



# Caldo m-*E. coli*/Coliformes en ampolla, 2 mL

Número de producto: 6511

## Uso previsto

El Caldo m-*E. coli*/Coliformes en ampollas, 2 mL, se usa para la detección de coliformes totales y *E. coli* en análisis de agua mediante el método de filtración por membrana en el laboratorio. No está destinado al uso en el diagnóstico de enfermedades ni otras afecciones en seres humanos.

## Resumen y explicación del producto

El Caldo m-*E. coli*/Coliformes en ampollas, 2 mL, es un medio preparado, listo para usar para análisis mediante filtración por membrana para la detección de coliformes totales y *E. coli*. En este método analítico se expone un medio para filtro de membrana sensible y diferencial que permite la detección simultánea y la enumeración de coliformes totales y *E. coli* en muestras de agua en 24 horas o menos.

Los coliformes totales comprenden especies que existen naturalmente en el suelo, el agua y la vegetación, pero que también proliferan en el intestino de animales de sangre caliente. A menudo están vinculados a brotes epidémicos de enfermedades. *E. coli* es una especie que pertenece al grupo de los coliformes que habitualmente no se autopropaga fuera del intestino de los seres humanos y otros animales. Por esa razón, se puede usar como indicador principal de una infracción del sistema y la posible contaminación con coliformes fecales y microorganismos patógenos.

## Principios del procedimiento

La fuente de nitrógeno en el Caldo m-*E. coli*/Coliformes es el hidrolizado enzimático de tejido animal. El extracto de levadura aporta vitaminas y el D-Sorbitol es la fuente de energía de carbono. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio mientras que los fosfatos de sodio se usan como amortiguadores. El tensioactivo es el agente selectivo que inhibe a las bacterias no coliformes y a los microorganismos grampositivos. Las enzimas  $\beta$ -glucuronidasa y  $\beta$ -galactosidasa actúan sobre la mezcla cromógena que permite la detección simultánea de coliformes totales y *E. coli*. Los coliformes totales producen la enzima galactosidasa, que genera colonias de color rosa a violáceo. *E. coli* produce glucuronidasa, que hidroliza el cromógeno para que se generen colonias azules.

## Composición del medio

	Por litro
Hidrolizado enzimático de caseína	1.0 g
Extracto de levadura	2.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Fosfato monosódico dihidratado	2.2 g
Fosfato disódico anhidro	2.7 g
Piruvato de sodio	1.0 g
D-Sorbitol	1.0 g
L-Triptófano	1.0 g
Etoxilato de alcohol secundario como tensioactivo	0.15 g
Mezcla cromógena	0.65 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:	Transparente, de color ámbar claro, sin precipitado
pH a 25 °C:	6.80 ± 0.2



## Método analítico

### Preparación

1. Monte el colector o el matraz de filtración que aportará la fuente de vacío, incluido el tapón de goma.
2. Esterilice adecuadamente el colector, los tapones de goma y los adaptadores de plástico. Desinfecte los tapones de goma y los adaptadores de plástico sumergiéndolos en solución de hipoclorito sódico al 10 % durante 10 a 15 minutos, después enjuague con agua estéril.
3. Mediante un movimiento giratorio suave, fije con firmeza el adaptador del embudo en el tapón de goma.
4. 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 de goma para liberar la presión de vacío que pudiera quedar, y después vuelva a fijarlo con firmeza en el tapón.
5. Agregue el Caldo m-*E. coli*/Coliformes en la parte superior 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 superior 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 (tenga cuidado de no tocar el puerto inferior del monitor con las manos ni los guantes para evitar la posible contaminación).
9. Coloque la placa de filtración invertida en la estufa de incubación, de modo que la tapa quede hacia abajo e incube a  $36 \pm 2$  °C. Lea y anote los resultados después de 21-24 horas.
10. Deseche los materiales de la prueba conforme a todas las normas locales, estatales y federales vigentes.

### Respuesta prevista de los cultivos

Se agregó agua estéril a las unidades de filtración estériles y se inocularon los cultivos que se indican más abajo. Se filtró el inóculo, seguido del Caldo m-*E. coli*/Coliformes en ampollas y se retiró el sistema de filtración. Las placas se incubaron aeróbicamente a  $36 \pm 2$  °C y se examinaron para determinar si hubo crecimiento a las 21-24 horas. La incubación se prolonga hasta las 24 horas si las reacciones de color se demoran.



Microorganismo	Inóculo aprox. (UFC)	Resultados esperados	
		Recuperación	Reacción
Medio de cultivo no inoculado	NC	Sin crecimiento	N/C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	~10-100	Recuperación ≥85 %	Colonias de color azul a azul oscuro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	~10-100	Recuperación ≥85 %	Colonias de color azul a azul oscuro
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	~10-100	Recuperación ≥85 %	Colonias de color rosa a rosa violáceo
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	~10-100	Recuperación ≥85 %	Colonias de color rosa a rosa violáceo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	~1000	Inhibición parcial a total	Colonias de color amarillo, si se recuperan
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	~10000	Inhibición completa	N/C

## Resultados

Después de la incubación, se deben observar los filtros a la luz ambiental para comprobar el desarrollo de colonias bacterianas. Las colonias de *E. coli* aparecerán como colonias de color azul a azul oscuro y otros coliformes se verán como colonias de color rosa a rosa violáceo claro. Informe/ tome nota de los recuentos de la siguiente manera:

### Recuento de *E. coli*

Cuente todas las colonias de color azul a azul oscuro en cada placa de m-*E. coli*/Coliformes a la luz normal/ambiental; anote los resultados. Este es el recuento de *E. coli*. Nota: los resultados 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 total de coliformes

Cuente todas las colonias de *E. coli* y otros coliformes en cada placa de m-*E. coli*/Coliformes a la luz ambiental; anote los resultados. Este es el recuento de coliformes totales. Nota: los resultados 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.

***E. coli*** = color azul a azul oscuro

**Coliformes** (que no sean *E. coli*) = color rosa/rosa violáceo claro

### Conservación

Conserve el Caldo m-*E. coli*/Coliformes en ampollas, 2 mL, a 2-8 °C protegido de la luz.

### Vencimiento

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



### 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. Para obtener mejores resultados al analizar jarabe o bebidas (que no sean agua), asegúrese de volver a enjuagar la unidad de filtro con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) (después de filtrar la muestra de jarabe o bebida) y filtrar la solución amortiguadora.
4. Algunas especies que no son el objetivo pueden presentar un color rojizo si se incuban más de 24 horas; este color no es indicativo de coliformes.
5. Las placas que se pueden contar tienen <300 UFC. Si una muestra presenta mucho crecimiento, los resultados se pueden ver afectados debido a la disponibilidad limitada del medio de cultivo y los componentes selectivos. Se deben hacer diluciones y volver a analizar la muestra.

### Presentación

<b>Caldo m-<i>E. coli</i>/Coliformes, 2 mL</b>	<b>Código n.º 6511</b>	<b>Caja de 50</b>
Filtro NEOGEN “Blanco”	Código n.º 6550	Caja de 50

### Referencias

**U. S. Environmental Protection Agency.** 2007. R9 Laboratory SOP1101. Membrane filtration coliform analysis.

**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.

### Información técnica

Comuníquese con NEOGEN Corporation para obtener servicio técnico o si tiene preguntas sobre los medios de cultivo en ampollas al +1 (517) 37 29 200 o +1 (800) 23 45 333, o envíenos un fax al +1 (517) 37 22 006.

