

	PAGINA		PAGINA
Técnico del Instituto Nacional de Industria por la que se convoca a los aspirantes admitidos para realizar el primer ejercicio.	6487	y excluidos para tomar parte en los exámenes de Guías y Guías-Intérpretes provinciales de Santa Cruz de Tenerife.	6490
MINISTERIO DEL AIRE		MINISTERIO DE LA VIVIENDA	
Decreto 610/1975, de 13 de marzo, por el que se promueve al empleo de Interventor general del Aire al Interventor del Aire don Alfredo Blasco González.	6484	Orden de 14 de marzo de 1975 por la que se aprueba la norma tecnológica de la edificación NTE-PTP/1975, «Particiones: Tabiques de placas y paneles».	6475
MINISTERIO DE INFORMACION Y TURISMO		ORGANIZACION SINDICAL	
Orden de 17 de marzo de 1975 por la que se hace pública la lista definitiva de los aspirantes admitidos y excluidos, composición del Tribunal y fecha del comienzo de los ejercicios para la habilitación de Guías y Guías-Intérpretes provinciales de Burgos.	6480	Orden de 16 de marzo de 1975 por la que cesa don José Luis de Azcárraga Bustamante como Presidente del Sindicato Nacional de la Marina Mercante.	6484
Orden de 17 de marzo de 1975 por la que se hace pública la lista provisional de los aspirantes admitidos		Orden de 18 de marzo de 1975 por la que se nombra a don Joaquín Fernández López Presidente del Sindicato Nacional de la Marina Mercante.	6484

I. Disposiciones generales

MINISTERIO DE LA GOBERNACION

6408

DECRETO 607/1975, de 13 de marzo, por el que se regulan las especificaciones microbiológicas a las que han de ajustarse las aguas minero-medicinales envasadas.

El Decreto tres mil sesenta y nueve/mil novecientos setenta y dos, de veintiséis de octubre, por el que se regulan las aguas de bebidas envasadas, aunque es de aplicación parcialmente a las aguas minero-medicinales, en virtud de lo dispuesto en la disposición transitoria primera, no es aplicable en su artículo tercero, que regula las características del agua potable de manantial, entre las que se incluyen las microbiológicas.

Por tal razón, una vez realizados por la Dirección General de Sanidad los estudios analíticos oportunos, se considera necesario establecer las exigencias microbiológicas a las que deben ajustarse las aguas minero-medicinales envasadas, reguladas por el Decreto-ley de veinticinco de abril de mil novecientos veintiocho.

En su virtud, a propuesta del Ministro de la Gobernación, oída la Organización Sindical, con el informe favorable de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria y previa deliberación del Consejo de Ministros en su reunión del día siete de marzo de mil novecientos setenta y cinco,

DISPONGO:

Artículo primero.—Las aguas minero-medicinales envasadas deberán cumplir las siguientes especificaciones microbiológicas:

1. Parásitos y microorganismos patógenos	Ausencia total.
2. Recuento total de mohos	Ausencia en 100 ml.
3. Recuento de coliformes	Ausencia en 100 ml.
4. «Escherichia coli»	Ausencia en 100 ml.
5. Recuento de estreptococos (Estreptococo D de Lancefield)	Ausencia en 100 ml.
6. Recuento de clostridium sulfito reductores	Ausencia en 100 ml.
7. Pseudomona aeruginosa	Ausencia en 100 ml.

Artículo segundo.—Uno. Desde la entrada en vigor del presente Decreto todas las Empresas que comercialicen aguas minero-medicinales procederán a estudiar la dinámica y distribución de la flora autotrófica de los manantiales, en el punto de emergencia, durante un año completo, para determinar en dicho período de tiempo las variaciones estacionales y climatológicas o de otro tipo que puedan afectarlas.

Dos. El estudio realizado deberá presentarse, a su terminación, en la Dirección General de Sanidad, a efectos de constancia en el expediente de registro y como base de posteriores comprobaciones.

Artículo tercero.—Teniendo en cuenta que la multiplicación de la flora autotrófica es un hecho normal, los controles que se hayan de realizar en muestras envasadas no se referirán a la cantidad de gérmenes presentes en el momento del análisis, sino a la calidad de la flora encontrada. Las investigaciones que se practiquen a tal fin se propondrán la comprobación de que sólo está presente la flora que se corresponde de manera específica con el tipo de mineralización del agua estudiada y que ésta carece, por consiguiente, de cualquier otra, cuya presencia pueda deberse a contaminación procedente de los envases o de las operaciones de llenado.

Artículo cuarto.—Los métodos analíticos aplicables a la valoración de las especificaciones contenidas en el artículo primero serán los reseñados en el anexo I.

Artículo quinto.—Las diferencias que se produzcan en la interpretación de los análisis microbiológicos, efectuados por distintos laboratorios, serán resueltas con base en el dictamen de los servicios analíticos centrales de la Dirección General de Sanidad (Centro Nacional de Alimentación y Nutrición y Escuela Nacional de Sanidad).

DISPOSICION FINAL

El presente Decreto entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

DISPOSICION DEROGATORIA

Quedan derogadas cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan al contenido del presente Decreto.

Así lo dispongo por el presente Decreto, dado en Madrid a trece de marzo de mil novecientos setenta y cinco.

FRANCISCO FRANCO

El Ministro de la Gobernación,
JOSE GARCIA HERNANDEZ

ANEXO I

Normas técnicas de análisis microbiológico de aguas de bebida

1. CUIDADOS TECNICOS SOBRE LA TOMA DE MUESTRAS Y AGON-DICIONAMIENTO DE LA MISMA

Es imprescindible efectuar la toma de tal modo que se eviten en el acto de la misma contaminaciones extrañas al agua. Los recipientes que van a contener la muestra deben estar estériles por la acción del calor en autoclave a 120° C, durante treinta minutos como mínimo.

El agua tiene una acción autodepuradora más acusada cuando su contenido en sales es menor. La muestra debe situarse en ambiente frío, + 2° C + 4° C, y procederse al análisis bacteriológico.

Si se sospecha la presencia de cloro en el agua se debe contrarrestar la acción del mismo colocando en los frascos tomamuestras hiposulfito sódico al esterilizarlos (0,25 mililitros de la solución al 10 por 100 para frascos de 250 mililitros). Los frascos deben tener una capacidad de 250 mililitros.

