



## Kit de prueba de GEL Unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli* GEL de Aquagenx®

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

#### Descripción general

El Kit GEL EC UFC de Aquagenx® detecta y cuantifica las bacterias *E. coli* (EC) en una muestra de agua de 100 mL. Su límite de detección superior para aguas superficiales y recreativas es de 500 *E. coli* por 100 mL. El kit puede usarse para analizar muestras de agua de 100 mL, pero puede ser difícil contar las colonias de *E. coli* si tienen más de 500 UFC/100 mL.

El medio de crecimiento de EC es un medio de crecimiento en polvo cromogénico patentado con una mezcla de sustrato que detecta  $\beta$ -glucuronidasa. El polvo GEL es una mezcla de materiales gelificantes basada en plantas patentada. Cuando el *E. coli* metaboliza los medios GEL de Aquagenx, el *E. coli* aparece como colonias azules en la muestra. Las colonias tienen la apariencia de pequeños puntos o círculos.

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

**Guía de diluciones:** <https://www.aquagenx.com/dilutions-gel-ec/>









#### Vida útil del medio de crecimiento

El polvo GEL de Aquagenx y el medio de crecimiento de EC permanecen estables hasta tres años después de la fecha de fabricación a 25 grados Celsius. La fecha de vencimiento y el número de lote están impresos en los paquetes de los medios.

#### Almacenamiento del medio de crecimiento

La temperatura de almacenamiento es de 4-25 grados Celsius en un entorno seco. El medio de crecimiento puede almacenarse en un refrigerador. El polvo GEL de Aquagenx y el medio de crecimiento de EC no requieren cadena de frío.

#### Resumen de procedimientos de prueba del Kit GEL EC

Recoja una muestra de 10 mL, añada 90 mL de disolvente	Añada el modo de crecimiento en polvo de EC a la Thio-Bag	Añada el polvo GEL a la bolsa	Vierta la muestra de la Thio-Bag en la bolsa GEL
			
Disuelva y extienda la mezcla de GEL. Observe los pasos 4 y 5.	Cierre por completo la bolsa GEL.	Incube a una temperatura ambiente o en una incubadora.	Cuente las colonias de EC bajo luz ambiental para calcular los resultados de la prueba. Descontamine la muestra
		 Observe el paso 6.	

#### Cómo identificar el cambio de color para las colonias

*E. coli* = colonias azules (pequeños puntos o círculos)

**Criterio de calidad de aguas recreativas de la Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. [EPA]**

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

Fuente: Oficina de Agua de la Agencia Medioambiental de los Estados Unidos, EPA-820-F-12-061, Hoja de datos del criterio de calidad del agua recreativa.

**NOTAS DE PROCEDIMIENTO. VIDEOS DIDÁCTICOS:** <https://www.aquagenx.com/how-to-use-gel-ec/>**1. Prepare el área de trabajo**

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

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

- Use guantes de plástico finos desechables.
- La pastilla blanca de la Thio-Bag es tiosulfato de sodio, que neutraliza el cloro residual de la muestra. No lo saque de la bolsa.
- Rellene una pipeta estéril de 10 mL con una muestra de agua y viértala en la Thio-Bag.

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

- Añada 90 mL de agua sin *E. coli* a la Thio-Bag (hasta 100 mL de la línea de llenado). Registre los detalles de la muestra.
- Opciones del disolvente: 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*.

**4. Añada el medio de crecimiento de EC de Aquagenx a la muestra en la Thio-Bag 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 de prueba.
- Tire hacia abajo del borde dentado del paquete de medio de crecimiento de EC que se encuentra más próximo a las letras "EXP". Vierta el medio de crecimiento en polvo en la Thio-Bag. No toque el medio de crecimiento 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. Prepare una bolsa GEL más grande y añada el polvo GEL Aquagenx**

- Use guantes de plástico finos desechables.
- Etiquete la bolsa GEL más grande o colóquela la etiqueta con el valor del código de barras.
- Sostenga la parte superior de la bolsa GEL con ambas manos, separe el sello que se puede volver a cerrar y sacuda la bolsa para abrirla parcialmente.
- Desgarre el borde dentado del paquete de polvo GEL más grande que se encuentra más próximo a las letras "EXP". Vierta el polvo GEL en el centro de la bolsa GEL. No toque el polvo GEL con los dedos o manos desnudos.
- Disperse una capa fina del polvo por el centro de la bolsa inclinándola y dispersando el polvo con los dedos.

