

Instrucciones del Producto

Placa para Recuento Rápido de *Escherichia coli* / Coliformes

Descripción del producto y uso previsto

La Placa 3M™ Petrifilm™ para recuento rápido de *E. coli* / coliformes (REC) es un sistema selectivo y diferencial de medio de cultivo listo para muestras, que contiene nutrientes patentados, un agente gelificante soluble en agua fría, 5-bromo-4-cloro-3-indolil-D-glucurónico (BCIG), un indicador de la actividad glucuronidasa y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. La Placa 3M Petrifilm REC se utiliza para la enumeración de *Escherichia coli* (*E. coli*) y coliformes en las industrias de alimentos y bebidas. Los componentes de la Placa 3M Petrifilm REC están descontaminados, pero no esterilizados. 3M Food Safety cuenta con certificación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación. La Placa 3M Petrifilm REC no ha sido evaluada con todos los productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de prueba posibles ni con todas las posibles cepas de microorganismos.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones de la Placa 3M Petrifilm REC. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

⚠ **ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, o daños materiales.

⚠ ADVERTENCIA

No utilice esta placa para la detección específica de *E. coli* O157. Debido a que la mayoría de las cepas de *E. coli* O157 son atípicas, por ejemplo, son negativas a la glucuronidasa, no producirán un color azul y, por lo tanto, se detectarán como coliformes en las Placas 3M Petrifilm REC.

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a riesgos biológicos y la contaminación ambiental:

- Después del uso, las Placas 3M Petrifilm REC pueden contener microorganismos que pueden representar un posible riesgo biológico. Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos de riesgo biológico.

Para reducir los riesgos asociados con la diseminación de productos contaminados:

- Siga todas las instrucciones de almacenamiento del producto que se incluyen en las instrucciones de uso.
- No use el producto después de la fecha de caducidad.
- No use las Placas 3M Petrifilm REC que presenten decoloración.
- No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfato o tiosulfato en Placas 3M Petrifilm REC, ya que pueden inhibir el crecimiento.

Para reducir los riesgos asociados con la infección bacteriana y la contaminación del lugar de trabajo:

- Realice pruebas con la Placa 3M Petrifilm REC en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de un microbiólogo capacitado.
- El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio¹, ISO 7218² o ISO 17025³.

Para reducir los riesgos asociados con la interpretación incorrecta de resultados:

- 3M no ha documentado el uso de las Placas 3M Petrifilm REC para otras industrias que no sean de alimentos o bebidas. Por ejemplo, 3M no ha documentado el uso de las Placas 3M Petrifilm REC para realizar análisis de agua, productos farmacéuticos ni cosméticos.
- No use las Placas 3M Petrifilm REC para diagnosticar enfermedades de humanos ni de animales.
- Las Placas 3M Petrifilm REC no diferencian una cepa de *E. coli* de una coliforme.
- Algunas cepas de bacterias pueden producir β-glucuronidasa tales como *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* y pueden producir colonias de azul a verde azulado en la Placa 3M Petrifilm REC.
- Los alimentos con alto contenido de azúcar pueden aumentar el potencial de producción de gas a partir de *Enterobacteriaceae* no coliformes.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Si desea obtener información sobre la documentación del desempeño del producto, visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o comuníquese con su representante o distribuidor local de 3M.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de 3M para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio pueden afectar los resultados. La misma muestra de alimento puede influir en los resultados.

Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar un número suficiente de muestras con retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de 3M Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, 3M RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de 3M Food Safety es defectuoso, 3M o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a 3M en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a 3M. Llame a Atención al Cliente (1-800-328-1671 en los EE. UU.) o a su representante oficial de 3M Food Safety para obtener una Autorización de devolución de productos.

Limitación de responsabilidad de 3M

3M NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de 3M conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento

Guarde los sobres de las Placas 3M Petrifilm REC sin abrir refrigeradas o congeladas (-20 °C a 8 °C / -4 °F a 46 °F). Antes de usarlas, deje que los sobres cerrados de Placa 3M Petrifilm REC alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas (20 °C a 25 °C [68 °F a 77 °F] / <60 % de humedad relativa). Vuelva a colocar las Placas 3M Petrifilm REC que no haya usado en el sobre. Selle el sobre plegando el extremo y colocando cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere los sobres abiertos.** Almacene los sobres de la Placa 3M Petrifilm REC en un lugar fresco y seco durante no más de cuatro semanas. Se recomienda que los sobres resellados de las Placas 3M Petrifilm REC se guarden en un congelador por no más de cuatro semanas si la temperatura del laboratorio excede los 25 °C (77 °F) o el laboratorio se encuentra en una región con una humedad relativa que supera el 50 % (excepto en instalaciones con aire acondicionado).

