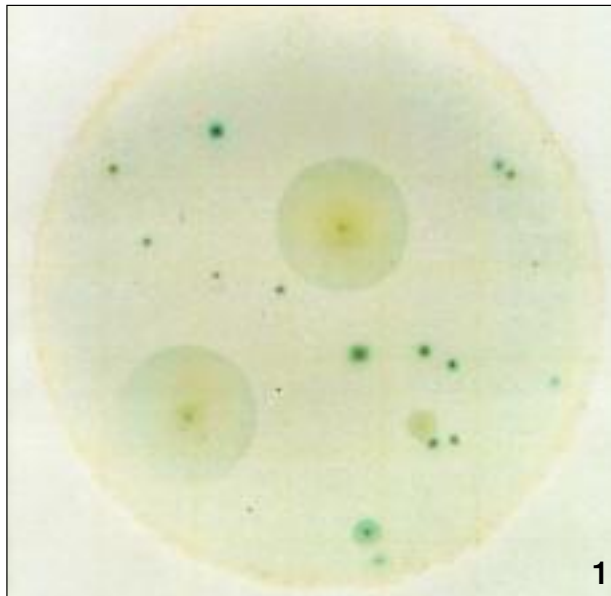


Placas Petrifilm™

para el Recuento de Mohos y Levaduras YM

Esta guía lo familiarizará con las Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras. Para mayor información contacte al Representante Autorizado de Productos Microbiológicos de 3M más cercano.

La Placa Petrifilm™ para Recuento de Mohos y Levaduras (*Yeast & Molds*, YM) es un sistema de medio de cultivo listo para usarse, que contiene nutrientes de Saboraud, dos antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de fosfatos (BCIP) que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias.



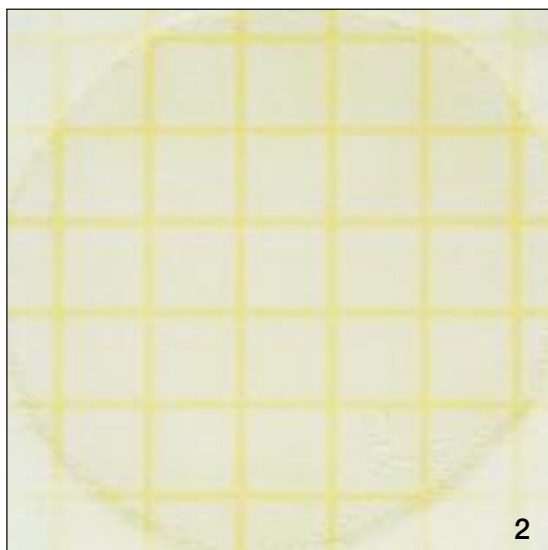
Recuento total = 20

Conteo de Levaduras = 16

Conteo de Mohos = 4

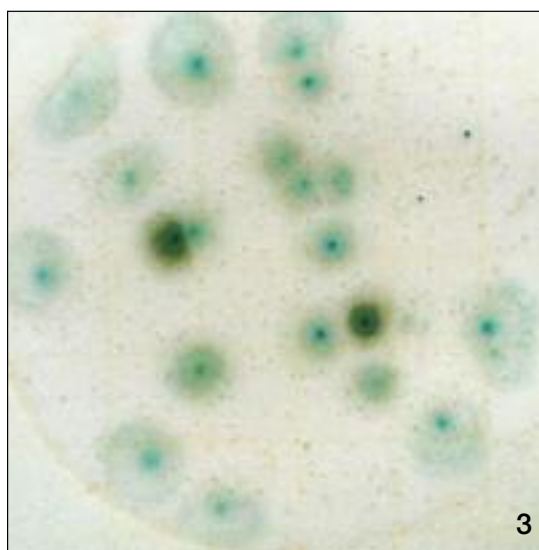
La Placa Petrifilm YM de la Figura 1 contiene colonias tanto de Mohos como Levaduras.

