

**NORMA  
VENEZOLANA**

---

**COVENIN  
2409-86**

**AGUA. METODO DE MEMBRANA  
FILTRANTE PARA ANALISIS  
MICROBIOLOGICO.**



TRAMITE

COMITE CTI0 PRODUCTOS ALIMENTICIOS

PPRESIDENTE DR. GUSTAVO TORO ALAYON

VICEPRESIDENTES DRA. GLADYS V. DE ANDERSON  
DP. JOSE FELIX CHAVEZ

SECRETARIA LIC. NORMA ARIAS CRUZ

SUBCOMITE CTI0/SC3 MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

COORDINADORA ING. MILAGROS DIAZ SUAREZ

PARTICIPANTES

ENTIDAD

REPRESENTANTES

INSTITUTO NACIONAL DE OBRAS  
SANITARIAS (INOS)

CARLOS PIMENTEL

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

MARIA LUISA NOVOA  
MANUELA RIOS DE S.  
GLADYS V. DE ANDERSON  
MILAGROS POLANCO

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

SILVIA MENDOZA  
JOSE LUIS VIDAURRETA

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

- FACULTAD DE FARMACIA

CARMEN ELENA GARCIA  
FANNY DE PADILLA

INDUSTRIA LACTEA VENEZOLANA  
(INDULAC)

MIROSLAVA MORLES

AMAVENCA

MARY TARAMONA

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

MARTELA CALDERON

MINISTERIO DE SANIDAD Y  
ASISTENCIA SOCIAL

GUSTAVO TORO

FUNDACION CIEPE

ISMIENTA DE MENDEZ  
LEONOR DE CRUZ

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

ANTONIO VAN GRIFFEN

CAJARA VENEZOLANA DE LA  
INDUSTRIA DE ALIMENTOS

MANUEL COLS PAEZ

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA

MARISOL CASTILLO

DISCUSION PUELICA

FECHA DE ENVIO 13-09-86

DURACION 45 DIAS

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 06-11-86

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN 09-12-86

NORMA VENEZOLANA  
AGUA

COVENIN  
2409-86

METODO DE MEMBRANA FILTRANTE  
PARA EL ANALISIS MICROBIOLÓGICO

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

- COVENIN 1126-77 Alimentos. Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico.
- COVENIN 1104-84 Alimentos. Determinación del Número Más Probable de coliformes, de coliformes fecales y de Escherichia coli.
- COVENIN 10 XIII-010 Agua. Método para la toma de muestras.
- COVENIN 10 3-010 Alimentos. Recuento de estreptococos fecales.

2 OBJETO

Esta Norma establece el procedimiento de análisis a utilizar para la detección y recuento de: coliformes totales, coliformes fecales, Estreptococos fecales, Pseudomonas aeruginosa, mohos y levaduras, por el método de membrana filtrante, en muestras de aguas naturales y tratadas, a excepción de las aguas residuales.

3 RESUMEN DEL ENSAYO

El método consiste en filtrar un volumen determinado de una muestra representativa del agua a ser analizada, a través de una membrana filtrante de porosidad adecuada; después de la filtración se coloca la membrana en medios de cultivo apropiados. luego se incuban y al finalizar el periodo de incubación, se cuentan las colonias características, dadas por el microorganismo en estudio.

4 EQUIPO

4.1 ENVASES PARA CAPTACION envases esterilizables de vidrio o plástico con tapa. Previa a su esterilización, deben agregarse unas gotas de solución de tiosulfato de sodio u otro agente reductor para inhibir la acción bactericida del cloro residual presente en muestras de aguas tratadas.

