

Artículo Científico

IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ALTERNATIVO PETRIFILM PARA DETERMINAR COLIFORMES Y BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS EN LA INDUSTRIA DE LÁCTEOS “PAIRUMANI” Y EL LABORATORIO “LIDIVECO” DE SENASAG

PETRIFILM ALTERNATIVE METHOD IMPLEMENTATION TO DETERMINE COLIFORMS AND AEROBIC MESOPHILIC BACTERIA IN THE DAIRY INDUSTRY “PAIRUMANI” AND SENASAG’S LABORATORY “LIDIVECO”

Ing. Augusto Guidi Figueroa (1)
 MSc. Wilma León Maldonado (2)
 Lic. Nadia Fernández Rivera (3)
 Lic. Joanna Gottret Muñoz (4)

RESUMEN

Las industrias alimentarias y laboratorios de microbiología de alimentos en Cochabamba-Bolivia realizan diversos análisis a productos alimenticios para garantizar su inocuidad. En el presente proyecto se determinaron los requerimientos de dos empresas específicas: la industria de lácteos Pairumani y el laboratorio de microbiología de alimentos LIDIVECO-SENASAG, a fin de implementar un método alternativo que permita identificar y cuantificar bacterias indicadoras de contaminación más rápidamente.

Con este objetivo, se realizó un estudio analítico, descriptivo y cuantitativo, donde se compararon paralelamente ensayos con medios de cultivo que tradicionalmente utilizaban y ensayos con Petrifilm (método alternativo) en análisis a muestras de productos lácteos y cárnicos.

Los resultados obtenidos de la determinación de Bacterias Aerobias Mesófilas, Coliformes y *E. Coli* obtenidos por el método alternativo fueron confiables. Más del 91% del total de ensayos comparados resultaron iguales. Además, se determinó la eficiencia de este método alternativo al medir los ahorros de tiempo, espacio, equipos y costos.

Palabras Clave: Aerobios mesófilos – Recuento.

Tratamiento de leche cruda. Recuento de microorganismos en placa Petrifilm.

ABSTRACT

Food industries and food microbiology laboratories in Cochabamba-Bolivia conducted several analyzes to food products to ensure their safety. In this project the requirements of two specific companies were identified: Pairumani dairy industry and food microbiology laboratory LIDIVECO-SENASAG, to implement an alternative method to identify and quantify indicator bacteria faster.

For this purpose, an analytical, descriptive and quantitative study, where parallel testing culture media and tests traditionally used Petrifilm (Alternative Method) analysis to samples of milk and meat products were compared was performed.

The results of the determination mesophilic aerobic bacteria, coliforms and *E. Coli* obtained by the alternative method were reliable. Over 91% of tests compared were equal; moreover, this alternative method efficiency was determined by measuring the savings in time, space, and equipment costs.

Keywords: Mesophilic aerobic – Counting. Treatment of raw milk. Microbial count Petrifilm plate.

1. Ingeniero Agrónomo. Docente Univalle Cochabamba. marconi_guidi@hotmail.com
2. Licenciada Bioquímica Farmacéutica y Máster en Biotecnología. Docente Univalle Cochabamba. wilmaleonm@univalle.edu
3. Licenciada Bióloga. Directora Gastronomía Univalle Cochabamba. lfernandezri@univalle.edu
4. Licenciada Bioquímica Farmacéutica y Estudiante de Técnico Superior en Industrias Alimentarias. Univalle Cochabamba. Joanna.gottret@gmail.com

Páginas 58 a 65
 Fecha de Recepción: 17/11/15
 Fecha de Aprobación: 23/11/15

INTRODUCCIÓN

El incremento en la producción, comercialización y consumo de alimentos requiere de controles de calidad que generen resultados fiables, exactos y a su vez puedan ser obtenidos rápidamente sin aumentar los costos, a fin de garantizar que los alimentos no representen ningún daño para la salud y cumplan con los requisitos establecidos por la normativa.

