



E. coli ISO 16649-1:2019 Conf. 2023

ISO 16649-2:2011 Conf. 2019, ISO 16649-3:2015 Conf. 2020

RECUESTO ISO 16649-2:2011

Inoculación

Mediante una pipeta, transferir a placas petri vacías y estériles 1 mL de la muestra (si es líquida) o 1 mL de la dilución inicial (10^{-1}) en el caso de otros productos.

Inocular dos placas por dilución.

Añadir a cada placa petri, 15 mL (aprox.) de medio TBX previamente enfriado en baño de agua a $44^{\circ}\text{C} - 47^{\circ}\text{C}$

CM0945 A TBX Agar (500g)
BO0194M TBX Agar (10 x 100 mL, en frascos de 125 mL)

Incubar las placas a 44°C durante 18 h – 24 h

Recuento

Contar las ufc de las colonias típicas de E. coli β -glucuronidasa positivas, en aquellas placas con < de 150 colonias típicas.

FILTRACIÓN CON MEMBRANA ISO 16649-1:2019

Preparar diluciones decimales de la muestra si el producto es líquido, o de la suspensión inicial (dilución 10^{-1}), en el caso de otros productos

Resucitación

Colocar las membranas asépticamente sobre la superficie de las placas de **MMGM base (CM0607G):**

CM0607G Minerals Modified Glutamate Medium Base (500 g) + Sodium Glutamate (300 g)

Añadir 1 mL de la suspensión inicial de la muestra al centro de cada membrana y extender. Si solo se utiliza la dilución inicial, preparar placas por duplicado. Repetir este paso con las siguientes diluciones

Dejar las placas a T° ambiente durante 15 minutos y después incubar a 37°C durante 4 h \pm 0,25 h

Transferencia al medio selectivo

Mediante pinzas estériles, transferir las membranas desde el MMGM base a placas de TBX Agar **PO5109A TBX Agar (20 placas)**

Incubar las placas durante 20 h – 24 h, a 44°C (pero no más de 45°C)

Contar las ufc de las colonias típicas de E. coli β -glucuronidasa positivas, en aquellas placas con < de 150 colonias típicas y < de 300 cfu (típicas y no típicas)

NÚMERO MAS PROBABLE ISO 16649-3:2015

Enriquecimiento

A cada uno de tres tubos con 10 mL del Medio de Enriquecimiento Selectivo de doble concentración, añadir 10 mL de la muestra (si es líquida) o 10 mL de la suspensión inicial (en el caso de otros productos)

BO0542E Minerals Modified Glutamate. Doble concentración (Con tubo Durham) (24 x 10 mL).

A cada uno de tres tubos con 10 mL del Medio de Enriquecimiento Selectivo de concentración sencilla añadir 1 mL de la muestra (si es líquida) o 1 mL de la suspensión inicial (en el caso de otros productos)

BO0541E Minerals Modified Glutamate. Concentración sencilla (Con tubo Durham) (24 x 10 mL).

Además:

De cada una de las demás diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} etc...

Añadir 1 mL de la muestra a cada uno de tres tubos con 10 mL del Medio de Enriquecimiento Selectivo de concentración sencilla

Incubar los tubos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h \pm 2 h

Subcultivo

De cada tubo con coloración amarilla (presencia de ácido), subcultivar -con asa de siembra- en placas de TBX para obtener colonias individuales.

CM0945 A TBX Agar (500g)
PO5109A TBX Agar (20 placas)

Incubar las placas a $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 21 \pm 3 h

Examen de las placas:

Buscar colonias con coloración típica azul (o azul-verdosa).

Considerar como positivos aquellos tubos de concentración doble, o sencilla que tras su incubación y resiembra producen colonias azules en las placas del medio selectivo.

CEPAS CULTI-LOOPS

- R4607085 E. Coli ATCC 8739 (WDCM 00012)
- R4607050 E. coli ATCC 25922 (WDCM 00013)
- R4601990 E. faecalis ATCC 19433 (WDCM 00009)
- R4607030 E. faecalis ATCC 29212 (WDCM 00087)
- R4607060 P. aeruginosa ATCC 27583 (WDCM 00025)