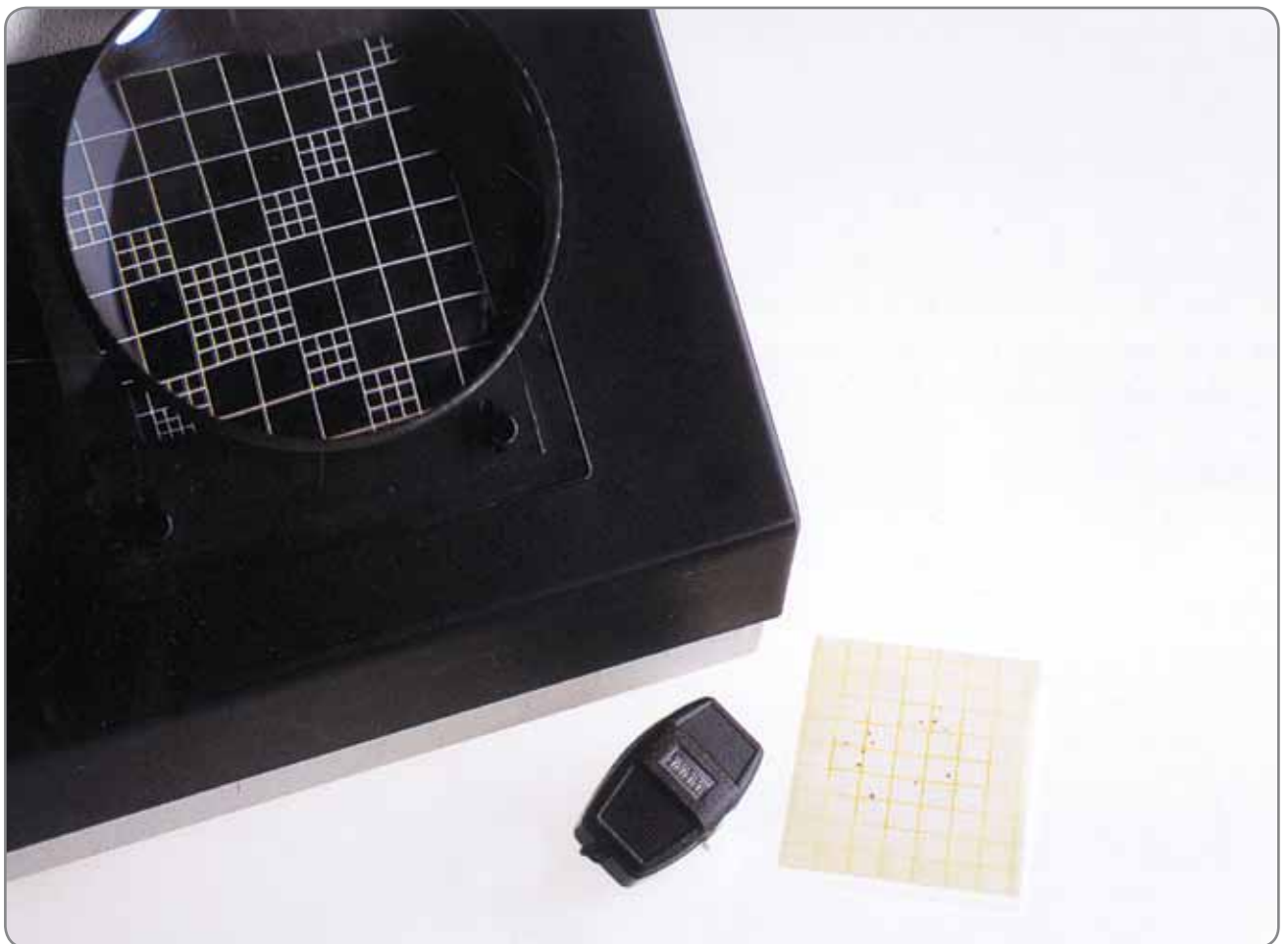


3M™ Petrifilm™

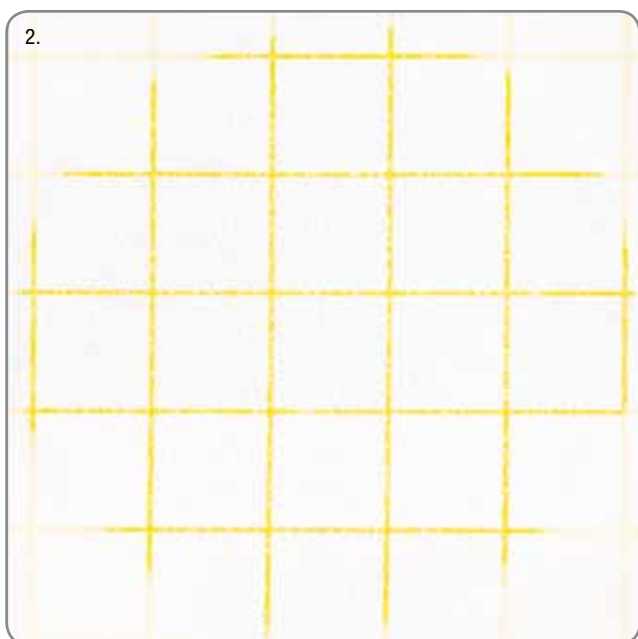
# Guía de Interpretación

## 3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios



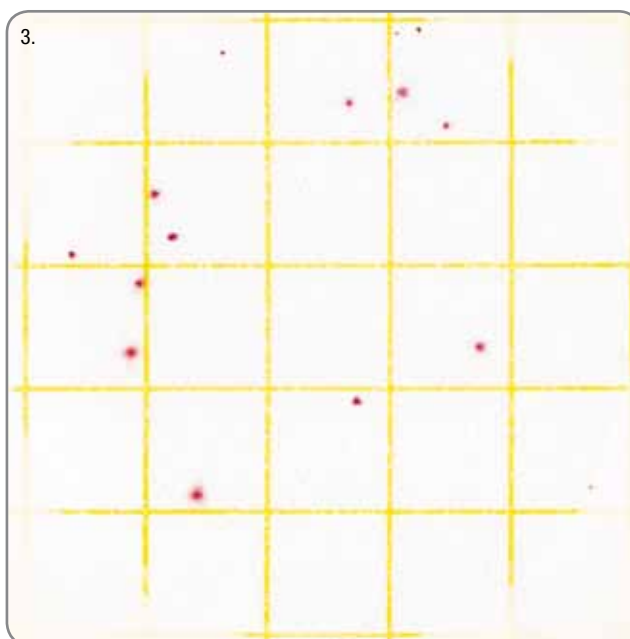