Para garantizar la inocuidad de los alimentos y proteger a los consumidores es imprescindible que haya sistemas nacionales para el control de los alimentos que sean eficaces, con una base oficial y de carácter obligatorio. El control de los alimentos busca garantizar que todos los alimentos, durante su producción, manipulación, almacenamiento, elaboración y distribución, sean inocuos, sanos y aptos para el consumo humano de acuerdo con las disposiciones de la ley (1).

Es de suma importancia realizar controles de calidad microbiológicos al industrializar los alimentos, no sólo para determinar si se obtienen productos seguros o inocuos, sino también para verificar que se realicen Buenas Prácticas de Manufactura en condiciones de limpieza e higiene al manipular los alimentos. La industria Boliviana necesita realizar análisis microbiológicos de una forma más eficiente, y el método que utiliza placas petrifilm proporciona una alternativa innovadora.

ANTECEDENTES

El científico Bob Nelson desarrolló las Placas Petrifilm en los laboratorios de 3M a partir de la dificultad que él vio al transportar medios de cultivo de un hospital a otro. Por ello, en un inicio, el producto fue pensado para usarse en hospitales y poder transportar los cultivos de una ciudad a otra de manera más sencilla. Las primeras placas que se crearon fueron las de Bacterias Aerobias y las de Coliformes, posteriormente se introdujo Mohos, Levaduras y *Escherichia coli*. De 1986 a 1987, se obtuvieron las primeras aprobaciones, y desde entonces la línea se expandió alrededor del mundo (2).

A pesar de que el uso de placas petrifilm para realizar el control microbiológico de los alimentos es ampliamente conocido y utilizado en Estados Unidos y Europa, la mayor parte de las industrias bolivianas continúan utilizando medios de cultivo tradicionales y no conocen acerca de los métodos alternativos que existen en el mercado para microbiología de alimentos.

Actualmente, del top 100 de empresas productoras de alimentos a nivel mundial, 83 utilizan Placas Petrifilm

para sus controles microbiológicos. Por ejemplo, la empresa HEINZ México las utiliza ya más de 11 años. Por otro lado, la multinacional Nestlé lleva más de 15 años utilizando Petrifilm. En un artículo publicado por la revista "The European Food & Drink Review" la empresa Nestlé indicó que Petrifilm simplificó considerablemente las dificultades con respecto a los análisis microbiológicos (2).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Bolivia las industrias de alimentos y los laboratorios de control de calidad e inocuidad alimentaria realizan diversos análisis con el objeto de garantizar que los alimentos sean aptos para el consumo humano. Para ello se llevan a cabo ensayos de laboratorio convencionales, que demoran largos periodos de tiempo, y en la mayoría de los casos representan costos significativos para la empresa o industria, además de requerir equipos, espacios y personal de laboratorio capacitado.

Específicamente, se estudió el caso de la Industria de Lácteos Pairumani y el laboratorio LIDIVECO de SENASAG, donde existe la necesidad de realizar los análisis microbiológicos en el menor tiempo posible sin incrementar los costos ni el personal de laboratorio para asegurar que los alimentos no representen un peligro para la salud del consumidor.

El laboratorio de la industria de lácteos "Pairumani" requiere un método alternativo para agilizar los procesos de verificación de lotes de producción. El laboratorio LIDIVECO de SENASAG tiene la necesidad de reducir el costo de sus análisis microbiológicos y el espacio que se utiliza para estas pruebas obteniendo los mismos resultados confiables. Motivos por los cuales se espera implementar un método alternativo que contribuya a los requerimientos de estos laboratorios.