Las muestras de aguas de consumo envasadas serán siempre envases cerrados del comercio.

1.1. Material.

El material de vidrio debe esterilizarse al horno Pasteur 180° C durante una hora, sin llegar a carbonizar el algodón gaseoso utilizado en el acondicionamiento (tapones).

Es necesario disponer de:

- Pipetas de 1 mililitro terminales, graduadas en décimas.
- Pipetas de 5 mililitros terminales, graduadas en mililitros.
- Pipetas de 10 mililitros terminales, graduadas en mililitros.
- Tubos de ensayo de 16 milímetros de ancho por 16 centímetros de altura.
- Tubos de ensayo de 22 milímetros de ancho por 22 centímetros de altura.
- Placas Petri con un diámetro útil de 9 centímetros.
- Placas Petri con un diámetro útil de 6 centímetros.
- Las placas Petri se envuelven en hoja de papel de filtro o papel de aluminio.
- Las pipetas se montan en tubos.

Si el papel de filtro y el algodón empleado en el acondicionamiento del material presenta signos de carbonización, no debe utilizarse ese material, pues los productos resultantes de la carbonización tienen un fuerte poder antiséptico.

Debe controlarse la esterilización del material con la inclusión del papel indicador.

2. RECUENTO TOTAL DE COLONIAS

2.1. Medio de cultivo.

Peptona bacteriológica	6 gramos.
Extracto de levadura	3 gramos.
Agar	15 gramos.
Agua destilada	1.000 mililitros.

Se disuelve la peptona y el extracto de levadura en el agua destilada, por calentamiento suave. Se añade el agar. Se lleva al autoclave durante 20 minutos a 120° C. Cuando el medio se saca del autoclave y está a una temperatura aproximada de 50° C, se ajusta el pH a 7,2. Se reparte en tubos de 22 por 22, a razón de 15 ml. Se llevan al autoclave quince minutos a 115° C. El pH final del medio debe ser próximo a siete. Se conservará de preferencia en refrigerador (+ 4° C a + 8° C), preparándose la cantidad suficiente para un mes.

Este medio es fundamental para el recuento de colonias y, aun cuando pueda utilizarse agar nutriente deshidratado, que suministran diferentes casas comerciales, debe siempre prepararse en el laboratorio para controlar la calidad de los medios comerciales que se utilicen.

2.2. Técnicas.

a) Se utilizan placas Petri de 90 milímetros de diámetro, lavadas y estériles.

b) Dos placas reciben cada una un mililitro de agua a analizar. Otras dos, un mililitro de agua diluida al 1/10 y accidentalmente, otras series de dos, con un mililitro de diluciones al 1/100 y 1/1.000.

El número de diluciones depende de la riqueza de la población microbiana descubierta en el curso de análisis anteriores.

Sólo se emplearán dos placas de Petri inoculadas con un mililitro para las aguas tratadas con antisépticos y para las no tratadas que contengan muy escasa población microbiana.

c) Las placas utilizables para el recuento son aquellas que tengan, después de incubación, en el momento de lectura, entre cero colonias y 300 como máximo.

La dilución de las aguas para recuento, cuando sea preciso realizarla, se hará del siguiente modo. No es aconsejable la utilización de agua destilada, en determinadas circunstancias puede tener poder esterilizante; por ello debe emplearse la solución de Ringer como líquido diluyente y cuya composición es la siguiente:

Cloruro de sodio	9 gramos.
Cloruro de potasio	0,42 gramos.
Cloruro de calcio	0,48 gramos.
Bicarbonato de sodio	0,2 gramos.
Agua destilada (sobre cristal)	1.000 ml.

Un volumen de esta solución es acondicionado a tres volúmenes de agua destilada. La solución así obtenida se reparte en matraces y se esteriliza en autoclave durante veinte minutos a 120° C.

d) Se funde en baño María hirviendo el número suficiente de tubos de agar común (descrito en 2.1). Se deja enfriar a 45° C. Se sacan del recipiente y exteriormente se secan con un paño adecuado. Se vierte asépticamente el contenido de un tubo en cada placa. Agitar suavemente por movimiento circular para asegurar una mezcla homogénea del agua y del agar, sin hacer burbujas y sin mojar los bordes de la placa. El medio debe incorporarse antes de diez minutos de haber colocado el agua en las placas de Petri.

Se deja enfriar el medio en superficie horizontal.

Se incuban las placas Petri, una de cada serie (agua pura o diluida), en estufa a 37° C. El resto, en estufa a 20-22° C.

Las placas en incubación deben permanecer con la tapa hacia abajo y en oscuridad.

e) El recuento de colonias se hace a las veinticuatro horas (± una hora) en las placas incubadas a 37° C; a los cinco días, en las incubadas a 20-22° C. Se utilizarán para el recuento aquellas placas que tengan como máximo hasta 300 colonias.

2.3. Expresión de los resultados.

Se anotará:

Número de colonias, después de veinticuatro horas, a 37° C, por ml.

Número de colonias, después de cinco días, a 20-22° C, por ml.

Los procedimientos de recuento de colonias por cultivo en medio sólido, no permiten afirmar que una colonia proviene de la multiplicación de una sola célula bacteriana, una deficiente homogeneización durante la siembra, o la presencia de gérmenes reunidos en el mismo punto (estafilococos), o la casualidad, darán una sola colonia, siendo las cifras reales superiores. Los anaerobios estrictos no son capaces de desarrollarse en este medio, así como algunos aerobios saprofitos de las aguas.

El recuento total de bacterias en el punto de emergencia no alcanza la importancia que se le atribuía antiguamente, aunque nos proporciona indicaciones útiles sobre el grado de protección de las aguas subterráneas. Un sólo recuento es de escaso valor; los exámenes deben repartirse en las diferentes épocas del año. Una cantidad de colonias sensiblemente constante nos indicará la existencia de un buen périmetro de protección.

3. COLIMETRÍA

La colimetría comprende dos procesos técnicos:

- a) Recuento de coliformes.
- b) Identificación de «*Escherichia coli*».

Se entienden por coliformes aquellos gérmenes en los que, «a priori», se tiene en cuenta una sola propiedad bioquímica importante, pero no característica, como es la fermentación de la lactosa.

La taxonomía de las enterobacteriaceas sufre modificaciones a tenor de los descubrimientos científicos; en el momento actual es imposible mantener ese criterio, pues es preciso tener en cuenta la existencia de coliformes no capaces de fermentar en la lactosa.

