

## Especificación

Medio sólido para la enumeración de microorganismos del agua de acuerdo a la Normas ISO.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botella 125 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón plástico con rosca. No se recomienda la utilización de jeringas con agujas de diámetro superior a 0,8 mm.	16 meses	8-25 °C

## Composición

Composición (g/l):	
Extracto de levadura.....	3,00
Tryptona.....	6,00
Agar.....	15,0

## Descripción/Técnica

### Descripción:

La formulación de este medio de cultivo se ajusta a la prescrita en las normativas ISO 6222 y otras, para la enumeración de microorganismos heterotróficos en aguas de consumo.

Medio conocido como "Tryptone Yeast Extract Agar" y "Plate Count Agar Aguas".

### Técnica:

Fundir el medio contenido en las botellas en un baño de agua (aprox. 100 °C) o en el microondas, evitando sobrecalentamiento, verter en placas de Petri cuando esté a temperatura ambiente.

A partir de la muestra de agua, obtenida de acuerdo a la Norma ISO 5667-2 y 5667-3, se realiza un banco de diluciones (ver Norma ISO 6887) con Solución Ringer 1/4. A partir de él, se inoculan alícuotas de las diluciones en dos series paralelas de placas. Sobre ellas se vierte el medio fundido y enfriado a 45°C y se homogeniza con el inóculo (ver Norma ISO 8199). Una vez solidificado el medio, se incuba una serie de placas a 36 ± 2°C durante 48 ± 2 horas y la otra a 22°C durante 3 días (72 ± 4 horas).

Para la enumeración se recomienda escoger las placas que contengan entre 30 y 300 colonias. Los resultados se expresan como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) de muestra para cada una de las temperaturas de incubación. Si no hay colonias en la muestra sin diluir los resultados se expresan como "no detectadas en un mL". Si en la dilución más alta aparecen más de 300 los resultados se expresan como ">300 UFC/mL".

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Amarillento

pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

### Control de Fertilidad

Fusión - Preparación Placas - Sembrar en espiral rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad)

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

Aerobiosis. Incubación a 36 ± 2 °C, lectura a las 44±4 h

Medio de referencia : YEA (validado). Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/A1:2018

#### **Microorganismo**

*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013

*Ps. aeruginosa* ATCC® 27853, WDCM 00025

*Bacillus subtilis* ATCC® 6633, WDCM 00003

*Stph. aureus* ATCC® 25923, WDCM 00034

*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012

#### **Desarrollo**

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

### 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

- ISO Standard 6222 Water Quality - Enumeration of cultivable microorganisms. Colony count by inoculation in a nutrient agar culture.
- ISO Standard 5667-2 (1991) Water Quality - Sampling - Guidance on sampling techniques.
- ISO Standard 5667-3 (1996) Water Quality - Sampling - Guidance on the preservation and handling of samples.
- ISO Standard 6887 (1999) Microbiology - General - Guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination.
- ISO Standard 8199 (1988) Water Quality - General guide to the enumeration of microorganisms by culture.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.