Como objeto de análisis, se trabajó con productos cárnicos y lácteos debido a que son alimentos muy susceptibles de contaminarse y constituyen un excelente sustrato o fuente de nutrientes para el crecimiento microbiano. Estos alimentos contienen una serie de sustancias (como proteínas, carbohidratos y lípidos), que junto con su alto contenido de humedad, permiten que se conviertan en un buen medio de cultivo para el desarrollo de microorganismos indicadoras de contaminación. Este es el caso de las bacterias aerobias mesófilas, coliformes y *Escherichia coli*, las cuales representan un gran significado sanitario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico, descriptivo y cuantitativo, enmarcado dentro del tipo de investigación Cor-

relacional. La población fue conformada por 33 productos cárnicos crudos y pre-cocidos del Laboratorio LIDIVECO que ingresaron en un mes. Además, 29 productos lácteos procesados en un mes por la industria Pairumani, específicamente aquellos cuya leche inicial permaneció por más de dos horas en el tanque de almacenamiento de la planta.

La población finita estuvo representada por 25 unidades muestrales de productos cárnicos y 19 unidades muestrales de productos lácteos, cálculo obtenido utilizando la fórmula para poblaciones finitas.

Ya que en este estudio todos los alimentos tienen la misma probabilidad de ser parte de la muestra, se efectuó un Muestreo Aleatorio Simple y Estratificado. Los estratos que se consideraron para la muestra de alimentos cárnicos fueron únicamente los productos cárnicos crudos y pre-cocidos; por otro lado, para las muestras de alimentos lácteos únicamente se tomó en cuenta a los productos lácteos cuya leche inicial permaneció por más de dos horas en el tanque de almacenamiento.

MARCO TEÓRICO

• Indicadores de contaminación

Son microorganismos que actúan como índice de prácticas no sanitarias y revelan los defectos de producción que llevan consigo un peligro potencial para la salud. Actualmente en la industria alimentaria se determina a ciertos microorganismos como marcadores, siendo los principales: Mesófilos aerobios, **Coliformes Totales**, ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, Enterobacterias, Mohos y Levaduras. Su presencia en alimentos procesados indica elaboración poco higiénica y/o contaminación posterior a su fabricación (3).

• Bacterias aerobias mesófilas

Son bacterias cuya temperatura óptima varía de 30° a 37°C y utilizan oxígeno para su metabolismo. En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la flora total, pero sin especificar tipos de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados y las condiciones higiénicas de la materia prima. Excepto en productos que se elaboran por fermentación, altos recuentos microbianos se consideran poco aconsejables para la mayor parte de los alimentos. En general, el recuento de la flora aerobia mesófila es una prueba para conocer las condiciones de salubridad de algunos alimentos (4).

• Bacterias coliformes totales

Son bacilos cortos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos no esporulados, que fermentan glucosa y lactosa con formación de ácido y gas. Los Coliformes son buenos indicadores de un proceso o de un estado sanitario inadecuado. La presencia de estos microorganismos en cantidades mayores al permitido indica mala manipulación o procesamiento del alimento y mayor probabilidad de existencia de bacterias entéricas patógenas (5).

• Bacteria *Escherichia coli*

Escherichia coli* (E. Coli)** es un bacilo Gram negativo, puede estar aislado o en parejas y tener flagelos, se desarrolla fácilmente sobre medios con nutrientes simples. Casi todas las cepas fermentan la lactosa. ***E. Coli se utiliza como microorganismo indicador de la contaminación de origen fecal. Su hábitat natural es el hombre y los animales de sangre caliente, debido a esto se la utiliza como indicador dentro del grupo Coliformes, llegando a ser el microorganismo de mayor significado sanitario (5).

Técnicas de recuento para el control de calidad microbiológico en industrias alimentarias.

Existen diversas técnicas para el recuento de microorganismos en alimentos, pero mundialmente el método más utilizado y reconocido se lleva a cabo con medios de cultivo (Método Tradicional); cuya técnica consiste en cultivar una muestra representativa del alimento en un medio rico en nutrientes, a fin de favorecer el crecimiento de presuntas bacterias que podrían llegar a provocar el deterioro del alimento en cuestión. Para la preparación de este medio rico en nutrientes se utilizan "Agares o Medios de Cultivo", compuestos principalmente por extractos de Proteína, Carbohidratos y sustancias gelificantes. Los medios de cultivo se reconstituyen con agua destilada, ya que su presentación es en forma de polvo (Ver Fotografía N° 1).

