



Kit de prueba de bolsa de compartimentos para *E. coli* y coliformes totales y Número Más Probable (MPN) de Aquagenx®

Instrucciones de uso: Dilución 1:10 para aguas superficiales y recreativas

Descripción general

El Kit CBT EC+CT MPN de Aquagenx detecta y cuantifica las bacterias *E. coli* (EC) y Coliformes Totales (CT) en una muestra de 100 mL. El kit utiliza un medio de cultivo patentado con un sustrato de glucosa llamado X-Gluc. Cuando el *E. coli* metaboliza este sustrato en el medio de crecimiento Aquagenx, el agua se vuelve azul, indicando la presencia de *E. coli*. El medio de crecimiento también contiene un sustrato glactósido fluorogénico llamado MUGal. Si hay coliformes totales presentes, estos metabolizan el sustrato fluorogénico y la muestra se vuelve azul fluorescente bajo luz ultravioleta (365 nm). Los resultados de la prueba de Número Más Probable se obtienen con una fácil combinación de colores usando la tabla MPN codificada por colores de Aquagenx. El grupo de bacterias de coliformes totales incluye *E. coli*, que es un coliforme fecal y termotolerante. No todos los coliformes totales son *E. coli*.

Guía de diluciones y diluciones de aguas residuales: <https://www.aquagenx.com/dilutions-cbt-ect/>

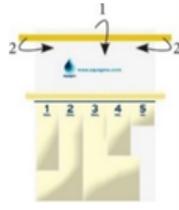
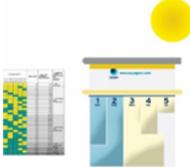
Documentos de los productos: <https://www.aquagenx.com/product-documents/>

Vida útil y almacenamiento del medio de crecimiento

El polvo de medio de crecimiento EC+CT de Aquagenx® permanece estable hasta tres años después de la fecha de fabricación a 25 °C. La fecha de vencimiento y el número de lote están impresos en la parte posterior del paquete del medio de crecimiento.

Guardar a una temperatura entre 4 y 25 grados Celsius en un lugar seco. El medio de crecimiento puede guardarse en un refrigerador. El medio de crecimiento Aquagenx EC+CT no requiere cadena de frío.

Resumen de procedimientos de pruebas del Kit CBT EC+CT MPN, Dilución 1:10

<p>Recoja una muestra de 10 mL y añada 90 mL de agua destilada estéril.</p> 	<p>Añada el polvo de medio de crecimiento</p> 	<p>Vierta la muestra en una bolsa de compartimentos</p> 	<p>Enrolle el cierre Whirl Pak y coloque el clip de plástico</p> 
<p>Incube entre 20 y 48 horas</p> 	<p>Anote el puntaje de los resultados de la prueba de EC bajo luz ambiental</p> 	<p>Anote el puntaje de los resultados de la prueba de CT bajo luz ultravioleta en un medio ambiente oscuro</p> 	<p>Descontamine la muestra</p> 

Cómo interpretar los resultados de la prueba de cambio de color

Color del compartimento de la bolsa de compartimentos	Amarillo/amarillo marrón bajo luz ambiental y no se vuelve fluorescente bajo luz ultravioleta.	Amarillo/amarillo marrón que	Azul/azul verde bajo luz ambiental	Azul/azul verde que
		se vuelve fluorescente bajo luz ultravioleta		se vuelve fluorescente bajo luz ultravioleta
<i>E. coli</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
Coliformes Totales	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo

Fundamento de la Tabla de número más probable (MPN) en bolsa de compartimentos (CBT)

La tabla de la prueba CBT MPN Aquagenx se diseñó originalmente para el análisis de agua potable basado en las "Normas de Calidad de Agua Potable" de la Organización Mundial de la Salud, Cuarta Edición. Hemos modificado la tabla del método del número más probable que aparece en la página 4 para reflejar una dilución de 1:10, que aumenta el rango de la bacteria detectable de la bolsa de compartimentos por un factor de 10. La MPN de *E. coli* por 100 mL se calcula en base a una combinación de compartimentos positivos (color azul) y negativos (no azul) en la bolsa de compartimentos de Aquagenx. La MPN de coliformes totales por 100 mL se calcula a partir de una combinación de compartimentos positivos (fluorescencia azul bajo luz ultravioleta) y negativos (no fluorescencia azul bajo luz ultravioleta) en la bolsa de compartimentos de Aquagenx.

Agencia de Protección Ambiental [EPA] de EE. UU. 2012. Criterio de Calidad de Aguas Recreativas
Las categorías de riesgo de la Tabla de MPN de Aquagenx se basan en la recomendación 1 para *E. coli* de la EPA

ELEMENTOS DEL CRITERIO	Recomendación 1 Índice de enfermedad estimado 36/1000		Recomendación 2 Índice de enfermedad estimado 32/1000	
	Media geométrica (MG) (cfu/100 mL)	Valor umbral estadístico (cfu/100 mL)	Media geométrica (MG) (cfu/100 mL)	Valor umbral estadístico (cfu/100 mL)
Enterococci (aguas marinas y dulces)	35	130	30	110
<i>E. coli</i> (aguas dulces)	126	410	100	320

Fuente: Oficina de Agua Potable de la Agencia de Protección Medioambiental de EE.UU., EPA-820-F-12-061, Hoja Informativa del Criterio de Calidad del Agua Recreativa.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO. VÍDEOS DE INSTRUCCIÓN: <https://www.aquagenx.com/how-to-use-cbt-ect/>

1 Prepare el área de trabajo

- Desinfecte el área de trabajo con una solución desinfectante, toallas de papel o toallitas.