3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras YM



Conteo de Mohos y Levaduras = 0

En la Figura 2 se muestra una Placa Petrifilm YM sin crecimiento de Mohos ni Levaduras.

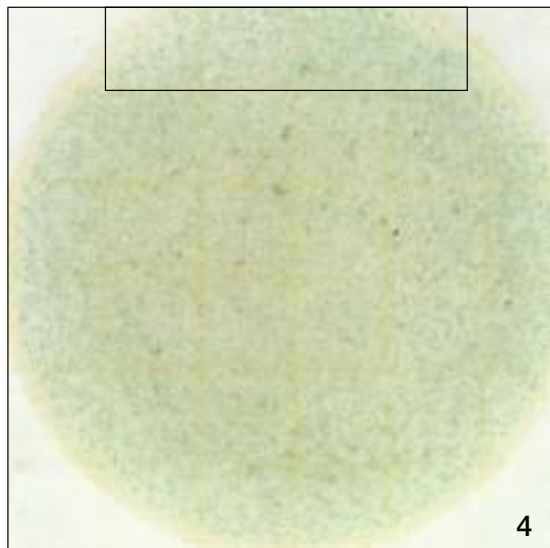


Conteo estimado total ≈ 500

Conteo estimado de Levaduras ≈ 480 /

Conteo de Mohos = 21

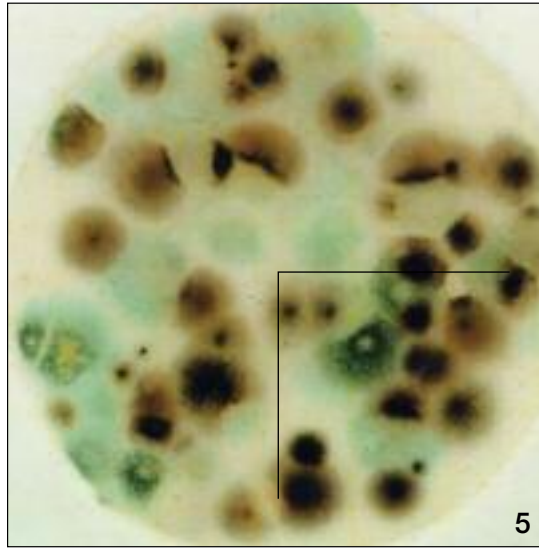
Cuando el número de colonias es mayor a 150, el recuento deben ser estimado. Determine el promedio de colonias en 1 cuadrado de la placa (1 cm²) y multiplíquelo por 30 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm YM es de 30 cm². Las colonias de levaduras pueden tomar diversos tonos, desde color beige (como se ve en esta foto) hasta rosa, o color azul verdoso.



Conteo de Levaduras = MNPC

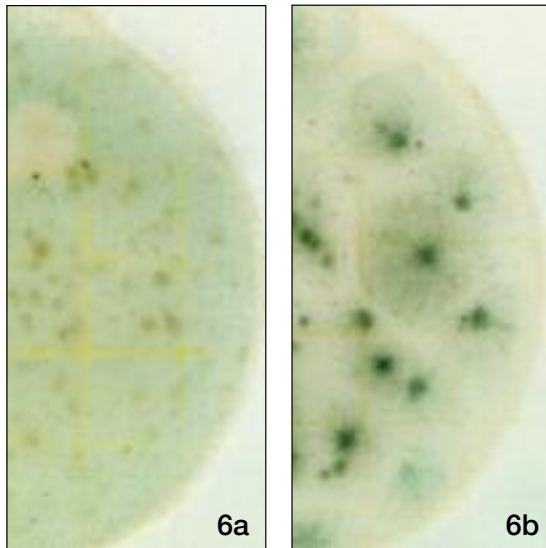
Conteo estimado de Levaduras >10⁴

La Figura 4 corresponde a una Placa Petrifilm YM que es muy numerosa para contar (MNPC). Las colonias azules pequeñas (resaltadas en el recuadro) del borde del área de crecimiento se encuentran presentes a través de toda la placa, pero menos visibles.