Fotografía N° 1. Presentación de Medios de Cultivo



Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Ya que el control de calidad microbiológico en industrias alimentarias suele ser una tarea que ocupa gran cantidad de tiempo y trabajo, la empresa 3M ha desarrollado una línea de productos llamada "Placas Petrifilm" (Ver Fotografía N° 2), que permiten de forma rápida y fácil la cuantificación y detección de microorganismos.

Fotografía N° 2. Placas Petrifilm listas para usarse en el Recuento de Aerobios Mesófilos y Coliformes



Fuente: (2).

Las Placas Petrifilm de 3M son una familia de placas listas para usarse que están diseñadas para ofrecer ahorros en tiempo, incrementar productividad, confiabilidad y sobre todo, mejorar la eficiencia de las operaciones. Proporcionan resultados en tres pasos: Inoculación, incubación y recuento.

Su diseño tiene una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. En la parte superior, tiene un film de plástico con un adhesivo, un indicador y un gel soluble en agua (Ver Fotografías N° 2 y 3). En la parte inferior, tienen un papel cuadriculado cubierto con plástico, adhesivo, nutrientes de métodos estándar y gel soluble en agua fría. Las Placas Petrifilm están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas, incluyendo recuento de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, *E. Coli*, Enterobacterias, *S. aureus*, *Listeria*, mohos y levaduras (6).

Fotografía N° 3. Tres pasos de Placas Petrifilm



Fuente: (6).

La mayoría de las industrias alimentarias necesitan obtener resultados rápidos, que permitan tomar deci-

siones lo más pronto posible para liberar líneas de producción. Esto muchas veces no es posible, ya que gran parte de los microorganismos requieren un enriquecimiento previo en medios selectivos. Además, ciertos inconvenientes como la microflora acompañante, bacterias que son de crecimiento lento o de requerimientos especiales, pueden dificultar y retardar su identificación. Las Placas Petrifilm simplifican los pasos para la determinación correcta de las bacterias ya que ofrecen una técnica sencilla y confiable.

El método petrifilm se basa en utilizar una película seca rehidratable o Placa Petrifilm para el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas o Coliformes totales y *E. Coli*. Estas placas vienen ya listas para su uso (Ver Fotografía N° 3). Simplemente se inocula la Placa Petrifilm con 1ml de la muestra a dilución de 1:10 o la dilución que se desea investigar, utilizando como diluyente agua peptonada al 0,1%. Luego se incuba por 24 a 48 hrs a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Ver Figura N° 1) y finalmente se realiza el recuento en UFC/ml.

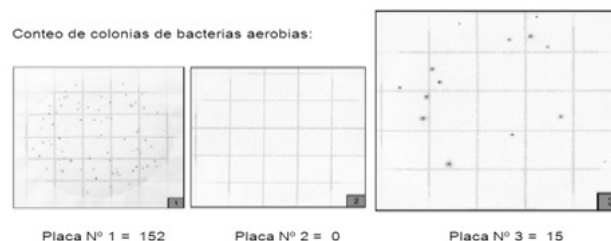
Figura N° 1. Inoculación e Incubación



Fuente: (6).

Para el recuento de bacterias aerobias mesófilas se cuentan las colonias rojas. El tinte indicador rojo (tetrafenil tetrasolium clorado TTC) que se encuentra en la placa petrifilm colorea las colonias para su mejor identificación. Se cuentan todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo (Ver Figura N° 2).