**3M**

## 3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios



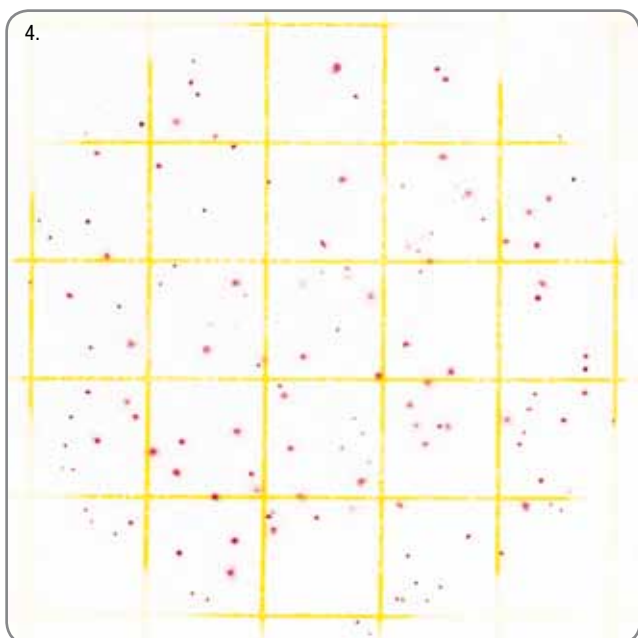
**Recuento = 0**

La interpretación de la placa Petrifilm para Aerobios resulta muy fácil. La Figura 2 muestra una placa Petrifilm Recuento de Aerobios sin colonias.