La colimetría de un agua tiende a descubrir y numerar el «*Escherichia coli*» y aquellos gérmenes pertenecientes a los géneros «*Klebsiella*», «*Citrobacter*» y «*Enterobacter*».

Los pertenecientes a estos tres géneros se clasifican como coliformes.

3.1. Colimetría en medios líquidos.

3.2. Método indicativo.

Se describe en estas normas solamente la técnica indicativa, que utiliza un medio de cultivo lactosado con campana de fermentación «Durham», como detector de fermentación de la lactosa y un indicador de pH, púrpura de bromocresol.

Se prescinde de los métodos selectivos que llevan incorporadas sustancias inhibitorias que pueden inhibir y dificultar la colimetría.

3.3. Método de cultivo.

Caldo lactosado:

- a) Concentrado.

Extracto de carne de buey	6 gramos.
Peptona bacteriológica	10 gramos.
Lactosa	10 gramos.
Púrpura de bromocresol al 0,5 por 100	4 ml.
Agua destilada	1.000 ml.

Se disuelven los componentes por calentamiento. Se ajusta el pH a 6,7. Se reparte en cantidad de 10 c.c. en tubos de 220/22 milímetros, provistos de campana de gas. Se esteriliza en autoclave veinte minutos a 120° C.

b) Simple.

Extracto de carne de buey	3 gramos.
Peptona bacteriológica	5 gramos.
Lactosa	5 gramos.
Púrpura de bromocresol al 0,5 por 100	4 ml.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calentamiento. Ajustar pH a 6,7, repartir a 10 ml. en tubos de 160/18 milímetros, provistos de campana de fermentación. Si no se dispone de estos ingredientes básicos pueden utilizarse medios deshidratados de los que se encuentran en el comercio, con arreglo a las siguientes especificaciones:

Inóculo Mililitros	Vol. del medio en el tubo Mililitros	Vol del medio con inóculo Mililitros	Cantidad de medio deshidratado por 1.000 ml. Gramos
1	10	11	13
10	10	20	26
50	50	100	26

3.4. Técnica.

Análisis presuntivo.

Se sembrará por cada muestra de agua:

Un tubo con 50 ml. de agua en 50 ml. de medio concentrado.
Cinco tubos con 10 ml. de agua en 10 ml. de medio concentrado.

Cinco tubos con 1 ml. de agua en 10 ml. de medio simple.

Para cada siembra se utilizarán pipetas diferentes.

Los medios sembrados se colocarán en estufa a 30° C ($\pm 1^\circ$ C) durante cuarenta y ocho horas.

Todos aquellos tubos en los que esté fermentada la lactosa con apreciable producción de gas se considerarán que pueden tener coliformes.

Para valorar su número, véase a continuación la tabla número 1, en la que se efectúa el cálculo del índice NMP (número más probable) en 100 ml. de agua.

Los resultados de los cultivos anteriores son sólo presuntivos. Existen falsas reacciones debidas a gémenes de los géneros «Bacillus» y «Clostridium», que pueden fermentar la lactosa con producción de gases.

En los tubos positivos es preciso identificar la presencia de «Escherichia coli» o de coliformes.

3.5. Análisis de confirmación.

El aislamiento e identificación constituye la técnica más irrepachable para obtener resultados netos.

Medio Agar (Agar, de Teague Levine).

Peptona bacteriológica	10 gramos
Lactosa	10 gramos.
Fosfato bipotásico	2 gramos.
Agar	15 gramos.
Eosina amarillenta	0,4 gramos
Azul de metileno	0,065 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver los ingredientes por calentamiento suave en el agua. Ajustar pH a 7,2; repartir 20 c.c. en tubos de 220 por 22 milímetros. Llevar al autoclave veinte minutos a 120° C.

3.6. Técnica.

Se funde el medio en baño María hirviendo. Se agita hasta aparición de coloración púrpura oscura. Se vierte en una

caja de Petri de nueve centímetros. Se seca en estufa a 37° con tapa abierta.

Los tubos de caldo lactosado sospechosos se agitan para homogeneizar. Se toma un asa de cultivo que se disemina sobre el medio de Teague Levine.

Se incuba a 30° C durante veinticuatro a cuarenta y ocho horas.

El «Escherichia coli» y algunos «Citrobacter» dan en este medio colonias planas coloreadas en violeta oscuro, con un reflejo metálico característico. «Klebsiellas» y «Enterobacter» suelen dar colonias rosadas con un pequeño centro azulado, mucosas y convexas.

Las no fermentadoras de lactosa dan colonias incoloras.

3.7. Identificación de colonias.

a) Resembrar las colonias de aspectos diferentes en medio de Kligler estria y picadura, incubar a 37° C veinticuatro horas.

b) Comprobar la pureza de la cepa obtenida en Kligler, por tinción de Gram. Observación de movilidad en microscopía.

c) Sembrar en medio de Ferguson Stuar para comprobar indol y ureasa, a partir del medio de Kligler.

d) Sembrar en medio de Simmons para evidenciar la utilización del citrato de sodio a partir del medio de Kligler.

Siembra en medio de Ferguson Stuar:

Composición del medio Ferguson Stuar.

L-Triptofano	0,3 gramos.
PO ₄ KH ₂	0,1 gramos.
PO ₄ K ₂ H	0,1 gramos.
ClNa	0,5 gramos.
Urea	2 gramos.
Alcohol de 95°	2 ml.
Rojo de fenol al 1 por 100	0,25 ml.
Agua destilada	100 ml.

Después de disolución se filtra por bujía esterilizante. Este medio se conserva en tubos indefinidamente, cuando se mantiene congelado (congelador de frigorífico). Fúndase al baño María a 60° C, con objeto de disolver correctamente sus componentes.

Sobre 1 ml. de este medio puesto en tubo de hemólisis se emulsiona el contenido de cultivo de un asa de platino recogida de medio de Kligler.

Se incuba a 37° C veinticuatro horas.

La aparición de un color rojo guinda demuestra la presencia de ureasa positiva.

A este tubo se incorporan seis gotas de reactivo de Kovacs; la presencia de indol se traduce por una coloración rojo cereza en el anillo superior.

Reactivo de Kovacs:

Paradimetil amino-benzaldehído	5 gramos.
Alcohol amílico	75 ml.
Acido clorhídrico puro	25 ml.