- 4.2 ENVASES PARA DILUENTES: Botellas o tubos de vidrio, esterilizables, con tapa.
- 4.3 HORNO, con temperatura regulable.
- 4.4 AUTOCLAVE
- 4.5 REFRIGERADOR
- 4.6 PIPETAS Y CILINDROS GRADUADOS, estériles.
- 4.7 MATRACES, de 250, 500 y 1000 ml, para la preparación de los medios de cultivo.
- 4.8 PLACAS DE PETRI, de 60 x 15 mm, estériles.
- 4.9 EQUIPO DE FILTRACION, estéril, que consiste en:
- 4.9.1 Unidad de filtración, que consta de un embudo receptor y un portafiltro, esterilizables, con o sin pinza sujetadora.
- 4.9.2 Matraz Kitasato
- 4.9.3 Fuente de vacío
- 4.10 FILTROS DE MEMBRANA, deben ser planos, circulares, reticulados, con un diámetro de 47 mm, un espesor uniforme, esterilizables, fabricados a partir de una mezcla pura y biológicamente inerte de derivados de celulosa, libre de sustancias químicas que inhiban el desarrollo de los microorganismos, que tengan una velocidad de filtración satisfactoria, que no influyan significativamente sobre el pH del medio y que permita el paso de nutrientes desde el medio de cultivo, en forma ascendente.
- 4.10.1 Para coliformes fecales y estreptococos fecales, la porosidad del filtro debe ser de  $0,45 \pm 0,02 \mu\text{m}$ .
- 4.10.2 Para Pseudomonas, la porosidad del filtro debe ser de  $0,22 \pm 0,02 \mu\text{m}$ .
- 4.10.3 Para mohos y levaduras, la porosidad del filtro debe ser de  $0,8 \pm 0,02 \mu\text{m}$ .
- 4.11 ALMOHADILLAS ABSORBENTES, esterilizables, con un diámetro de 48 mm y un espesor suficiente para absorber 1,8 - 2,2 ml del medio de cultivo líquido, libres de sustancias químicas solubles que puedan interferir con el crecimiento bacteriano.
- 4.12 PINZAS DE ACERO INOXIDABLE, de punta redonda y lisa.
- 4.13 INCUBADORA, con temperatura regulable entre  $35^\circ$  y  $37^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de aproximadamente 90%.

- 4.14 BAÑO DE AGUA termoregulable a  $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ , preferiblemente con agitación constante o incubadora especial para coliformes fecales (heat sink).
- 4.15 CUENTACOLONIAS Y MICROSCOPIO ESTEREOSCOPICO, con aumento de 1 X ó 2 X con fuente de luz fluorescente.
- 4.16 BOLSAS PLASTICAS. impermeables, con cierre hermético, estériles.

## 5 MATERIALES (véase el anexo)

### 5.1 DILUENTES

5.1.1 Solución Tampón Fosfato diluida (solución de Butterfield).

5.1.2 Aqua peptonada al 0,1%

### 5.2 MEDIOS DE CULTIVO (\*)

5.2.1 Caldo lauril sulfato triptosa

5.2.2 Agar Endo LES

5.2.3 Agar m-FC

5.2.4 Agar KF Streptococcus

5.2.5 Agar M-PA

5.2.6 Agar leche (Brown and Scott Foster)

NOTA: En caso de dificultad para la obtención de los antibióticos requeridos en estos medios, se podría usar como alternativa Agar Pseudomonas P, Pseudomonas F y agar cetrimide con la utilización de una lámpara fluorescente de luz ultravioleta de onda larga (luz negra).

5.2.7 Agar mycophil con pH bajo, u otro medio de cultivo equivalente.

5.2.8 Caldo lactosado bilis verde brillante al 2%

5.2.9 Caldo FC

5.2.10 Caldo m-Endo

5.2.11 Caldo m-FC

(\*) Disponibles en casas comerciales.

## 6 PREPARACION Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

6.1 La toma de muestras se hará según lo indicado en la Norma Venezolana COVENIN 10:XIII-010.

6.2 La muestra se codifica y se prepara según lo indicado en la Norma Venezolana COVENIN 1126.

6.3 La muestra a ensayar consiste en una muestra representativa del agua a analizar (100 ml), bien homogeneizada.

6.4 El tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su análisis (tiempo de traslado), no deberá ser mayor de 6 h para aguas sin tratamiento y 12 h para aguas tratadas y las muestras deberán conservarse refrigeradas a una temperatura entre 4° y 10°C.

## 7 CONDICIONES DEL ENSAYO

### 7.1 LIMITACIONES DEL METODO DE MEMBRANA FILTRANTE

Las muestras que contengan un alto número de bacterias no coliformes, capaces de crecer en un medio de cultivo como el Endo, presentan las siguientes dificultades:

7.1.1 La alta concentración de bacterias no coliformes puede inhibir la producción del brillo verde metálico característico de las bacterias coliformes o incluso suprimir el crecimiento de las mismas.

7.1.2 En muestras con un recuento bajo de coliformes pero con un gran contenido de sólidos suspendidos, las colonias bacterianas pueden crecer como una película continua en la superficie de la membrana impidiendo de esta manera el desarrollo del brillo verde metálico característico de los coliformes.

