



Coliformes. Detección y Recuento por NMP

ISO 4831:2016 (Revisada y confirmada en 2021)

DETECCIÓN

Preparación de las muestras según su tipo según ISO 6887, ISO 8261

Dependiendo del límite de detección, X ml de muestra líquida o X ml de la suspensión inicial de otros productos

- Se añaden a 10 ml de medio de enriquecimiento de concentración doble cuando $1 \text{ ml} < X < 10 \text{ ml}$.
- O se añaden a 10 ml de medio de enriquecimiento de *concentración sencilla con campana Durham*, cuando $X \leq 1 \text{ ml}$.

CM0451B Lauryl Sulphate Tryptose Broth 500 g

Incubar ambos tubos de 30 a 37°C durante 24 h ± 2 h.

Si en el tubo de concentración sencilla no aparece gas ni opacidad, continuar la incubación de 30 a 37°C durante otras 24 h ± 2 h.

CONFIRMACIÓN

- Del tubo de concentración doble, inocular con un asa un tubo del medio de confirmación.
- Del tubo de concentración sencilla, cuando se observe producción de gas, u opacidad previa a la producción de gas, inocular con un asa un tubo del medio de confirmación:

CM0031B Brilliant Green Bile Bile (2%) Broth. 500 g
TV5009E Brilliant Green Bile Bile (2%) Broth con campana Durham. 50 tubos.

Incubar ambos tubos de 30 a 37°C durante 24 h ± 2 h. Si no se observa gas incubar otras 24 h ± 2 h.

Se consideran positivos los tubos con formación de gas tras las incubaciones.

ENUMERACIÓN POR NMP

Preparación de las muestras según su tipo según ISO 6887, ISO 8261. Preparar las suficientes diluciones para que la última de un resultado negativo.

- Añadir 10 ml de muestra líquida o 10 ml de la suspensión inicial a cada uno de tres tubos de concentración doble del medio de enriquecimiento selectivo.
- Añadir 1 ml de muestra líquida o 1 ml de la suspensión inicial a cada uno de tres tubos de concentración sencilla del medio de enriquecimiento selectivo *con campana Durham*.

Repetir este paso desde las restantes diluciones sucesivas.

CM0451B Lauryl Sulphate Tryptose Broth 500 g

Incubar todos los tubos de 30 a 37°C durante 24 h ± 2 h.

Si en los tubos de concentración sencilla no aparece gas ni opacidad, continuar la incubación de 30 a 37°C durante otras 24 h ± 2 h.

CONFIRMACIÓN

- De cada uno de los tubos de concentración doble, inocular con un asa un tubo del medio de confirmación.
- De los tubos de concentración sencilla, cuando se observe producción de gas, u opacidad previa a la producción de gas, inocular con un asa un tubo del medio de confirmación:

CM0031B Brilliant Green Bile Bile (2%) Broth. 500 g
TV5009E Brilliant Green Bile Bile (2%) Broth con campana Durham. 50 tubos.

Incubar ambos tubos de 30 a 37°C durante 24 h ± 2 h. Si no se observa gas incubar otras 24 h ± 2 h.

INTERPRETACIÓN

Para cada dilución, contar el número total de tubos donde se haya observado formación de gas tras la incubación. Según los resultados, se indica la presencia o ausencia de coliformes en X g o en X ml de producto. Calcular el NMP con los tubos positivos de cada dilución según la ISO 7218

