

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

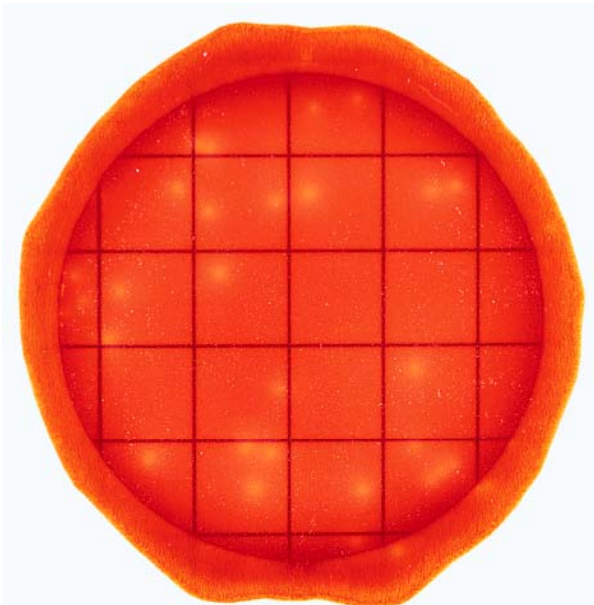
Guía de interpretación

Esta guía lo familiarizara con las Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales. Para mayor información contáctese con el representante autorizado de productos microbiológicos de 3M más cercano.

La **AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) de la FDA de los Estados Unidos** definen los Coliformes como bacilos Gram-negativos que producen ácido y gas durante la fermentación de la lactosa. Mientras las colonias Coliformes crecen en la Placa Petrifilm RCC y producen ácido, el nivel de pH en la placa cambia lo que hace el viraje del color del gel de naranja-rojizo a amarillo, dando una señal presuntiva de Coliformes. El gas atrapado alrededor de las colonias Coliformes confirma su presencia.

La **ISO** define los Coliformes por su capacidad para crecer en un método específico, en un medio selectivo. **El método ISO 4832**, enumera Coliformes por la técnica de conteo de colonias, define los Coliformes por el tamaño de la colonia y por la producción de ácido en Agar VBR con lactosa (VBRL). En las Placas Petrifilm RCC, estos Coliformes productores de ácido son identificados por zonas ácidas amarillas o colonias rojas con o sin gas. **El método ISO 4831** enumera Coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los Coliformes por su capacidad para crecer y producir gas de la lactosa en un caldo selectivo. En las Placas Petrifilm RCC estos Coliformes están identificados por las colonias rojas asociadas con gas.

La **AFNOR** ha validado las Placas de Petrifilm RCC como un método comparable a ISO 4831 y el ISO 4832.



A las 6 horas de incubación

Enumeración de Coliformes por zonas ácidas (6-14 horas)

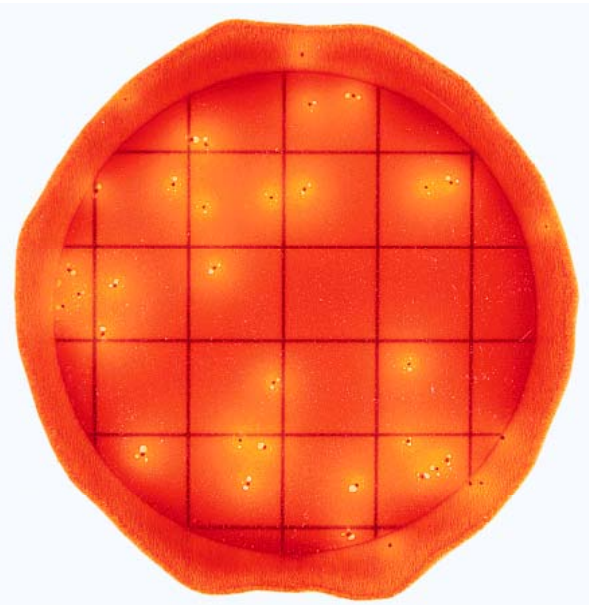
Las zonas ácidas amarillas pueden comenzar a aparecer a las 6 horas. Si los Coliformes están presentes, las zonas amarillas aparecerán y desaparecerán durante la incubación.