Para guardar los sobres abiertos en un congelador, coloque las Placas 3M Petrifilm REC en un recipiente hermético. Para usar las Placas 3M Petrifilm REC congeladas, abra el recipiente y retire las que necesita; vuelva a colocar inmediatamente las placas restantes en el recipiente hermético y guárdelo en el congelador. El congelador que se utiliza para el almacenamiento de sobres abiertos no debe tener un ciclo de descongelación automático, ya que esto expondría repetidamente las Placas 3M Petrifilm REC a la humedad, lo que puede dañar las placas.

No use las Placas 3M Petrifilm REC que presenten decoloración. La fecha de vencimiento y el número de lote figuran en cada sobre de Placas 3M Petrifilm REC. El número de lote también aparece en cada una de las Placas 3M Petrifilm REC. No deben usarse las Placas 3M Petrifilm REC que hayan excedido su fecha de caducidad.

⚠ Desecho

Después del uso, las Placas 3M Petrifilm REC pueden contener microorganismos que pueden representar un posible riesgo biológico. Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos de riesgo biológico.

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

Preparación de la muestra

1. Utilice diluyentes estériles apropiados:

Agua de dilución de fosfato tamponado de Butterfield, agua peptonada al 0,1 %, diluyente de sal de peptona (diluyente de recuperación máxima), agua peptonada tamponada, solución salina al 0,85 %-0,9 %, solución salina tamponada con fosfato (phosphate buffered saline, PBS), agua destilada o caldo libre de bisulfito.

No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato en Placas 3M Petrifilm REC, ya que pueden inhibir el crecimiento. Si se indica solución de caldo de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyala por agua de dilución de fosfato tamponado de Butterfield, calentada a 40 °C-45 °C.

2. Mezcle u homogeneice la muestra.
3. Para un crecimiento y recuperación óptimos de microorganismos en productos ácidos (<pH 5), ajuste el pH de la suspensión de la muestra a más de pH 5. Para productos ácidos, ajuste el pH con 1N de NaOH.

Inoculación de las placas

1. Coloque la Placa 3M Petrifilm REC sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y, con la pipeta en posición perpendicular al área de inoculación, distribuya 1 mL de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior.
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar atrapar burbujas de aire.
4. Coloque el Difusor Plano 3M™ Petrifilm™ (6425) con el lado plano hacia abajo en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir la muestra de manera uniforme. Esparza el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa 3M Petrifilm REC antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
5. Retire el 3M Petrifilm Difusor Plano y deje la placa quieta por al menos un minuto para permitir que se forme el gel.

Incubación

Incube las Placas 3M Petrifilm REC en posición horizontal, con la parte clara hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas. Se pueden usar varios tiempos y temperaturas de incubación dependiendo de los métodos de referencia locales actuales, algunos de los cuales se enumeran en la sección "Instrucciones específicas para métodos validados".

Interpretación

1. Las Placas 3M Petrifilm REC pueden contarse usando un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. No cuente las colonias en el dique de espuma ya que fueron retiradas la influencia selectiva del medio. No cuente las burbujas del artefacto que puedan estar presentes.
2. La interpretación de las colonias de *E. coli* es la siguiente:
Enumere las colonias de azul a azul verdoso con y sin gas, independientemente del tamaño o la intensidad del color, como *E. coli*.

⚠ ADVERTENCIA

No utilice esta placa para la detección específica de *E. coli* O157. Debido a que la mayoría de las cepas de *E. coli* O157 son atípicas, por ejemplo, son negativas a la glucuronidasa, no producirán un color azul y, por lo tanto, se detectarán como coliformes en las Placas 3M Petrifilm REC.

3. La interpretación de las colonias coliformes que no son *E. coli* en la Placa 3M Petrifilm REC varían según el método de referencia. Por ejemplo:
 - a. Manual de análisis bacteriológico (Bacteriological Analytical Manual, BAM) de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (United States Food and Drug Administration, FDA) Capítulo 4: La enumeración de *Escherichia coli* y la bacteria Coliforme¹⁰, define coliformes como barras Gram negativas, que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias coliformes no *E. coli* en la Placa 3M Petrifilm REC son rojas y están estrechamente asociadas (dentro del diámetro de una colonia) con gas atrapado. Las colonias no asociadas con el gas (una distancia mayor que el diámetro de una colonia entre la colonia y la burbuja de gas) no se cuentan como coliformes. El recuento total de coliformes consta de colonias rojas con gas y colonias azules con y sin gas.

b. ISO los define coliformes por su capacidad de crecer en medios selectivos y específicos del método. ISO 4832⁴ enumera las colonias coliformes típicas en agar Bilis Rojo Violeta Lactosa (Violet Red Bile Lactose, VRBL), con confirmación de colonias atípicas. En la Placa 3M Petrifilm REC, las coliformes no *E. coli* son colonias rojas con y sin producción de gas. El recuento total de coliformes se indica mediante colonias rojas con o sin producción de gas y colonias azules con y sin producción de gas.

