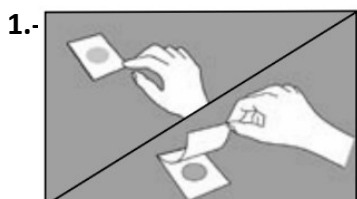


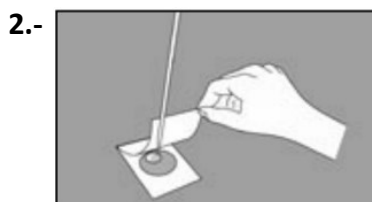
- 1) **Antes de cultivar la muestra de agua, se deben utilizar los siguientes materiales y medidas sanitarias:** Guantes estériles, mascarilla, asa de cultivo estéril, mechero bunsen o de alcohol, tubos eppendorf, agua destilada estéril, micropipetas, puntas de micropipetas, placa Petrifilm^{MR} para Recuento de E. coli y Coliformes (Cat. 6404, 6414) y Enterobacterias.



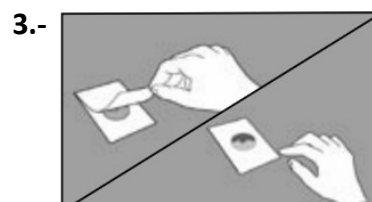
- 2) Encienda el mechero antes de manipular las placas, a lo menos 30 minutos antes de manipular las placas para generar un ambiente estéril, deje las placas cerca del mechero para evitar que estén muy frías.
- 3) Divida la muestra en 3 tubos eppendorf, debido a 1:9, de los cuales deberá diluir la muestra a esta razón en -1, -2 y -3. Donde se sacará 1 mL de la muestra inicial y se diluirá en 9 mL de agua destilada esterilizada (-1), de este tubo sacaremos 1 mL y lo diluiremos en 9 mL de agua destilada esterilizada (-2) y así con el (-3). En total son 4 frascos.
- 4) Saque el Petrifilm[™] del empaque, rotularlo y seguir las siguientes secuenciaciones de imágenes. (en la aplicación, no debe quedar burbujas).



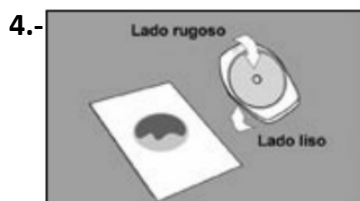
Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



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.



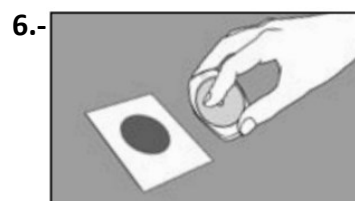
Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No** la deje caer.



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



Presione **suavemente** el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire. Ni deslice el dispersor.



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

- 5) Incube las placas con la cara hacia arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con el agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- 6) El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método, los cuales los mas aprobados son:

AOAC método oficial 991.14

Para coliformes:

Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Para *E. coli*:

Incubar $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

AOAC método oficial 998.08

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

Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Método NMKL (147.1993)

Para coliformes:

Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Para *E. coli*:

Incubar $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

- 7) Las placas idealmente deben ser contadas utilizando un contador de colonias o una lupa con luz. El número de cuentas corresponde al número de UFC por mL de muestra.
- 8) Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