Interpretación cuando se comparan con los métodos AOAC/BAM:

- Cuente las zonas ácidas amarillas, con o sin centros rojos, como Coliformes presuntivos;

Interpretación al comparar con ISO 4832 (VBRL)

- Cuente las zonas ácidas amarillas, con o sin centros rojos, como Coliformes; la presencia de gas no es necesaria.
- Resultados finales a las 14 horas (según AFNOR).



A las 14 horas de incubación

Enumeración de colonias de Coliformes (8-24 horas)

Las colonias rojas, con o sin gas, pueden comenzar a aparecer a las 8 horas y siguen creciendo durante la incubación.

Interpretación cuando se comparan con AOAC/ BAM:

- Cuente las colonias rojas asociada con gas como Coliformes confirmados, donde quiera que estén;

Interpretación al comparar con ISO 4831 (NMP)

- Cuente las colonias rojas con gas como Coliformes;
- Resultados finales a las 24 horas ± 2 (AFNOR) excepto para productos de carne de cerdo;

Interpretación al comparar con ISO 4832 (VBRL)

- Cuente todas las colonias rojas con o sin gas, como Coliformes; resultados finales a las 24 horas ± 2 (AFNOR)

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

Guía de interpretación

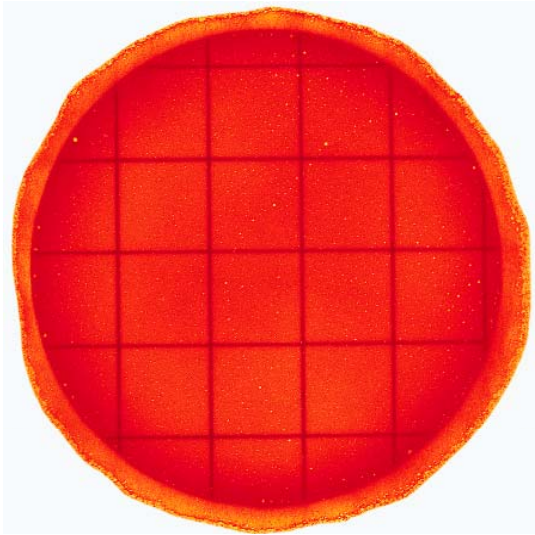


Figura 3: **Conteo de Coliformes negativo**

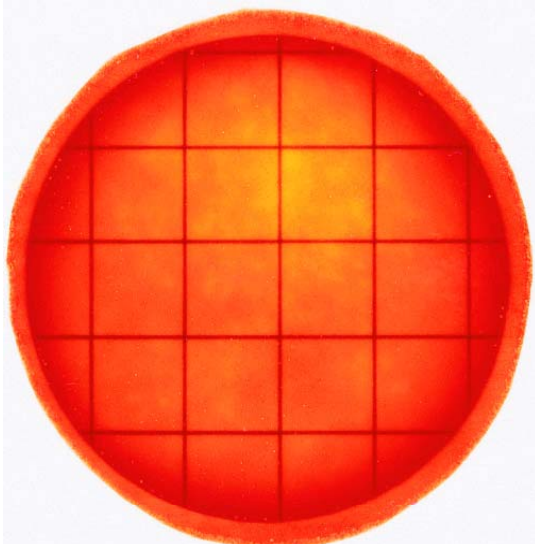


Figura 4: **Conteo de Coliformes Presuntivo MNPC**

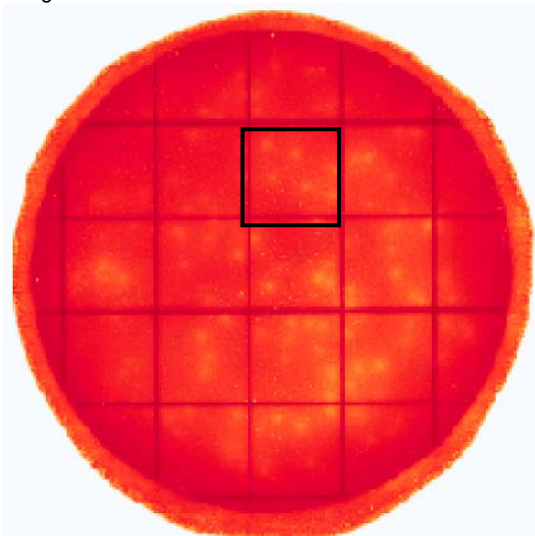


Figura 5: **Conteo de Coliformes Presuntivo = 120 "estimado"**

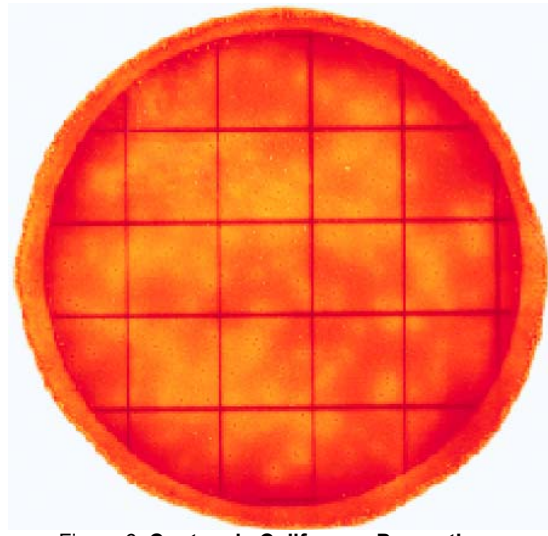


Figura 6: **Conteo de Coliformes Presuntivo = 280 "estimado"**

La lectura Presuntiva de Crecimiento Bacteriano en las Placas Petrifilm para Conteo Rápido de Coliformes (medido por la producción

Enumeración de zonas ácidas (6-14 horas)

Observe los cambios del gel en las figuras 3 a 10. Mientras los Coliformes producen ácido, el color del gel cambia de naranja rojizo a amarillo anaranjado.

La alta concentración de Coliformes (> a 1000 colonias por placa), puede causar el cambio total del área a amarillo después de 4 horas de incubación. Ver la Figura 4. Cuando esto ocurre, se puede necesitar la posterior dilución de la muestra para un conteo preciso.

