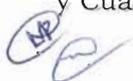


## RESOLUCIÓN N° 043-DE-ABG-2017

### LA DIRECCIÓN EJECUTIVA DE LA AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL DE BIOSEGURIDAD Y CUARENTENA PARA GALAPÁGOS.

Considerando:

- Que,** la Constitución de la República del Ecuador, en su artículo 226 señala que las Instituciones del Estado, sus organismos, dependencias, las servidoras o servidores públicos y las personas que actúen en virtud de una potestad estatal ejercerán solamente las competencias y facultades que les sean atribuidas en la Constitución y la ley;
- Que,** el artículo 227 de la Constitución de la República del Ecuador establece que la Administración Pública constituye un servicio a la colectividad que se rige por los principios de eficacia, eficiencia, calidad, jerarquía, desconcentración, descentralización, coordinación, participación, transparencia y evaluación;
- Que,** en el primer inciso del artículo 258 de la Carga Magna, prescribe que la provincia de Galápagos tendrá un gobierno de régimen especial, su planificación y desarrollo se organizará en función de un estricto apego a los principios de conservación del patrimonio natural del Estado y del buen vivir, de conformidad con lo que la Ley determine;
- Que,** el artículo 85 de la Ley de Régimen Especial de la Provincia de Galápagos, publicada en el Registro Oficial No. 520 del 11 de junio de 2015, establece que *"...La Autoridad Ambiental Nacional, a través de una entidad de derecho público adscrita, regulará y controlará la bioseguridad, realizará el control de introducción de especies exógenas hacia la provincia de Galápagos, controlará y regulará la introducción, movimiento y dispersión de organismos exóticos, por cualquier medio, que ponga en riesgo la salud humana, el sistema económico y las actividades agropecuarias de la provincia, y contribuirá a la conservación de la integridad ecológica de los ecosistemas insulares y marinos, y la biodiversidad de la provincia de Galápagos (...)"*;
- Que,** el Decreto Ejecutivo N° 1319 publicado en el Segundo Suplemento del Registro Oficial N° 811 del 17 de octubre de 2012, se creó la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG), como una entidad técnica de derecho público, adscrita al Ministerio del Ambiente, con personería jurídica, con autonomía administrativa, financiera, técnica y operativa; con sede en Puerto Ayora, cantón Santa Cruz, Provincia de Galápagos;
- Que,** el numeral 1, 2 y 5 del Decreto ibidem establecen: *"1. Precautelar la seguridad biológica y sanitaria de los habitantes de la provincia de Galápagos; 2. Proteger de cualquier riesgo sanitario a las especies animales y vegetales nativas, endémicas y domésticas de los ecosistemas insulares y marinos de Galápagos incluyendo aquellas especies introducidas que son de interés económico, social o agropecuario"*;
- Que,** Mediante Acuerdo Ministerial No.157 del Ministerio del Ambiente, de fecha 22 de Octubre de 2012, se nombra a la Dra. Sandra Pia Marilyn Cruz Bedón, como Directora Ejecutiva de la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG);



**Que,** el Estatuto Orgánico de Gestión Organizacional por Procesos de la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos, en el Capítulo V, Título I, numerado 1.1.2. detalla las atribuciones y responsabilidades de la Dirección Ejecutiva, entre las cuales, el numeral 20 prescribe lo siguiente: “20. Aprobar manuales, procedimientos e instructivos para la elaboración de los productos en los procesos institucionales”.

**Que,** mediante memorando N° ABG-CT-2017-0099-M, de 28 de noviembre de 2017, el Mgs. Alberto Vélez Pinela, Director de Vigilancia y Calidad para la Bioseguridad (s), solicita la aprobación del “Procedimiento para análisis microbiológico de leche y queso mediante el uso de placas petrifilm 3M para el recuento de Escherichia coli y Coliformes”; como instrumento técnico para ser usado por el personal del laboratorio de microbiología.

En uso de las facultades legales y reglamentarias:

**RESUELVE:**

**Art.1.-**Aprobar el **PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE ESCHERICHIA COLI Y COLIFORMES**; como instrumento técnico para ser usado por el personal del laboratorio de microbiología, adjunto en veinte y tres (23) fojas útiles.

**Art.2.-** Encárguese a la Dirección de Vigilancia y Calidad de Bioseguridad, en el ejercicio de sus funciones la implementación de esta resolución; a la Subdirección de Asesoría Jurídica, hacer conocer de este acto normativo a las diferentes áreas de la institución; a la Subdirección de Planificación la actualización documental; y, finalmente al Responsable de Comunicación Social, la publicación inmediata de la presente resolución, en la página web institucional.

**Art.3.-** La presente Resolución entrará en vigencia a partir de la fecha de suscripción.

Dado y firmado en la ciudad de Puerto Ayora, Cantón Santa Cruz, provincia de Galápagos a los 4 días del mes de diciembre de 2017.

Comuníquese y publíquese.-



**Dra. Marilyn Cruz Bedón**  
DIRECTORA EJECUTIVA

AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL DE LA BIOSEGURIDAD Y CUARENTENA  
PARA GALAPAGOS-ABG.

|   |                             |                                 |
|---|-----------------------------|---------------------------------|
|    |                             | Edición No: 1                   |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes |                             | Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD  | SUBPROCESO: Calidad Técnica |                                 |

## REPÚBLICA DEL ECUADOR

### MINISTERIO DE AMBIENTE

### AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL DE LA BIOSEGURIDAD Y CUARENTENA PARA GALÁPAGOS



Agencia de Regulación y Control de la  
Bioseguridad y Cuarentena para  
Galápagos

### PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE *Escherichia coli* y Coliformes.

2017

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 1 de 23     |



|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |

## Control, expedición, revisión y distribución del documento

Este procedimiento y sus subsiguientes revisiones son expedidos y controlados por la Agencia Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG). Se distribuye a todas las localidades dentro de la Provincia de Galápagos, donde se ejecutan las actividades y procesos descritos en la misma.