Figura N° 2. Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas en Placas Petrifilm



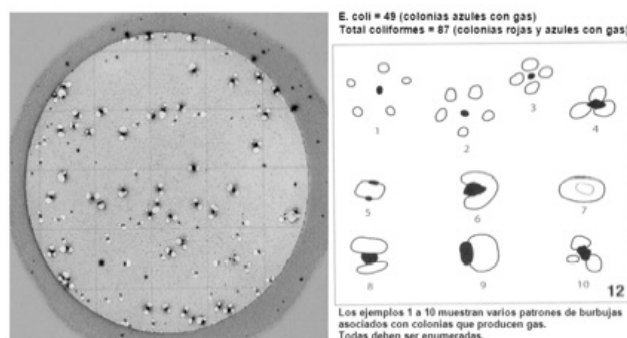
Fuente: (6).

En el caso de bacterias coliformes, las colonias formadas en Placas Petrifilm producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel indicador de pH facili-



tando su recuento (Ver Figura N° 3). La placas contienen nutrientes de bilis rojo violeta (VRB) deshidratado, un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucoronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias.

Figura N° 3. Recuento de Coliformes totales y *E. coli*



Fuente: (6).

Las bacterias *E. Coli* producen beta-glucoronidasa, 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 fermentadoras de lactosa. Las *E. Coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la película que cubre la placa petrifilm. Las colonias azules con gas son *E. Coli* y las colonias rojas mas las azules con gas son Coliformes Totales.

RESULTADOS

Se realizaron, paralelamente, ensayos microbiológicos con Placas Petrifilm y ensayos en medios de cultivo convencionales a diversos productos cárnicos, para identificar y cuantificar a bacterias Coliformes totales, además de determinar la presencia o ausencia de *E. Coli* como indicador de contaminación alimentaria. En la Fotografía N° 4 se puede observar la inoculación de una muestra cárnica con dilución 10-1 en placas petrifilm.

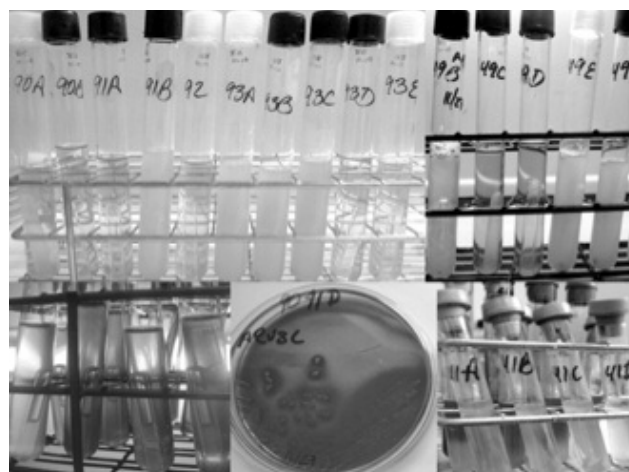
Fotografía N° 4. Inoculación en Placa Petrifilm



Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Las dos placas de la Fotografía N° 5 fueron inoculadas con 1 ml de la misma muestra a la misma dilución (10-1). A la derecha se observa un recuento de 9 UFC/ml de coliformes totales en la Placa Petrifilm, de las cuales 8 produjeron ácido (que se manifiesta con una coloración azul) y gas (se observa una burbuja de aire atrapada en la película) lo que indica presencia de *E. Coli* confirmada.

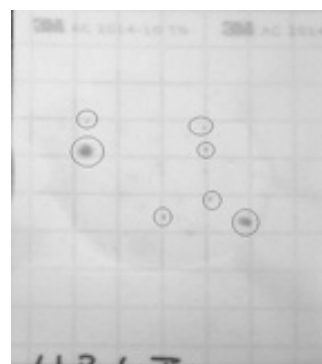
Fotografía N° 5. Recuento en Medio de Cultivo ARVBL y en Placa Petrifilm



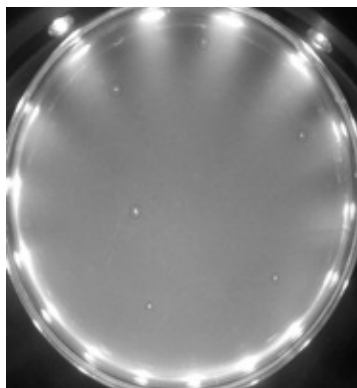
Fuente: Elaboración Propia, 2014.