Conteo estimado de Mohos ≈ 64

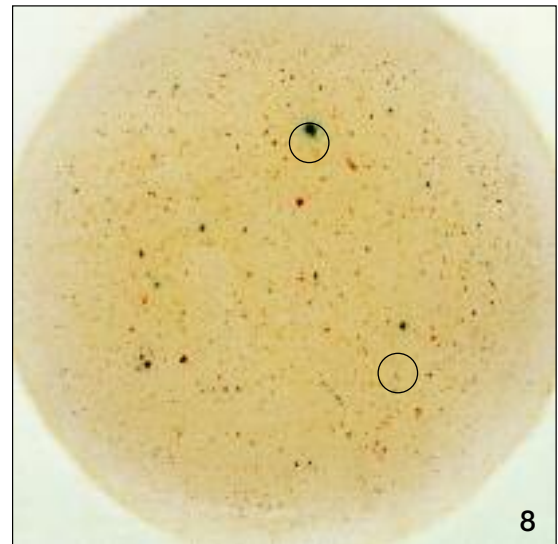
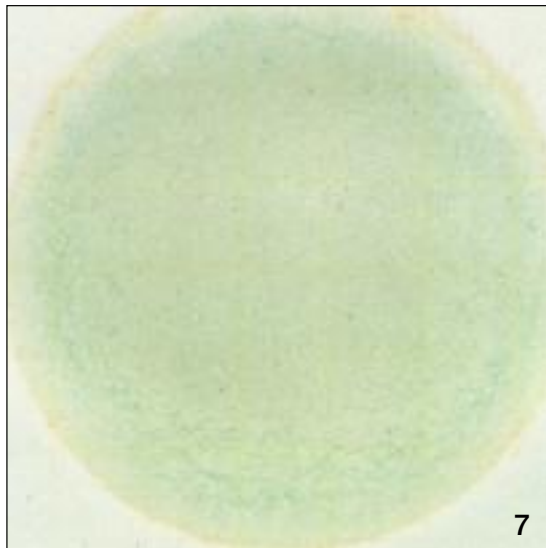
Las colonias de Mohos de la Figura 5 están empezando a unirse y sobreponerse una encima de otra en la placa. Cuenté cada margen de colonia o enfoque. La placa se puede dividir en secciones para facilitar el conteo. En este ejemplo aproximadamente 1/4 de la placa se ha contado, luego se multiplicó este valor por 4, para obtener el recuento estimado de esta placa. La sección dividida contiene 16 Mohos.



Las Placas que se muestran en las Figuras 6A y 6B son de la misma muestra. La Figura 6A corresponde a una dilución 1:10 y tiene colonias que son muy pequeñas, tenues y numerosas, haciendo muy difícil su conteo. La Figura 6B corresponde a la dilución 1:100 y evidencia cómo diluyendo las muestras se pueden obtener placas con crecimientos deseables (15 – 150), lo que facilita el recuento. Como en la mayoría de los medios de crecimiento, en un medio ambiente altamente competitivo (como la figura 6A) el crecimiento típico de las colonias se va a ver inhibido. Para muestras altamente contaminadas como ésta, se recomienda hacer mayores diluciones para obtener conteos más exactos y poder observar crecimientos típicos del crecimiento de las colonias (como se puede ver en la figura 6B).

Conteo de Mohos \approx MNPC / Conteo de Mohos = 64

REACCIÓN DE FOSFATASA



Conteo de Mohos y Levaduras = 0

Conteo de Mohos y Levaduras = 0

La Placa Petrifilm YM cuenta con un tinte indicador de fosfatasa. Por eso algunos alimentos crudos y procesados que contienen fosfatasa pueden causar un cambio de color azul en el gel de la Placa Petrifilm YM. Se pueden observar dos tipos de reacciones: un color uniforme azul de fondo o puntos de color azul intenso. En la figura 7 se observa el color uniforme azul de fondo, mientras que la figura 8 se encuentran los puntos de color azul, lo que es más común en especies y productos granulados. La figura 8 evidencia partículas de alimento que produjeron fosfatasa.