Medio de Simmons (citrato):

Sulfato de magnesio	0,2 gramos.
Fosfato monoamónico	1 gramo.
Fosfato bipotásico	1 gramo.
Citrato de sodio	2 gramos.
ClNa	5 gramos.
Azul de bromotimol	0,08 gramos.
Agar en polvo	15 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calentamiento. Ajustar pH a 6,8. Distribuir alrededor de 3 ml. de medio en tubos de 16 centímetros. Esterilizar a 120° C veinte minutos. Dejar enfriar en posición ligeramente inclinada para lograr una pequeña superficie de siembra. Es necesario utilizar tubos de vidrio nuevos; si han servido para otros medios de cultivo deben tratarse con mezcla sulfocrómica y después lavarse con agua destilada. Pequeñas trazas de nutrientes en tubos usados pueden falsear los resultados de esta prueba. Este medio lo suministran Difco y Oxoid, deshidratado.

A partir de un cultivo en medio sólido de Kligler, se siembra en medio de Simmons. El cultivo utilizado para la siembra debe ser de la parte superior de la estria, sin tocar el medio donde está, con el fin de no retirar con el asa nutrientes que puedan falsear el resultado en el medio de Simmons.

La siembra se incuba veinticuatro horas a 37° C.

Un resultado negativo se manifiesta por no haber alteración alguna en la coloración verde del medio de cultivo en el sitio de siembra. Un resultado positivo se traduce en la aparición de un color azul más o menos intenso en el sitio de la siembra del medio.

3.8. Criterio de identificación de «*Escherichia coli*» fecal.

Fermentación de lactosa con ácido y gases.

SH ₂	Negativo.
Indol	Positivo.

Colonias de Teague Levine con reflejo metálico.
Medio de Simmons (citrato), ausencia de crecimiento.
Microscopía. Bacilos Gram negativos móviles.

En la tabla número 2 pueden consultarse otras reacciones características en enterobacteriáceas.

3.9. Colimetría por filtración sobre membrana.

Actualmente la técnica de filtración sobre membrana es recomendable en exámenes rutinarios de aguas.

Tiene ventajas y limitaciones en su empleo que deben conocerse.

Ventajas:

Tiene mayor grado de precisión.

Permite el examen de mayores volúmenes de muestra.

Se obtienen resultados definitivos en menos tiempo que con el procedimiento de los tubos.

Permite la filtración de muestra en el campo y traslado de las membranas al laboratorio en medios de conservación.

Es de utilidad en situaciones de emergencia, por informar en breve tiempo y con ello poder aplicarse los tratamientos correctivos.

Es útil en las aguas habitualmente poco contaminadas.

Está muy indicado en las aguas fuertemente mineralizadas, que provocan falsas reacciones en la colimetría en medios líquidos.

Limitaciones:

En aguas turbias o no, con algas o plancton, se obturan rápidamente los filtros, impidiendo la filtración de volúmenes representativos.

Estas mismas sustancias, retenidas por la membrana, interfieren en el desarrollo de las colonias características de coliformes. Defectos en las membranas, pequeñas fisuras, dan resultados falsos.

Una técnica incorrecta proporciona resultados malos.

No detecta la formación de gas de la lactosa.

Pueden utilizarse unidades de filtración correspondientes a distintos tipos de Galenkap, Millipore, etc. El fundamento del método consiste en hacer pasar una cantidad determinada de agua a través de una membrana cuyo tamaño de poros es inferior al de los microorganismos que se trata de investigar, quedando, por consiguiente, retenidos en la superficie de dicha membrana.

La membrana es después depositada sobre un medio de cultivo adecuado.

3.10. Material.

Los frascos para toma de muestras del agua no difieren del tipo de los empleados para efectuar la colimetría en tubo.

Placas Petri:

Pueden ser de vidrio (borosilicato o grado equivalente), plástico o aluminio. Las placas Petri de vidrio o aluminio son susceptibles de esterilización al autoclave. Las placas Petri de plástico deben esterilizarse por óxido de etileno, radiaciones ultravioletas o alcohol etílico. Debe comprobarse que las placas Petri queden libres de efecto residual del método de esterilización.

3.11. Membranas.

Se deben usar aquellas membranas que ofrezcan garantías en cuanto a su capacidad de retención de bacterias, estabilidad, ausencia de sustancias inhibitorias de crecimiento y satisfactoria velocidad de filtración, siendo las reticuladas las más recomendables, con diámetro de poros de 0,45-0,50 micras.

Millipore HA; Sartorius C⁵; Gelman AMG.

Debe esterilizarse al autoclave durante diez minutos a 120° C, acompañadas de sus correspondientes discos absorbentes de soporte. Para ello se introducen, en grupos de 10 unidades, en cajas Petri normales de 10 centímetros, o bien envolviéndolas en papel grueso de envoltura

3.12. Medio de cultivo.

Chapman T. T. C.

Agar base:

Extracto de carne	5 gramos.
Peptona bacteriológica	10 gramos.
Lactosa	20 gramos.
Extracto de levadura	6 gramos.
Azul de bromotimol (sol. al 1 por 100)	5 ml.
Agar	20 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Se disuelven los ingredientes por calentamiento.

Se ajusta al pH a 7,2. Se reparte en matraces a razón de 100 ml.

Se esteriliza en autoclave durante veinte minutos a 120° C.

En el momento de su empleo se funde a baño María hirviente y a cada matraz se añade 5 ml. de trifetil-tetrazolium y 5 ml. de tergitol (3.13 y 3.14).

Se mezcla bien el agar base con estas soluciones, sin formar burbujas. Se vierte en placas Petri de 60 milímetros. El espesor del medio en las placas debe ser de 5 milímetros. Las placas con medio pueden conservarse a + 4° C + 6° C, durante ocho días. En el momento de su empleo se secan las placas en estufa a 37°, según método habitual.

3.13. Solución de trifetil-tetrazolium.

Cloruro o bromuro de 2, 3, 5 trifetil-tetrazolium	0,05 gramos.
Agua destilada	100 ml.

Se esteriliza en autoclave durante veinte minutos a 120° C.

3.14. Solución de tergitol.

Tergitol 7	0,2 gramos.
Agua destilada	100 ml.

Esta solución no es necesario esterilizarla.