Algunos Coliformes producen grandes cantidades de ácido. Para estos organismos, se pueden dar una unión de las zonas ácidas con tan sólo 20 colonias por placa. Se pueden hacer estimaciones en placas que contengan más de 50 zonas ácidas claras.

El área de crecimiento circular en una Placa Petrifilm RCC es aproximadamente de 20 cm². Los estimados se pueden hacer en placas, contando el número de zonas ácidas en uno o más cuadros representativos, determinando el promedio y multiplicándolo por 20. Hay 6 zonas ácidas en el cuadrado señalado en la Figura 5.

Las colonias rojas pueden comenzar a aparecer dentro de las zonas presuntivas mientras los Coliformes siguen creciendo. Ver Figura 6.

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

Guía de interpretación

ácido láctico y gas), depende del tipo de bacteria, su estado Metabólico y su concentración.

Enumeración de colonias y gas (8-24 horas)

Las Figuras 7 y 8 muestran los resultados de la misma concentración de diferentes organismos, incubados durante el mismo período de tiempo. Aparecen en ambas placas colonias rojas y zonas ácidas. Los organismos de la Figura 8 parecen fermentar la lactosa para producir gas más rápidamente que los de la Figura 7.

Cuente las colonias, con o sin gas, dependiendo del método que esté siguiendo. Una colonia es asociada con burbujas de gas si están en el diámetro de una colonia alejadas o en el anillo alrededor de la colonia. Ver los círculos en la Fig. 7.

La Figura 9 (Ver el texto para el Conteo de Coliformes) es otro ejemplo del conteo de colonias, con o sin burbujas de gas. El conteo depende del método que siga.

Comparado con los métodos AOAC/BAM, se confirmó la presencia de colonias Coliformes con gas = 72

Comparado con ISO 4831, las colonias Coliformes con gas son = 72

Comparado con ISO 4832, las colonias Coliformes con y sin gas son = 128

Cuando el número de las colonias es más de 150 por placa, se debe estimar el conteo. NO se deben contar las colonias que aparecen en la barrera de espuma, puesto que han sido removidas del medio selectivo.