El documento se expide solo en copias controladas a los funcionarios identificados en la siguiente tabla, esto asegura que cuando se realicen cambios al documento, los funcionarios identificados se hagan responsables de su aplicación.

Este documento se encuentra disponible en la página web: [www.bioseguridad.gob.ec](http://www.bioseguridad.gob.ec) y será distribuido a los siguientes servidores:

| Copia del Procedimiento No. | Funcionario  | Localidad         |
|-----------------------------|--|-------------------|
| 1                           | Analista de Archivo                                  | Santa Cruz-Matriz |
| 2                           | Director/a de Vigilancia y Calidad para la seguridad | Santa Cruz-Matriz |
| 3                           | Responsable Subproceso de Calidad Técnica            | Santa Cruz-Matriz |
| 4                           | Responsable del laboratorio de Microbiología         | Santa Cruz-Matriz |

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 3 de 23            |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No. 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |

## Sección 1. Tabla de contenido

### Contenido

|  |    |
|--|----|
| Control, expedición, revisión y distribución del documento.....  | 3  |
| Sección 1. Tabla de contenido.....   | 4  |
| Sección 2: Introducción .....  | 6  |
| 2.1. Objetivo .....  | 6  |
| 2.2. Alcance.....  | 6  |
| 2.3. Definiciones .....  | 6  |
| 2.4. Abreviaturas .....  | 7  |
| 2.5. Base legal .....  | 7  |
| 2.6. Punto oficial de contacto.....  | 8  |
| Sección 3. Responsabilidades .....   | 8  |
| 3.1. Técnicos de laboratorio de Microbiología:.....  | 8  |
| 3.2. Usuarios internos (ABG) y externos:.....  | 9  |
| Sección 4. Procedimiento para análisis microbiológico de leche y queso mediante el uso de placas petrifilm 3M..... | 9  |
| 4.1. Materiales, sustancias, medios de cultivo y su preparación .....  | 9  |
| 4.1.1. Materiales de laboratorio.....  | 9  |
| 4.1.2. Lista de sustancias y medio de cultivo.....   | 10 |
| 4.1.3. Preparación de sustancias y medio de cultivo .....  | 10 |
| 4.2 Instrucciones de seguridad.....  | 11 |
| 4.3 Recepción de muestras por el laboratorio de microbiología .....  | 11 |
| 4.4 Revisión previa de equipos y placas petrifilm 3M .....   | 12 |
| 4.5 Condiciones ambientales e instrucciones para asegurar el resultado del ensayo .....                            | 12 |
| 4.6 Procedimientos.....  | 12 |
| 4.6.1 Diagnóstico inicial .....  | 12 |
| 4.6.2 Preparación de la muestra (queso y leche).....   | 13 |
| 4.6.3 Siembra de las muestras en las placas petrifilm 3M .....   | 13 |
| 4.6.4 Incubación de las muestras en las placas petrifilm .....   | 14 |
| 4.6.5 Interpretación de los resultados .....   | 14 |

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 4 de 23     |

|  |  |
|--|--|
|    |  |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL<br>USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y <i>Coliformes</i> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD   | SUBPROCESO: Calidad Técnica                      |

|  |    |
|--|----|
| 4.6.6 Criterio de aceptación o rechazo de los resultados ..... | 16 |
| 4.6.7 Informe de resultados .....                              | 16 |
| Sección 5. Bibliografía.....                                   | 16 |
| ANEXOS.....  | 17 |

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <i>Código:</i> | <i>Paginación:</i> |
| PCT-03         | 5 de 23            |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD  | SUBPROCESO: Calidad Técnica                      |

## Sección 2: Introducción

Los microorganismos son causantes de la mayoría de las intoxicaciones alimentarias (Eley, 1994 & CECU, 2012). La higiene de los alimentos garantiza la inocuidad de los productos alimentarios, evitando que diferentes tipos de agentes patógenos puedan alterar sus características. Los productos lácteos constituyen uno de los principales alimentos, sin embargo, pueden ser un medio de cultivo ideal para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos (L. Delgado & J. Torres, 2003).

Existe un alto riesgo de que productos lácteos en elaboración sean contaminados por microorganismos patógenos, perjudiciales para la salud humana, no solo mediante malas técnicas de manipulación, sino también por la falta de asepsia durante el proceso de manufactura. Es así que, análisis microbiológicos son llevados a cabo para detectar posibles patógenos como *Escherichia coli* y coliformes.

Para dicho fin, la ABG estableció el presente procedimiento con un lenguaje de fácil entendimiento para realizar análisis microbiológico de lácteos (queso y leche) mediante el uso de placas petrifilm 3M para el recuento de *E. coli* y coliformes, siendo así una guía dirigida para profesionales de laboratorio.

Este procedimiento deberá ser actualizado de manera periódica a futuro, en base a la información y conocimiento que se genere.

### 2.1. Objetivo

Establecer un procedimiento adecuado para la realización de análisis microbiológico en muestras de queso y leche, que nos permita conocer si los productos elaborados son óptimos para el consumo humano, mediante el uso de placas petrifilm 3M para el recuento de *e. coli* y coliformes.

### 2.2. Alcance

El campo de aplicación de este procedimiento le corresponde al personal técnico del Laboratorio de Microbiología, a fin de estandarizar una metodología adecuada para el análisis microbiológico de leche y queso provenientes de clientes internos y externos.

### 2.3. Definiciones

Bajo el marco normativo y con el fin de cumplir con las actividades estipuladas en este procedimiento, es necesario utilizar las siguientes definiciones microbiológicas para lácteos:

**Bioseguridad:** El término se utiliza para describir métodos seguros para manejar materiales infecciosos en el medio ambiente del laboratorio donde son manipulados o conservados.

