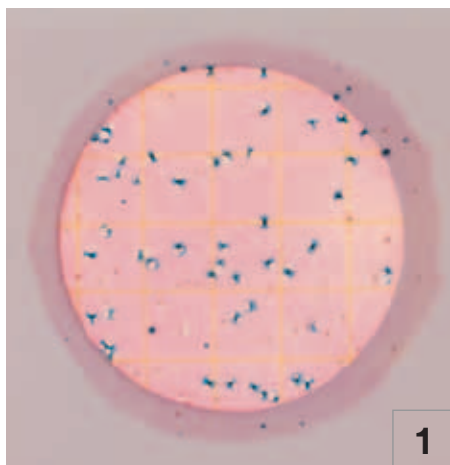


Placas Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/Coliformes. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Food Safety más cercano.

Las Placas Petrifilm para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm, EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo-Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos Gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes, que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.



La identificación de la *E. coli* puede variar de país a país (ver en “Recomendaciones de uso” tiempos de incubación y temperaturas).

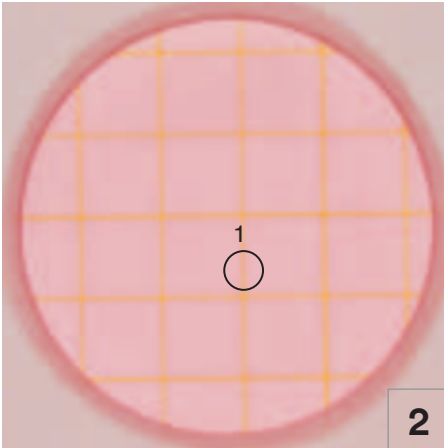
Método validado por la AOAC Internacional

***E. coli* = 49** (colonias azules con gas)

Total coliformes = 87 (colonias rojas y azules con gas)

(NO use esta placa sola para la detección de *E. coli* O157. Como la mayoría de otros medios para enumeración de *E. coli* coliformes, esta placa no señalará específicamente si está presente algún O157).

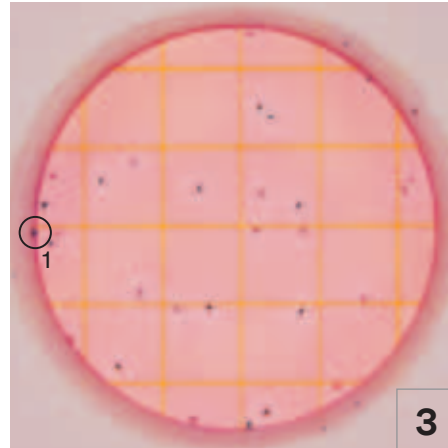
3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes



No crecimiento = 0

Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.



Recuento de *E. coli* = 13

Total de recuento de coliformes = 28

El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

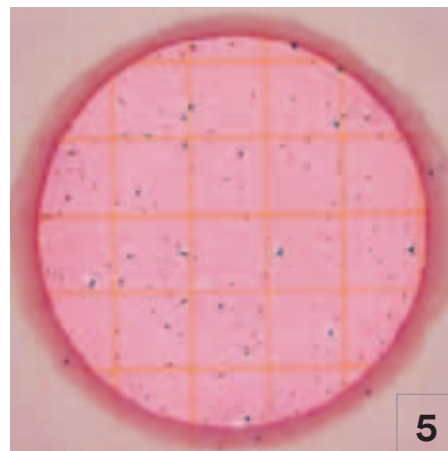
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



Recuento de *E. coli* = 3

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo recuento se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.

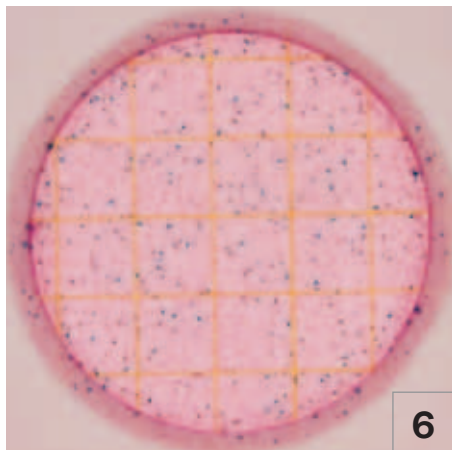


Recuento de *E. coli* = 17

Recuento total estimado de coliformes = 150

El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm². El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el recuento estimado por placa.