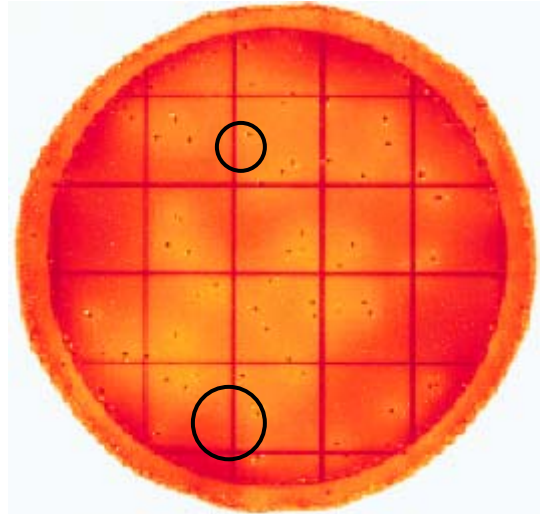


Figura 7: **Conteo de Coliformes Confirmado = 64**

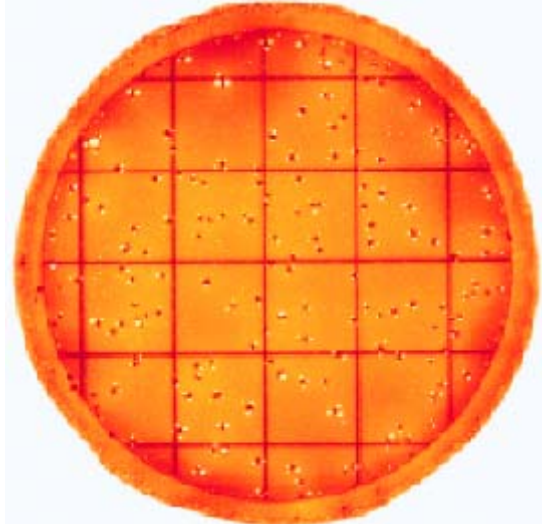


Figura 8: **Conteo de Coliformes Confirmado = 164 "estimado"**

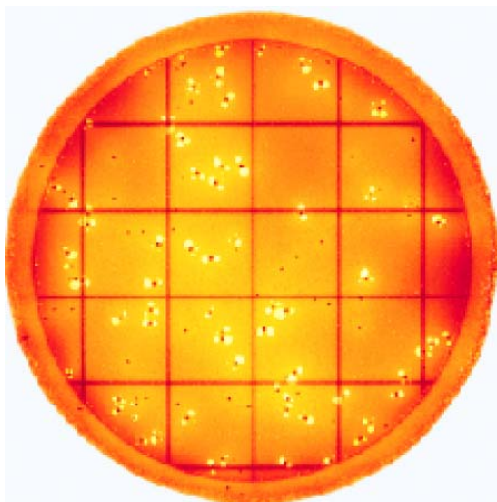


Figura 9: **Conteo de Coliformes Confirmado = 72**

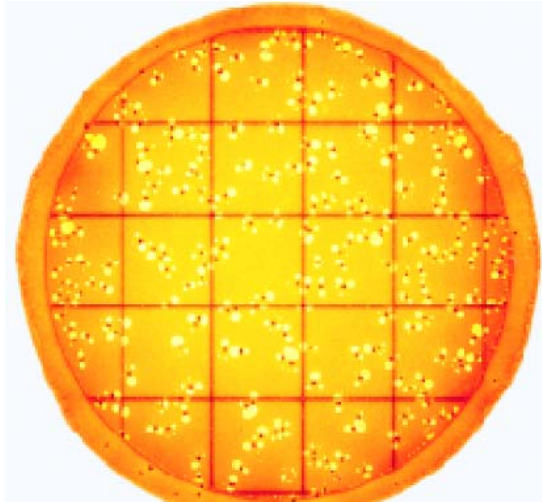


Figura 10: **Conteo de Coliformes Confirmado = 240 "estimado"**

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

Guía de interpretación

MNPC (muchos números para contar)

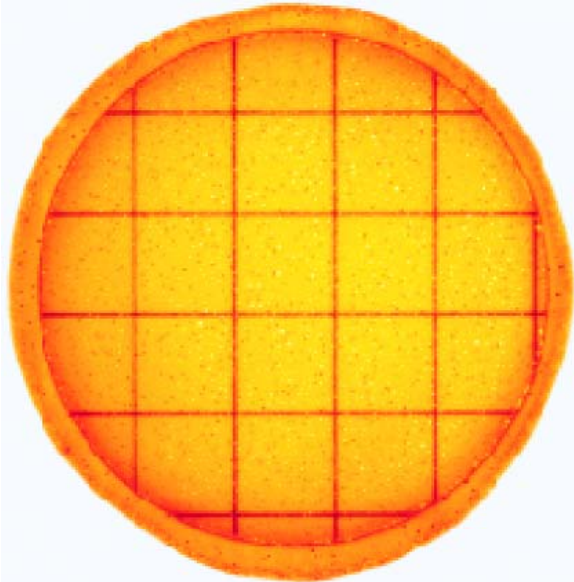


Figura 11: **Conteo de Coliformes Confirmado = MNPC**

Las Placas Petrifilm^{MR} RCC con crecimiento numeroso, tienen una o más de las siguientes características: cambia el color del gel de naranja rojizo a amarillo naranja, muchas colonias pequeñas y muchas burbujas de gas.