**Coliformes totales:** Son bacterias de morfología bacilar, Gram negativas, anaerobias facultativas, oxidasa negativa, no esporógenos, capaces de fermentar la lactosa a 30°C con

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 6 de 23     |

|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUENTO DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>  | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |

producción de ácido y gas en presencia de sales biliares. Su importancia es relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos.

***Escherichia coli*:** Es una bacteria habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, algunas pueden causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria. La infección por *E. coli* se transmite generalmente por consumo de agua o alimentos contaminados, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda.

**Laboratorio:** Un área debidamente equipada y dotada de personal técnico competente que trabaja bajo el control de un especialista en métodos de diagnóstico, el cual es responsable de la validez de los resultados.

**Microbiología alimentaria:** Se encarga del análisis de la composición microbiana (microorganismos) de los alimentos, mediante técnicas estandarizadas que permiten la detección de diferentes agentes microbianos.

**Muestra de laboratorio:** Muestra enviada al laboratorio o recibida por éste, cuya cantidad debe ser suficiente para permitir su análisis, o su repetición si fuera necesario. Las condiciones de la muestra deben reflejar las que existan en el momento del muestreo.

**Productos lácteos:** Aquellos productos hechos a partir de la leche o que derivan de la misma, como son queso, yogurt, manteca, crema de leche, entre otros.

## 2.4. Abreviaturas

**ABG:** Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos.

**UFC:** Unidad Formadora de Colonia

**g:** gramos

**ml:** mililitros

**cm:** centímetro

**µl:** microlitros

**min:** minutos

**h:** horas

**°C:** grados centígrados

**Temp:** temperatura

**INEN:** Servicio Ecuatoriano de Normalización

## 2.5. Base legal

- Constitución de la República del Ecuador. "CRDE", Art. 258-281.
- Ley Orgánica del Régimen de la Soberanía Alimentaria. "LORSA" del ámbito de aplicación.
- Decreto Ejecutivo 1449 (R.O.479 2 Dic. 2008). Art 4.
- Decreto Ejecutivo 1319 (R.O.811 Oct. 2012). Art. 2.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 7 de 23            |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |
|   |  |

- Resolución N° D-ABG-02-02-2013, Título II, número 2.1.2 inciso 2.

## 2.6. Punto oficial de contacto

El punto oficial de contacto en Galápagos es la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos. Todas las comunicaciones para modificación de este Procedimiento deben ser dirigidas a:

Director/a Ejecutivo/a de ABG

Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos - ABG  
República de Ecuador

Dirección: Av. Baltra, Diagonal a la Gruta del Divino Niño

Teléfono: 593 2 2527 023

[Info@abgalapagos.gob.ec](mailto:Info@abgalapagos.gob.ec)

## Sección 3. Responsabilidades

**3.1. Técnicos de laboratorio de Microbiología:** Son personal capacitado en colecta de muestras y aplicación de herramientas microbiológicas para realizar análisis en queso y leche, con el fin de monitorear la inocuidad de los productos.

Las responsabilidades de los técnicos de laboratorio son:

- Preparar material para análisis microbiológico.
- Receptar las muestras que hayan sido colectadas y preservadas de forma adecuada.
- Rechazar las muestras que han sido mal colectadas y preservadas.
- Preparar, procesar y analizar las muestras de leche y queso.
- Emitir los resultados de los análisis.
- Conocer los procedimientos del presente documento para análisis de muestras de lácteos.
- Limitar o restringir el acceso al laboratorio de personas ajenas a las actividades que se realizan.
- Cumplir con normas de bioseguridad.
- Capacitarse y capacitar en técnicas relacionadas al área microbiológica.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 8 de 23            |

|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUBIERTO DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>  | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |
|  |  |

**3.2. Usuarios internos (ABG) y externos:** Son los encargados de coleccionar y entregar las muestras al laboratorio.

Por su rol son responsables de:

- Utilizar material estéril para la colecta de muestras.
- Colectar y preservar las muestras de forma adecuada, de acuerdo al procedimiento de colecta de muestras.
- Etiquetar las muestras de forma clara, con marcador indeleble
- Llenar el formulario de colecta de muestras para análisis microbiológicos
- Ingresar las muestras de lunes a miércoles en horarios de oficina.
- Solicitar los resultados de los análisis en el tiempo indicado por el especialista microbiológico.

## Sección 4. Procedimiento para análisis microbiológico de leche y queso mediante el uso de placas petrifilm 3M.

### 4.1. Materiales, sustancias, medios de cultivo y su preparación

Previo el procesamiento de las muestras, es importante revisar que se cuente con todos los materiales y reactivos, de igual forma esterilizarlos con el fin de evitar retrasos en el proceso, contaminación y obtención de falsos positivos.

Se detalla la lista de materiales y reactivos que deben ser tomados en cuenta para el análisis microbiológico:

#### 4.1.1. Materiales de laboratorio

- Marcador indeleble
- Auto clave
- Vaso de precipitación
- Cinta testigo
- Mandil
- Guantes de látex o nitrilo
- Cofia

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| <b>PCT-03</b>  | <b>9 de 23</b>     |

|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUEENTO DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>  | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |
|  |  |

- Mascarillas
- Fundas whirl-pak estériles
- Tubos de ensayo de 12x15 o tubos Falcom estériles
- Gradillas
- Lupa
- Micropipetas de 200µl, 1000µl y 10000µl
- Puntas con filtro estériles
- Balanza
- Papel toalla y absorbente
- Dispensor
- Tijera
- Papel periódico
- Bisturí
- Pesa
- Mechero
- Fósforo
- Estufa
- Cabina de Bioseguridad
- Incubadora

#### 4.1.2. Lista de sustancias y medio de cultivo

- Agua peptonada
- Agua destilada autoclavada
- Alcohol al 70%
- Placas petrifilm 3M

#### 4.1.3. Preparación de sustancias y medio de cultivo

- El Agua peptonada al momento de su preparación (seguir las indicaciones de manufactura), debe ser calentada en la estufa y posteriormente autoclavada. Para mayor preservación luego de cada uso mantenerla en refrigeración, el agua debe ser utilizada en un periodo no mayor a 1 mes.
- Placas petrifilm 3M “*E. coli*/coliform Count Plate”, seguir indicaciones del fabricante para su uso.
- Alcohol 70%, su preparación se la realizar con agua destilada autoclavada. (no autoclavar el alcohol).