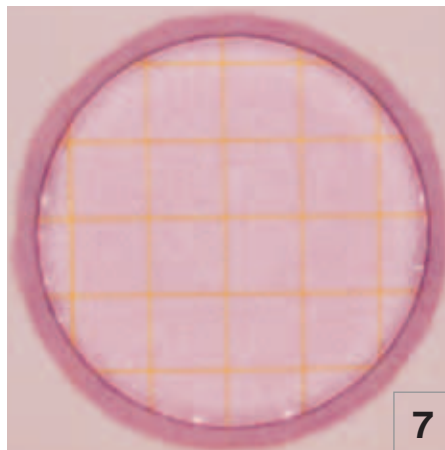
MNPC (Muy Numerosas Para Contar): para obtener un recuento más preciso, diluya la muestra



Recuento actual aprox. $\sim 10^6$

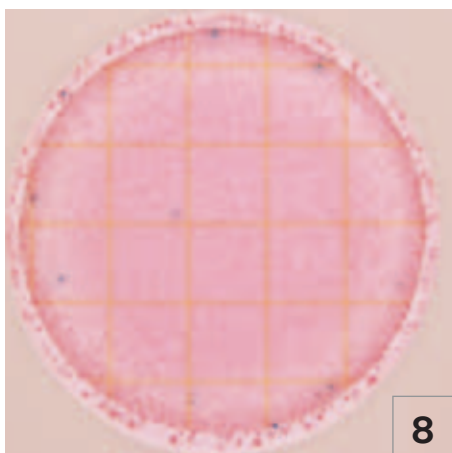
Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características:

Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



Recuento actual aprox. $\sim 10^8$

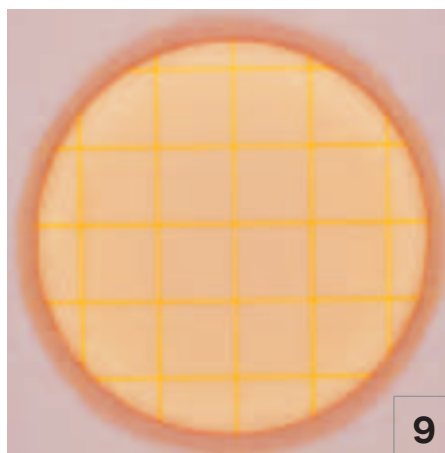
Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



Recuento presuntivo de *E. coli* ~ 8

Recuento total estimado de coliformes aprox. $\sim 10^8$

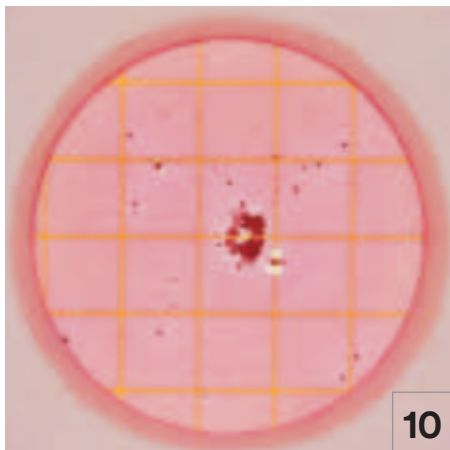
Cuando existen cifras altas de coliformes (10^8), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuente todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aísle las colonias azules con gas para su posterior identificación.



