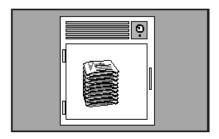
## **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

#### Recomendaciones de uso

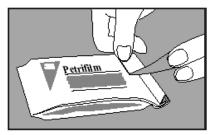
### para el Recuento de E. coli y Coliformes Totales

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTIA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACION, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

#### **ALMACENAMIENTO**



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura ≤ a 8°C (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos.



**2** Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquele una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.

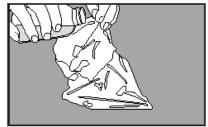


 $\bf 3$  Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas ≤ a 25°C (77°F) y una humedad relativa ≤ 50%. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm<sup>MR</sup> máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

#### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA



**4** Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH2 PO4 y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluente de sal peptonada (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona ( método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

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

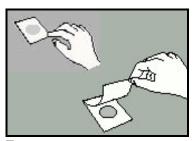


**6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

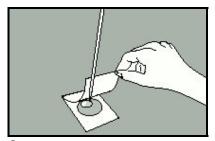
Ajuste el pH de la muestra diluída entre 6.6 y 7.2:

Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH Para productos básicos: use solución 1N de HCI

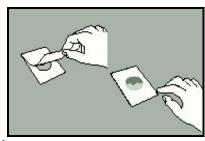
#### INOCULACIÓN



**7** Coloque la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



**8** Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadriculada inferior.

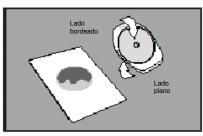


**9** Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

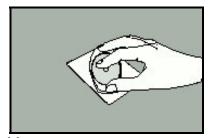
### **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

#### Recomendaciones de uso

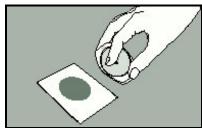
### para el Recuento de E. coli y Coliformes Totales



10 Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.

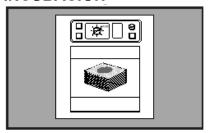


11 Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre le área circular. No gire, ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir el inoculo antes de inocular una siguiente placa.



**12** Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

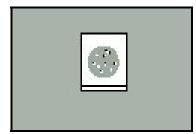
#### **INCUBACIÓN**



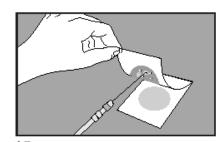
**13** Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura.

Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

#### **INTERPRETACIÓN**



**14** Las placas Petrifilm<sup>MR</sup> pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

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

#### AOAC método oficial 991.14

Para Coliformes:

Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C) Para *E. coli*:

Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

#### AOAC método oficial 998.08

Para *E. coli* (carnes aves y mariscos) Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

#### NMK método 147.1993

Para Coliformes:

Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 37°C (+/- 1°C)

Para E. coli:

Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

# Comentarios Adicionales:

Si tiene preguntas llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

3M Microbiology 3M center, Bldg. 275-5W-05 St. Paul, MN 55144-1000 USA

1800-228-3957

microbiology@mmm.com www.3M.com/microbiology Petrifilm es una marca registrada de 3M Impreso en:

Revisión: 2003-04

Referencia: 70-2008-81053

© 3M

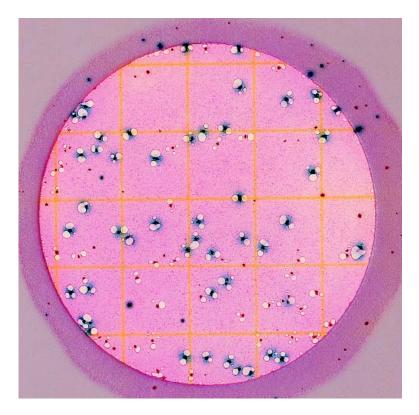
#### Guía de interpretación

## Placas Petrifilm MR para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

Esta guía lo familiarizara con las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales. Para mayor información contáctese con el representante autorizado de productos microbiológicos de 3M más cercano.

Las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad Glucoronidasa y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Aproximadamente el 97% de las colonias de *E. coli* producen beta glucoronidasa la que a su vez forma un precipitado azul asociado a la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por parte de los Coliformes y *E. coli*. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC internacional y el Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la US FDA define Coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas de la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias de Coliformes en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> EC durante su crecimiento van generando ácido, por lo que el indicador de pH va oscureciendo o profundizando el color del gel. El gas queda atrapado alrededor de la colonia confirmando la presencia de un coliforme.



La identificación de *E. coli* puede variar entre los países (Vea las recomendaciones de uso en la sección incubación, las temperaturas y tiempos sugeridos)

Método validado AOAC internacional **Conteo de** *E. coli* = **49** (colonias azules con gas)

Conteo de Coliformes Totales = 87 (colonias rojas y azules con gas)

Verifique según las normas locales de su país la aplicación del sistema de conteo y referencia.

No use esta placa para la detección de *E. coli* 0157:H7. Como la mayoría de otros medios para identificación de *E. coli* y Coliformes, esta placa no señalara la presencia de la cepa 0157.

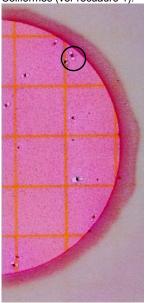
## **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

### para el Recuento de E. coli y Coliformes Totales



#### Conteo de E. coli / Coliformes = 0

Observe el cambio del color del gel desde las Figuras 2 hasta la 8. Al aumentar el conteo de *E. coli* o Coliformes, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado. Las burbujas de fondo son características del gel y no son resultado del crecimiento de Coliformes (ver recuadro 1).