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 10 de 23           |

|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUBIENTO DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>  | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |
|  |  |

## 4.2 Instrucciones de seguridad

El personal de laboratorio que trabaje con agentes infecciosos debe estar capacitado para la manipulación segura. Dentro del laboratorio se debe tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Restringir el ingreso de niños, mujeres embarazadas y personas ajenas al laboratorio, principalmente cuando se esté trabajando con agentes infecciosos.
- Lavarse las manos luego de cada actividad realizada y al salir del laboratorio con alcohol al 70%.
- No comer, beber, fumar, manipular lentes de contacto y maquillarse en áreas de trabajo.
- Descontaminar las superficies con desinfectantes efectivos, luego de finalizar cada actividad o cuando ha ocurrido derrames o salpicadura, revisar manual de normas y bioseguridad en el laboratorio.
- Colocar una señal de advertencia de riesgo biológico en la entrada del laboratorio cuando se está manipulando agentes biológicos.
- Utilizar indumentaria de protección: mandil, guantes, cofia, mascarilla, zapatos y zapatones desechables.

## 4.3 Recepción de muestras por el laboratorio de microbiología

Solo se recibirán aquellas que cuenten con lo siguiente:

- Hayan sido ingresadas a través del área de recepción de muestras. Se registrará el ingreso de las muestras de acuerdo a lo establecido en el Procedimiento para recepción de muestras y emisión de resultados.
- Se encuentren con el formulario de "colecta de muestras para análisis microbiológicos".
- Que los códigos de las muestras coincidan con los datos de identificación descritos en la etiqueta y el formulario para colecta de muestras.
- Que hayan sido correctamente colectadas, preservadas y se encuentren dentro del tiempo de análisis.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| <b>PCT-03</b>  | <b>11 de 23</b>    |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |
|   |  |

#### 4.4 Revisión previa de equipos y placas petrifilm 3M

Antes de iniciar con el procesamiento de las muestras, es importante tener en cuenta lo siguiente:

- Verificar el buen funcionamiento de la balanza, incubadora y cámara de bioseguridad.
- Asegurar que se cumplan los Programas de Calibración, Verificación y Mantenimiento de equipos definidos dentro del Sistema de Gestión de Calidad.
- Verificar el estado de los Petrifilm 3M de *E. coli* y coliformes. Coloraciones marrón o amarilla, puede indicar un deterioro del producto, lo que derivaría en resultados incorrectos.

#### 4.5 Instrucciones para asegurar el resultado del ensayo

Seguir las indicaciones que se describen a continuación:

- Para la ejecución de este ensayo se requiere Temp de 22°C a 26°C y la humedad relativa 38% a 50%.
- Debe utilizarse siempre componentes estériles y técnicas asépticas para manejar todas las muestras y soluciones. Todo material lavado debe enjuagarse con agua destilada y posteriormente autoclavado, para lo cual hay que utilizar cinta testigo que permita confirmar la eficacia del autoclavado.
- Para cerrar un paquete abierto que contiene placas petrifilm 3M, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto, la alteración de la placa; guárdelas dentro de una funda o recipiente hermético.
- Las placas petrifilm 3M son almacenadas en condiciones de refrigeración (4°C ± 2°C), dentro de las cajas en las que son enviadas, para evitar el contacto con la luz, humedad y que no se produzcan cambios o descomposición de los mismos.
- Paquetes que ya fueron abiertos deben mantenerse a temp 25°C, no refrigerar. Utilice las placas petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

#### 4.6 Procedimientos

##### 4.6.1 Diagnóstico inicial

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 12 de 23    |

|  |  |
|--|--|
|  |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUEENTO DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | <b>Edición No: 1</b><br><b>Fecha de Aprobación: 04-12-2017</b> |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CAUDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>                             |

Debe realizarse un análisis organoléptico de la muestra, como es la observación de manchas de color café, verde, marrón, clorosis (despigmentación), presencia de exudados, etc.

#### 4.6.2 Preparación de la muestra (queso y leche)

La preparación de la muestra es el procedimiento más importante en un análisis, ya que de eso depende evitar cometer errores en los resultados finales, por lo cual es importante seguir las indicaciones que se detallan a continuación:

1. Tener listo materiales y soluciones estériles.
2. Utilizar guantes, mandil, cofia y mascarilla.
3. Encender la incubadora y regular la temperatura deseada (1 hora antes de iniciar).
4. Todo el procedimiento de preparación de muestra debe realizarse dentro de una cabina de bioseguridad o con un mechero encendido, previa esterilización del área de trabajo.
5. Cortar el queso en partes pequeñas y pesar 10g, colocarlo en una funda whirl-pak y macerar la muestra. En el caso de trabajar con leche tomar 10 ml.
6. Añadir 90ml de agua peptonada al queso macerado o leche, para obtener una dilución inicial de 1:10
7. Dejar reposar la mezcla entre queso o leche con agua peptonada por 10min.
8. Realizar diluciones seriadas 1/10 (1ml de la muestra y 9ml de agua peptonada). De la dilución inicial se extraerá 1 ml y se adicionara a un tubo que contenga 9 ml de agua peptonada para obtener otra dilución, de la misma forma repetir el mismo procedimiento hasta obtener la dilución deseada ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , etc.).
9. Homogenizar la muestra 20 veces, por cada dilución utilizar una punta nueva.
10. Para pasar la muestra diluida de un tubo a otro, descargar la muestra evitando el contacto entre la punta que contiene la muestra y el agua peptonada de la siguiente dilución.
11. Realizada la diluciones dejar reposar las muestras por 10 minutos previo el sembrado.