2. Recoja una muestra de agua de 10 mL con Thio-Bag® de Whirl-Pak®

- Se recomienda usar guantes de plástico finos desechables. Si no tiene guantes, no toque el interior de la Thio-Bag con las manos desnudas.
- La pastilla blanca de la Thio-Bag es tiosulfato de sodio, que neutraliza el cloro residual si está presente en la muestra. No la saque de la bolsa.
- Rellene la Thio-Bag hasta la marca de 10 mL.

3. Añada 90 mL de disolvente a la Thio Bag Whirl-Pak

- Añada 90 mL de agua libre de *E. coli* a la Thio-Bag (hasta 100 mL de la línea de llenado).
- Opciones de disolventes: Métodos convencionales de la disolución amortiguadora de fosfatos; agua de reactivo esterilizada en autoclave o hervida; agua del grifo esterilizada en autoclave o hervida; agua embotellada certificada de alta calidad. Algunas aguas embotelladas se producen localmente y son microbiológicamente inseguras. Aguas destiladas de origen comercial y vendidas en botellas correctamente herméticas. Aunque no sea necesariamente estéril, el agua no debe contener *E. coli*.
- Registre los detalles de la muestra, tales como fecha, hora y ubicación.

4. Añada el medio de crecimiento EC+TC de Aquagenx a la muestra de la Thio Bag de Whirl-Pak.

- Le recomendamos que comience la prueba en las seis horas posteriores a la recogida de la muestra. No añada el medio de crecimiento a la Thio-Bag hasta que esté listo para completar todo el procedimiento.
- Abra el paquete de medio de crecimiento. Tire hacia abajo del borde dentado que se encuentra más próximo a las letras "EXP".
- Vierta el medio de crecimiento en polvo en la Thio-Bag. No lo toque con los dedos o manos desnudos.
- Desenrolle el cierre de Whirl-Pak y cierre la Thio-Bag herméticamente.
- Disuelva el medio de crecimiento en la muestra. Gire suavemente la bolsa y deshaga las aglomeraciones de polvo hasta que el medio de crecimiento se disuelva.

5. Vierta la muestra con el medio disuelto de la Thio-Bag en la bolsa de compartimentos Aquagenx.

- Etiquete la bolsa de compartimentos o colóquela la etiqueta con el valor del código de barras. Desgarre la costura perforada de la parte superior de la bolsa.
- Friccione la parte superior y los laterales de la bolsa para abrirla y que la muestra puede diseminarse en cada compartimento.
- Use las etiquetas blancas de la parte superior de la bolsa de compartimentos para abrirla. No toque el interior de la misma con los dedos o manos desnudos.
- Vierta la muestra lentamente en la bolsa mientras la inclina y oprime suavemente para distribuir la muestra en los cinco compartimentos.
- Rellene uniformemente hasta la parte superior de la línea de llenado a lo largo de los cinco compartimentos.

6. Cierre la bolsa de compartimentos herméticamente

- Desplace hacia abajo el cierre Whirl-Pak que se encuentra en la parte superior de la bolsa de compartimentos y asegúrela.
- Coloque el clip de cierre de plástico a lo largo de la bolsa de compartimentos para evitar que el agua se filtre fuera de los mismos. Coloque la parte del clip en forma de U en la parte ancha de la bolsa a lo largo de la línea de llenado y por debajo de las aberturas de los compartimentos. Coloque la parte del clip en forma de vara en el lado opuesto de la bolsa de compartimentos y encájelo en forma de U para bloquearlo.

7. Período y temperaturas de incubación

- Durante el período de incubación, las CBT pueden producir olor. Para ayudar a controlarlo, coloque las CBT en otra bolsa plástica o contenedor sellados durante el período de incubación.
- La incubación a temperatura ambiente funciona a cualquier temperatura entre 25 y 37 °C para la detección de *E. coli* y/o coliformes totales.
- Debido a que la CBT funciona a temperaturas variables, no se requiere un control de temperatura constante en una incubadora. No obstante, a temperaturas más frías, se recomienda la incubación a temperatura constante, si es posible.
- Nota: para las temperaturas superiores a 40 °C, se inhibirán algunos coliformes totales, y es posible que los resultados no sean precisos para el análisis de coliformes totales.
- A efectos de cumplimiento normativo, las muestras deben incubarse a 35-37 °C durante 20-24 horas para detectar y cuantificar *E. coli* y coliformes totales.
- La CBT también puede usarse para detectar y cuantificar coliformes (fecales) termotolerantes en lugar de coliformes totales si las muestras de CBT se incuban a una temperatura de 44,5 °C (entre 44-45 °C) durante 20-24 horas. Para este procedimiento se requiere un control de temperatura estricto.