Recuento actual aprox. de $\sim 10^8$

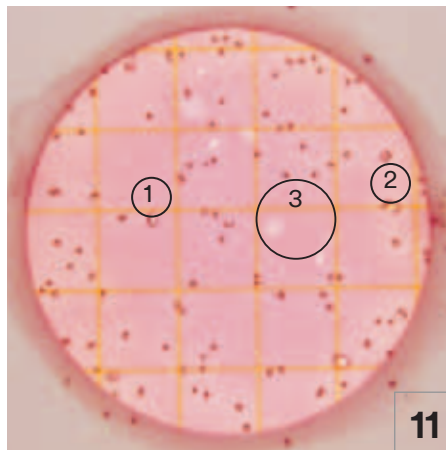
Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

Burbujas



Recuento total de coliformes = 3

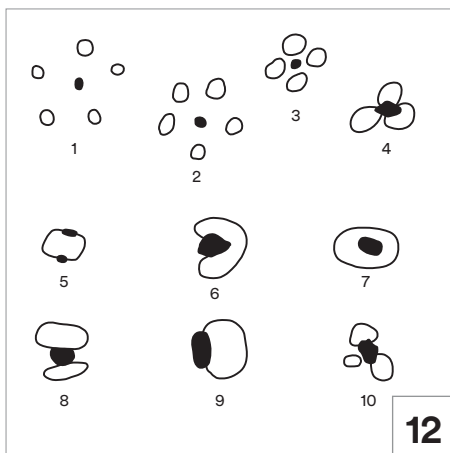
Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 78

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2.

Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



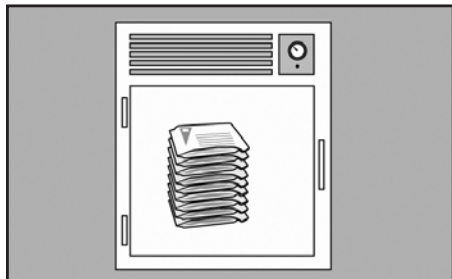
Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.

3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes

Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

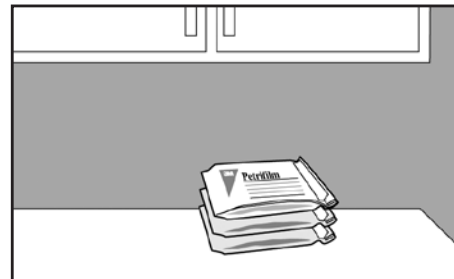
Almacenamiento



- 1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



- 2** Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.

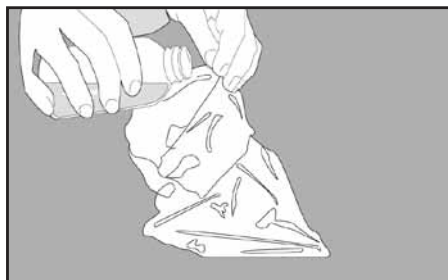


- 3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ($\leq 77^{\circ}\text{F}$) y una humedad relativa $\leq 50\%$. **No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos.** Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

Preparación de la muestra

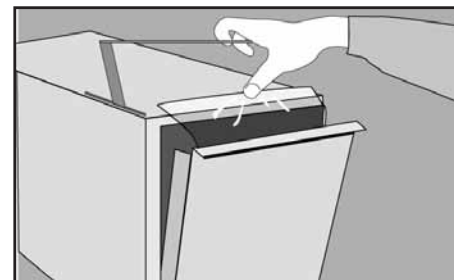


- 4** Prepare una dilución de una muestra de alimento. Pese o pipetee la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



- 5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada.

No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

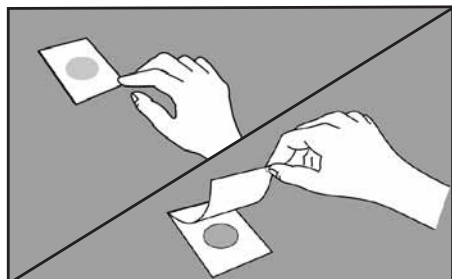


- 6** Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

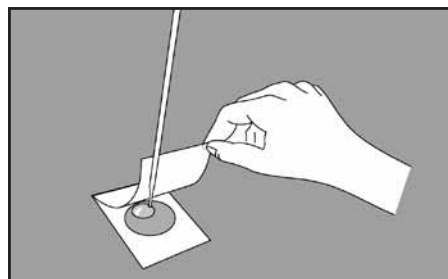
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