#### 4.6.3 Siembra de las muestras en las placas petrifilm 3M

Todo el procedimiento de siembra se deberá llevar a cabo dentro de una cabina de bioseguridad o con un mechero encendido.

1. Temperar las placas petrifilm 3M a temperatura ambiente, 30 minutos antes de su uso. Algunas especies son sensibles a choques térmicos.
2. Abrir la bolsa que contiene las placas petrifilm, del lado que indica el empaque, sacar únicamente las placas que se vayan a utilizar y sellar el paquete con cinta o una pinza.
3. Colocar la placa petrifilm en una superficie plana y levantar el film superior.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 13 de 23           |

|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE ET. USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>  | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |
|  |  |

4. Tomar 1 ml de las muestras diluidas y verterla sobre el medio de cultivo (en el centro) a una distancia de 1cm.
5. Soltar el film superior y dejarlo caer.
6. Colocar el dispersor en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Usar el dispersor con la cara lisa hacia abajo.
7. Aplicar presión de manera suave sin mover ni girar el dispersor, para repartir la muestra sobre el área circular.
8. Levantar el dispersor, esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

#### 4.6.4 Incubación de las muestras en las placas petrifilm

Seguir las indicaciones que se describen a continuación:

1. Encender la incubadora una hora antes para que se regule a la temperatura programada.
2. Incubar las placas Petrifilm cara arriba a una temp de 35°C hasta 37°C durante un periodo de 24 a 48 h, según el tipo de bacterias a determinar, 24 h para coliformes y 48 h para *E. coli*.
3. Incubar las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas.
4. De ser necesario colocar un recipiente con agua destilada dentro de la incubadora para mantener húmeda la cámara.

#### 4.6.5 Interpretación de los resultados

Seguir las indicaciones que se describen a continuación:

1. Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo azul) indica la presencia de *E. coli*.
2. El gas atrapado en colonias rojas confirma la presencia de coliformes.
3. Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.
4. Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las Pseudomonas, estén presentes en las placas petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.
5. Realizar el conteo de colonias a partir de la última dilución realizada por cada muestra.
6. Cuando la última placa contenga muchas colonias bacterianas y no se pueda contar toda la placa, se dividirá la placa en 2 partes y si aún se encuentran muchas bacterias se dividirá en 4 partes, 8 partes y si continúa muy contaminada contar una cuadrícula de la placa la más representativa y multiplicar por 20 que es el número total de cuadros que contiene la placa Petrifilm.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <b>Código:</b> | <b>Paginación:</b> |
| PCT-03         | 14 de 23           |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Escherichia coli</i> y Coliformes | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD  | SUBPROCESO: Calidad Técnica                      |

7. Los Resultados se informaran como:

(Número de colonias x  $10^{\#}$  de dilución)/10ml o g

Dependiendo del tipo de muestra que se haya analizado. En caso que en una muestra no se observa ninguna colonia se informara: <1/10ml o g.

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| <i>Código:</i> | <i>Paginación:</i> |
| PCT-03         | 15 de 23           |

|   |  |
|---|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>E. coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |
|   |  |

#### 4.6.6 Criterio de aceptación o rechazo de los resultados

Estos criterios van en función de los resultados obtenidos, si existe inconsistencia en los mismos, tener en cuenta lo siguiente:

- Se rechazarán los resultados cuando los controles de siembra de blanco (control negativo) presenten contajes de bacterias.
- Cuando se realicen duplicados de una misma muestra, la diferencia entre ambos resultados no debe ser significativa ( $\leq 5\%$ ).
- Cuando se realicen ensayos en paralelo de una misma muestra, la diferencia entre ambos resultados no debe ser significativa ( $\leq 5\%$ ), caso contrario se rechaza la muestra y se vuelve a correr otro ensayo en paralelo.

#### 4.6.7 Informe de resultados

Los resultados serán emitidos, utilizando el formato informe de resultados, en un tiempo no mayor a 72 horas. En caso de ser necesario y se deba repetir el ensayo se notificará al usuario para la emisión de los resultados.

### Sección 5. Bibliografía

- 3M guía de interpretación, 2009. [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf). Última fecha de acceso Agosto 2016
- CECU. (12 de 2012). CECU. Recuperado el 09 de 04 de 2015, de [http://passthrough.fw-notify.net/download/540640/http://www.ceu.es/publicaciones/INC12\\_seguridad\\_guia.pdf](http://passthrough.fw-notify.net/download/540640/http://www.ceu.es/publicaciones/INC12_seguridad_guia.pdf)
- Delgado, C., J. D., & Torres, M. (2003). *Revista Panamericana de Salud Pública*. Recuperado el 09 de 04 de 2015, de [http://www.scielo.org/scielo.php?pid=S1020-49892003000800002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org/scielo.php?pid=S1020-49892003000800002&script=sci_arttext)
- Eley, R. (1994). *Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana*. Zaragoza, España: Acribia.
- Procedimiento PEE/B-MB/03. Recuento en placa petrifilm de Coliformes totales y *E. coli* en alimentos. Rev. 1. AGROCALIDAD.
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. 2016. <http://apps.inen.gob.ec/descarga/>. Último acceso Agosto 2016.