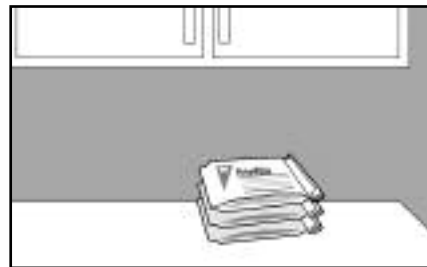
Para reducir la reacción de fosfatasa, siga una de las siguientes técnicas:

- 1. Diluya la muestra:** diluciones sucesivas minimizarán la producción del color azulado en el fondo de la placa o la presencia de los puntos intensos color azulados.
- 2. Preparación de la muestra:** Homogeneice la muestra y permita que se asiente unos minutos antes de inocular la placa. Tome la muestra del centro del frasco de dilución o utilice filtros para separar las partículas grandes del volumen de inóculo a sembrar en la placa.
- 3. Revise y anote:** Observe las placas entre las 24 - 30 horas de incubación y anote si existe cualquier cambio de color que pueda ayudarle a la interpretación final de los resultados.

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras Recomendaciones de uso

Para información detallada acerca de ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, 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 caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

2 Para cerrar un paquete abierto, doble el sobre y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de abierto el paquete.

3 Mantenga los paquetes cerrados a temperaturas $\leq 25^{\circ}\text{C}$ (77°F) y una humedad relativa $\leq 50\%$. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, colóquelos en un contenedor hermético (tipo funda con cierre) y guárdelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes descritas hasta su fecha de caducidad.

Preparación de la muestra



4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipeteo la muestra dentro de un contenedor estéril, como una bolsa homogeneizadora, frasco de dilución u otro recipiente estéril.

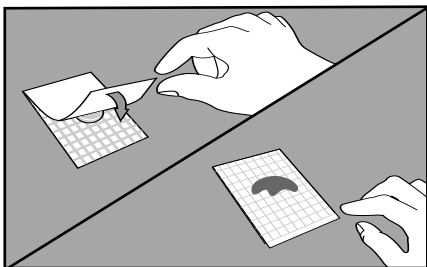
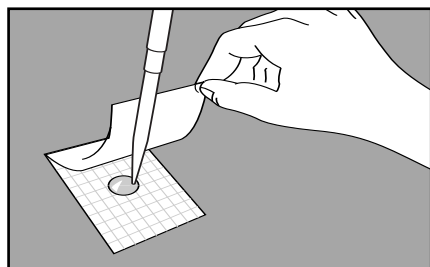
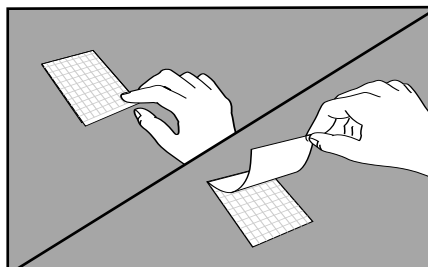
5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: buffer Butterfield (buffer IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), agua peptonada buferada (método ISO 6579), solución salina (0.85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

6 Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

Las muestras o diluciones no requieren ajuste de pH. Sin embargo, si este proceso ya ha sido realizado puede igual usarlas en la Placa Petrifilm YM.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento. Si se encuentra especificada la utilización de buffer de citrato, sustitúyalo con cualquiera de los diluyentes citados arriba y caliéntelo hasta 45°C .

