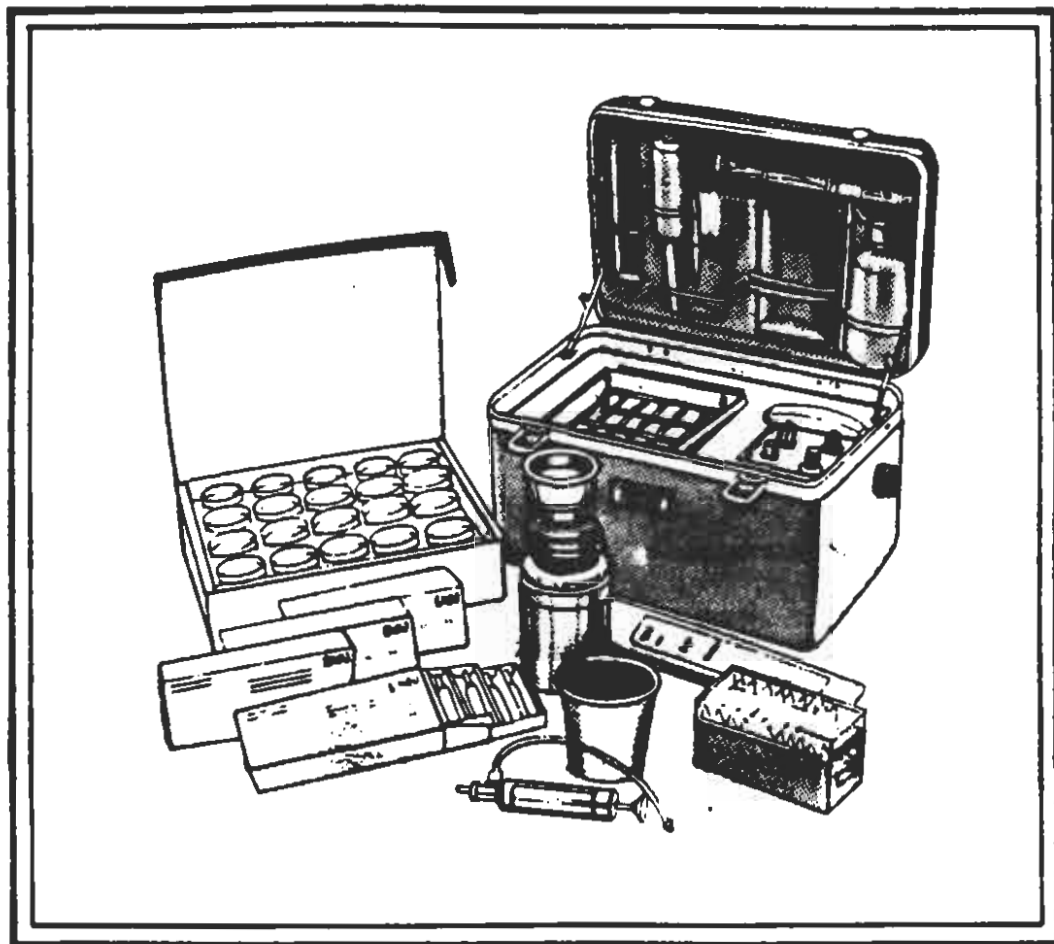


MANUAL PARA ANALISIS BACTERIOLOGICO DE AGUAS NATURALES EN SITUACIONES DE DESASTRE

Método de filtro de membrana

Equipo Portatil



Carmen Vargas de Mayo
Bióloga-Microbióloga



ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

MANUAL PARA ANALISIS BACTERIOLOGICO DE AGUAS NATURALES

EN SITUACIONES DE DESASTRE

METODO DE FILTRO DE MEMBRANA

EQUIPO PORTATIL

Carmen Vargas de Mayo
Bióloga-Microbióloga

Lima-Perú, Enero 1984

Organización Panamericana de la Salud

Programa de Salud Ambiental
Programa de Preparativos para Situaciones de Emergencia
y Coordinación del Socorro en Casos de Desastre

CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. Introducción	1
2. Definición del grupo coliforme total	2
3. Método del filtro de membrana, empleando equipo portátil	2
3.1 Resumen del método	3
3.2 Aplicación	4
3.2.1 Ventajas	4
3.2.2 Limitaciones	4
3.3 Equipo, material y medio de cultivo	6
3.3.1 Equipo y material	6
3.3.2 Medio de cultivo	11
3.4 Muestreo	12
3.5 Procedimiento	13
3.6 Resultado	18
3.7 Recomendaciones sobre vigilancia del agua	20
3.8 Registro de datos	20
4. Referencias bibliográficas	22
5. Texto de las diapositivas	23

1. INTRODUCCION

Una de las medidas de salud ambiental que se deben considerar a raíz de los desastres naturales es el análisis bacteriológico de las fuentes de agua. La contaminación del agua es uno de los principales riesgos para la salud pública asociados con los desastres. Puede causar un aumento en la gastroenteritis, enfermedades diarréicas y otras enfermedades transmitidas por vía hídrica. Esta contaminación suele producirse en la fuente, en la planta de tratamiento, en los sistemas de almacenamiento o en la red de distribución.

Para llevar a cabo el control de la calidad bacteriológica del agua en situaciones de desastre, es necesario contar con técnicas y equipos portátiles, sensibles y de fácil manejo.