Períodos de incubación recomendados a condiciones de temperatura ambiente:

35 a 37 °C: Incubar 20 horas
31 a 34 °C: Incuba 24-30 horas
25 a 30 °C: Incubar 40-48 horas

Menos de 25 °C: Incubar en una incubadora portátil a 35-37 °C durante 24 horas o colocar dentro o cerca de otra fuente de calor durante hasta 48 horas, dependiendo de la temperatura.

Mas de 40 °C: Se inhibirán algunos coliformes totales, y es posible que los resultados para coliformes totales no sean precisos.

Ver “Guía del período de incubación”: <https://www.aquagenx.com/product-documentation/>

8. Puntaje de resultados de MPN

- Mantenga la bolsa de compartimentos al lado de la Tabla MPN Aquagenx de la página 4 para calcular el puntaje de la prueba:
- ***E. coli* - observar con luz ambiental:**
 - Un compartimento amarillo/amarillo-marrón es negativo para *E. coli* (ausencia).
 - Un compartimento azul/azul-verde es positivo para *E. coli* (presencia). Los compartimentos positivos incluyen cualquier rastro de color azul/azul-verde, como uno o más puntitos de azul/azul-verde, o sedimento azul/azul-verde en el fondo de un compartimento.
- **Coliforme total: brillo de luz UV (365 nm) en la bolsa de compartimentos en un entorno oscuro:**
 - Los compartimentos que producen azul fluorescente son positivos para coliformes totales. Estos incluyen cualesquiera compartimentos que sean de color amarillo/amarillo-marrón con luz ambiental y que se vuelvan azul fluorescente bajo luz ultravioleta.
 - Los compartimentos que son azules/azules-verdes en luz ambiental (positivos para *E. coli*) son, por definición, también positivos para coliformes totales.
- Haga coincidir la secuencia de colores de los cinco compartimentos con una de las 32 filas codificadas por colores de la Tabla MPN para obtener los resultados de MPN para *E. coli* y coliformes totales.
- Registre los resultados de la prueba.

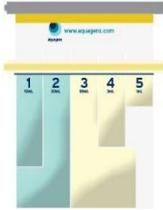
9. Descontamine la muestra

- Añada 4 mL de hipoclorito de sodio (NaOCl) líquido o suficientes pastillas de cloro (hipoclorito de calcio o dicloroisocianurato de sodio) a la bolsa de compartimentos para suministrar unos 200 miligramos de cloro libre.
- Después de 30 minutos, vierta el contenido en un fregadero, inodoro o hueco en el suelo y deseche la bolsa de compartimentos vacía de forma segura.
- Guarde el clip de sellado de plástico para reutilizarlo.

Tabla de números más probables de CBT de Aquagenx® adaptada para dilución 1:10

Alinee la bolsa de compartimentos para que el compartimento #1 esté a la izquierda y el compartimento #5 esté a la derecha. Haga coincidir la secuencia de color de los cinco compartimentos con una de las 32 filas codificadas por colores. Cada compartimento se clasifica de acuerdo con el siguiente criterio (vea también el gráfico de color de la página 1):

- El compartimento amarillo con y sin exposición a luz ultravioleta es negativo para *E. coli* y coliformes totales.
- El compartimento amarillo con azul fluorescente bajo luz ultravioleta es positivo para coliformes totales.
- El compartimento azul bajo luz ambiental es positivo para *E. coli* y por definición también positivo para coliformes totales.



Fila	Número de compartimento					Número más probable /100 mL	Nivel de confianza superior al 95 %/ 100 mL	Categoría de riesgo para la salud de aguas recreativas basado en el MPN y el nivel de confianza superior a 95 % de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos [EPA]
	1	2	3	4	5			
Número	10 mL	30 mL	56 mL	3 mL	1 mL			
1						0	28.70	Bajo riesgo/seguro
2						10	51.40	Bajo riesgo/ Probablemente seguro
3						10	47.40	
4						11	51.60	
5						12	56.40	
6						15	78.10	
7						20	63.20	
8						21	68.50	
9						21	66.40	
10						24	78.10	
11						24	81.20	
12						26	85.10	
13						32	83.80	
14						37	97.00	
15						31	113.60	
16						32	118.30	
17						34	125.30	
18						39	104.30	
19						40	109.40	
20						47	227.50	
21						52	147.30	Bajo riesgo/Posiblemente seguro
22						54	129.30	
23						56	171.40	
24						58	168.70	
25						84	211.90	
26						91	370.40	Riesgo intermedio/Posiblemente seguro
27						96	376.80	
28						136	830.60	Alto riesgo/Probablemente peligroso
29						171	563.50	
30						326	1455.50	Riesgo muy alto/Peligroso
31						483	3519.10	
32						>1000	94351.00	

Copyright © 2013 Aquagenx, LLC