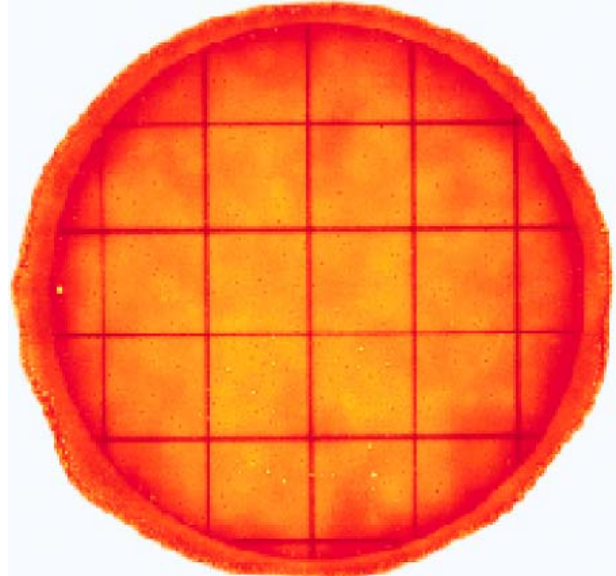


Figura 12: **Conteo de Coliformes Confirmado = MNPC**

La Placa Petrifilm^{MR} RCC en la Figura 12 tiene dos características que indican MNPC: cambia el color del gel y muchas colonias pequeñas.

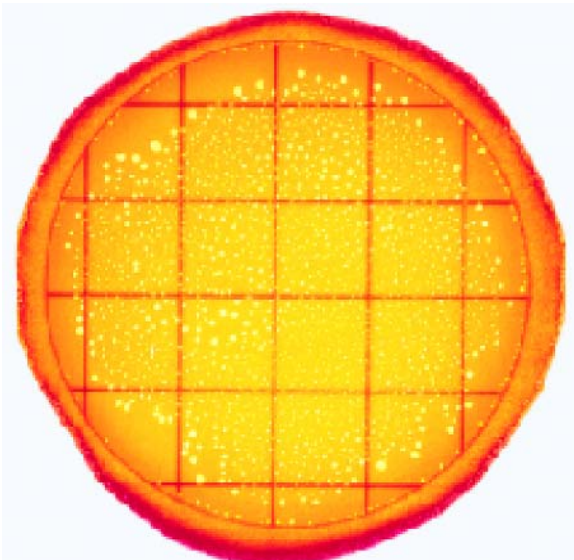


Figura 13: **Conteo de Coliformes Confirmado = MNPC**

En la Figura 13, el conteo es tan alto que no se presentan colonias individuales. Un cambio en el color del gel a amarillo y muchas burbujas de gas, indican colonias MNPC.

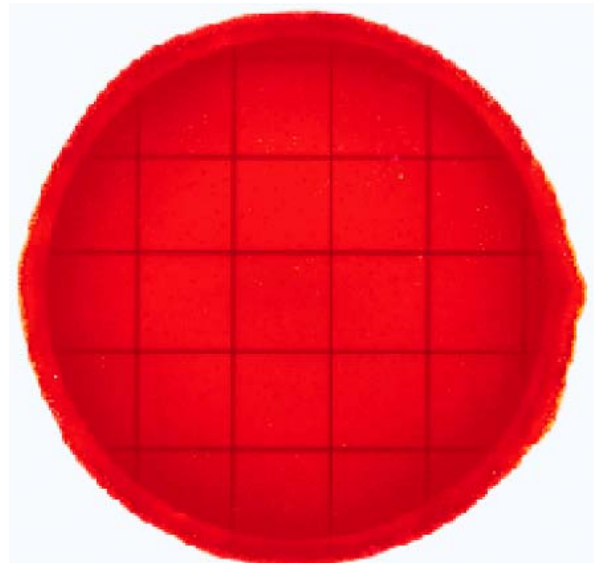


Figura 14: **Conteo de Coliformes Confirmado = negativo**

La Figura 14 muestra una Placa Petrifilm^{MR} RCC con un alto número de colonias no-Coliformes Gram-negativas. Cuando un alto número de organismos que no fermentan la lactosa están presentes, el gel puede aparecer de color rojo oscuro.