Antes de la segunda guerra mundial se comenzó a pensar en la aplicación de filtros de membrana en el examen bacteriológico del agua (recuento de bacterias, determinación de coliformes, aislamiento de patógenos). Alemania y la Unión Soviética fueron los primeros países en aplicar esta técnica, principalmente Alemania, muchos de cuyos laboratorios fueron destruidos por efecto de la guerra.

En 1955 la décima edición de los Standard Methods for Examination of Water, Sewage and Industrial Wastes incluía la técnica como método tentativo en la determinación de coliformes. En las 11a y 12a ediciones de dicha publicación, este método se hizo oficial. Actualmente, la prueba de filtro de membrana es utilizada como un método normalizado para evaluar la calidad sanitaria del agua y definir su potabilidad.

El presente manual tiene por finalidad proporcionar una guía práctica para el análisis bacteriológico, empleando la técnica de filtro de membrana y ha sido preparado como una actividad del componente de Adiestramiento de Profesionales de Saneamiento Ambiental para Situaciones de Desastres del Programa de Preparativos para Situaciones de Emergencia y Coordinación del Socorro en Casos de Desastre de la OPS.

El manual y el juego de diapositivas que lo ilustran pueden solicitarse a:

- Programa de Preparativos para Situaciones de Emergencia y Coordinación del Socorro en Casos de Desastre
Organización Panamericana de la Salud
525 Twenty-third Street, N.W.
Washington, D.C. 20037, Estados Unidos de América

o también a:

- Asesor Subregional para Situaciones de Emergencia
Oficina Sanitaria Panamericana
Casilla 2117
Lima 100, Perú

Existen por lo menos dos firmas que cuentan con equipos portátiles, empleando filtro de membrana. El presente manual utiliza como modelo de práctica un equipo de campo de la firma Millipore. Esto no implica, sin embargo, que la OMS/OPS lo apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos.

DEFINICION DEL GRUPO COLIFORME TOTAL

Cuando se utiliza para su detección la técnica del filtro de membrana (FM) los coliformes pueden ser definidos, según los Standard Methods, como bacilos gram-negativos no esporulados, que producen colonia color rosa a rojo oscuro con un brillo metálico dorado o verde amarillento a $37^{\circ}\text{C}+$ en 18 a 24 horas, con el medio MF-Endo.

METODO DEL FILTRO DE MEMBRANA EMPLEANDO EQUIPO PORTATIL

Esta técnica es muy ventajosa debido a que puede usarse en cualquier lugar, permite examinar volúmenes muy variables de agua y

ofrece un resultado directo de la concentración de bacterias coliformes totales en lugar de un estimado estadístico, como es el caso con la técnica de tubos múltiples.

Ciertos tipos de muestras no pueden ser filtradas debido a la presencia de turbiedad, poblaciones excesivamente altas de bacterias no coliformes o compuestos metálicos pesados. Estas dificultades pueden surgir al examinar muestras de algunas aguas de pozos, reservorios, lagos pequeños, afluentes industriales y afluentes clorados de baja calidad. En muestras turbias con baja concentración de bacterias coliformes es recomendable usar el procedimiento de tubos múltiples.

3.1 Resumen del método

El procedimiento de filtración consiste en pasar con ayuda del vacío la muestra de agua a través de una membrana de celulosa de 0,45 micrones. La limitación en volumen depende también de la presencia de turbiedad. Cuando se trata de aguas contaminadas es necesario diluir previamente las muestras.

Para efectuar la dilución se debe tener en consideración que el número ideal de colonias en el filtro de membrana debe estar entre 20 a 80, para la determinación de coliformes totales. La muestra se filtra a través del filtro de membrana y se coloca debidamente en el soporte de filtración, con ayuda de una válvula de doble vía para vacío.

El filtro se coloca entonces en una placa de Petri que contiene un medio con agar o un cojín impregnado con medio de cultivo MF-Endo.

La placa inoculada se deposita en la incubadora con el lado reticulado hacia abajo y a una temperatura de 37°C durante 18 a 24 horas. El tiempo transcurrido desde la filtración hasta la incubación no debe exceder de 30 minutos.

Todas las colonias rosa a color rojo oscuro con un brillo metálico dorado o verde amarillento son coliformes totales.

3.2 Aplicación

La mayoría de las muestras de agua pueden ser analizadas por los métodos de filtros de membrana, con el equipo portátil.

3.2.1 Ventajas:

- Los resultados son obtenidos más rápidamente, principalmente para bacterias del grupo coliforme.
- Se pueden analizar volúmenes mayores de muestras.
- Los resultados son más precisos que los logrados por la técnica de los tubos múltiples.
- Los equipos y materiales necesarios ocupan menor espacio con relación a la técnica de los tubos múltiples.
- Es ideal para realizar análisis bacteriológicos de la calidad del agua en áreas rurales, donde no existe energía eléctrica ni laboratorios debidamente equipados.

3.2.2 Limitaciones:

- Muestras con elevado número de bacterias no coliformes y bajo número de coliformes no pueden ser examinadas por este método debido a que puede haber supresión de las bacterias del grupo coliforme.
- En las muestras con bajo recuento de coliformes y relativamente gran cantidad de sólidos en suspensión, el crecimiento bacteriano se puede constituir a veces en una película continua sobre la superficie de la membrana, imposibilitando el recuento.
- Algunas muestras con cantidades de cobre o zinc superior a 1 ug/l presentan resultados irregulares para coliforme.