A la izquierda de la Fotografía N° 5, en el medio del cultivo, se observa un recuento de 9 UFC/ml de coliformes totales presuntivos, las cuales fueron sometidas a pruebas de confirmación, para cuantificar las coliformes totales y determinar la presencia de *E. Coli*. Concluidas las pruebas de confirmación por el método tradicional en medios de cultivo (ver Fotografía N° 6), se obtuvieron resultados similares a los que indicaron las placas petrifilm.

Fotografía N° 7. Recuento de bacterias aerobias mesófilas en Placa Petrifilm



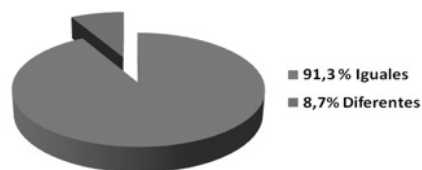
Fotografía N° 8. Recuento de bacterias aerobias mesófilas en medio de cultivo PCA



Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Según los ensayos realizados para cuantificar a bacterias coliformes totales, de los 25 ensayos realizados, 22 de los recuentos resultaron iguales y 3 diferentes. Para la determinación a la bacteria *E. Coli*, 23 resultados fueron iguales y 2 diferentes. Con respecto al recuento de bacterias aerobias mesófilas, de los 19 ensayos realizados, 18 resultados fueron iguales y 1 diferente. En total, de los 69 ensayos realizados, 63 determinaciones resultaron iguales, lo que refleja una confiabilidad del 91.3% (ver Gráfica N° 1).

Gráfica N° 1. Porcentaje de resultados iguales y diferentes del total de ensayos realizados



Fuente: Elaboración Propia, 2015

Se midieron también tiempos, espacios y equipos para cada una de las etapas de los dos ensayos. (Ver Gráficas N° 2 – 7).

Gráfica N° 2. Tiempo requerido para determinar coliformes / *E. Coli* en medios de cultivo Vs. Petrifilm



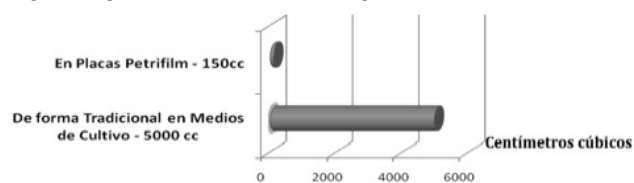
Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Gráfica N° 3. Tiempo requerido para determinar bacterias aerobias mesófilas en medios de cultivo Vs. Petrifilm



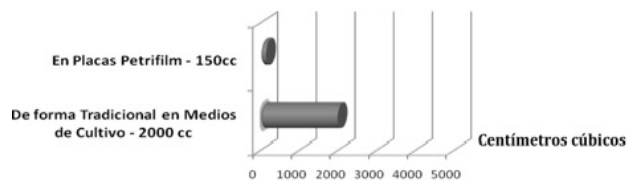
Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Gráfica N° 4. Volumen total que ocuparon los ensayos a productos cárnicos por ambos métodos

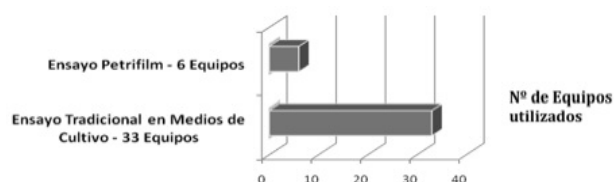


Fuente: Elaboración Propia, 2014.