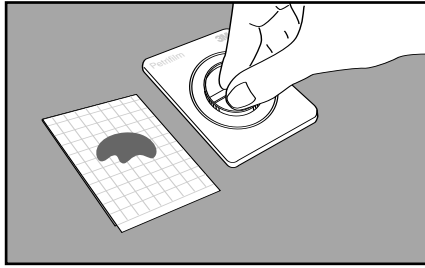
Inoculación



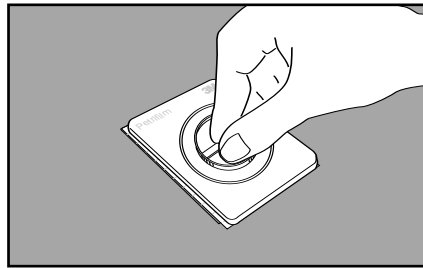
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.

8 Con el Pipetor Electrónico de 3M™ o cualquier dispositivo similar, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

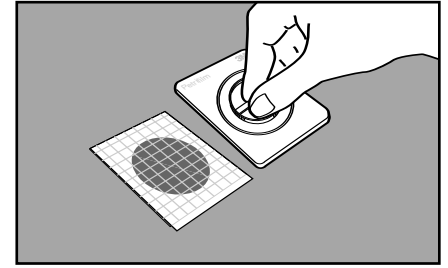
9 Libere la película superior dejando que caiga sobre la muestra.



10 Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para Mohos y Levaduras, colóquelo sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

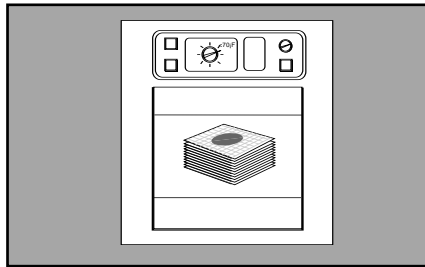


11 Presione suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.



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

Incubación



13 Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades a 20 °C-25 °C por 3-5 días. Algunos Mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los Mohos ya crecidos a los 5 días. Si las Placas presentan demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como “estimado”. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

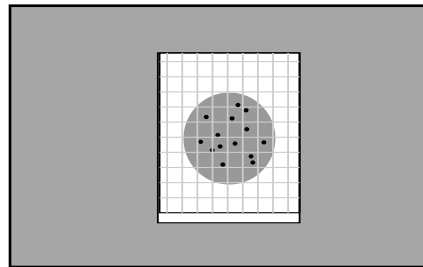
El tiempo de incubación y las temperaturas varía según el método.

El método más conocido es:

- AOAC Método oficial 997.02 (en alimentos)

Incubar 5 días entre 21 °C y 25 °C.

Interpretación



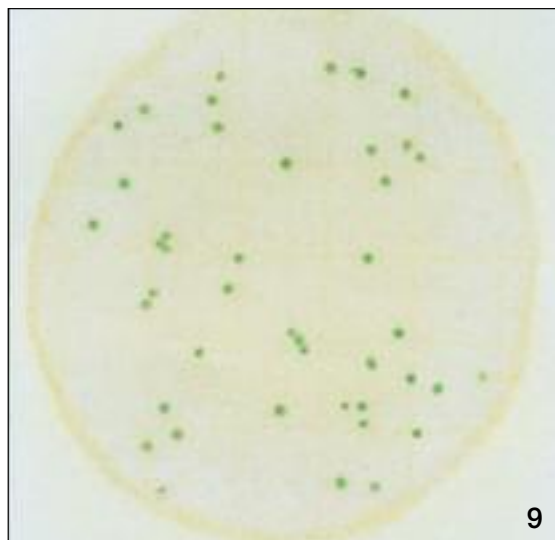
14 Las placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificada.