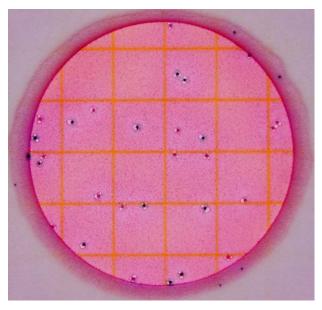


Luz posterior

Conteo de *E. coli* = 3

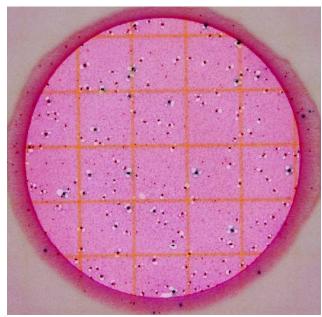
Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli.* La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia. El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.

Luz de frente



#### Conteo de *E. coli* = 13 Conteo de Coliformes = 28

El rango recomendado de conteo en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales es de 15 a 150 colonias. No cuente las colonias que ha crecido en la zona de hule espuma por cuanto han sido removidas de la influencia del medio.

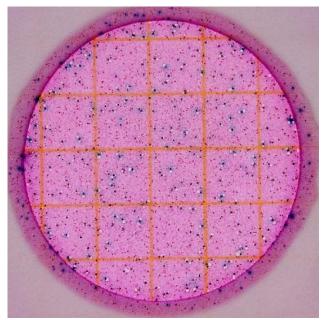


Conteo de *E. coli* = 17 Conteo de Coliformes = 150 "estimado"

El área circular de crecimiento es de 20 cm² aproximadamente. Conteos estimados pueden hacerse en placas que contengan más de 150 colonias, a través del conteo de cuadros representativos y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio por 20 y determine el valor estimado por placa.

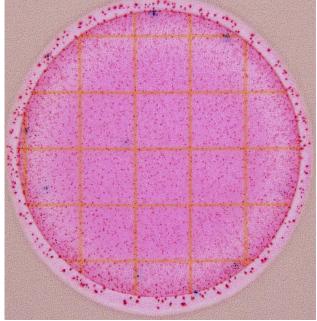
## **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

MNPC (muchos números para contar), para obtener mejores resultados, diluya su muestra.



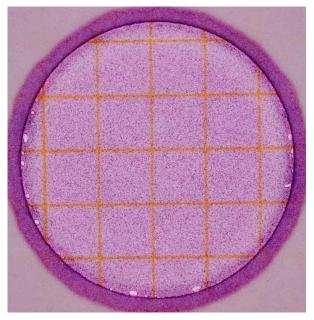
Conteo de E. coli = MNPC

La Placa Petrifilm<sup>MR</sup> EC con crecimiento excesivo (MNPC = muy numeroso para contar) tienen una de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/u oscurecimiento del color del gel de color rojo a rojo púrpura.



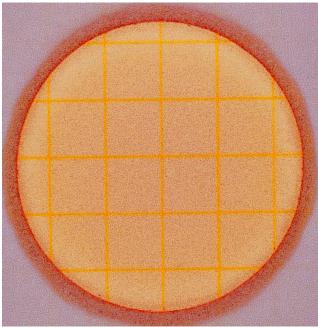
Conteo de *E. coli* = 8 (presuntivo) Conteo de Coliformes = MNPC

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.



Conteo de E. coli = MNPC

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.

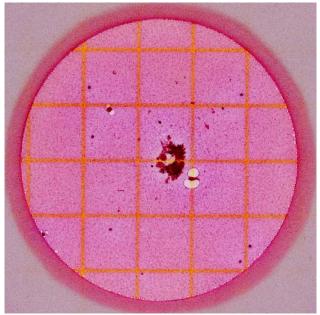


Conteo Total = MNPC

Cuando existe presencia de gran número de organismos no Coliformes como *Pseudomonas* en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> EC el gel cambia a color amarillento. Reporte conteo estimado MNPC para Coliformes y realice nuevas siembras a mayor dilución.

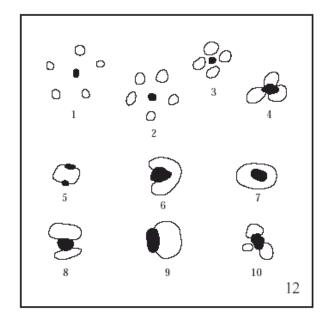
## **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

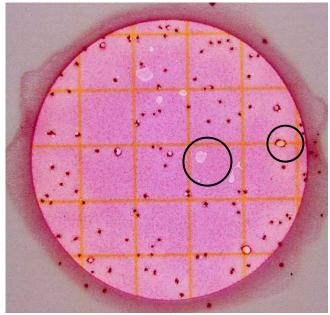
Burbujas de aire y partículas de productos



Conteo de Coliformes = 3

Las partículas de alimentos son de forma irregular y no están asociadas con burbujas de gas.





Conteo de Coliformes = 78

Las burbujas pueden resultar de una inoculación inadecuada de la Placa Petrifilm<sup>MR</sup>, estas son de forma irregular y no están asociadas con una colonia roja. Vea el círculo en la parte central de la placa.

La forma o patrón de las burbujas puede variar. El gas puede romper la colonia como se observa en el círculo del lado derecho de la placa.

Los ejemplos 1 – 10 muestra varios patrones o formas de burbujas de gas asociadas con las colonias. Todas deben ser enumeradas.