3.15. Unidad de filtración.

Consiste en un embudo sin costura que se fija en un receptáculo provisto de una capa porosa, que soportará el filtro membrana. El embudo puede fijarse al receptáculo mediante un dispositivo de cierre a bayoneta o mediante rosca o pinzas, según los distintos modelos. El material de construcción puede ser de vidrio, aluminio o acero inoxidable u otro cualquier material. La esterilización de embudo y receptáculo debe hacerse por separado, envolviéndolos en papel grueso, montándose las piezas en el momento de la filtración, al mismo tiempo que con unas pinzas estériles se coloca la membrana de filtración con la cuadrícula hacia arriba.

Todo el dispositivo se monta sobre un matraz Kitasato de tubuladura lateral, que permita la realización del vacío. La capacidad del matraz debe ser de un litro, aproximadamente. La tubuladura lateral se conecta a un dispositivo de vacío (bomba eléctrica, trompa de vacío, aspirador manual, etc.), para obtener una presión diferencial.

Observaciones:

No es correcto colocar la membrana de filtración en seco, es conveniente sumergirla brevemente en agua destilada estéril, contenida en una caja de Petri, estéril, de vidrio. El vacío de filtración es muy importante; no debe pasar de 30 a 40 cm. Vacíos superiores proporcionan una distribución inadecuada de los gémenes en la superficie de membrana.

3.16. Cantidad de muestra a filtrar.

Se aconseja para aguas potables o potabilizadas, filtrar 100 ml., por membrana filtrante, efectuando dos pruebas.

El menor volumen que se debe filtrar es el de 20 ml.

Si las aguas están muy contaminadas se diluyen convenientemente con agua estéril tamponada.

Agua destilada	1 litro.
Tampón fosfato a pH 7,2	1,25 ml.

Se esteriliza veinte minutos a 120° C.

Preparación del tampón fosfato:

Fosfato monobásico de potasio KH ₂ PO ₄	34 gramos.
Agua destilada C. S. P.	500 ml.

Se ajusta el PH a 7,2 con NaOH 1/N.

Se completa con agua destilada a | 1.000 ml.

Cada vez que se filtra una mezcla de agua es preciso lavar el receptáculo tres veces consecutivas con 30 ml. de agua estéril tamponada que se hace pasar a través de la membrana filtrante.

Terminada la filtración se desmonta el dispositivo, se retira con pinzas estériles la membrana, que se deposita sobre la superficie de una placa de Petri con medio de T. T. C.

La membrana se coloca por el reverso de la cuadrícula, cuidando que no queden burbujas o bolsas de aire que impidan el íntimo contacto con el medio de cultivo.

3.17. Incubación.

Se incuba en posición invertida durante veinticuatro horas. Una membrana a 37° C y la otra a 44° C.

La atmósfera de estas estufas de incubación deben contener un 70 por 100 de humedad. Debe colocarse un recipiente con agua y sulfato de cobre.

3.18. Interpretación de los resultados.

A) Membranas incubadas a 37° C veinticuatro horas. Las características de las colonias son:

Klebsiella.—Colonias rojo ladrillo o naranja.

Enterobacter.—Colonias rojo ladrillo o amarillas, con centro naranja.

«*Escherichia*» o «*Citrobacter*».—Colonias amarillas con centro naranja.

En la superficie de agar subyacente a la membrana, todos forman un halo amarillo.

Los gérmenes no fermentadores de la lactosa dan colonias violeta sobre fondo azul.

B) Membranas incubadas a 44° C durante veinticuatro horas. A esta temperatura de incubación prácticamente la mayoría de coliformes no se desarrolla y si las colonias de «*Escherichia coli*», que conservan su característico aspecto de color amarillo con centro anaranjado y halo amarillo.

Estimación de resultados:

Pueden estimarse como cifra total de coliformes, las colonias crecidas a 37° C.

Pueden estimarse como cifra total de «*Escherichia coli*» las colonias características crecidas a 44° C.

La estimación del número se relaciona a 100 ml. de muestra. El cálculo se efectúa así:

$$\text{Colonias de coliformes/100 ml. de muestra filtrada} = \frac{\text{Colonias de coliformes/100 ml. de muestra filtrada}}{\text{ml. de muestra filtrada}}$$

Aun cuando la selectividad del método es muy buena, la identificación de los coliformes por los métodos antes expuestos, es obligada en todo análisis formal. Se seguirá la técnica descrita en 3.7.

4. ESTREPTOMETRIA

La determinación de estreptococos fecales (enterococos), comprende una primera fase de análisis de presunción y una segunda fase de confirmación.

Medio de cultivo

a) Medio concentrado (Rothe):

Peptona	40 gramos.
Glucosa	10 gramos.
ClNa	10 gramos.
PO ₄ HK ₂	5,4 gramos.
PO ₄ H ₂ K	5,4 gramos.
Azotidrato de sodio	0,4 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calor suave. Repartir 10 ml., por tubo de 220 por 22 milímetros. Llevar al autoclave veinte minutos a 120° C.

b) Medio simple (Rothe):

Peptona bacteriológica	20 gramos.
ClNa	5 gramos.
PO ₄ HK ₂	2,7 gramos.
PO ₄ H ₂ K	2,7 gramos.
Azotidrato de sodio	0,2 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calor suave. Repartir 10 ml., aproximadamente por tubo de 160 por 16 milímetros. Llevar al autoclave veinte minutos a 120° C.

4.1. A) Prueba presuntiva.

Inocular tres tubos del medio concentrado con 10 ml., cada uno del agua que se va a analizar. Tres tubos de medio sim-

ple de 10 ml., cada uno con 1 ml., del agua que se va a analizar y otros tres medios simples con 0,1 ml. de agua.

Se incuba a 37° C y se examinan a las veinticuatro y cuarenta y ocho horas.

Todos aquéllos que presenten un enturbiamiento microbiano después del período de incubación se consideran sospechosos de poder contener estreptococo fecal. Serán sometidos a la prueba confirmativa.

4.2. B) Prueba confirmativa.

Se fundan en utilizar el etil-violeta como selectivo para los estreptococos.

Medio de cultivo (Litsky)

Peptona	20 gramos.
Glucosa	5 gramos.
ClNa	5 gramos.
PO ₄ HK ₂	2,7 gramos.
PO ₄ H ₂ K	2,7 gramos.
Azotidrato de sodio	0,3 gramos.
Sol. de etil-violeta a 0,01 por 100 en agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calor suave. Repartir 10 ml. por tubo de 160 por 16 milímetros. Llevar al autoclave veinte minutos a 120° C. El etil-violeta que se aconseja debe ser de las marcas Gurr (42 Upper Richmond, Londres) o el violeta de hexametil de Kuhlman.