Comentarios adicionales

Si tiene dudas o preguntas llame al (5255) 5270 0454 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

Diferenciación Macroscópica

Si es necesario diferenciar las colonias de Mohos y levaduras en las Placas Petrifilm YM, observe una o más de las características típicas que aquí se muestran:

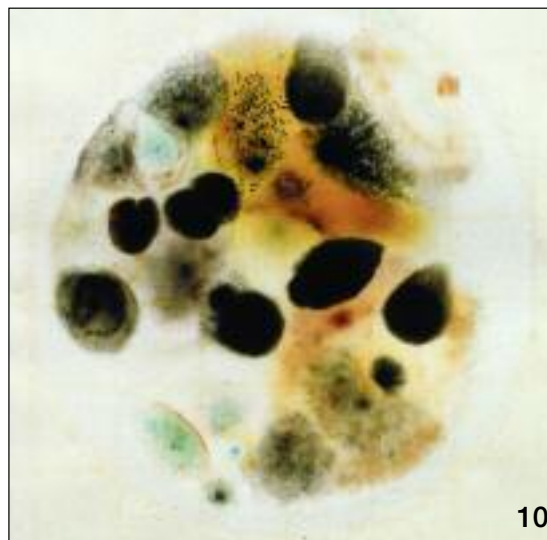


9

Conteo de Levaduras = 43

La Figura 9 muestra colonias típicas de Levaduras, que incluyen las siguientes características:

- Las colonias son pequeñas.
- Tienen filos o bordes definidos.
- El color de las colonias puede variar desde beige o crema, hasta azul verdoso.
- Tienen apariencia abultada, es decir, con una tercera dimensión: convexas.
- Son de color uniforme, no difusas.



10

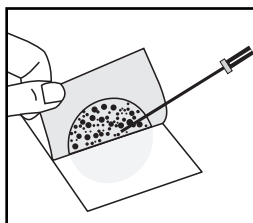
Conteo de Mohos = 29

La Figura 10 muestra colonias típicas de Mohos, que incluyen las siguientes características:

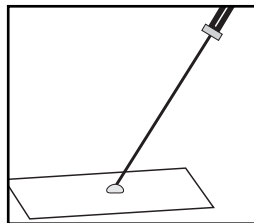
- Las colonias son grandes.
- Tienen bordes difusos, sin límite definido.
- El color de las colonias puede variar, ya que los Mohos producen una variedad de pigmentos; por ejemplo: café, beige, naranja, azul verdoso, etcétera.
- Las colonias tienen apariencia plana.
- Tienen un centro oscuro y se expanden difusamente alrededor del mismo.

Diferenciación Microscópica

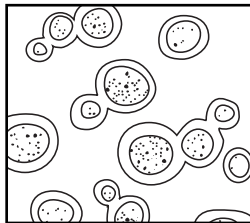
Los Mohos y Levaduras son organismos relacionados y no siempre se puede distinguir entre ellos sin la identificación microscópica.



Para aislar colonias para su posterior identificación, levante la película superior y repique una colonia del gel utilizando un asa o dispositivo similar.



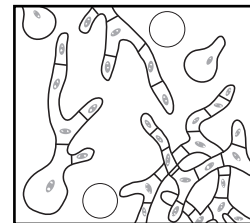
Transfiera la colonia a una gota de agua estéril colocada en un porta objetos para microscopio y coloque encima el cubre objetos; obsérvela bajo microscopio.



Las Levaduras típicamente tienen forma ovalada y se pueden ver como brotadas o abultadas.



Los Mohos típicamente aparecen como estructuras ramificadas, como hilos o filamentosas (micelios).



También se pueden encontrar Mohos en diferentes etapas de germinación.

3M

Microbiology Products
3M Center Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3M.com/microbiology

3M México
Av. Santa Fe 55
Col. Santa Fe, C.P. 01210
México, D.F.
Tel. (55) 5270-0454
microbiologiamx@mmm.com
www.3M.com/microbiologia

3M Argentina
Los Árboles 842
Hurlingham
Buenos Aires, Argentina
Tel. (11) 4469-8200
microbiologia-ar@mmm.com

Petrifilm es una marca registrada de 3M
Impreso en:
Revisión: 2004-10.
70-2008-8104-6