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 16 de 23    |

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |

## ANEXOS

Anexo 1: Formulario para ingreso de muestras de lácteos.

|  |              | <b>AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL DE LA BIOSEGURIDAD Y CUARENTENA PARA GALÁPAGOS</b><br><b>FORMULARIO PARA COLECTA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS</b> |               |   |                                    |  |  |
|---|--------------|---|---------------|---|------------------------------------|--|--|
|   |              | <table border="1"> <tr> <td><b>No.</b></td> <td><b>ABG-</b></td> </tr> </table>   | <b>No.</b>    | <b>ABG-</b>                                 |                                    |  |  |
| <b>No.</b>  | <b>ABG-</b>  |   |               |   |                                    |  |  |
| <b>DATOS GENERALES</b>  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| USUARIO   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| PROVINCIA/ CANTÓN/ PARROQUIA  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| DIRECCIÓN/ LUGAR REFERENCIAL  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| CORREO ELECTRÓNICO  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| N° DE TELÉFONO FIJO/ CELULAR  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| UBICACIÓN GEOGRÁFICA  | X:           | Y:  |               |   |                                    |  |  |
| <b>DATOS GENERALES</b>  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| TIPO DE MUESTRA   | QUESO FRESCO | LECHE ENTERA  |               |   |                                    |  |  |
| N° DE MUESTRAS  |              | LECHE PASTEURIZADA  |               |   |                                    |  |  |
|   |              | YOGUR   |               |   |                                    |  |  |
|   |              | OTROS   |               |   |                                    |  |  |
| TOTAL DE MUESTRAS COLECTADAS  |              | FECHA DE COLECTA  |               |   |                                    |  |  |
|   |              | HORA DE COLECTA   |               |   |                                    |  |  |
| MEDIO DE TRANSPORTACIÓN DE LA MUESTRAS  |              | LUGAR DE COLECTA  |               |   |                                    |  |  |
| <b>LISTA DE MUESTRAS COLECTADAS</b>   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| N°  | ID           | TIPO DE MUESTRA   | TEMP AMB (°C) | TIPO DE CONTENEDOR/ DEPÓSITO DE LA MUESTRAS | CANTIDAD COLECTADA (Peso/ volúmen) | HORA DE ORDEÑO U HORA O FECHA DE ELABORACIÓN | ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS (ambiente/ refrigeración) |
| 1   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 2   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 3   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 4   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 5   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 6   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 7   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 8   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 9   |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 10  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 11  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 12  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 13  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 14  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 15  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 16  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 17  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 18  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 19  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| 20  |              |   |               |   |                                    |  |  |
| <b>DATOS ADICIONALES</b>  |              |   |               |   |                                    |  |  |

Firma receptor de muestra

Firma del usuario

Nombre:

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUENTO DE <i>E. coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |

Anexo 2: Guía de interpretación y uso de las placas Petrifilm 3M.



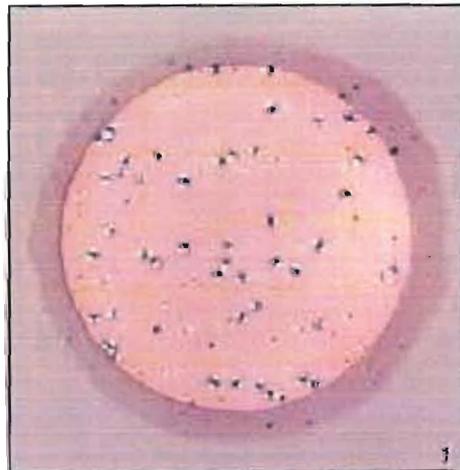
## Guía de interpretación

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

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

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente peptónico 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 coque).

La AOAC Internacional y el *Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos* definen los coliformes como colonias de bacilos 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).

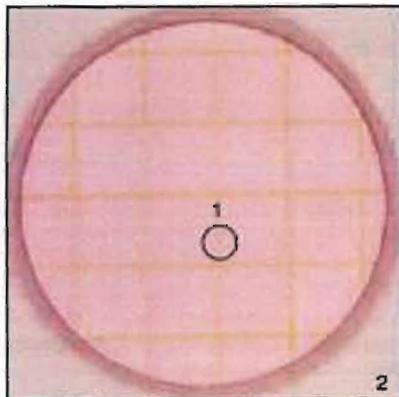
Método validado por la AOAC Internacional  
*E. coli* = 49 (colonias azules con gas)  
Total coliformes = 87 (colonias rojas y azules con gas)

(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).

| Código: | Paginación: |
|---------|-------------|
| PCT-03  | 18 de 23    |

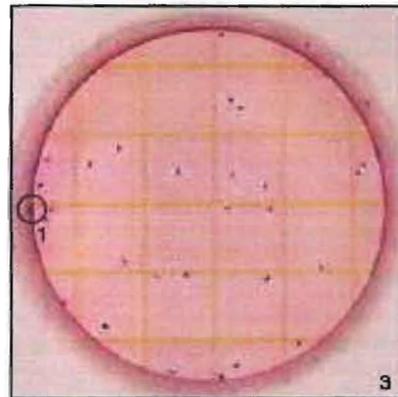
|  |  |
|--|--|
|   |  |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUESTO DE <i>E. coli</i> y Coliformes | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD   | SUBPROCESO: Calidad Técnica                      |

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



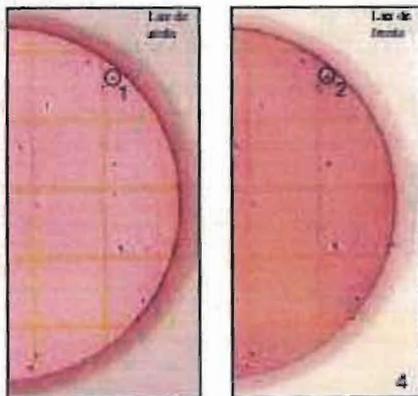
**No crecimiento = 0**  
 Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

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 = 26**  
 El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

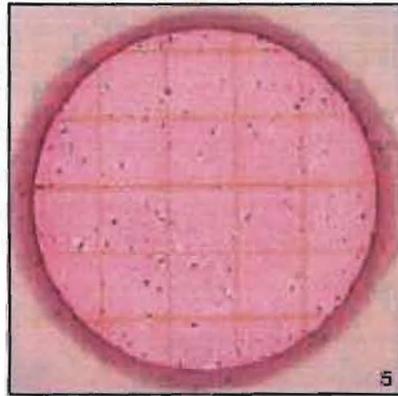
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



**Recuento de *E. coli* = 3**

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. A 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 círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.

