caso de los coliformes a excepción de *E. coli* que es amarilla con o sin centro naranja.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Verde

pH: 7,2 ± 0,1 a 25°C

### Control de Fertilidad

Filtración con membrana /rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad) /10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC (selectividad)/ ≥10<sup>3</sup> UFC (especificidad)

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 36 ± 2 °C, lecturas 21±3 h

#### Microorganismo

*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013

*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012

*Citrobacter freundii* ATCC® 43864, WDCM 00006

*Enterococcus faecalis* ATCC® 19433, WDCM 00009

*Ps. aeruginosa* ATCC® 9027, WDCM 00026

*Escherichia coli* ATCC® 11775, WDCM 00090

*E. coli* NCTC® 13167, WDCM 00179

#### Desarrollo

Bueno (≥ 50%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

Bueno (≥ 50%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

Bueno (≥ 50%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

Inhibición parcial

Bueno - Colonias rojas con centro azul.

Bueno (≥ 50%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

Bueno (≥ 50%) Colonias amarillo-naranja debajo MF.

### Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

## Bibliografía

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- CHAPMAN G.H. (1951) A culture medium for detecting and confirming *E. coli* in ten hours. Am. J. Publ. Hlth 41:1381-1386.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3<sup>rd</sup> ed. APHA.Washington.
- GUINEA, SANCHO,PARES (1979) Análisis Microbiológico de Aguas. Ed. Omega. Barcelona.
- ISO 9308-1:2000 Standard. Water Quality - Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method.
- SPECK, M (Ed.) (1982) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2<sup>nd</sup> ed. APHA.Washington.