7.1.3 En algunas muestras que contengan cantidades de hasta 1 mg/l de cobre o zinc o ambos, se obtienen recuentos irregulares de bacterias coliformes.

7.1.4 Ocasionalmente, algunas cepas bacterianas que presentan crecimiento con el método de membrana, con producción de brillo metálico; al ser confirmadas según la Norma Venezolana COVENIN 1104, presentan producción de ácido sin gas, lo cual es un indicador falso de la población real de coliformes presentes en la muestra.

7.1.5 En caso de encontrarse estas limitaciones no debe usarse el método de membrana filtrante sino el método de tubos múltiples de dilución (NMP) contemplado en la Norma Venezolana COVENIN 1104.

## 8 PROCEDIMIENTO

8.1 Por medio de una pinza esterilizada por flameo con alcohol, se coloca la membrana sobre la rejilla del portafiltro (con el lado cuadriculado hacia arriba).

8.2 Se coloca con mucho cuidado el embudo.

8.3 Se vierten 100 ml de la muestra de agua en el embudo y por medio de un vacío parcial creado por la bomba de vacío, se procede al filtrado de la muestra.

8.4 Una vez terminada la filtración de la muestra, se lava el embudo con aproximadamente 100 ml de solución tampón fosfato diluida estéril.

8.5 Se remueve la parte superior del porta filtro y con una pinza esterilizada por flameo con alcohol, se transporta la membrana a la cápsula de Petri que contenga el medio de cultivo correspondiente al microorganismo que se va a identificar. (Véase la tabla 1). Debe evitarse la formación de burbujas de aire entre el medio de cultivo y la membrana colocándola lentamente, comenzando por el extremo opuesto a la pinza.

8.6 Una vez colocada la membrana en la placa de Petri, se espera aproximadamente 20 minutos para permitir la adhesión de la membrana al medio, antes de invertirla e incubarla según las indicaciones de la Tabla 1.

8.6.1 Paralelamente, debe efectuarse un ensayo en blanco sin la muestra, siguiendo el procedimiento descrito desde 8.1 a 8.7, utilizando solución tampón fosfato diluida en lugar de la muestra.

8.7 Al final de la incubación se seleccionan las placas que contengan un número que no exceda de 80 colonias características según el recuento en proceso. Debe contarse el número de colonias que se han desarrollado y calcularse el número de bacterias viables multiplicando el recuento de colonias por la dilución utilizada en la placa y expresar los resultados en número de colonias por 100 ml; aquellas que excedan de 80 colonias características se reportarán como "incontables".



TAHA 1 Condiciones de incubación de las placas

MICROORGANISMO	TEMPERATURA DE INCUBACION ( °C)	TIEMPO DE INCUBACION	MEDIO DE CULTIVO
Coliformes totales	35 ± 0,5	24 h	Agar Endo LES
Coliformes fecales	44.5 ± 0,2 (baño de agua)	24 h	Agar m-FC
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	35 ± 0,5	24 h	Agar m-PA Agar leche
Estreptococos fecales	35 ± 0,5	48 h	Agar K.F. Streptococcus
Mohos y levaduras	Ambiente	3 a 5 días (sin invertir la placa)	Agar Mycophil

## 8.8 ENRIQUECIMIENTO

Para el caso de muestras de agua clorada, después de efectuada la filtración, se coloca la membrana sobre una almohadilla estéril, la cual ha sido saturada previamente con 1,8 - 2 ml de caldo lauril sulfato triptosa.

8.8.1 Se incuba la placa con la membrana, sin invertir la misma, por 1 y 1/2 a 2 horas a 35 ± 0,5°C en una atmósfera húmeda.

8.8.2 Una vez concluido el tiempo de incubación (1 y 1/2 a 2 horas) se retira la membrana en forma aséptica del caldo lauril sulfato triptosa y se coloca en el medio de cultivo selectivo.

8.8.3 Se incuban las placas con el medio selectivo como se indica en 8.6.

8.9 Se hace el recuento de las colonias típicas según el medio de cultivo utilizado, mediante el cuenta colonias o el microscopio estereoscópico, de acuerdo a lo siguiente:

8.9.1 Coliformes totales en agar Endo LES o caldo m-Endo. - Se seleccionan y cuentan las colonias de color rosado o rojo y con brillo metálico en la superficie o color verdoso.