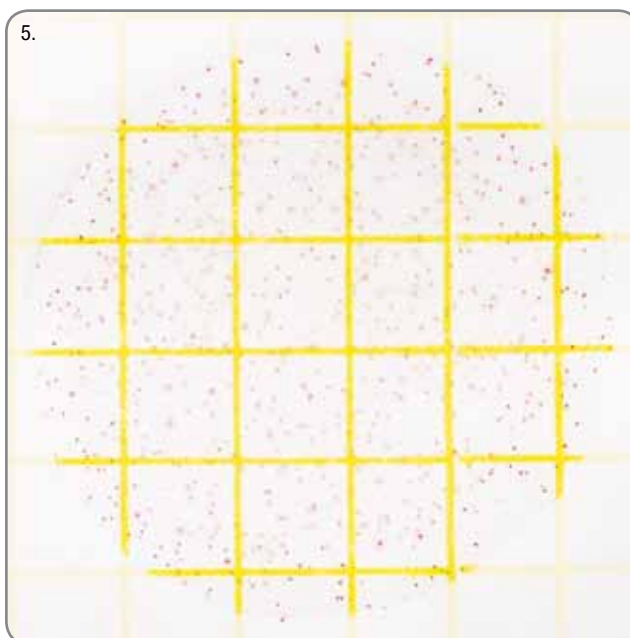
**Recuento = 16**

La Figura 3 muestra una placa Petrifilm Recuento de Aerobios con pocas colonias bacterianas. Un indicador rojo presente en la placa colorea todas las colonias. Contar todas las colonias rojas independientemente de su tamaño y de la intensidad de color. Usar un contador estándar tipo Quebec o un lector de placas 3M™ Petrifilm™ para leer la placa Petrifilm.



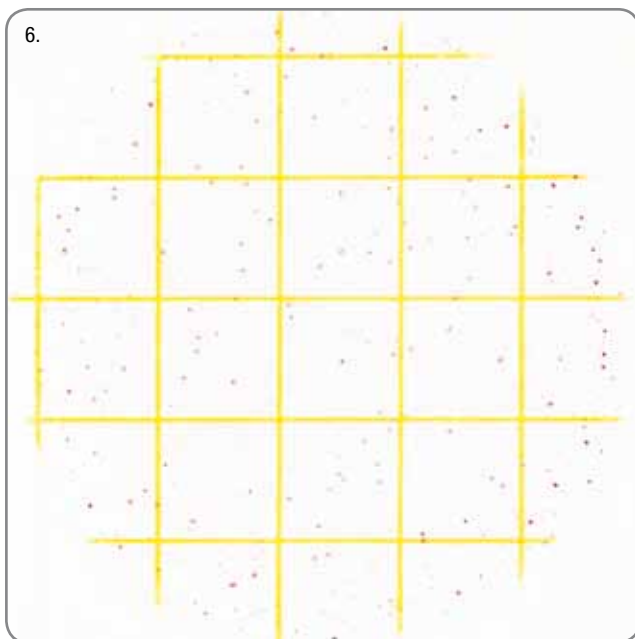
**Recuento = 143**

Al igual que con una placa Petri normal, el rango de recuento para una placa Petrifilm de Aerobios es de 10 - 300 colonias. Ver Figura 4.



