

	Producción Agua Potable DETERMINACION COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI EN AGUA CRUDA	Código: MI2-IN-025
		Versión No: 001

1. OBJETIVO

Establecer las instrucciones para realizar el ensayo de Coliformes Totales y Escherichia Coli para agua cruda, utilizando el método MPNplate.

2. DESCRIPCION DE ACTIVIDADES

El método utilizando medio Colitag χ para agua cruda ofrecen un alto grado de sensibilidad con un límite de detección que oscila entre <1 a 1.600 MPN por muestra de 100 ml.

3.2 DESARROLLO DEL MÉTODO

3.1.1 Equipos e implementos y reactivos:

Equipos

- una lámpara UV de onda larga a 356 nm
- Incubadora microbiológica (a una temperatura $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$).

Implementos

- Botellas o frascos de 100 ml esterilizados
- Mechero con alcohol.
- El sistema plate
- Película de sellado y herramienta de sellado de mano.
- MPNplate χ

Reactivos

- Medio Colitag χ
- 100 ml de muestra
- Blanco reactivo

3.2 PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Tomar 100 ml de muestra de agua cruda en frasco estéril con tapa.
- Asegurando asepsia, destape la ampolla que contiene el medio en polvo Colitag χ y adiciónelo a la muestra.
- Tape cuidadosamente el frasco que contiene la muestra.
- Agite suavemente hasta la completa disolución del medio de cultivo.

1.2.1 Vaciado al MPNplate χ de la muestra.

- Retire el MPNplate χ de su embalaje y colóquelo en la mesa. Evite tocar la superficie superior o el interior de los pozos.
- Asegure la completa dilución del medio de cultivo y la homogenización de la muestra, antes de dispensarse en el plato.
- Vierta asépticamente la mezcla de muestra / reactivo directamente en los pocillos, comenzando con los pozos grandes de 10 ml y llenando los 15 pozos en serie hasta la cima
- Vierta la muestra restante sobre la parte superior de la placa o en el hoyo 16 más grande, evitando salpicaduras o formación de burbujas.
- Si un pozo queda con burbujas o no está lleno, use una pipeta estéril para eliminar las burbujas o para transferir un poco de líquido del pozo 16 para llenarlo.

2.2.2 Sellado de la bandeja

- Para sellar el MPNplate χ , tome la película de sellado provista y retire el respaldo de uno de los lados de la lengüeta doblando a lo largo de la perforación.
- Retire la pieza central del respaldo de la película con cuidado de no tocar la superficie adhesiva estéril
- La eliminación del respaldo puede facilitarse girando el borde de la película cerca de la línea de puntuación o empujando la película hacia la placa
- Con cuidado, centre y fije la película al costado del dispositivo.
- El borde perforado doblado debe alinearse con el borde del dispositivo.
- Presione para asegurar la pestaña de la película de sellado en su lugar
- Use una mano para posicionar firmemente la película directamente sobre el plato y use la herramienta de sellado para sellar el filmar sobre la parte superior de los pozos.

- h. Evite atrapar burbujas en los pozos. Cualquier muestra en exceso será empujada al canal que conduce al pozo más grande.
- i. Retire la tercera parte del respaldo de la película y asegure el resto de la película de sellado al final del dispositivo.
- j. Doble y une todos los bordes y esquinas de la película para sellar completamente el dispositivo. Con un movimiento de ida y vuelta, enrolle firmemente la herramienta de sellado sobre la parte superior del dispositivo para sellar bien los pozos individuales.

2.2.3 Incubación y lectura

- a. Incubar la bandeja con la muestra a 35 ± 0.5 ° C o durante 24-48 horas,. Se pueden apilar múltiples dispositivos si se desea.
- b. Las placas deben colocarse en la incubadora de modo que el aire pueda circular a su alrededor para permitir una temperatura de incubación constante y precisa.

Después 24 a 48 horas retire la bandeja de la incubadora para ver cambio de color desarrollado en los pozuelos y observe los resultados de la prueba, de acuerdo

- a. El color amarillo mayor que el control en blanco o no coliforme indica un resultado positivo de la prueba para coliformes totales.
- b. Si observa un resultado positivo para Coliformes totales, verifique en la oscuridad.^[1] la fluorescencia con una luz ultravioleta de 6 vatios y 365 nm
- c. La fluorescencia azul indica un resultado positivo para E. coli. Cuente el número de pozos positivos grandes (10 ml), medianos (1 ml) y pequeños (0.1 ml), y también observe el resultado del décimo sexto pozo.
- d. Cuente el números de pozos positivos y verifique en la tabla MPNplate ¿ para determinar el valor de MPN de la muestra MPN en Anexa 1-,,
- e. Deseche los dispositivos MPNplate TMhtusados adecuadamente de acuerdo con las reglamentaciones locales. NO los reutilice para otras muestras.://

El resultado se consolida en el formato M12-FO-033 Registro Análisis Microbiológicos Agua Cruda

^[1] Los Operarios deben usar anteojos protectores de protección UV cuando operen la lámpara UV.

3. CONTROL DE CAMBIOS

4. CONTROL DE EMISIÓN DEL DOCUMENTO

Elabora	Revisa	Aprueba
Diego Ramiro Corrales Velasco PROFESIONAL III - CONTROL PROCESOS EN PLANTA Y CALIDAD	Farid Montenegro Charruf PROFESIONAL V -CONTROL PROCESOS EN PLANTA Y CALIDAD	Farid Montenegro Charruf PROFESIONAL V -CONTROL PROCESOS EN PLANTA Y CALIDAD