- Existen algunos problemas con relación a calidad de los filtros de membrana tales como:
 - . Presencia de residuos tóxicos del proceso de fabricación
 - . Porosidad irregular
 - . Areas hidrófobas
 - . Líneas de cuadriculado hechas con tinta espesa que impide el crecimiento de las colonias
 - . Líneas del cuadriculado hechas con tintas tóxicas
 - . Presencia de glicerol.

- En cuanto a las almohadillas absorbentes:
 - . Residuos de sulfitos u otras sustancias que inhiben el crecimiento bacteriano.

- En cuanto a la esterilización de los filtros de membrana:
 - . Cuando se hace con óxido de etileno puede permanecer un residuo de este gas que es tóxico para las bacterias.
 - . Al esterilizar en autoclave, si el tiempo y temperatura no fuesen bien controlados, puede haber zonas donde haya alteraciones de porosidad.

- En cuanto a los medio de cultivo:
 - . A veces éstos contienen nutrientes y colorantes de calidad inadecuada.

3.3 Equipos, material y medic. de cultivo

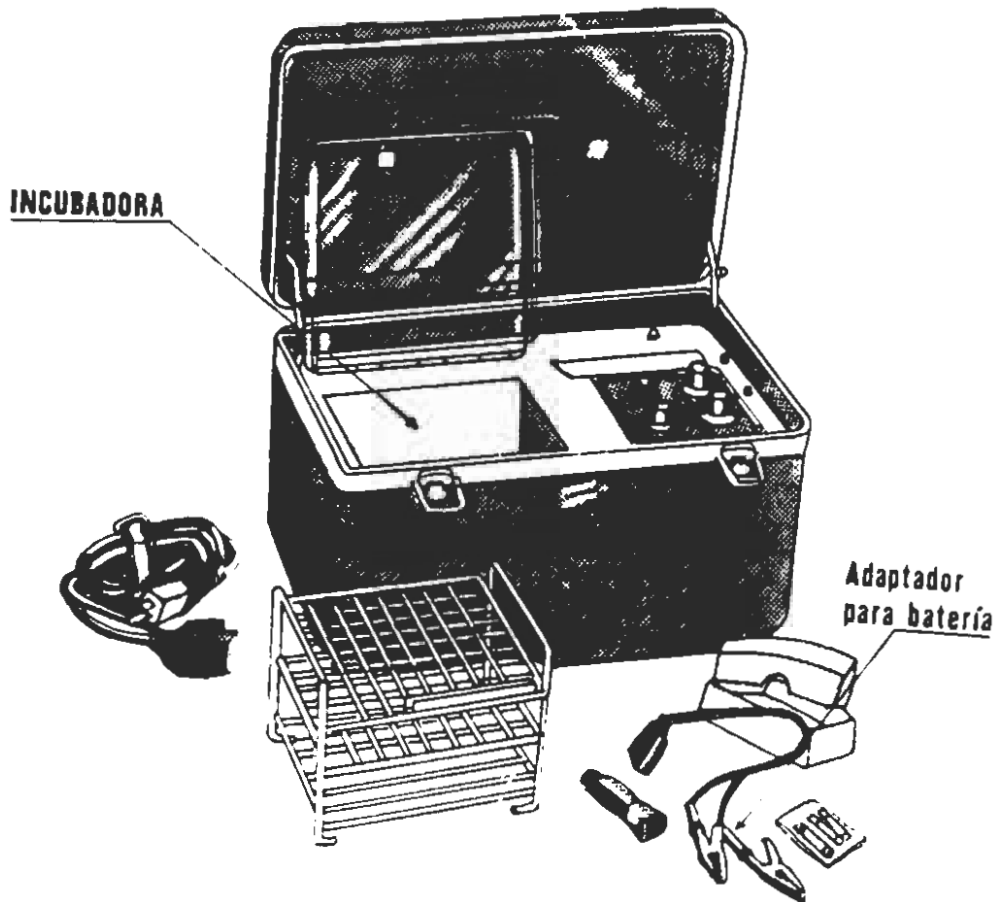


EQUIPO PORTATIL Y ACCESORIOS (Figura 1)

3.3.1 Equipo y material

Incubadora portátil

Con capacidad para 27 muestras que mantiene la temperatura a 37°C. Trabaja a corriente y a batería.



INCUBADORA PORTATIL (Figura 2)

Soporte y portafiltro de acero inoxidable

Deben ser esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos o por ebullición. (Ver Figura 3)



SOPORTE, PORTAFILTRO Y JERINGA (Figura 3)

Filtros de membrana

Deben presentar capacidad de retención de bacterias certificada por el fabricante y velocidad de filtración satisfactoria (los diámetros de poro, de uso bacteriológico, son 0,22 micrones para esterilizar líquidos y 0,45 micrones para retener bacterias).

Si los filtros no han sido esterilizados previamente por el fabricante deberán ser colocados en el autoclave a 121°C durante 10 minutos.

Almohadillas absorbentes para medio de cultivo

Deben ser de papel filtro, libre de sustancias inhibidoras que interfieran en el crecimiento de las colonias y tener un espesor uniforme para permitir la absorción de 1,8 a 2,2 ml del medio de cultivo. Deben ser esterilizados previamente en autoclave a 121°C durante 10 minutos.