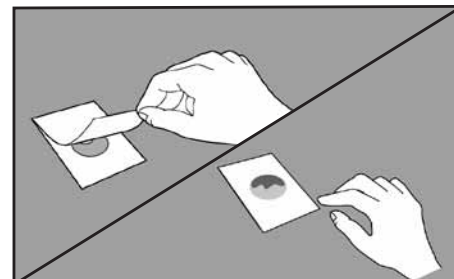
Inoculación



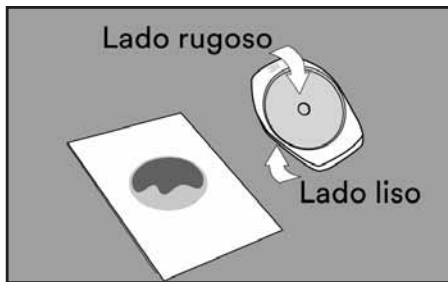
- 7** Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



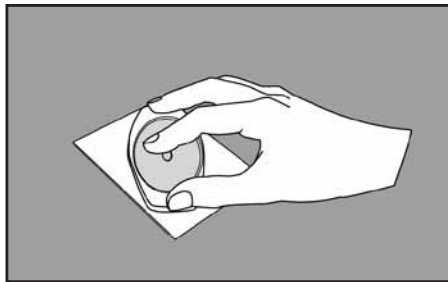
- 8** En forma **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).



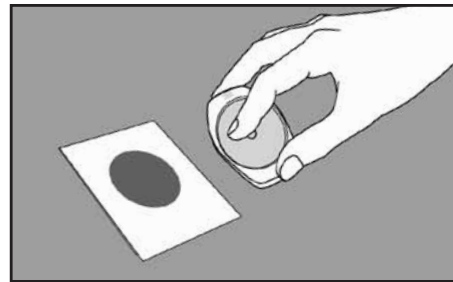
- 9** Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No** la deje caer.



10 Con el lado **liso** hacia abajo, coloque el dispensador en la película superior sobre el inóculo.

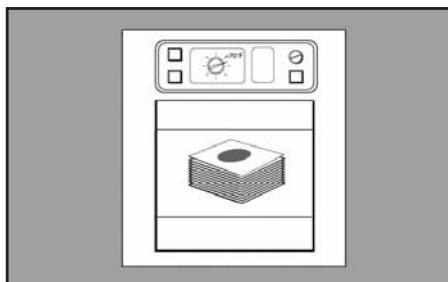


11 Presione **suavemente** el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. **No** gire **ni** deslice el dispensador.



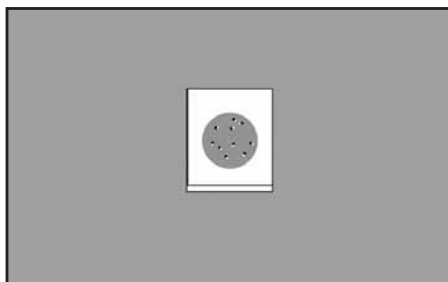
12 Levante el dispensador. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

Incubación

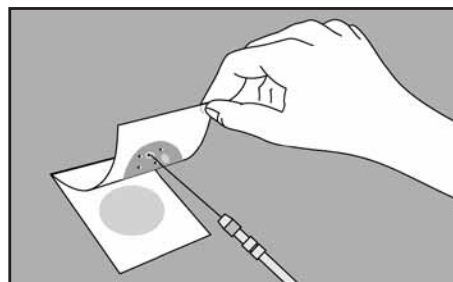


13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación



14 Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- **AOAC método oficial 991.14**

Para coliformes: Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C

Para *E. coli*: Incubar 48 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C

- **AOAC método oficial 998.08**

Para *E. coli* (carne, aves, marinos):

Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C

- **Método NMKL (147.1993)**

Para coliformes: Incubar 24 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C

Para *E. coli*: Incubar 48 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C

Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Food Safety en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: www.3M.com/foodsafety
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

3M.com/foodsafety

3M

Distributed by:

NELSON JAMESON

INC.

800-826-8302 nelsonjameson.com

3M, Ciencia. Aplicada a la Vida. y Petrifilm son marcas registradas de 3M. Por favor, recicle.
© 3M 2015. Todos los derechos reservados.