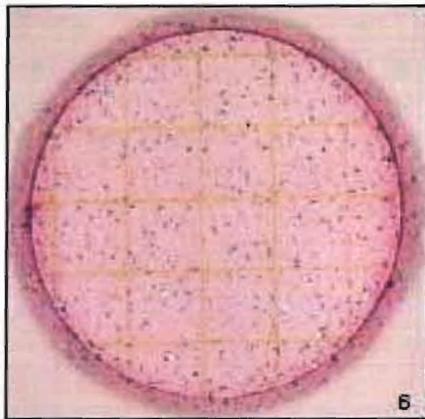


**Recuento de *E. coli* = 17**

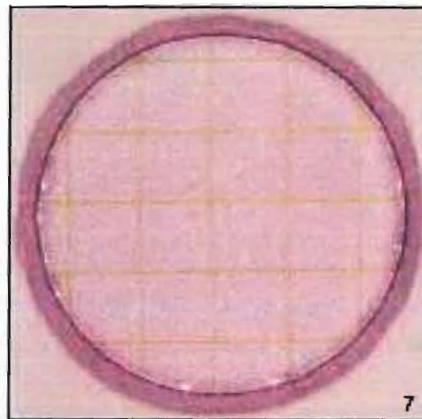
**Recuento total estimado de coliformes = 150**  
 El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el recuento estimado por placa.

|         |             |
|---------|-------------|
| Código: | Paginación: |
| PCT-03  | 19 de 23    |

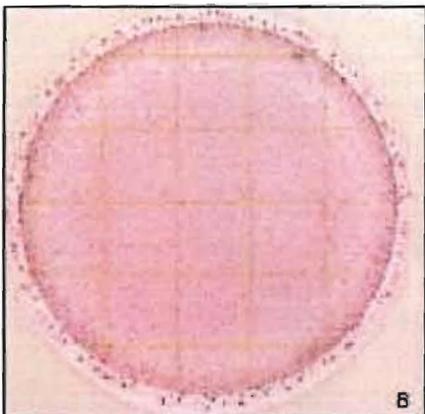
|   |  |
|---|--|
|    |  |
| PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUEENTO DE <i>E. coli</i> y Coliformes | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD  | SUBPROCESO: Calidad Técnica                      |



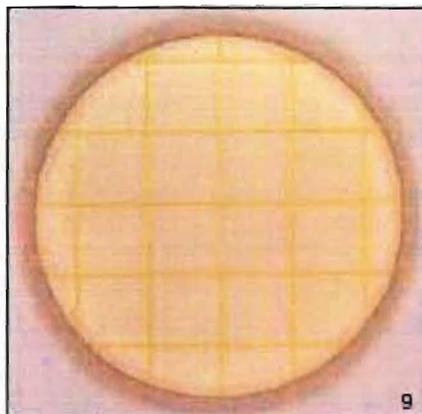
**Recuento actual aprox. -  $10^8$**   
 Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características:  
**Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.**



**Recuento actual aprox. -  $10^8$**   
 Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



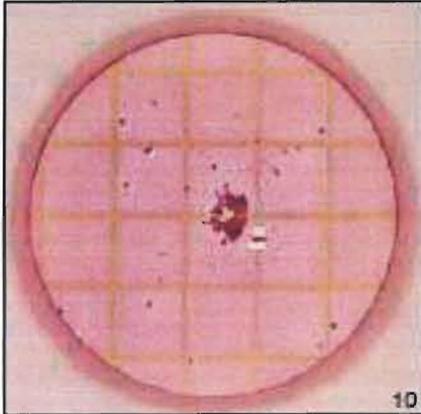
**Recuento presuntivo de *E. coli* - 8**  
**Recuento total estimado de coliformes aprox. -  $10^8$**   
 Cuando existen cifras altas de coliformes ( $10^8$ ), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuente todas las colonias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



**Recuento actual aprox. de -  $10^8$**   
 Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

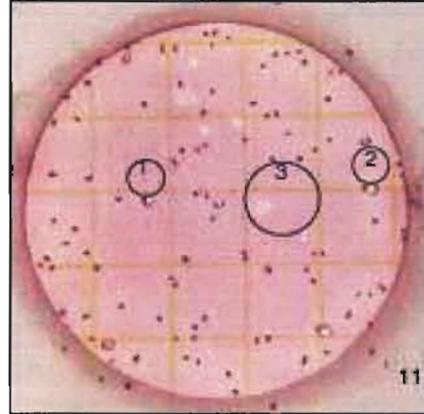


## Burbujas



Recuento total de coliformes = 3

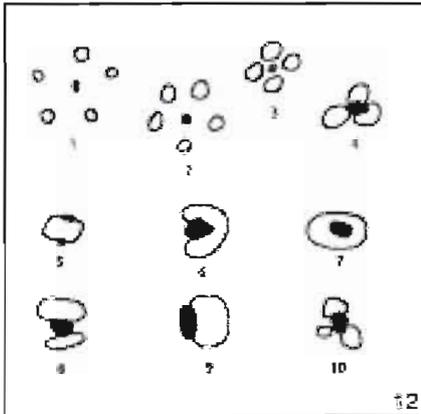
Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 78

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'define' 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.

|   |  |
|---|--|
|    |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECuento DE <i>E. coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CALIDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |

## 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, consulte el inserto de producto en el paquete.

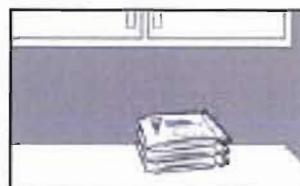
### Almacenamiento



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura de 2-8 °C (40-45 °F). Las placas deben estar protegidas de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se almacenen al aire libre del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de fabricación. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



**2** Para abrir un paquete, doble el centro y selle con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la absorción de las placas.