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

Guía de interpretación

pH: La mayoría de las bacterias muestran un crecimiento óptimo a un pH cercano a 7.00. Diluciones de productos de pH bajo requieren un reajuste del pH antes de inocular las Placas Petrifilm^{MR}

Las figuras 15 y 16 son ejemplo de yogurt fresco sembrado después del ajuste del pH. Los inhibidores del medio previenen que crezca el cultivo iniciador Gram-positivo, pero el ácido producido por el cultivo iniciador puede cambiar el color del gel de naranja rojizo a amarillo anaranjado, sugiriendo un resultado MNPC temprano. Deben inocularse placas de control con cultivo de yogurt fresco para observar durante la incubación, si existe indicación de crecimiento de Coliformes MNPC.

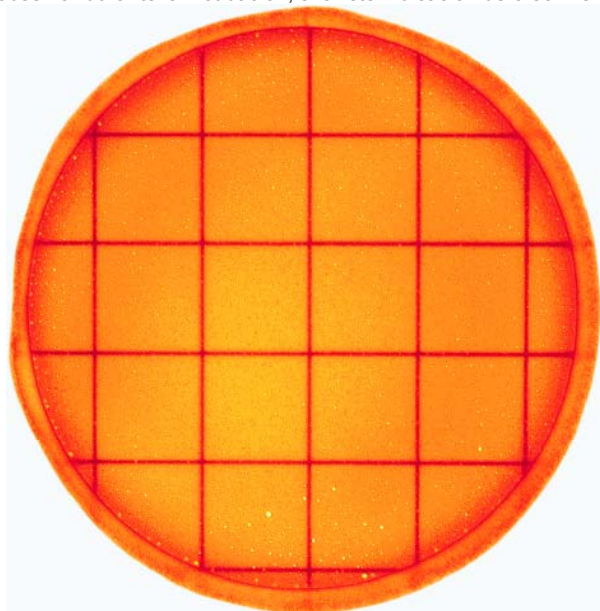


Figura 15: **Conteo de Coliformes Confirmado = negativo**

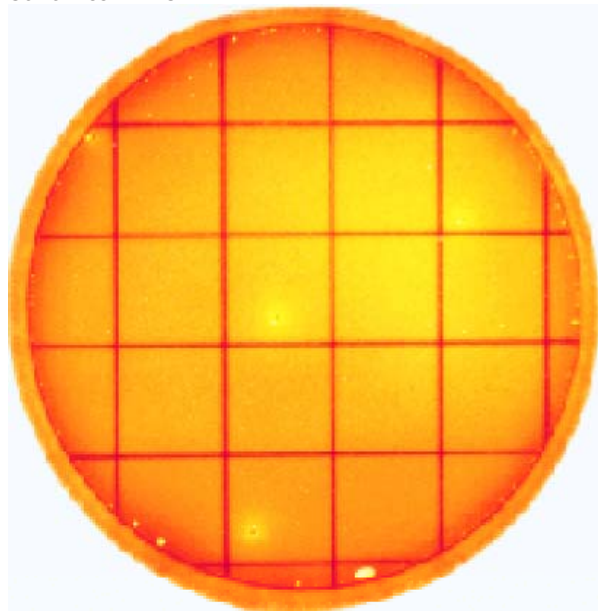


Figura 16: **Conteo de Coliformes Confirmado = 4**

Compare la placa negativa de arriba con las placas MNPC de la página anterior. Observe que no hay colonias ni burbujas de gas en la Figura 15 que indiquen un caso MNPC.

A pesar del cambio en el color del gel, el ácido producido por los Coliformes se ve con facilidad, como el la Figura 16.

PRODUCTO: Las partículas de producto son de forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas.

