

01773
3-9-98
1/2

NORMA VENEZOLANA



AGUA POTABLE. METODO DE DETERMINACION DEL NUMERO MAS PROBABLE DE BACTERIAS COLIFORMES

COVENIN
3047-93

PROLOGO



COVENIN
3047-93

NORMA
VENEZOLANA

PROLOGO

La Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN), creada en 1958, es el organismo encargado de programar y coordinar las actividades de Normalización y Calidad en el país. Para llevar a cabo el trabajo de elaboración de normas, la COVENIN constituye Comités y Comisiones Técnicas de Normalización, donde participan organizaciones gubernamentales y no-gubernamentales relacionadas con un área específica.

La presente norma fue elaborada por el Comité Técnico de Normalización CT 10 y aprobada por la COVENIN en su reunión No 123 de fecha 13/10/93



NORMA VENEZOLANA
AGUA POTABLE
DETERMINACION DEL NUMERO MAS PROBABLE DE
BACTERIAS COLIFORMES

COVENIN
3047-93

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

COVENIN 1126-89 Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico.

COVENIN 2614-89 Agua potable. Toma de muestras

2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta Norma Venezolana contempla el método de ensayo de rutina para la determinación del número más probable de bacterias coliformes en agua potable.

3 PRINCIPIO DEL METODO

El método consiste en inocular volúmenes conocidos de una muestra de agua potable, en c/u de 5 ó 10 tubos de ensayo, con un medio de cultivo no selectivo, doble concentrado, y con tubos de fermentación incorporados.

Después del período de incubación se observan los tubos que presenten formación de gas y/o turbidez, se confirman en un medio de cultivo selectivo, y se obtiene el NMP de bacterias coliformes, utilizando las tablas diseñadas para tal fin.

4 EQUIPOS E INSTRUMENTOS

4.1 Equipo para la preparación de muestras (Norma COVENIN 1126)

4.2 Incubadora con regulador de temperatura

4.3 Pipetas graduadas, de 1 y 10 ml, estériles

4.4 Tubos de ensayo de 150 x 15 mm y 150 x 20 mm

4.5 Tubos de Durham o de fermentación, de 10 x 75 mm

4.6 Equipo de uso común en el laboratorio

5 MEDIOS DE CULTIVO

5.1 Caldo lauril sulfato triptosa, doble concentrado (Anexo I)

5.2 Caldo lactosa bilis verde brillante (2%) (Anexo I)

6 MATERIAL A ENSAYAR

El material a ensayar consiste en una muestra representativa de agua potable, tomada según la Norma Venezolana COVENIN 2614.

7 PROCEDIMIENTO

7.1 La muestra se identifica y prepara según la Norma Venezolana COVENIN 1126

7.2 PRUEBA PRESUNTIVA

7.2.1 Se inoculan volúmenes de 10 ml de muestra en cada uno de 5 tubos que contengan caldo lauril sulfato triptosa doble concentrado, con tubo de fermentación invertido. Se mezcla suavemente.

NOTA 1: Si se requiere mayor precisión en el método, se inoculan 10 tubos

7.2.2 Se incuban a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Después de 24 ± 2 h, agite suavemente cada tubo y observe la aparición de gas y/o turbiedad, si ambas son negativas se reincuban por 24 ± 2 h adicionales.

7.2.3 Se consideran como tubos positivos en la prueba presuntiva aquellos que presenten cualquier cantidad de gas en el tubo Durham y/o turbiedad en el medio de cultivo, después de 24 a 48 horas de incubación.

7.3 PRUEBA CONFIRMATORIA

7.3.1 Se agita suavemente cada uno de los tubos positivos de la prueba anterior, y se transfiere una asada del cultivo a tubos que contengan caldo lactosa bilis verde brillante (2%), con tubo de fermentación invertido.

7.3.2 Se incuban a $35^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 hrs.

7.3.3 Finalizado el período de incubación se consideran como tubos positivos en la prueba confirmatoria, aquellos donde se observa la aparición de gas.

7.3.4 Se cuenta el número de tubos positivos obtenidos y el resultado se lleva a las tablas de número más probable que corresponda (ver tablas del anexo II).