8.9.2 Coliformes fecales en agar M-FC o caldo m-FC. Se seleccionan y cuentan como características, las colonias de color azul.

8.9.3 Estreptococos fecales presuntivos en agar K.F. Streptococcus. Se seleccionan y cuentan como características las colonias color rojo intenso o rosadas. En caso de duda se efectúan pruebas confirmativas según lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN 10:3-010.

8.9.4 Pseudomonas aeruginosa en agar M-PA. Se seleccionan y cuentan como características las colonias de 0,8 a 2,2 mm de diámetro, de apariencia aplanada con el centro verde negruzco a marrón y borde brillante. Se confirman en agar leche.

8.9.4.1 Prueba confirmativa en agar leche. Se confirma un número de colonias típicas y atípicas inoculando por estria en una placa de agar leche, haciendo un solo trazo de 2 - 4 cm de largo e incubando por 24 h a 35 °C. Se seleccionan como confirmativas las placas en las cuales se presente un pigmento difusible que va del color amarillo al verde.

NOTA: En caso de usar agar Pseudomonas P o agar Cetrimide, se seleccionan y cuentan como características, las colonias que presenten color verde fluorescente y/o un halo fluorescente a la incidencia de la luz ultravioleta.

8.9.5 Mohos en agar mycophil. Se seleccionan y cuentan aquellas colonias que se desarrollen con aspecto filamentososo.

8.9.6 Levaduras en agar mycophil. Se seleccionan y cuentan aquellas colonias que se desarrollen con aspecto mucoso, previo examen al fresco y coloración simple (con solución cristal violeta) y que presenten la forma característica.

8.10 Las colonias típicas y no típicas de coliformes deben ser confirmadas en caldo lauril sulfato triptosa y caldo lactosado bilis verde brillante simultáneamente (en el caso de coliformes totales) y en el caldo lauril sulfato triptosa y caldo EC simultáneamente (para el caso de coliformes fecales), según el procedimiento descrito en la Norma Venezolana COVENIN 1104.

## 9 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Los resultados del recuento de unidades formadoras de colonias se expresarán por 100 ml de muestra.

9.2 En caso de haber utilizado diluciones de muestra, los resultados se calculan según la siguiente fórmula:

$$\text{Total (colonias) /100 ml} = \frac{\text{Colonias contadas} \times 100}{\text{ml muestra filtrada}}$$

10 INFORME

EL informe del ensayo deberá indicar como mínimo la siguiente información:

- 10.1 Ensayo realizado según la presente Norma.
- 10.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo.
- 10.3 Identificación de la muestra.
- 10.4 Resultados del ensayo.
- 10.5 Observaciones

BIBLIOGRAFIA

- 1.- World Health Organization. International Standards for Drinking - Water. (3th ed.) Geneva, 1971.
- 2.- Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencia del Ambiente. Guía para la evaluación de laboratorios Bacteriológicos de Análisis de Agua. Documento técnico 3. Lima 06-1978.
- 3.- American Public Health Association, In. Recommended procedures for the examination of sea water and shellfish. (4th ed.) New York, N.Y. 1970.
- 4.- Villegas de F.Iraides. Aplicación de los filtros de membrana al control de la calidad del agua. I Curso sobre Técnicas de Laboratorios aplicadas al análisis de agua. U.C.V., Caracas - 1978.
- 5.- APHA - AWWA - WPCF. 1980 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association - American Water Works Association - Water Pollution Control Federation. 15 th Edition - Washington.

ANEXO

FORMULA Y PREPARACION DE LOS DILUYENTES Y MEDIOS DE CULTIVO

1 DILUYENTES

1.1 Solución Tampón fosfato (solución de Butterfield).

1.2.2 Fórmula.

Fosfato diácido de potasio ( $KH_2PO_4$ ).....34g  
Aqua destilada.....1.000 ml

1.1.3 Preparación

Se disuelven los 34 g de fosfato diácido de potasio en 500 ml de agua destilada, se ajusta el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1N, se lleva a 1 litro con agua destilada.

1.2 Solución Tampón fosfato diluida

Se agrega 1,25 ml de la solución tampón fosfato a 5,0 ml de una solución de sulfato de magnesio (50 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ /l de agua destilada) en 1 litro de agua destilada; se dispensa en frascos o tubos con rosca de 10 ml ó 100 ml; se esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

1.3 Aqua peptonada al 0,1 %

Se disuelve 1 g de peptona en 1 litro de agua destilada y se ajusta el pH a  $7,0 \pm 0,1$ . Se llenan botellas o tubos de dilución con un volumen predeterminado, de manera que después de la esterilización (121°C por 15 min); el volumen sea  $\pm 2\%$  del deseado, o si los recipientes están calibrados, se reajusta el volumen asepticamente con una pipeta después de la esterilización.

