



Llame al +1.800.234.5333 para hacer un pedido o visite NEOGEN.com

Caldo MI, 2 mL

Número de producto: 6510



Uso previsto

El caldo MI, 2 mL, se usa para la detección de coliformes totales y *E. coli* en análisis de agua mediante el método de filtración por membrana.

Resumen del producto

El caldo MI es un medio preparado, listo para usar, para el análisis mediante filtración por membrana, que se usa para la detección de coliformes totales y *E. coli*, siguiendo el método aprobado para agua potable de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US Environmental Protection Agency, EPA).¹ En este método analítico se delinea un medio sensible y diferencial para filtro de membrana que permite la detección simultánea y la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en muestras de agua en 24 horas o menos, según la actividad enzimática. Los coliformes totales comprenden especies que están presentes en el intestino de los animales de sangre caliente o existen naturalmente en la tierra, la vegetación y el agua. Habitualmente se encuentran en agua contaminada con materias fecales, y a menudo tienen relación con brotes de enfermedades. El análisis de coliformes totales es el principal indicador de la calidad bacteriológica del agua potable, el agua de la red de distribución y los suministros públicos de agua, debido a que es un indicador de contaminación más amplio que el análisis de coliformes fecales.^{2,3}

Este método EPA (1604)1 se usa principalmente en laboratorios de análisis de agua potable certificados para el análisis microbiológico del agua potable. Las colonias bacterianas que crecen en la placa se examinan para verificar si presentan color azul, generado por la degradación del indoxil-beta-d-glucuronido, sal de ciclohexilamonio (IBDG) por la enzima β -glucuronidasa de *E. coli*, y fluorescencia a la luz ultravioleta de onda larga (366 nm) por la degradación del 4-metilumbeliferil-beta-d-galactopiranosido (MUGal) por la enzima β -galactosidasa de los coliformes totales.¹

Principios del procedimiento

El hidrolizado enzimático de tejido animal es la fuente de nitrógeno en el caldo MI. El extracto de levadura aporta vitaminas y la lactosa es la fuente de energía de carbono. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio, mientras que los fosfatos de potasio se usan como amortiguadores. El lauril sulfato de sodio y el desoxicolato de sodio son agentes selectivos que se usan para inhibir bacterias no coliformes y microorganismos grampositivos. Los dos

Composición del medio

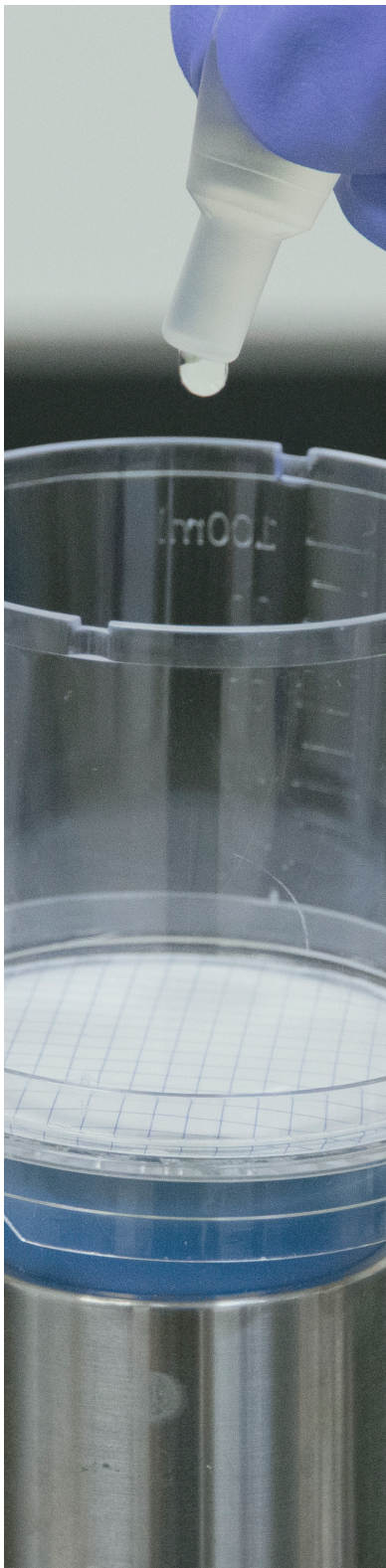
Hidrolizado enzimático de tejido animal	5.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
Lactosa	1.0 g
Cloruro de sodio	7.5 g
Fosfato de potasio, monobásico	1.0 g
Fosfato de potasio, dibásico	3.3 g
Lauril sulfato de sodio	0.2 g
Desoxicolato de sodio	0.1 g
IBDG	0.32 g
MUGal	0.1 g
Cefsulodina	0.005 g

La fórmula se puede adaptar o complementar según sea necesario para ajustarse a las especificaciones con respecto a los resultados.