Existe la alternativa de sustituir estas almohadillas por el caldo de cultivo al que se le añade agar al 1,5%. Esta preparación debe ser cuidadosamente añadida a las placas de cultivo evitando la formación de burbujas, dejando la superficie lisa y húmeda.

Pinzas

Se seleccionarán de preferencia las que tienen extremos redondos y punta recta. No es conveniente que tengan rugosidades, pues pueden dañar las membranas. Se debe mantener en alcohol y se flamearán antes de ser utilizadas en los análisis.

Placas de Petri

Para la técnica del filtro de membrana se utilizan placas de Petri de 50-60 mm de diámetro y 12 mm de altura. Las placas plásticas que permiten cierre hermético son las más indicadas.



PLACAS DE PETRI (Figura 4)

Vasos de precipitación

Conteniendo ethanol al 95% para esterilizar las pinzas.

Vasos de muestreo

De acero inoxidable.

Frascos de muestreo

Capacidad 100 ml estériles, de vidrio neutro o plástico autoclavable, no tóxico.

Mechero de alcohol

Pipetas

De vidrio o plástico estéril

Material para la preparación de medio de cultivo

Recipiente de vidrio o acero inoxidable.

3.3.2 Medio de cultivo

Caldo MF-Endo

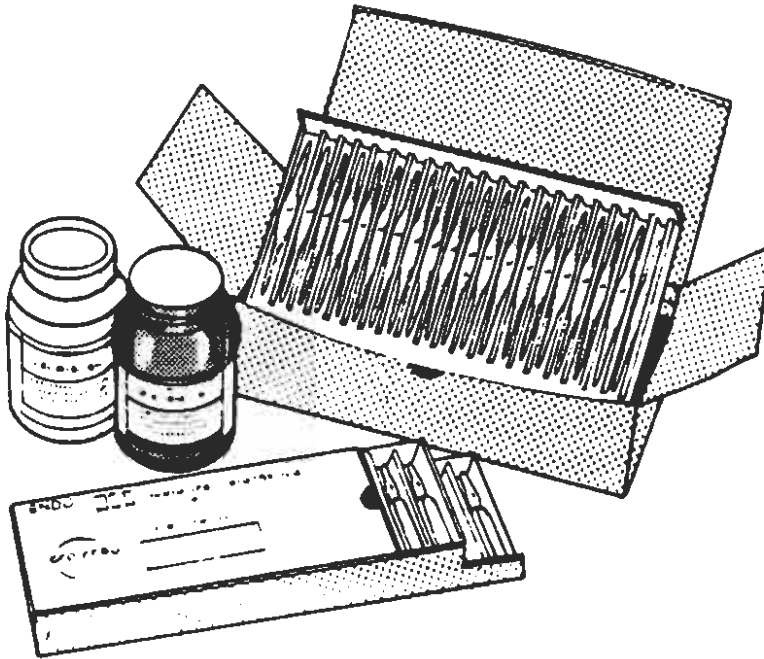
Fórmula

Polipeptona	10,00	g
Triopectona	5,00	g
Triptícase	5,00	g
Extracto de levadura	1,50	g
Lactosa	12,50	g
Cloruro de sodio	5,00	g
Dihidrógeno fosfato potásico	1,375	g
Hidrogenofosfato dipotásico	4,375	g
Lauril sulfato de sodio	0,05	g
Desoxycolato de sodio	0,10	g
Sulfito de sodio	2,10	g
Fucsina básica	1,05	g
Agua destilada	1	ℓ
Ethanol 95%	20	mℓ

Preparación

Disuelva 4,8 gramos del medio en 100 mℓ de agua destilada conteniendo 2 mℓ de ethanol al 95%. Mezcle y caliente el medio hasta el punto de ebullición, retirando constantemente del fuego. Enfríelo a 45°C; no se esteriliza.

Emplee 1,8 a 2,0 ml del medio para cada almohadilla absorbente. Se recomienda preparar el medio el mismo día que se va a analizar. El almacenamiento no debe ser superior a cuatro días y debe mantenerse refrigerado.



MEDIO DE CULTIVO (Figura 5)

3.4 Muestreo

Para la toma de muestras bacteriológicas se deben utilizar frascos estériles con capacidad de 125 ml. La colección de muestras para el análisis bacteriológico del agua en situaciones de desastre se debe realizar en la fuente, ya sea pozo o manantial, en los sistemas de abastecimiento municipal y privados, en cañerías principales y tanques de almacenamiento. Sobre toma de muestras, consultar: Vigilancia de la Calidad del Agua Potable. Organización Mundial de la Salud. Ginebra 1977.

En lagos, reservorios y ríos, la abundancia de bacterias varía con la profundidad y con la hora.

Para recolectar la muestra se sumerge rápidamente el frasco debajo de la superficie del agua, a unos 15 ó 20 cms de profundidad para evitar la recolección de material flotante, y dirigiendo la boca de la botella en sentido contrario al de la corriente, para prevenir el contacto de las manos con la muestra de agua.

Para recolectar la muestra de pozos, se bombea agua del pozo de 5 a 10 minutos y se procede a tomar la muestra en frascos estériles.