De los tubos sospechosos en la prueba presuntiva, una vez agitados convenientemente, se toma en asa de cultivo y se siembra en medio con etil-violeta. Se incuba a 37° C, durante veinticuatro a cuarenta y ocho horas.

La aparición de un enturbiamiento microbiano confirma la presencia de estreptococo fecal.

Debe identificarse definitivamente mediante siembra en medio sólido y estudio de caracteres morfológicos y tintoriales. Los estreptococos fecales pertenecen al grupo D de Lancefield.

El número más probable NMP de estreptococos se determinará con arreglo a la tabla número 3.

5. CLOSTRIDIOMETRIA

Se refiere a la investigación y recuento de clostridium sulfito-reductores («*Cl. Perfringens*»).

«*Escherichia coli*» y estreptococos son testigos de contaminación reciente fecal. «*Clostridium perfringens*» cuando se encuentra sólo indica contaminación antigua. Las esporas tienen una resistencia considerable a los medios naturales.

Medio de Wilson-Blair:

Caldo común	1.000 ml.
Glucosa	20 gramos.
Agar	30 gramos.

Disolver por calor.

Ajustar pH a 7,6. Repartir en cantidad de 20 ml. en tubos de 220 por 22 milímetros. Llevar al autoclave treinta minutos a 115° C.

5.1. Técnica.

a) Colocar 25 ml. de agua a analizar en un tubo de 220 por 22 mm. Colocar en baño María a 80° C durante cinco minutos. Enfriar rápidamente, con esto se destruyen las formas vegetativas.

b) Cuatro tubos en medio de Wilson-Blair se colocan en baño María hirviendo durante diez minutos. Después de fusión del medio y eliminación del gas disuelto, se enfría a 55° C. Al contenido de cada tubo se le añade, en este momento, un mililitro de la siguiente solución:

Solución sulfito-férrica:

Sulfito de sodio puro cristalizado	1 gramo.
Agua destilada y estéril por ebullición	9 ml.
Solución de alumbre de hierro	IV gotas.

Solución de alumbre de hierro:

Alumbre de hierro	1 gramo.
Agua destilada estéril	19 ml.

Esta solución no debe esterilizarse en autoclave.

La mezcla del agar fundido con la solución sulfito-férrica debe hacerse sin originar burbujas de aire en los tubos.

c) En cuatro tubos estériles de 220 por 22 mm., se reparan 5 ml. del agua previamente tratada, como se indicó en a).

En cada tubo se vierte el contenido de un tubo de medio. Se mezcla suavemente sin incorporar aire. Se enfría con el agua del grifo. Se incuba a 37° C durante veinticuatro a cuarenta y ocho horas.

Si se supone aguas muy contaminadas, se pueden sembrar cantidades más pequeñas, 1 ml., o 1 ml. de las diluciones al 1/10, 1/100, 1/1.000.

5.2. *Lectura.*

Después de incubación aparecen colonias rodeadas de una aureola negra, cuyo recuento es muy fácil.

Interpretación:

Otros clostridium pueden dar colonias con el mismo aspecto.

La prueba confirmativa exige el aislamiento del germen y estudio bioquímico diferencial, sobre todo en aquellas colonias que aparecen después de cuarenta y ocho horas.

En la práctica es suficiente valorar el número de colonias negras del clostridium sulfito-reductores, puestos de manifiesto en los plazos de incubación indicados.

Expresión de los resultados:

Esporas de clostridium-sulfito-reductores en 100 ml.

6. DETERMINACION DE PSEUDOMONAS PRODUCTORAS DE PIGMENTOS FLUORESCENTES

En el momento actual se conocen siete estirpes de Pseudomonas productoras de pigmentación en medios de cultivos preferentemente exentos de hierro: P. Aeruginosa, P. Pútida, P. Flourescens, P. Chlororaphis, P. Aureofacitens, P. Syringae y P. Cichorii.

Las cinco primeras estirpes se consideran como saprofitas y las dos restantes como fito-patógenas, careciendo todas ellas de interés patógeno para el hombre y los animales. La presencia de P. Aeruginosa en las aguas embotelladas es indeseable, pues representa un defecto de tecnología de envasado, es decir, una contaminación durante la manipulación de la misma (cadenas de envasado mal instaladas, botellas no suficientemente limpias, etc.)

En la investigación de colonias autótrofas debe tenerse en cuenta la identificación de aquellas colonias que producen pigmentación fluorescente, con el fin de determinar la estirpe microbiana en cuestión.

6.1. *Identificación presuntiva.*

Siembra de las colonias sospechosas en medios de cultivo tipo King A y King B, o similares, con posterior incubación a 42° C durante veinticuatro horas.

6.1.1. Extracción del pigmento producido con cloroformo.

6.1.2. El crecimiento positivo a la temperatura de 42° C y la incorporación del pigmento al cloroformo suponen una prueba presuntiva de P. Aeruginosa, pero no un diagnóstico confirmativo. En circunstancias indeterminadas, cualquier Pseudomona productora de pigmentación puede dar un cuadro similar.

6.2. *Diagnóstico de confirmación.*

La cepa sospechosa se remitirá al Centro Nacional de Referencia de la Dirección General de Sanidad, donde se realizarán las siguientes pruebas diagnósticas:

- a) Estudio de la Anatomía Flagelar.
- b) Acción sobre la Trehalosa.
- c) Acción sobre el Geraniol.
- d) Acción sobre el 2-Ketogluconato.
- e) Piccianotipia.

Con estas pruebas determinativas pueden diferenciarse las distintas estirpes de Pseudomonas pigmentadas y llegar al diagnóstico de confirmación de Pseudomona Aeruginosa.

7. RECuento TOTAL DE MOHOS

7.1. *Medio de cultivo (Saboureaux Dextrose Agar).*

Dextrosa	20 gramos.
Extracto de levadura	5 gramos.
Agar	20 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Humedecer los ingredientes dejándolos reposar quince minutos. Disolver calentando suavemente. Ajustar pH a 7,2 ± 0,1 y esterilizar en autoclave veinte minutos a 121° C.