Características físicas

Aspecto del medio: Insignificante a un poco turbio, ámbar claro
pH a 25°C: 7.05 ± 0.2





sustratos enzimáticos son el 4-metilumbeliferil- β -d-galactopiranosido (MUG, fluorógeno) y el indoxil- β -d-glucurónido (cromógeno), que se utilizan para la detección de las enzimas β -galactosidasa y β -glucuronidasa en los análisis de coliformes totales y *E. coli*, respectivamente. *E. coli* produce la enzima glucuronidasa que hidroliza el MUG y genera un producto fluorogénico que se puede detectar a la luz ultravioleta de onda larga (366 nm).

Método analítico

Preparación

1. Monte el colector o el matraz de filtración que aportará la fuente de vacío, incluido el tapón de goma.
2. Mediante un movimiento giratorio suave, fije con firmeza el adaptador del embudo en el tapón.
3. Con el mismo movimiento giratorio suave, fije con firmeza el filtro NEOGEN en el adaptador del embudo.

Procedimiento de filtración

1. Retire la tapa del sistema de filtración y vierta con cuidado la muestra en el filtro.
2. Aplique vacío solo el tiempo suficiente para succionar la muestra a través del filtro. (Si usa un colector, abra solo una válvula a la vez).
3. Enjuague las paredes internas del embudo de filtración con aproximadamente 20 mL de solución amortiguadora estéril. Aplique vacío solo el tiempo suficiente para succionar la solución a través del filtro y apague la bomba de vacío. Nota: este paso es opcional si solo se analiza agua.
4. Levante brevemente el filtro y su adaptador del embudo del tapón para liberar la presión de vacío que pudiera quedar, y después vuelva a fijarlo con firmeza en el tapón.
5. Agregue el caldo m-MI en la parte de arriba del filtro. Al hacerlo, tenga cuidado de no tocar el filtro con la punta de la ampolla.
6. Aplique vacío muy brevemente para que el medio de cultivo no se acumule en la parte de arriba del filtro y se vea por debajo de este. (Nota: el filtro se impregnó correctamente de medio de cultivo si hay una pequeña bolsa de aire alrededor del puerto inferior. El filtro debe estar húmedo pero no demasiado saturado ni seco).
7. Retire y deseche adecuadamente el embudo de plástico. Coloque la tapa del sistema de filtración sobre el conjunto de filtro/base para convertir la unidad en una placa de Petri para proceder a la incubación de la muestra.
8. Retire el filtro del adaptador del embudo y coloque un tapón en el puerto inferior abierto.
9. Coloque la placa de filtración invertida en la estufa de incubación, de modo que la tapa quede hacia abajo e incube a 35 ± 2 °C. Anote los resultados después de 18-24 horas.
10. Deseche los materiales de la prueba conforme a todas las normas locales, estatales y federales vigentes.



Llame al +1.800.234.5333 para hacer un pedido o visite NEOGEN.com

Respuesta prevista de los cultivos

Se agregó agua estéril a las unidades de filtración estériles y se inocularon con los cultivos que se indican más abajo. Se filtró el inóculo, seguido del caldo MI en ampollas y se retiró el sistema de filtración. Las placas se incubaron aeróbicamente a 35 ± 2 °C y se examinó el crecimiento a las 18-24 horas.

Microorganisms	Approx. Inoculum (CFU)	Growth (Chromagen)	Fluorescence (MUG)
Microorganismos	Inóculo aprox. (UFC)	Crecimiento (Cromógeno)	Fluorescencia (MUG)
<i>Medio de cultivo no inoculado</i>	N/C	Sin crecimiento	N/C
<i>Aeromonas hydrophila</i> — ATCC 7966	10–300	Inhibición parcial a total	Negativo
<i>Citrobacter freundii</i> — ATCC 8090	10–300	Recuperación ≥ 85 %, colonias blancas a transparentes	Positivo
<i>Enterobacter aerogenes</i> — ATCC 13048	10–300	Recuperación ≥ 85 %, colonias amarillas a transparentes	Positivo
<i>Enterococcus faecalis</i> — ATCC 29212	10–300	Inhibición parcial a total	Negativo
<i>Escherichia coli</i> — ATCC 25922	10–300	Recuperación ≥ 85 %, colonias azules	Positivo
<i>Escherichia coli</i> — ATCC 11775	10–300	Recuperación ≥ 85 %, colonias azules	Positivo
<i>Klebsiella pneumonia</i> — ATCC 13883	10–300	Recuperación ≥ 85 %, colonias amarillas a transparentes	Positivo
<i>Proteus mirabilis</i> — ATCC 12453	10–300	Inhibición parcial a total	Negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> — ATCC 10145	10–300	Inhibición parcial a total	Negativo

Resultados

En este método, los coliformes totales son las bacterias que producen colonias fluorescentes al exponerlas a la luz ultravioleta de onda larga y al cultivo primario en el caldo MI. Las colonias fluorescentes pueden ser totalmente de color blanco/azul (coliformes totales que no sean *E. coli*) o azul/verde (*E. coli*), o se pueden observar halos fluorescentes alrededor de los bordes de las colonias de *E. coli* de color azul/verde. Además, al recuento total se agregan colonias azules no fluorescentes, que aparecen con poca frecuencia, debido a que el color azul generado por la degradación del IBDG oculta la fluorescencia.