Para recolectar la muestra de grifos se debe elegir aquel que no tiene fugas, dejando correr el agua de 2 a 5 minutos.

Debido a la gran influencia que la temperatura ejerce en la población bacteriana, es importante que se mantengan refrigeradas a 4°C, aún después de su llegada al laboratorio, o comenzar el análisis de inmediato, con la ayuda del equipo portátil.

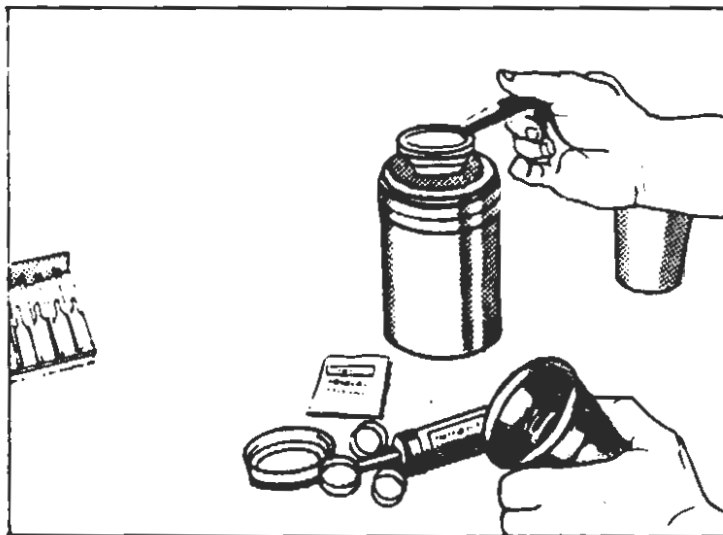
3.5 Procedimiento

El equipo de filtración debe estar esterilizado al comienzo de cada serie de filtraciones. Si es necesario esterilizar el equipo durante el día varias veces, es aconsejable exponer el embudo y el soporte a la luz ultravioleta durante 2 minutos; la esterilización también puede ser efectuada con agua hirviendo, durante 5 minutos. El soporte tiene acoplado un mechero de alcohol, el cual se utiliza para esterilizar el vaso de filtración.

Cuadro No. 1: RANGO DE VOLUMEN DE MUESTRA PARA COLIFORME TOTAL EMPLEANDO EL METODO DE FILTRO DE MEMBRANA

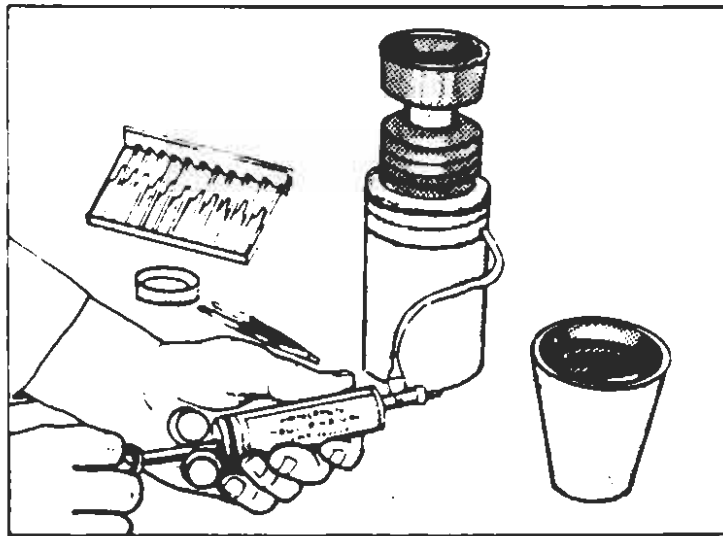
Tipo de muestra	Volumen necesario (ml)				
	100	50	10	1	0,1
Lagos, reservorios	x	x	x		
Pozos, vertientes	x	x	x		
Fuentes superficiales de plantas de agua potable		x	x	x	

- Coloque asépticamente el portafiltro sobre el soporte y deposite el filtro con ayuda de una pinza estéril.
(Ver Figura 6)



FILTRO SOBRE SOPORTE (Figura 6)

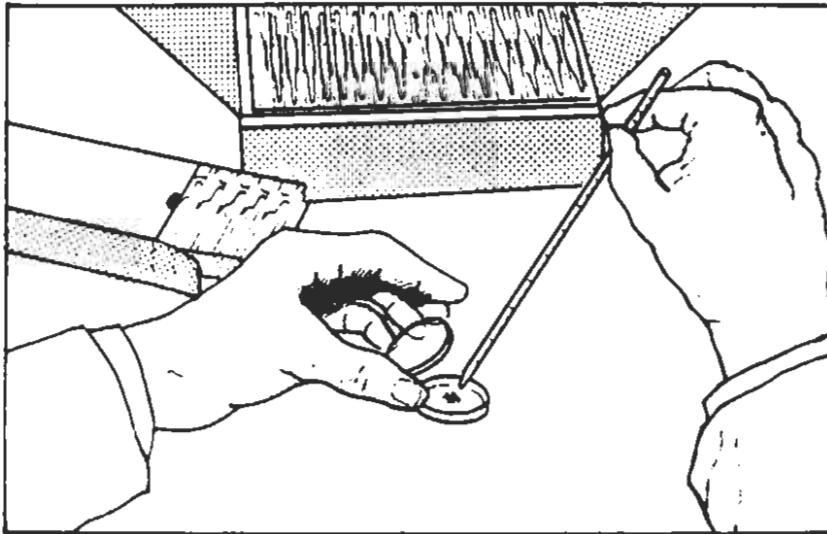
- Coloque cuidadosamente la parte superior o embudo sobre la base del portafiltro y asegúrela firmemente girando el collar azul en sentido horario.
- Sujete la jeringa al aparato de filtración, por medio de un tubo de plástico.
- Para asegurar que no existe contaminación, al comenzar las pruebas someta a filtración unos 50 ml de agua estéril, antes de iniciar la filtración de las muestras.
- Vacíe la muestra en el embudo o recipiente de filtración, accionando la jeringa para dar inicio a la filtración.
(Ver Figura 7)