2 MEDIOS DE CULTIVO

2.1 Caldo lauril sulfato triptosa

2.1.1 Fórmula:

Triptosa, triptona o tripticasa .....20,0 g  
Lactosa ..... 5,0 g  
Fosfato ácido dipotásico ( $K_2HPO_4$ )..... 2,75 g  
Fosfato diácido de potasio ( $KH_2PO_4$ )..... 2,75 g  
Cloruro de sodio ..... 5,0 g

Lauril sulfato de sodio .....	0,1 g
Agua destilada .....	1000,0 g

### 2.1.2 Preparación

Se disuelven completamente los ingredientes en el agua destilada y se reparten en porciones de 10 ml en tubos de 150 mm x 15 mm con tubos de Durham incorporados. Se esterilizan en el autoclave por 10 min a una temperatura de 121°C. El pH final deberá ser aproximadamente de 6,8.

## 2.2 Agar Endo LES (Recuento de coliformes totales)

### 2.2.1 Fórmula (g/l)

Extracto de levadura .....	1,2 g
Casitona o tripticasa .....	3,7 g
Tiopeptona o thiotone .....	3,7 g
Triptosa .....	7,5 g
Lactosa .....	9,4 g
Fosfato ácido dipotásico ( $K_2HPO_4$ ).....	3,3 g
Fosfato diácido de potasio ( $KH_2PO_4$ ).....	1,0 g
Cloruro de sodio .....	3,7 g
Desoxicolato de sodio .....	0,1 g
Lauril sulfato de sodio .....	0,05 g
Sulfito de sodio .....	1,6 g
Fucsina básica .....	0,8 g
Agar .....	15,0 g
Agua destilada .....	1000,0 ml

### 2.2.2 Preparación

Se rehidratan los ingredientes en agua destilada. Se disuelven por calentamiento. Se añaden 20 ml de etanol al 95%. Se lleva a ebullición y se enfría a 45 - 50°C. Se reparte en cantidades de 4 ml en placas de Petri de 60 mm. Se almacena en la oscuridad entre 2 - 10°C hasta por 2 semanas. No debe esterilizarse en autoclave.

### 2.3 Agar m-FC (Recuento de coliformes fecales)

#### 2.3.1 Fórmula (g/l)

Triptosa o biosate .....	10,00 g
Proteosa peptona No. 3 ó polipeptona.....	5,00 g
Extracto de levadura .....	3,00 g
Cloruro de sodio .....	5,00 g
Lactosa .....	12,50 g
Sales biliares No. 3 ó mezcla de sales biliares .....	1,50 g
Azul de Anilina .....	0,10 g
Agar .....	15,0 g
Agua destilada .....	1000,00 ml

#### 2.3.2 Preparación

Se disuelven los componentes de la fórmula en 1000,00 ml de agua destilada a la cual se han añadido 10 ml de solución al 1% de ácido rosálico \* en solución de hidróxido de sodio 0,2 N. Se agrega el agar. Se calienta el medio hasta el punto de ebullición, se retira del fuego, se enfría entre 45 y 50°C y se vierte en placas de Petri. No debe esterilizarse en autoclave.\* El pH final debe ser 7,4.

\*NOTA: El ácido rosálico se descompone si se somete a la esterilización en autoclave. La solución madre puede guardarse en la oscuridad de 2 a 10 °C por dos (2) semanas o hasta que cambie de color (de rojo oscuro a marrón fango). El ácido rosálico puede omitirse del medio si aparece un número mínimo de colonias y se obtienen resultados equivalentes sin la utilización del mismo.