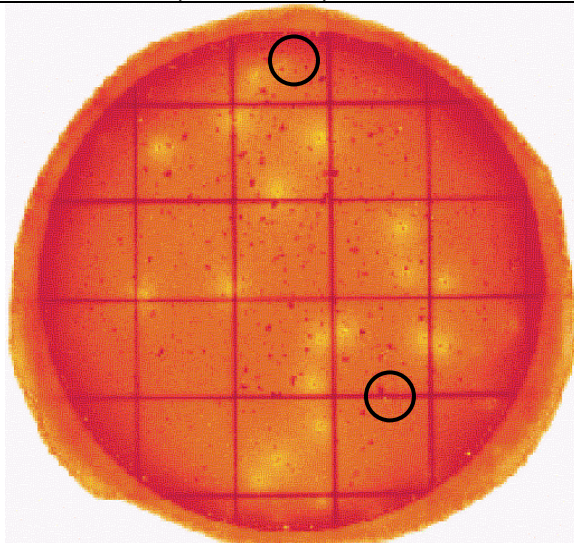


Figura 16: **Conteo de Coliformes Confirmado = 11**

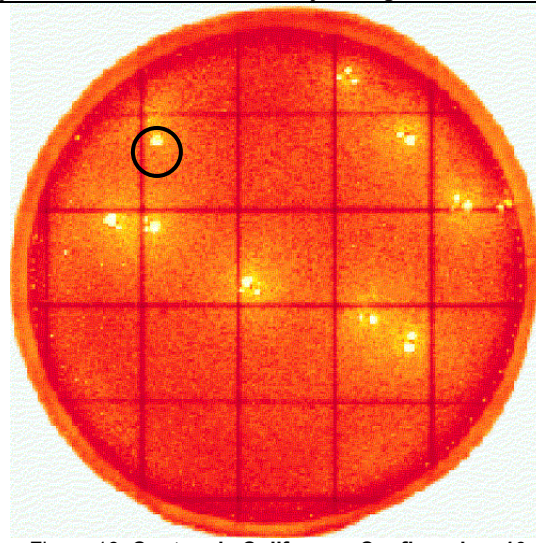


Figura 16: **Conteo de Coliformes Confirmado = 10**

La Figura 17 es una lectura precoz de una dilución de p prika. El círculo 1 muestra una zona ácida alrededor de una partícula de alimento (forma irregular). Algunos alimentos pueden contener ácidos que reaccionan con el indicador de pH. El círculo 2 muestra una burbuja cercana a una partícula roja de forma irregular, pero sin zona ácida. Ninguna debe contarse como colonia.

En la Figura 18 se muestra una dilución de chocolate. Algunas zonas de ácido asociadas con colonias continúan expandiéndose en la incubación. Las burbujas de gas asociadas con colonias son otro criterio de ayuda para identificar los Coliformes. Las burbujas de gas pueden romper la colonia, como en el círculo. La enumeración con o sin gas depende del método.

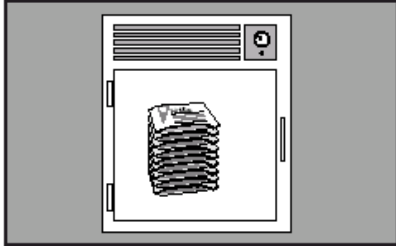
3M Placas Petrifilm^{MR}

para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

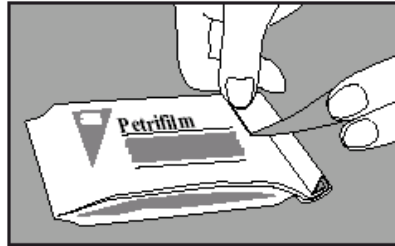
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTIA / GARANTIA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACION, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

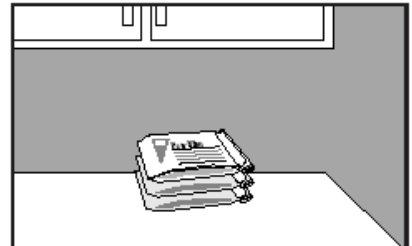
ALMACENAMIENTO



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$ (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquelo una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.



3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas $\leq 25^{\circ}\text{C}$ (77°F) y una humedad relativa $\leq 50\%$. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm^{MR} máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

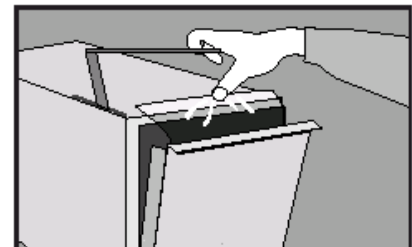


4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona (método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, por que pueden inhibir el crecimiento.