FILTRACION DE LA MUESTRA (Figura 7)

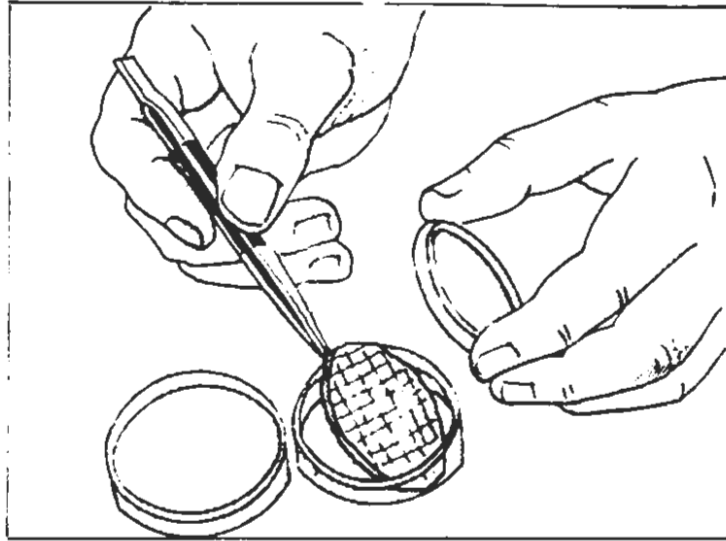
- Filtre la muestra haciéndola pasar a través de la membrana de celulosa de 0,45 micrones.

- Luego de filtrada la muestra, lave el embudo tres veces con volúmenes de 20 a 30 ml de agua de dilución estéril. Desajuste el embudo.
- Agregue el medio de cultivo sobre la almohadilla absorbente a razón de 1,8 a 2,0 ml, por medio de una pipeta estéril. (Ver Figura 8)



AGREGANDO EL MEDIO DE CULTIVO (Figura 8)

- Con una pinza estéril retire la membrana de la unidad de filtración y colóquela con sumo cuidado sobre la placa de agar MF-Endo o almohadilla con caldo MF-Endo. (Ver Figura 9)



FILTRO SOBRE ALMOHADILLA (Figura 9)

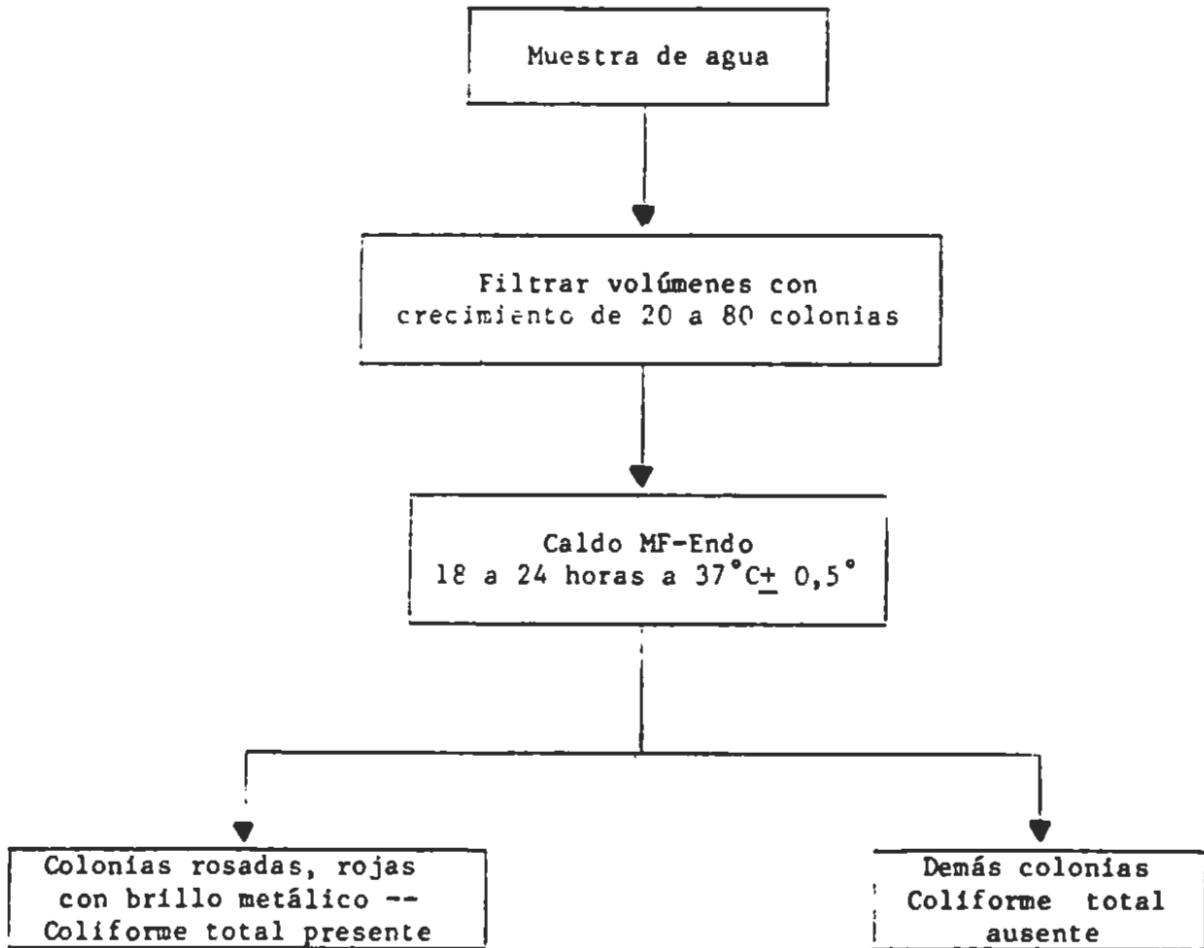
- Es necesario evitar la formación de burbujas de aire en la membrana. Estas se eliminan presionando suavemente los bordes de la membrana con una pinza estéril.
- Incube las muestras con la cuadrícula hacia abajo, durante 18 a 24 horas y a 37°C.
- Cuando los análisis se realizan en áreas rurales, el equipo debe ser conectado previamente a la batería del vehículo para que la incubadora tenga una temperatura constante. Este equipo trabaja a 6 y 12 voltios.
- El tiempo transcurrido desde la filtración hasta la iniciación de la incubación no debe exceder de 30 minutos.
- Todas las colonias rosadas o rojas con brillo metálico son coliformes totales.