8 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

8.1 El resultado se expresa como Número más probable de bacterias coliformes por 100 ml de muestra.

8.2 En caso de que todos los tubos sean negativos, el resultado se expresa como "menos de 2,2 o menos de 1,1", según se hayan utilizado 5 ó 10 tubos respectivamente.

8.3 En caso de que todos los tubos sean positivos, el resultado se expresa como "más de 16,0 o más de 23,0", según se hayan inoculado 5 ó 10 tubos respectivamente.

9 INFORME

9.1 El informe del ensayo deberá indicar como mínimo lo siguiente:

9.1.1 Ensayo realizado según la Norma Venezolana COVENIN correspondiente

9.1.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo y nombre de quien lo realizó

9.1.3 Identificación de la muestra

9.1.4 Resultados del ensayo

9.1.5 Observaciones

BIBLIOGRAFIA

APHA 1989 Standard Methods for the examination of water and waste - water. 17 th edition. Washington D.C.

APHA 1992 Compendium of methods for the microbiological examination of food . Third edition. Washington D.C.

ANEXO I

1 MEDIOS DE CULTIVO

1.1 CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSA, DOBLE CONCENTRADO

Fórmula:

Triptosa	20,0 g
Lactosa	5,0 g
K ₂ H PO ₄	2,75 g
KH ₂ PO ₄	2,75 g
NaCl	5,0 g
Lauril sulfato de sodio	0,1 g
Agua destilada	500 ml

Preparación:

Disolver los ingredientes en 500 ml de agua destilada. Distribuirlo en cantidades de 10 ml, en tubos 150 x 20 mm, con tubos de Durham invertidos (75 x 10 mm). Esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 minutos, pH final 6,8.

NOTA 2: El medio existe comercialmente, en forma deshidratada. Para su preparación se pesa el doble de la cantidad indicada por el fabricante y se siguen las recomendaciones de este.

1.2 CALDO LACTOSA BILIS VERDE BRILLANTE (2%)

Fórmula:

Peptona	10,0 g
Lactosa	10,0 g
Bilis de buey deshidratada	20,0 g
Verde brillante	0,0133 g
Agua destilada	1000 ml

Preparación:

Se disuelven la peptona y la lactosa en 500 ml de agua aproximadamente. Se disuelve la bilis de buey deshidratada en 200 ml de agua destilada y se mezcla con la solución de peptona y lactosa (el pH de la solución será de 7,0 - 7,5). Se añaden 13,3 ml de solución acuosa de verde brillante al 0,1% y se lleva el volumen final hasta 1000 ml de agua destilada.

Se reparten cantidades de 10 ml en cada tubo de ensayo con tubo Durham invertido. Se esterilizan en autoclave a 121°C x 15 min. El pH final deberá estar entre 7,1 y 7,4

ANEXO II

TABLA Nº 1

Indices de NMP y límites de confianza de 95% para varias combinaciones de resultados positivos y negativos, cuando se utilizan 5 tubos inoculados con 10 ml de muestra.

No. de tubos positivos	Indice NMP/100 ml	Límites de Confianza de 95%	
		Inferior	Superior
0	≤ 2,2	0	6
1	2,2	0,1	12,6
2	5,1	0,5	19,2
3	9,2	1,6	29,4
4	16	3,3	52,9
5	≥ 16	8	Infinito

TABLA No.2

Indices de NMP y límites de confianza de 95% para varias combinaciones de resultados positivos y negativos, cuando se utilizan 10 tubos inoculados con 10 ml de muestra.

No. de tubos positivos	Indice NMP/100 ml	Límites de Confianza de 95%	
		Inferior	Superior
0	≤ 1,1	0	3
1	1,1	0,03	5,9
2	2,2	0,26	8,1
3	3,6	0,69	10,6
4	5,1	1,3	13,4
5	6,9	2,1	16,8
6	9,2	3,1	21,1
7	12	4,3	27,1
8	16,1	5,9	36,8
9	23	8,1	59,5
10	≥ 23	13,5	Infinito

COVENIN
3047-93

CATEGORIA
B

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:
IMPRESO EN EL TALLER DE COVENIN



CDU: 644.61.542.5:39
ISBN:980-06-1169-X

Cualquier traducción o reproducción parcial o total **de la presente**
Norma deberá ser autorizada por el Ministerio de Fomento

Descriptores: Método microbiológico, Agua potable