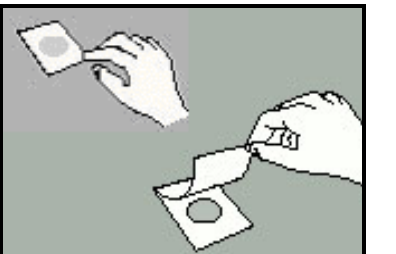


6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

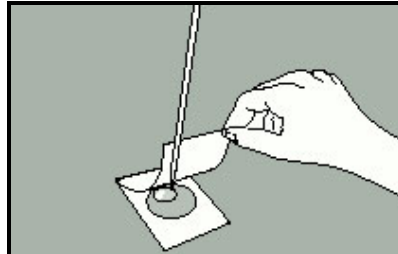
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH
Para productos básicos: use solución 1N de HCl

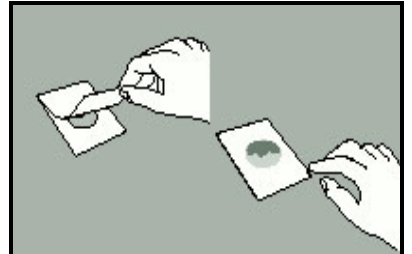
INOCULACIÓN



7 Coloque la Placa Petrifilm^{MR} en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm^{MR} coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

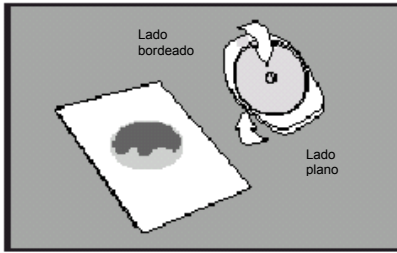


9 Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

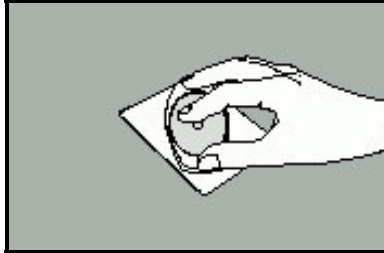
3M Placas Petrifilm^{MR}

para el Recuento Rápido de Coliformes Totales

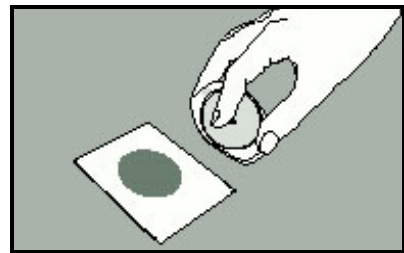
Recomendaciones de uso



10 Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.



11 Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire, ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.



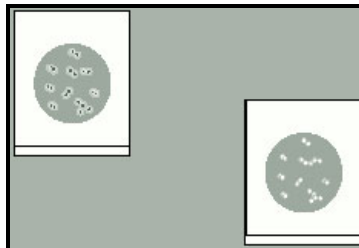
12 Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

INCUBACIÓN

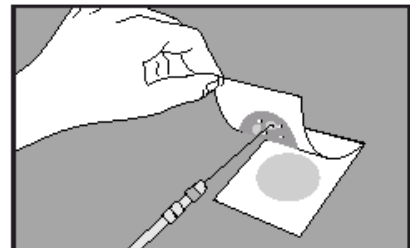


13 Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad. Examine las placas dependiendo de los intervalos de tiempo deseables, refiérase al inserto de los paquetes para más información.

INTERPRETACIÓN



14 Las placas Petrifilm^{MR} pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:

- **AOAC método oficial 2000.15**
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
- **AFNOR método oficial 3M 01/5-03/97 A**
Para todos los alimentos incube a 35°C
Para productos porcinos incube a 30°C
Resultado a las 14 hrs. (comparado con método VRB a 30°C)
- **AFNOR método oficial 3M 01/5-03/97 B**
Para todos los alimentos incube a 35°C
Para productos porcinos incube a 30°C
Resultado a las 24 hrs. (comparado con método VRB a 30°C)
- **AFNOR método oficial 3M 01/5-03/97 C**
Resultado a las 24 hrs. (comparado con método NMP)
Excepto para productos porcinos.

Comentarios Adicionales:

Si tiene preguntas llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

3M Microbiology
3M center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3M.com/microbiology

Petriefilm es una marca registrada de 3M
Impreso en:
Revisión: 2003-04
Referencia: 70-2008-8948-6

© **3M**