Recuento de *E. coli*: Cuento todas las colonias de color azul en cada placa de MI a la luz normal/ambiental; anote los resultados. Este es el recuento de *E. coli*. Nota: los resultados positivos que aparecen en menos de 24 horas son válidos, pero los resultados no se pueden documentar como negativos hasta que finalice el período de incubación de 24 horas.

Recuento de coliformes totales: Exponga cada placa de MI a la luz ultravioleta de onda larga (366 nm); cuente todas las colonias fluorescentes.

E. coli = colonias fluorescentes de color azul/verde o fluorescentes de color azul/verde con bordes fluorescentes.

Coliformes totales (que no sean *E. coli*): Las colonias fluorescentes de color azul/blanco, o las colonias no fluorescentes de color azul se consideran coliformes totales. Estas colonias se deben agregar al recuento de coliformes totales.

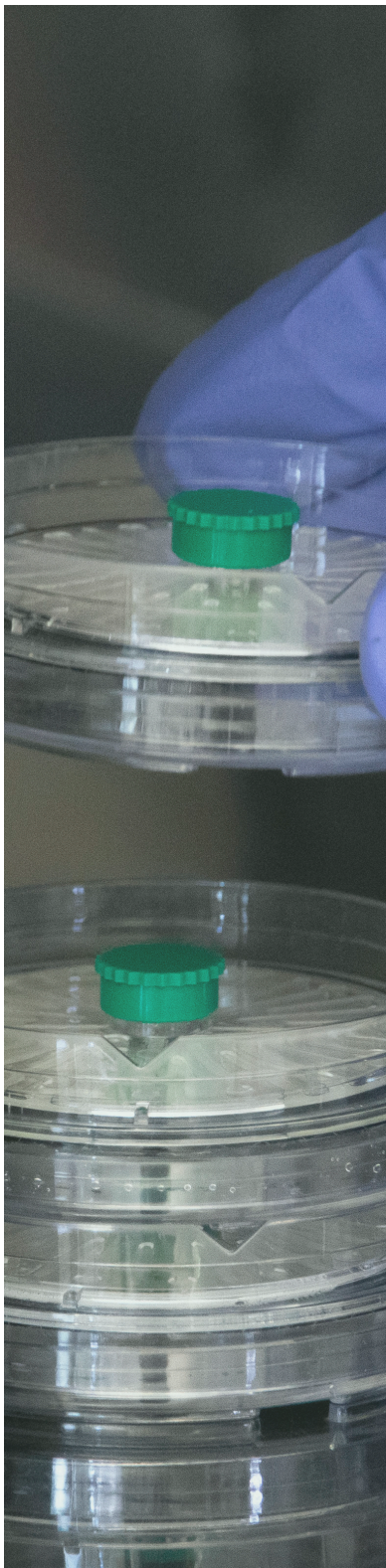
Almacenamiento: Conserve el caldo MI en ampollas, 2 mL, a 2-8 °C.

Vencimiento: Consulte la fecha de vencimiento impresa en la parte de adelante del envase.





Llame al +1.800.234.5333 para hacer un pedido o visite NEOGEN.com



Limitaciones del procedimiento

1. Analice la muestra lo antes posible después de la recolección.
2. Las muestras que contengan partículas coloidales o en suspensión pueden obstruir el filtro de membrana, y por consiguiente impedir la filtración, o causar la diseminación de colonias bacterianas que podrían interferir con la identificación de las colonias.
3. Las colonias azules diminutas, planas o puntiagudas puntiformes pueden corresponder a otras especies distintas de *E. coli*. Estas colonias aparecen algunas veces en poca cantidad, y se deben excluir del recuento de colonias de *E. coli*, que son mucho más grandes (1-3 mm de diámetro).
4. Las colonias de color verde brillante, fluorescentes, que no son azules y se observan junto con las colonias típicas de coliformes totales fluorescentes de color azul/blanco o azul/verde pueden ser especies que no pertenezcan al grupo de los coliformes. Estas colonias, que en general aparecen en poca cantidad, habitualmente se pueden distinguir de las colonias de coliformes totales.

Artículos de NEOGEN		
6510	Caldo MI, 2 mL	Caja de 50
6550	Filtro NEOGEN — Blanco	Caja de 50

Referencias

1. U. S. Environmental Protection Agency. 2002. Method 1604: Total coliforms and *Escherichia coli* in water by membrane filtration using a simultaneous detection technique (MI Medium). EPA- 821-R-02-024. Office of Water. Washington DC, 20460.
2. U. S. Environmental Protection Agency. 2007. R9 Laboratory SOP1101. Membrane filtration coliform analysis.
3. U. S. Environmental Protection Agency. 1992. Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water. EPA-814B-92-002. Office of Ground Water and Technical Support Division, U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.