## 6. Vierta la muestra con el medio de crecimiento de EC disuelto de la Thio-Bag en la bolsa GEL Aquagenx

- Vierta rápidamente la muestra completa de la Thio-Bag en la bolsa GEL, pero no la cierre todavía. Extienda INMEDIATAMENTE la bolsa GEL sobre una superficie lisa.
- Use la palma de la mano para comprimir la mezcla RÁPIDA Y FIRMEMENTE hacia la parte inferior de la bolsa. Friccione y presione las aglomeraciones de polvo para ayudar a que se disuelvan. Continúe hasta que la mezcla se convierta en una sustancia gruesa y gelatinosa.
- Cuando el polvo se haya disuelto, extienda la mezcla con un espesor parejo hacia la parte superior de la bolsa.
- Cuando la mezcla se encuentre cerca de la parte superior de la bolsa, cierre la bolsa herméticamente.

## 7. Período y temperaturas de incubación

- Durante el período de incubación, las pruebas GEL pueden producir olor. Para ayudar a controlarlo, extienda las bolsas GEL sobre una superficie lisa en una caja o contenedor cerrado. Mueva las bolsas GEL con cuidado.
- Coloque cada bolsa GEL sobre una superficie plana. No apile más de dos bolsas GEL. Cada bolsa apilada debe ir alineada de extremo a extremo alrededor del perímetro para evitar que la bolsa de arriba se caiga o cuelgue sobre la inferior. Mueva las bolsas con cuidado después del período de incubación.
- La incubación a temperatura ambiente funciona a cualquier temperatura entre 25 y 37 °C para la detección de *E. coli*.
- Debido a que la prueba GEL funciona a temperaturas variables, no se requiere un control de temperatura constante en la incubadora. No obstante, a temperaturas más frías, se recomienda llevar a cabo la incubación a temperaturas constantes si es posible.
- A efectos de cumplimiento normativo, las muestras deben incubarse a  $35\pm0,5$  °C durante 20-24 horas para detectar y cuantificar *E. coli*. Si es posible, la incubación a  $44,5\pm0,5$  °C durante 2-24 horas generará un entorno más limpio y fácil para contar las colonias de *E. coli* cuando se use una muestra de 100 mL.
- La prueba GEL también puede usarse para detectar y cuantificar coliformes termotolerantes (o fecales) si las muestras GEL se incuban a una temperatura de 44,5 °C (entre 44-4 °C) a lo largo de un período de incubación de 20-24 horas. Para este procedimiento se requiere un control de temperatura estricto.

### Periodos de incubación recomendados en condiciones de temperatura ambiente:

35-37 °C:	Incubar durante 20 horas en una superficie lisa
31-34 °C:	Incubar 24-30 horas en una superficie lisa
25-30 °C:	Incubar 40-48 horas en una superficie lisa

### Período de incubación recomendado usando una incubadora

$35\pm0,5$  °C: Incubar 20-24 horas. Cuando apile las bolsas GEL en una incubadora, no apile más de dos bolsas juntas. Asegúrese de que están alineadas con precisión alrededor del perímetro para evitar que la bolsa de arriba quede caiga o cuelgue sobre la de abajo. Retire las bolsas de la incubadora con cuidado después del período de incubación.

## 8. Puntaje de los resultados de la prueba de UFC.

- Después de un período de incubación adecuado, cuente el número de colonias de la bolsa GEL bajo luz ambiental:
  - Las *E. coli* son colonias azules/azules-violetas.
  - Multiplique el número de colonias por 10. Por ejemplo: 28 puntos/colonias x 10 = 280 UFC/100 mL
  - El límite de detección superior de la prueba GEL para aguas superficiales y recreativas de *E. coli* es de 500 UFC/100 mL.

## 9. Descontamine la muestra

- Añada 4 mL de líquido blanqueador (NaOCl) o suficientes pastillas de cloro (hipoclorito de calcio o dicloroisocianurato de sodio) a la bolsa GEL para suministrar alrededor de 200 miligramos de cloro libre.
- Después de treinta minutos, vierta el contenido en un fregadero, inodoro o hueco en el suelo y deseche la bolsa GEL de forma segura.