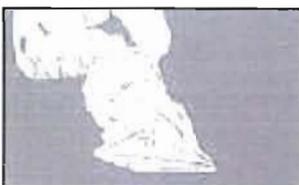


**3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura de 25 °C (77 °F) y una humedad relativa de 50%. **No refrigere** los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm más pronto posible después de abrir el paquete.

### Preparación de la muestra



**4** Prepare una dilución de una muestra de alimentos. Pese o pese la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Steromacher, una botella de dilución o cualquier otro recipiente estéril apropiado. *Mira las instrucciones para Productos Lácteos y Agua.*



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: siempre esterilizado (ampollas ISO 10425 g/L de H<sub>2</sub>O) y con pH ajustado a 7.2); agua no potable al 0.1%; diluyente de sal peptonada (medio ISO 6867); buffer de agua peptonada (medio ISO 6878); solución salina (0.85 a 0.90%), agua destilada libre de bicarbonato o agua destilada.



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

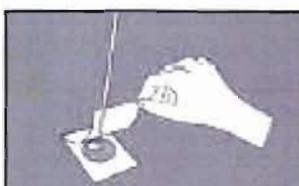
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:  
 • Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.  
 • Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice buffers que contengan cloro, sulfato o sulfatos de sodio, porque pueden afectar el recuento.

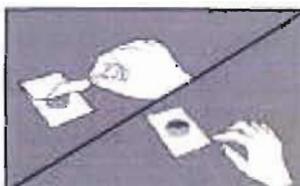
### Inoculación



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



**8** Con la Pipeta Electrónica 3M™, o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



**9** Selle con cuidado la película superior para evitar que escape cualquier aire. **No lo deje caer.**

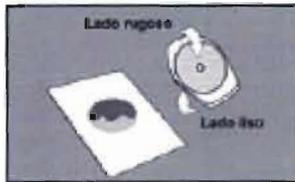
Código:

Paginación:

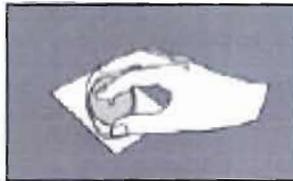
PCT-03

22 de 23

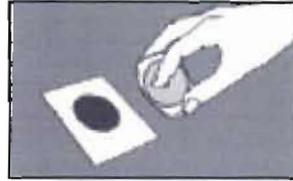
|  |  |
|--|--|
|   |  |
| <b>PROCEDIMIENTO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LECHE Y QUESO MEDIANTE EL USO DE PLACAS PETRIFILM 3M PARA EL RECUEENTO DE <i>Echerichia coli</i> y Coliformes</b> | Edición No: 1<br>Fecha de Aprobación: 04-12-2017 |
| <b>PROCESO: VIGILANCIA Y CAUDAD PARA LA BIOSEGURIDAD</b>   | <b>SUBPROCESO: Calidad Técnica</b>               |



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

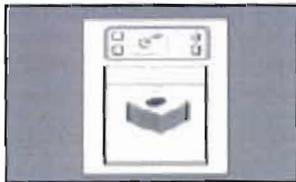


**11** Presione suavemente el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador.



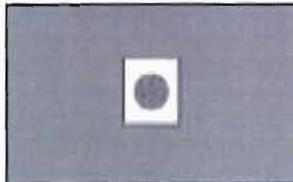
**12** Levante el dispensador. Capote, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

### Incubación

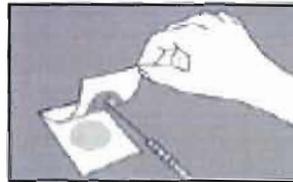


**13** Incube las placas para arriba en grupos de no más de 20 placas. Puede ser necesario humedecer el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### 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:

- **ACIAC método oficial 001.04**  
 Para coliformes:  
 Incubar 24 h a 23 °C ± 1 °C.  
 Para *E. coli*:  
 Incubar 48 h a 23 °C ± 1 °C.
- **ACIAC método oficial 006.00**  
 Para *E. coli* (carnes, aves, mariscos):  
 Incubar 24 h a 23 °C ± 1 °C.
- **Método NMKL (147:1993)**  
 Para coliformes:  
 Incubar 24 h a 23 °C ± 1 °C.  
 Para *E. coli*:  
 Incubar 48 h a 23 °C ± 1 °C.

### Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visite en nuestra página de internet: [www.3m.com/microbiology](http://www.3m.com/microbiology)
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección [serviciotecnico@micro.3m.com](mailto:serviciotecnico@micro.3m.com) o llame al 5255-5270-2223.

**3M**  
 3M Microbiology  
 3M Center, Bldg. 275-5W-05  
 St. Paul, MN 55144-1000  
 USA  
 1800-228-3957  
[microbiology@3m.com](mailto:microbiology@3m.com)  
[www.3m.com/microbiology](http://www.3m.com/microbiology)

3M México  
 Av. Santa Fe 100  
 Col. Santa Fe, C.P. 01210  
 México, D.F.  
 Tel. (55-52) 5270-0454  
 01 800-712-2527  
[microbiologia@3m.com](mailto:microbiologia@3m.com)

3M Argentina  
 Olga Cometti 1031  
 Buenos Aires,  
 CP C1000EA  
 Argentina  
 Tel. (54-11) 4339-3400  
[microbiologia-ar@3m.com](mailto:microbiologia-ar@3m.com)

Petrifilm es una marca  
 registrada de 3M  
 impresa en México.  
 Revisión: 2006-01  
 Referencia: 70-2006-0126-3.

Código:

PCT-03

Paginación:

23 de 23