4. Enumeración:

- a. Las estimaciones para *E. coli* se pueden hacer en Placas 3M Petrifilm REC que contienen más de 100 colonias de azul a verde azulado.
- b. Las estimaciones para coliformes se pueden hacer en Placas 3M Petrifilm REC que contienen más de 100 colonias.
- c. El *E. coli* o las coliformes totales pueden ocurrir en diluciones separadas.

El área de crecimiento circular es de aproximadamente 30 cm². Cuente el número de colonias en uno o varios cuadrantes representativos y determine el promedio de colonias por cuadrante. Multiplique el número promedio por 30 para determinar el recuento estimado por Placa 3M Petrifilm REC.

- 5. Las Placas 3M Petrifilm REC con recuentos de colonias demasiado numerosas para contar (TNTC) pueden tener una o más de las siguientes características: aclaración del color del gel a amarillo, muchas pequeñas colonias rojas o azules indistintas o muchas burbujas de gas. Las altas concentraciones de *E. coli* o coliformes pueden causar que el borde exterior del área de crecimiento se vuelva de color rosa a rosa anaranjado. Cuando esto ocurra, registre los resultados como TNTC. Para un recuento más preciso, puede ser necesaria una mayor dilución de la muestra.
- 6. Cuando sea necesario, las colonias se podrán aislar para una mejor identificación. Levante la película superior y recoja la colonia del gel. Pruebe usando procedimientos estándar.
- 7. Si las Placas 3M Petrifilm REC no se pueden contar dentro del periodo de incubación, podrán almacenarse para su posterior enumeración congelando en un recipiente hermético a temperaturas inferiores o iguales a 15 °C (5 °F) negativas durante no más de una semana.

Para obtener mayor información, consulte la "Guía de interpretación de la Placa para recuento rápido de bacterias *E. coli* y coliformes 3M™ Petrifilm™". Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o comuníquese con su representante o distribuidor local de 3M.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® *Official Method Analysis* 2018.13

AOAC® *Performance Tested* SM N.º de certificado 051801

En AOAC® *Official Methods of Analysis* SM y estudios AOAC® *Performance Tested Methods* SM se descubrió que el método de la Placa 3M Petrifilm REC es equivalente al recuento medio de registros del BAM Capítulo 4 de la FDA de los Estados Unidos: La enumeración de *Escherichia coli* y la Bacteria Coliforme, ISO 4832: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of coliforms –Colony count technique, e ISO 16649: Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* –Part 2: colony count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide.

Alcance de la validación: Amplia gama de alimentos y superficies ambientales selectas.

Incubación:

Productos lácteos:

Incube las Placas 3M Petrifilm REC de 18-24 horas a 30 °C ± 1 °C o 32 °C ± 1 °C para coliformes y *E. coli* o 42 °C ± 1 °C para *E. coli*.

Todos los demás alimentos:

Incube las Placas 3M Petrifilm REC de 18-24 horas a 35 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C para coliformes y *E. coli* o 42 °C ± 1 °C para *E. coli*.



Certificación MicroVal

Número de certificado MicroVal 2017LR76 de conformidad con ISO 16140-2:2016¹¹ en comparación con ISO 4832:2006⁴ e ISO 16649-2:2001⁹

Utilice los siguientes datos al llevar a cabo la implementación de las Instrucciones de uso antes mencionadas:

Alcance de la validación:

Amplia gama de alimentos y superficies ambientales selectas.

Incubación:

Productos lácteos:

Incube las Placas 3M Petrifilm REC de 18-24 horas a 30 °C ± 1 °C para coliformes y *E. coli* o 42 °C ± 1 °C para *E. coli*.

Todos los demás alimentos:

Incube las Placas 3M Petrifilm REC de 18-24 horas a 37 °C ± 1 °C para coliformes y *E. coli* o 42 °C ± 1 °C para *E. coli*.

Interpretación

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba según la norma ISO 7218² para una placa por dilución. Consulte la sección de Interpretación, pasos 2 a 4.

Referencias

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
3. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
5. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
6. NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
9. ISO 16649-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide.
10. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria online.
11. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

Explicación de los símbolos

www.3M.com/foodsafety/symbols

AOAC es una marca registrada de AOAC INTERNATIONAL

Official Method es una marca de servicio de AOAC INTERNATIONAL

Performance Tested Method es una marca de servicio de AOAC INTERNATIONAL

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street, Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2019, 3M. All rights reserved.
3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Used under license in Canada.
34-8724-4681-9