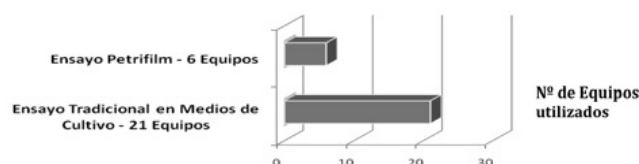
Gráfica N° 5. Volumen total que ocuparon los ensayos a productos lácteos por ambos métodos



Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Gráfica N° 6. Cantidad de equipos que requieren los ensayos a productos cárnicos

Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Gráfica N° 7. Cantidad de equipos que requieren los ensayos a productos lácteos

Fuente: Elaboración propia 2014.

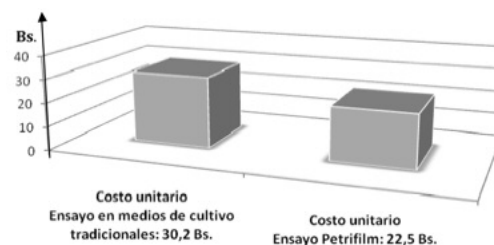
Por otro lado, también se compararon los costos para cada ensayo. En la Tabla N° 1 se encuentra un resumen comparativo del costo total de los ensayos realizados. Para el análisis de costos se tomó en cuenta el consumo de energía, mano de obra/recursos humanos necesarios para llevar a cabo los análisis. Se compararon también los gastos en insumos como ser: Medios de cultivo, Reactivos o Placas Petrifilm.

En la Gráfica N° 8 se logra apreciar el costo unitario aproximado para un ensayo con medios de cultivo tradicionales y para un ensayo con placas petrifilm.

Tabla N° 1. Costos requeridos para llevar a cabo los ensayos de forma Tradicional y con Petrifilm

Tradicional en Medios de Cultivo (25 ensayos)	Petrifilm (25 ensayos)
Costo de insumos: Bs. 160,8 (Medios de Cultivo y Reactivos)	Costo de insumos: Bs. 369 (Placas Petrifilm)
Costo Energía: Bs. 238,3	Costo Energía: Bs. 31,2
Costo Mano de Obra: Bs. 354,5	Costo Mano de Obra: Bs. 164,8
Costo Total: Bs. 753,6	Costo Total: Bs. 565,0

Fuente: Elaboración Propia, 2014.

Gráfica N° 8. Costo total requerido para llevar a cabo 25 ensayos, de forma Tradicional en Medios de Cultivo y en Petrifilm

Fuente: Elaboración Propia, 2015.

DISCUSIÓN

- Se determinaron bacterias aerobias mesófilas, coliformes/*Escherichia coli* con Placas Petrifilm y en medios de cultivo convencionales en productos cárnicos y lácteos. Se analizó y verificó la confiabilidad del método alternativo Petrifilm al obtener un 91,3% de resultados iguales en la determinación de bacterias. Si bien ambos ensayos se realizaron paralelamente para determinar a las mismas bacterias indicadoras de contaminación, la principal diferencia entre ambos fue la eficiencia por parte del método alternativo con Petrifilm, ya que se obtuvieron los mismos resultados que con medios de cultivo convencionales, solo que en menos tiempo y a menor costo.

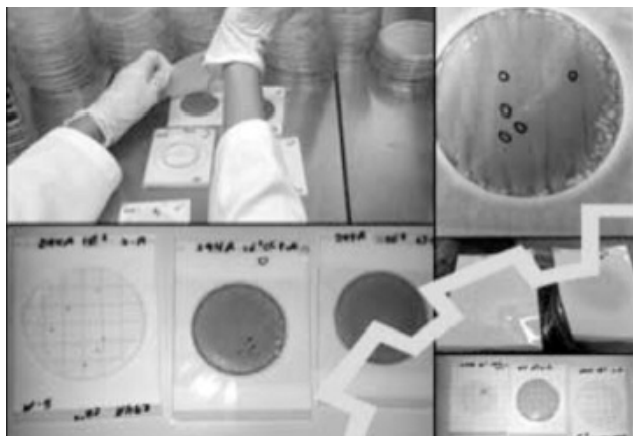
- Se compararon tiempos, espacios, equipos y costos para cada uno de los ensayos. Al medir estos parámetros se constató que el método Petrifilm es considerablemente más rápido, ocupa menos volumen y necesita menos equipos que el método tradicional. Esto se debe a que las placas petrifilm son desechables y no requieren de material de vidrio ni preparación de agares. En cuanto al costo de los insumos, el método tradicional es más económico que el método Petrifilm, pero al analizar el costo total, incluyendo recursos humanos, consumo de energía, etc., el ensayo petrifilm representa un costo menor.