7.2. *Técnica.*

Poner por duplicado, 1 ml. de la serie de diluciones decimales de la muestra en placas de Petri de 9 cm. de diámetro. Añadir aproximadamente 15 ml. del medio de Saboureaux fundido y mantenido a una temperatura aproximada de 47° C. Mezclar suavemente dando vueltas a las placas tres veces en dirección de las agujas del reloj y otras tres veces en sentido contrario.

Incubar durante cinco días a 22° ± 2° C, en posición invertida.

Contar el número de colonias de mohos en aquellas placas que contenga 75 ± 25 colonias a los cinco días.

Calcular el número de mohos, multiplicando el número de colonias por el factor de dilución.

8. CONTROL MICROBIOLOGICO DE ENVASES

Los envases donde se van a contener las aguas minero-medicinales deben alcanzar un grado de esterilidad que les hagan aceptables para su uso.

8.1. A) *Recuento microbiológico.*

Medio de cultivo:

Triptona (Difco)	20 gramos.
Extracto de levadura	3 gramos.
Glucosa	1 gramo.
PO ₄ HK ₂	1 gramo.
Hiposulfito sódico	1 gramo.
Cloruro de sodio	5 gramos.
Agar	25 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Se disuelven los ingredientes por calentamiento, el pH se eleva a 7. Se reparte en tubos de 220 por 20, en cantidad de 25 ml. por tubo. Se esteriliza en autoclave veinte minutos a 120° C.

8.2. B) *Técnicas.*

Se empleará la del frasco rodado. En el momento de su empleo se funde el medio de cultivo en baño María hirviendo, dejando después enfriar hasta 60° C. Se vierte en la botella a examinar (de un litro de capacidad), tapándola con tapón de algodón graso estéril. Se hace rodar bajo corriente de agua fría hasta obtener en el interior de la botella una película sólida regular de agar. La utilización de un aparato mecánico de rodamiento proporciona una distribución muy regular.

La botella se incuba a 20-22° C, durante cinco días, en posición horizontal y en oscuridad; durante este período de tiempo no debe cambiarse de posición, para evitar desplazamientos del agua de condensación. Efectuar recuento de colonias de bacterias y hongos. Para botellas de menor capacidad es suficiente con 20 ml. de medio de cultivo.

En determinado tipo de botellas no puede realizarse una distribución uniforme de medio de cultivo. El control microbiológico debe entonces efectuarse, enjuagando el interior de la botella con un líquido determinado que después se siembra.

8.3. *Líquido de enjuague.*

Fosfato monopotásico	0,0425 gramos.
Hiposulfito de sodio	0,15 gramos.
Tamol N (Difco)	5 gramos.
Sosa	0,008 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Repartir en recipientes cerrados a rosca y esterilizar en autoclave, durante veinte minutos, a 120° C.

Técnica:

A cada botella objeto de control se incorporan 10 ml. de líquido de enjuague. Se hace circular por la superficie interior y se agita energicamente.

Se recoge el líquido de enjuague en un tubo estéril. Colocar 1 ml. en cada una de las cinco placas de Petri. Verter el medio de cultivo que a continuación se describe, fundido al baño María hirviendo y enfriado a 50° C.

Medio de cultivo:

Triptona (Difco)	20 gramos.
Extracto de levadura	3 gramos.
Cloruro de sodio	5 gramos.
Agar	15 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

Disolver por calentamiento. Ajustar a pH 7-7,2. Envasar 20 ml. en tubos de 220 por 22 y esterilizar veinte minutos a 120° C.

Lectura de resultados:

El recuento de colonias se hace después de cinco días de incubación a 20-22° C; el número total encontrado en las cinco placas de Petri representa la mitad de los organismos contaminantes del frasco.

9. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE CIERRES

9.1. Tapones corona.

Se frota la parte del tapón corona, que estará en contacto con el agua, con un escobillón construido con algodón hidrófilo sobre filamento de aluminio.

El escobillón se esteriliza previamente en autoclave durante veinte minutos a 125° C.

Antes de su empleo, para facilitar la recuperación de microorganismos de la superficie a examinar, se embebe en la siguiente solución:

Triptona (Difco)	1 gramo.
Cloruro sódico	8,5 gramos.
Iwen 80	1 gramo.
Agua destilada	1.000 ml.

pH a 7-7,2, esterilización veinte minutos a 120° C. En estas condiciones de trabajo se fijan sobre el escobillón el 50 por 100 de los microorganismos de la zona frotada.

El escobillón, después de frotar el tapón corona, es sumergido en un tubo que contiene 10 ml. de la siguiente solución:

Triptona (Difco)	1 gramo.
Cloruro sódico	8,5 gramos.
Agua destilada	1.000 ml.

pH a 7-7,2, se esteriliza veinte minutos a 120° C.

Se escurre el escobillón varias veces sobre la pared del tubo. El líquido de escurrido se siembra a razón de 1 ml. en cada una de las cinco placas Petri. A continuación se vierte sobre las placas el mismo medio de cultivo que el utilizado en control de botellas, mediante técnica de enjuague.

Este medio debe ser previamente fundido y enfriado después a 50° C.

El recuento de colonias se efectúa a los cinco días de incubación a 20-22° C.

9.2. Cápsulas de plástico.

Medio de cultivo:

Se utiliza el mismo medio que se recomienda para control de botellas, mediante técnica de enjuague.

Técnica:

En una placa de Petri se vierte una capa fina de tres mm. de medio y se deja enfriar.

Se depositan en su superficie dos o tres cápsulas cortadas aseptícamente en fragmentos.

Repartir una capa del mismo medio a 50° C, en cantidad suficiente para rellenar y cubrir los trozos de cápsula. Después se deja enfriar y se incuba durante cinco días a 20-22° C. Pasado este tiempo se efectúa recuento de colonias.

