

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
1086-84**

**ALIMENTOS.
METODOS PARA RECUENTO DE
BACTERIAS COLIFORMES EN
PLACAS DE PETRI.**

(1^{ra.} REVISION)



PROLOGO

La presente norma sustituye totalmente a la Norma Venezolana COVENIN
1086-77.

TRAMITE

COMITE: CT10 ALIMENTOS
PRESIDENTE: Dr. Gustavo Toro Alayón
SECRETARIA: Ing. Milagros Díaz Suárez
SUBCOMITE: CT10/SC3 MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS
COORDINADORA: Ing. Milagros Díaz Suárez

PARTICIPANTES

ENTIDAD

REPRESENTANTES

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

María Luisa Novoa
Manuela Ríos de Selgrad
Belkis Aponte

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL

Gustavo Toro

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

Silvia Mendoza

INDUSTRIA LACTEA VENEZOLANA (INDULAC)

Gladys Méndez
Miroslava Prieto

FUNDACION CIEPE

Reinaldo Lagonell

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE AGRONOMIA

José Cegarra

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Trina Vargas

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA

Ricardo Gómez

CAMARA VENEZOLANA DE LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS (CAVIDEA)

Manuel Cols Páez

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

José Félix Chávez
Elba Sangronis

ASOCIACION DE INDUSTRIALES DE LA CARNE
(AICAR)

ASESOR INDEPENDIENTE

Emigdio Rojas

Luis Heredia

Peter Robl

DISCUSION PUBLICA:

FECHA DE ENVIO: 02-09-76

DURACION: 60 días

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 12-07-84

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 11-12-84

NORMA VENEZOLANA

ALIMENTOS

METODO PARA RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES EN PLACAS DE PETRI

COVENIN

0006-84

(1ª Revisión)

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

COVENIN 1126-77 Alimentos. Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico.

2 OBJETO

Esta norma contempla el método de ensayo para la determinación cuantitativa de bacterias coliformes en alimentos, mediante la utilización de placas de Petri con un medio de cultivo apropiado.

3 RESUMEN DEL ENSAYO

El método consiste en mezclar un volumen dado de una muestra representativa y homogénea del alimento a examinar o de diluciones de la misma con un medio de cultivo en placas de Petri. Después del período de incubación se determina el número de colonias que presenten características típicas de bacterias coliformes.

4 EQUIPO

4.1 CONTADOR DE COLONIAS

4.2 INCUBADORA CON REGULADOR DE TEMPERATURA, graduada a 35-37°C.

4.3 REFRIGERADOR

4.4 PIPETAS GRADUADAS ESTERILES

4.5 TERMOMETRO con escala graduada de 0°C a 100°C.

4.6 FRASCO Y TUBOS DE DILUCIÓN

4.7 PLACAS DE PETRI ESTERILES DE 10 mm X 100 mm

4.8 BAÑO MARIA con regulador de temperatura, graduado de 44°C a 46°C.

5 MATERIALES Y REACTIVOS5.1 AGAR VIOLETA ROJO BILIS

Fórmula:

Extracto de levadura	3,0	g
Peptona	7,0	g
Cloruro de sodio	5,0	g
Sales biliares N° 3	1,5	g
Lactosa	10,0	g
Rojo neutro	0,03	g
Cristal violeta	0,002	g
Agar	15,0	g
Agua destilada	1.000,0	ml

Preparación:

- Todos los ingredientes se disuelven en el agua (es conveniente añadir los colorantes como soluciones acuosas al 0,1%, filtrados) y se calienta a ebullición para disolver completamente.
- Se enfría a 50 - 60°C y se ajusta el pH de manera que después de la esterilización sea de 7,4. Se distribuye según se requiera en tubos o matraces y se esteriliza en el autoclave a 121°C por 15 min.

5.2 AGUA PEPTONADA

Fórmula:

Peptona	10,0	g
Cloruro de sodio	5,0	g
Agua destilada	1000	ml

Preparación:

- Se disuelven los ingredientes en el agua destilada y se ajusta el medio de manera que el pH después de la esterilización sea de $7,2 \pm 0,1$
- Se distribuye en porciones de 10 ml en los tubos de ensayo y se esterilizan a 121°C por 15 min.

6 CONDICIONES DEL ENSAYO

6.1 Previo al análisis, las muestras deben mantenerse en condiciones apropiadas según lo establecido en la norma COVENIN correspondiente.

6.2 Todo el análisis debe realizarse en condiciones de asepsia.

7 PROCEDIMIENTO

7.1 La muestra se codifica y se prepara según la norma COVENIN 1126

7.2 A partir de la primera dilución obtenida, según se indica en la norma COVENIN 1126, se preparan las diluciones necesarias utilizando agua peptonada.

7.3 Se coloca 1 ml de la muestra o sus diluciones en cada una de dos placas de Petri.

7.4 Se agrega a cada placa de 12 a 15 ml de agar violeta rojo bilis (5.1) previamente fundido y mantenido a una temperatura de 44° a 46°C. Se mezcla convenientemente y se deja solidificar por 8 ó 10 min sobre una superficie plana, No deben transcurrir más de 20 min desde el momento de la preparación de la dilución hasta el agregado del agar.

7.5 Una vez solidificado el agar, se cubre con 3 a 4 ml del mismo medio (5.1) para formar una doble capa.

7.6 Se invierten las placas y se incuban a 35° - 37°C durante 24 ± 2h.

7.7 Finalizado el período de incubación, se seleccionan las placas que contengan no más de 150 colonias. Con la ayuda de un cuenta colonias o en su defecto, una lente de aumento, se cuentan como coliformes las colonias de color rojo oscuro que tengan un diámetro no menor de 0,5 mm.

8 EXPRESION DE RESULTADOS

8.1 El número de unidades formadores de colonias características, obtenido para cada dilución, se multiplica por el factor de dilución correspondiente, se promedian los resultados y el valor final se expresa en unidades formadores de colonias por gramo o por mililitro según el caso.

9 INFORME

El informe del ensayo deberá indicar como mínimo la siguiente información:

- 1.- Ensayo realizado según la norma COVENIN 1086-84.
- 2.- Fecha en la cual se realizó el ensayo.
- 3.- Identificación de la muestra.
- 4.- Resultados del ensayo.
- 5.- Observaciones.

BIBLIOGRAFIA

ICMSF 1978. "Microorganisms in Foods 1. Their significance and methods of enumeration". International Committee on Microbiological Specifications for Foods. 2nd Edition University of Toronto Press. Toronto and Buffalo. Canada.

COVENIN
1086-84

CATEGORIA
B

COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO

Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12

Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12

CARACAS

publicación de:



CDU : 664.576.8.093

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS .
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.