- Se implementó en la industria de lácteos Pairumani y el laboratorio LIDIVECO de SENASAG, el método alternativo con Placas Petrifilm para determinar bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y *Escherichia coli*; permitiendo que estos laboratorios puedan identificar y cuantificar a bacterias indicadoras de contaminación a menor costo, en menor tiempo, utilizando menos espacio y menos equipos que con el método que tradicionalmente utilizaban.

- Se publicó en la página web de SENASAG el 19 de Febrero del 2015 acerca de la implementación de Petrifilm (Ver Fotografía N° 9). "El Área de Alimentos

del Laboratorio Oficial LIDIVECO (Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario Cochabamba) consolida la ampliación de su Oferta de Servicios con la implementación del método PETRIFILM, para brindar un mejor y más rápido servicio a sus usuarios, en virtud del esfuerzo de capacitaciones y pruebas de calidad del Método PETRIFILM y métodos convencionales” indicó el personal de LIDIVECO. “Este servicio rápido en Microbiología de Alimentos permitirá a los usuarios acortar el tiempo de espera de resultados de laboratorio, para trámites oficiales y control interno de la pequeña, mediana y grande Industria”, aseguraron los técnicos de SENASAG (7).

Fotografía N° 9. El laboratorio LIDIVECO implementa el método microbiológico petrifilm para brindar un mejor y más rápido servicio a sus usuarios.



Fuente: (7).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Sistemas de control alimentario <http://www.rlc.fao.org/es/temas/inocuidad/sistemas-de-control-alimentario/> (20 de Enero 2015)

2) 3M MICROBIOLOGÍA. Publicaciones Petrifilm. (9 de Junio 2014)

> http://solutions.3m.com.ar/wps/portal/3M/es_AR/Centro_Noticias/3M_AI_Dia/Publicaciones/RSS-Feed/?PC_Z7_RJH9U5230GN3402F0PNH3538B2000000_assetId=1361802300699

> http://solutions.3mchile.cl/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1333027146000&locale=es_CL&assetType=MMM_Image&assetId=1319224677277&blobAttribute=ImageFile

> <http://multimedia.3m.com/mws/media/2411270/mi->

cromessenger-customer-newsletter-1998-volume-1.pdf

3) HAYES, P. R. Microbiología e Higiene de los Alimentos. Zaragoza: Acriba S.A., 1993, 3ª edición.

4) PASCUAL ANDERSON, M. R., CALDERÓN PASCUAL V. Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Madrid: Díaz de Santos S.A., 2000, 2ª Edición.

5) IBNORCA, Instituto Boliviano de Normalización y Calidad. Norma Boliviana 32005: Ensayos Microbiológicos – Recuento de Bacterias coliformes. Bolivia 2002.

6) MICROBIOLOGÍA 3M. Guía de interpretación para el recuento en placas petrifilm, Cochabamba 2014.

7) SENASAG. El laboratorio LIDIVECO implementa el método microbiológico petrifilm para brindar un mejor y más rápido servicio a sus usuarios. <http://www.senasag.gob.bo/prensa/noticias/172-noticias-slider/2457-el-laboratorio-lidiveco-implementa-el-m%C3%A9todo-microbiol%C3%B3gico-petrifilm-para-brindar-un-mejor-y-m%C3%A1s-r%C3%A1pido-servicio-a-sus-usuarios.html> (19 de Febrero 2015)