3.6 Resultado

- Se procederá a seleccionar aquellas membranas que tienen de 20 a 80 colonias rosadas o rojas con brillo metálico.
- Las colonias son contadas usando un microscopio estereoscópico con 10-15x de aumento y luz fluorescente.
- Para el cálculo de coliforme total, se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{coliforme total contadas/100 ml} = \frac{\text{No. de colonias coliformes contadas}}{\text{Volumen de muestra original filtrada}} \times 100 \text{ ml}$$

DIAGRAMA PARA LA DETECCION DE COLIFORME TOTAL
TECNICA DE FILTRO DE MEMBRANA (Figura 10)



3.7 Recomendaciones sobre vigilancia del agua

La vigilancia de la calidad bacteriológica del agua debe iniciarse inmediatamente después de ocurrido el desastre. Entre las medidas que se deben tener en cuenta para mantener la calidad sanitaria del agua están:

- Análisis diario de cloro residual del agua en el sistema de abastecimiento público.
- Aumento de la presión del agua para contrarrestar la contaminación.
- Protección de los sistemas de abastecimiento, procediendo a limpiar y desinfectar cañerías principales, tanques de almacenamiento y pozos.

3.8 Registro de datos

En el registro de datos se deben considerar los siguientes aspectos:

- Número de muestra
- Fecha y hora de muestreo
- Fecha y hora de análisis
- Punto de muestreo
- Volumen filtrado
- Número de colonias coliformes totales contadas.

Con los datos de volumen filtrado se podrá calcular el número de colonias coliformes totales contadas por 100 ml. El Cuadro No. 2 sirve para el registro de varias muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Assar, W. F. Guía de saneamiento en desastres naturales. Ginebra. Organización Mundial de la Salud, 1971.

American Public Health Association et. al. Methods for the examination of water and wastewater. 15 ed. New York, APHA. 1981.

CETESB. Análisis microbiológicos de aguas. Normalização Técnica Saneamiento Ambiental, NT-08. São Paulo, 1978.

Environmental Protection Agency. Microbiological methods for monitoring the environment: Water and wastewater. Cincinnati. EPA, 1978.

Geldreich, Edwin E. Handbook for evaluating water bacteriological laboratories. EPA-670/9-75-606. Cincinnati, Municipal Environmental Research Laboratory, 1975.

Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 430, Salud ambiental con posterioridad a los desastres naturales, 1982.

Organización Mundial de la Salud. Serie de Monografías No. 63, Vigilancia de la calidad del agua potable. Ginebra, 1977.

Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Manual del curso sobre abastecimiento de agua potable en situaciones de desastre. CEPIS, Lima, 1982.

Vargas de Mayo, Carmen A. Métodos simplificados de análisis microbiológicos de aguas residuales. Documento Técnico No. 12. CEPIS/OPS/OMS, 1983.

TEXTO DE LAS DIAPOSITIVAS

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE COLIFORME TOTAL

Método de Filtro de Membrana Empleando Equipo Portátil

Las medidas de salud ambiental que deben considerarse a raíz de desastres naturales incluyen entre otras, la de realizar el control de la calidad bacteriológica del agua.

El análisis tradicional para la determinación de bacterias coliformes es el de los tubos múltiples de fermentación. Un procedimiento más reciente, con base en la utilización de filtros de membrana está siendo utilizado como método normalizado para evaluar la calidad sanitaria del agua y definir su potabilidad.