### 2.4 Agar K.F. Streptococcus (Recuento de Streptococos fecales)

#### 2.4.1 Fórmula (g/l)

Proteosa peptona No. 3 ó polipeptona .....	10,00 g
Extracto de levadura .....	10,00 g
Cloruro de sodio .....	5,00 g
Glicerofosfato de sodio.....	10,00 g
Maltosa .....	20,00 g

Lactosa .....	1,00 g
Azida de sodio .....	0,40 g
Agar .....	20,00 g
Agua destilada .....	1000,00 ml

#### 2.4.2 Preparación

Se mezclan los componentes de la fórmula en 1.000.00 ml de agua destilada. Se calienta la mezcla hasta su punto de ebullición para obtener una homogeneización de ingredientes y fundir el agar. Se enfría a 60°C ó 50°C y se añade 1 ml de una solución acuosa estéril al 1% de cloruro de 2.3.5-trifeniltetrazoliun (TTC) por cada 100 ml de medio. Se ajusta el pH a 7.2 con solución al 10% de carbonato de sodio si es necesario. El medio se puede mantener entre 45°C ó 50°C hasta cuatro (4) horas en baño de agua. Las placas de Petri se pueden conservar en la oscuridad de 2°C a 10°C por 30 días.

#### 2.5 Agar M-PA (Recuento de Pseudomonas aeruginosa)

##### 2.5.1 Fórmula (g/l)

L-Lysina HCl .....	5,00
Cloruro de Sodio .....	5,00
Extracto de Levadura .....	2,00
Xylosa .....	2,50
Sacarosa .....	1,25
Lactosa .....	1,25
Citrato amonio férrico .....	0,80
Tiosulfato de Sodio .....	6,80
Agar .....	15,00
Bojo fencl .....	0,08
Agua destilada .....	1000,00 ml

##### 2.5.2 Preparación

Se disuelven los ingredientes de la fórmula en 1000.00 ml de agua destilada. se ajusta el pH a 6.5 y se esteriliza. Se enfría a 60°C ó 55°C y cuidadosamente se reajusta el pH a 7,1 ± 0,1 siempre con soluciones

ácidas o básicas estériles. Seguidamente se añaden los siguientes antibióticos (en su forma seca) por cada 1000.00 ml de solución madre

Sulfapiridina ..	176,0 mg
Kanamicina ..	8,5 mg
Acido Nalidixidico ..	37,0 mg
Actidione ..	150,0 mg

Después de mezclar bien los antibióticos, se vierten 3 ml de medio en placas de Petri de 50 mm x 12 mm. Estas placas con el medio de cultivo pueden mantenerse en buenas condiciones a una temperatura entre 2° y 10 °C por un mes aproximadamente.

## 2.6 Agar leche (Brown and Scott Foster)

### 2.6.1 Fórmula (g/l)

#### Solución A

Leche instantánea sin grasa (máximo 1% de grasa) .....	100 g
Agua destilada .....	500 ml

#### Solución B

Caldo nutritivo .....	12,50 g
Cloruro de sodio .....	2,50 g
Agar .....	15,00 g
Agua destilada .....	500,00 ml

### 2.6.2 Preparación

Separadamente se mezclan y esterilizan las soluciones A y B a 121°C por 15 min, se enfría rápidamente a 55°C; se combinan las dos soluciones (A y B) y se vierte en placas de Petri de 100 x 15 mm. un volumen aproximado de 20 ml por placa.

## 2.7 Agar nycophil con pH bajo (recuento de mohos y levaduras)

### 2.7.1 Fórmula (g/l)

Phytone peptona (digestión papaica de harina de soya) .....	10 g
Dextrosa .....	10 g



Agar ..... 16 g  
Agua destilada .....1000 ml  
pH final 4.7

#### 2.7.2 Preparación

Se suspenden 36 g del medio deshidratado en 1 l de agua destilada. Se deja en reposo por 5 min y se mezcla completamente. Cuando la solución sea uniforme, se calienta agitando frecuentemente y se hierve por 1 min. Se dispensa y esteriliza a 118°C por 15 min.

2.8 Caldo lactosado bilis verde brillante al 2% (Véase la Norma Venezolana COVENIN 1104).

2.9 Caldo para enriquecimiento de coliformes (F.C). (Véase la Norma Venezolana COVENIN 1104).

2.10 Caldo m-Endo Igual. fórmula que 2.2 pero sin el agar.

2.11 Caldo m-FC Igual. fórmula que 2.3 pero sin el agar.

**COVENIN**  
**2409-86**

**CATEGORIA**  
**C**

---

**COMISION VENEZOLANA**  
**DE NORMAS INDUSTRIALES MINISTERIO DE FOMENTO**  
**Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12**  
**Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12**  
**CARACAS**

publicación de:



**CDU 628.1:663.6:**  
**576.8.08**

**RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS**  
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

**ISBN 980-06-0086-8**

---