



E. coli ISO 16649-1:2019

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

RECuento 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 $4\text{ h} \pm 0,25\text{ h}$

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 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$

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 $21 \pm 3\text{ h}$

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)