Para llevar a cabo el análisis bacteriológico del agua en situaciones de desastre y cuando las facilidades del laboratorio no son adecuadas, se emplea el equipo portátil de filtro de membrana.

- 00 Logotipo OPS
- 01 Título
- 02 Equipo portátil de filtro de membrana

El equipo portátil de filtro de membrana para el análisis bacteriológico del agua contiene: una incubadora portátil que trabaja a corriente y a batería con capacidad para 27 muestras, un soporte y portafiltro de acero inoxidable, una jeringa para producir vacío y un vaso de acero inoxidable.

Otros componentes básicos del equipo

Además del equipo, es necesario contar con otros componentes básicos como placas de Petri, pipetas, medio de cultivo, filtros de membrana, pinzas y almohadillas absorbentes o "pads".

Elementos necesarios para preparar el medio de cultivo

Para la preparación del medio de cultivo se requiere una balanza de platillos, agua destilada estéril, ethanol al 95%, probeta, vaso y espátula estériles. El medio de cultivo para coliforme total es el caldo MF-Endo.

Pesaje del medio de cultivo

Proceda a pesar la cantidad necesaria del medio, caldo MF-Endo deshidratado.

Añadiendo agua destilada estéril al medio de cultivo

Agregue posteriormente agua destilada estéril, la cual contiene ethanol al 95%. Es conveniente preparar sólo la cantidad necesaria del medio a ser utilizado debido a que una vez preparado, su almacenamiento se limita a 96 horas.

Disolviendo el medio de cultivo

El medio de cultivo se disuelve por calentamiento, acercando y alejando del fuego. El calentamiento se lleva a cabo hasta alcanzar el punto de ebullición.

08 Armando la unidad de filtración

Proceda a armar el sistema de filtración con ayuda de la pinza, la cual se introduce en la ranura de la unidad.

09 Humedeciendo el mechero de la unidad de filtración

Con ayuda de la tapa del frasco de ethanol humedezca el mechero, el cual está acoplado a la base de la unidad de filtración.

10 Esterilizando la unidad de filtración

Este mechero sirve para esterilizar la unidad de filtración antes de proceder a realizar el análisis. Tanto el portafiltro como el vaso de muestreo deben ser debidamente esterilizados durante 15 minutos.

11 Colocando la unidad de filtración sobre vaso de muestreo

Luego de esterilizada la unidad, coloque la base de la unidad de filtración sobre el vaso de muestreo.

12 Colocación del filtro de membrana en portafiltro

Sobre el portafiltro coloque el filtro de membrana con ayuda de una pinza estéril.

13 Asegurando el portafiltro

Coloque cuidadosamente la parte superior o embudo, sobre la base del portafiltro, asegurandola firmemente y haciendo girar el collar azul en sentido horario.

Colocación de almohadilla absorbente dentro de la placa de Petri

Con el distribuidor de "pads" coloque la almohadilla absorbente o "pad" dentro de la placa de Petri.

Adicionando el medio de cultivo a la almohadilla absorbente

Agregue el medio de cultivo sobre la almohadilla a razón de 1,8 a 2,0 ml.

Filtración previa de agua estéril

Para asegurar que no exista contaminación, al inicio de la prueba se someten a filtración unos 50 ml de agua estéril.

Filtrando la muestra

Previa homogenización de la muestra, proceda a filtrarla.

Absorbiendo la muestra con la jeringa

Con la ayuda de la jeringa se da inicio a la filtración y la muestra pasa a través de la membrana de celulosa de 0,45 micrones.

Colocación de la membrana en la placa de Petri

Desajuste el embudo y con una pinza estéril retire la membrana de la unidad de filtración y colóquela con sumo cuidado sobre la almohadilla con medio MF-Endo.

Las muestras son colocadas en la incubadora

La muestra se debe incubar con la cuadrícula hacia abajo durante 18 a 24 horas y a 37°C.

21 **El equipo instalado en el laboratorio**

Aquí está el equipo instalado en el laboratorio. Las muestras se encuentran en la incubadora que forma parte del equipo portátil.

22 **Conectando incubadora a una extensión**

Cuando los análisis se realizan en áreas rurales, el equipo debe ser conectado previamente a la batería de una unidad móvil.

23 **Acoplando extensión a los bornes de la batería de la unidad móvil**

Para ello el sistema cuenta con unas pinzas las cuales irán acopladas a los bornes de la batería.

24 **Equipo ya instalado dentro de la unidad móvil**

Con el equipo ya instalado en la unidad móvil se continúa con la incubación de las muestras.

25 **Incubación en proceso**

26 **Colonias típicas de coliforme total**

Luego de las 18-24 horas proceda a observar las colonias típicas de coliforme total. Estas son rosadas o rojas con brillo metálico. Para el cálculo de los resultados seleccione aquellas membranas que tienen de 20 a 80 colonias rosadas con brillo metálico.

27 **Fórmula para calcular resultados**

La expresión de los resultados es la siguiente:

$$\text{No. coliforme total contadas/100 ml} = \frac{\text{No. de colonias coliformes contadas}}{\text{Volumen de muestra original filtrada}} \times 100 \text{ ml}$$

28 **Créditos**



**Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria
y Ciencias del Ambiente**
Lima, Perú