Tabla número 1

Cqimetricia

Número de tubos que dan reacción positiva entre			Índice NMP	Límites de confianza del 95 por 100	
1 tubo de 50 ml.	5 tubos de 10 ml.	5 tubos de 1 ml.		Límite inferior	Límite superior
0	0	1	1	0,5	4
0	0	2	2	0,5	6
0	1	0	1	0,5	4
0	1	1	2	0,5	6
0	1	2	3	0,5	8
0	2	0	2	0,5	6
0	2	1	3	0,5	8
0	2	2	4	0,5	11
0	3	0	3	0,5	8
0	3	1	5	0,5	13
0	4	0	5	0,5	13
1	0	0	1	0,5	4
1	0	1	3	0,5	8
1	0	2	4	0,5	11
1	0	3	6	0,5	15
1	1	0	3	0,5	8
1	1	1	5	0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	69
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	101
1	4	5	43	15	117
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	101
1	5	2	54	13	138
1	5	3	92	27	217
1	5	4	161	39	450

Tabla número 2

Esquema bioquímico de diagnóstico genérico

ENTEROBACTERIACEAS	Oxidasa -	Lactosa - B. Galactoxidasa -	Ureasa +	Proteus.	L. D. C. +	Salmonella.		
			Indol -			L. D. C. -		T. D. A. +
		Ureasa -	Indol +	L. D. C. +	SH ₂ +	Edwardsiella.		
					Indol ±	L. D. C. -	T. D. A. -	Shigella.
	Oxidasa -	Lactosa ± B. Galactoxidasa +	Ureasa +	Yersinia.	L. D. C. +	SH ₂ +	Arizona.	
			Indol -			SH ₂ -	Gelatinasa - Arab +	
		Ureasa -	L. D. C. +	SH ₂ -	Gelatinasa + Arab -	Ferratia.		
				Ureasa +	Klebsiella.	L. D. C. -	SH ₂ +	Escherichia.
	Indol +		SH ₂ -	Rafinosa +	Enterobacter			
	Oxidasa +	Aeromonas.						

Tabla número 3
Estreptometría

Número de tubos que dan reacción positiva entre			Índice NMP	Límites de confianza del 95 por 100	
3 tubos de 10 ml.	3 tubos de 1 ml.	3 tubos de 0,1 ml.		Límite inferior	Límite superior
0	0	0		0	
0	0	1	3		9
0	0	2	6		
0	0	3	9		
0	1	0	3	0,085	13
0	1	1	6,1		
0	1	2	9,2		
0	1	3	12		
0	2	0	6,2		
0	2	1	9,3		
0	2	2	12		
0	2	3	16		
0	3	0	9,4		
0	3	1	13		
0	3	2	16		
0	3	3	19		
1	0	0	3,6	0,085	20
1	0	1	7,2	0,87	21
1	0	2	11		
1	0	3	15		
1	1	0	7,3	0,88	23
1	1	1	11		
1	1	2	15		
1	1	3	19		
1	2	0	11		
1	2	1	15	2,7	36
1	2	2	20		
1	2	3	24		
1	3	0	16		
1	3	1	20		
1	3	2	24		
1	3	3	29		
2	0	0	9,1	1,0	36
2	0	1	14	2,7	37
2	0	2	20		
2	0	3	26		
2	1	0	15	2,8	44
2	1	1	20		
2	1	2	27		
2	1	3	34		
2	2	0	21	3,5	47
2	2	1	28		
2	2	2	35		
2	2	3	42		
2	3	0	29		
2	3	1	36		
2	3	2	44		
2	3	3	53		
3	0	0	22	3,5	120
3	0	1	39	6,9	130
3	0	2	64		
3	0	3	95		
3	1	0	43	7,1	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	1	3	160		
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	2	3	290		
3	3	0	240	36	1.300
3	3	1	460	71	2.400
3	3	2	1.100	150	4.800
3	3	3		460	

MINISTERIO DE LA VIVIENDA

6409

ORDEN de 14 de marzo de 1975 por la que se aprueba la norma tecnológica de la edificación NTE-PTP/1975, «Particiones: Tabiques de placas y paneles».

Ilustrísimo señor:

En aplicación del Decreto 3565/1972, de 23 de diciembre («Boletín Oficial del Estado» del 15 de enero de 1973), a propuesta de la Dirección General de Arquitectura y Tecnología de la Edificación y previo informe del Ministerio de Industria y del Consejo Superior de la Vivienda, este Ministerio ha resuelto:

Artículo primero.—Se aprueba provisionalmente la norma tecnológica de la edificación, que figura como anexo de la presente Orden, NTE-PTP/1975, «Particiones: Tabiques de placas y paneles».

Artículo segundo.—Esta norma desarrolla a nivel operativo la norma básica: Pliego general de condiciones para la recepción de yesos y escayolas aprobado por Orden de la Presidencia del Gobierno de 27 de enero de 1972 («Boletín Oficial del Estado» del día 2 de febrero).

La NTE-PTP/1975 regula las actuaciones de diseño, construcción, control, valoración y mantenimiento.

Artículo tercero.—La presente norma entrará en vigor a partir de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado» y podrá ser utilizada a efectos de lo dispuesto en el Decreto 3565/1972, con excepción de lo establecido en sus artículos octavo y décimo.

Artículo cuarto.—En el plazo de seis meses naturales, contados a partir de la publicación de la presente Orden en el «Boletín Oficial del Estado», sin perjuicio de la entrada en vigor que en el artículo anterior se señala y al objeto de dar cumplimiento a lo establecido en el artículo quinto del Decreto 3565/1972, las personas que lo crean conveniente y especialmente aquellas que tengan debidamente asignada la responsabilidad de la planificación o de las diversas actuaciones tecnológicas relacionadas con la norma que por esta Orden se aprueba, podrán dirigirse a la Dirección General de Arquitectura y Tecnología de la Edificación (Subdirección General de Tecnología de la Edificación-Sección de Normalización), señalando las sugerencias u observaciones que a su juicio puedan mejorar el contenido o aplicación de la norma.

Artículo quinto.—1. Consideradas, en su caso, las sugerencias remitidas y a la vista de la experiencia derivada de su aplicación, la Dirección General de Arquitectura y Tecnología de la Edificación propondrá a este Ministerio las modificaciones pertinentes a la norma que por la presente Orden se aprueba.

2. Transcurrido el plazo de un año, a partir de la fecha de publicación de la presente Orden, sin que hubiera sido modificada la norma en la forma establecida en el párrafo anterior, se entenderá que ha sido definitivamente aprobada, a todos los efectos prevenidos en el Decreto 3565/1972, incluidos los de los artículos octavo y décimo.

Artículo sexto.—Quedan derogadas las disposiciones vigentes que se opongan a lo dispuesto en esta Orden.

Lo que comunico a V. I. para su conocimiento y efectos. Dios guarde a V. I.

Madrid, 14 de marzo de 1975.

RODRIGUEZ MIGUEL

Ilmo. Sr. Director general de Arquitectura y Tecnología de la Edificación.