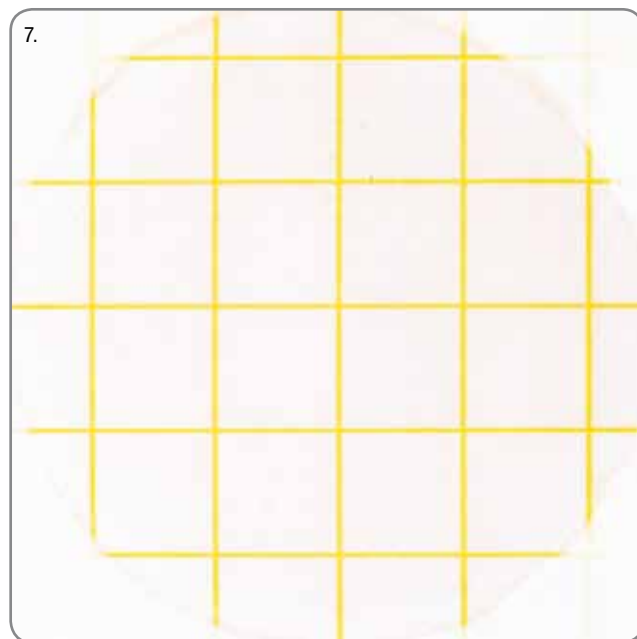
**Recuento estimado = 420**

Cuando el número de colonias es superior a 300 como ocurre en la Figura 5, se puede realizar una estimación. Contar las colonias de una cuadrícula (1 cm<sup>2</sup>) y multiplicar por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de inóculo de una placa Petrifilm de Aerobios es de 20 cm<sup>2</sup> aproximadamente.



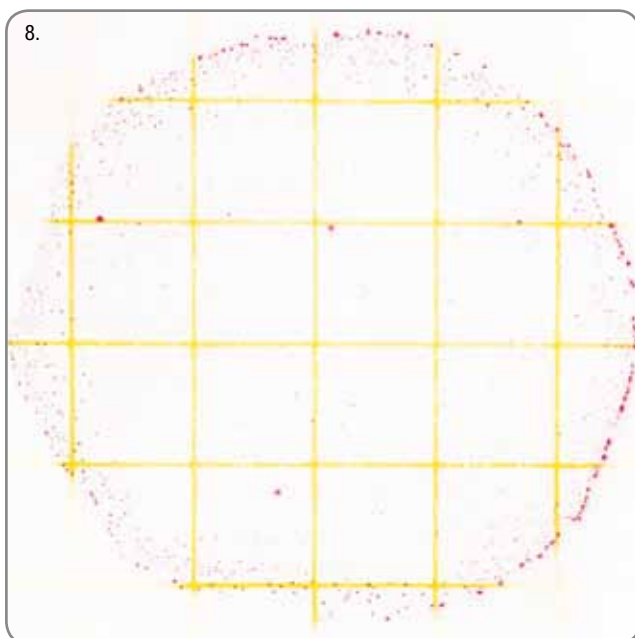
**Recuento = Incontable (TNTC)**

La Figura 6 muestra una placa Petrifilm de Aerobios con un número incontable de colonias (TNTC).



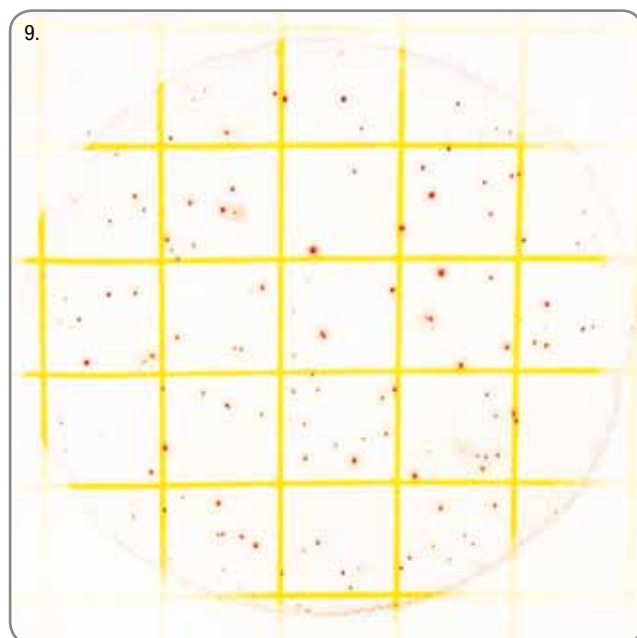
**Recuento = Incontable (TNTC)**

Con recuentos muy altos, todo el área de crecimiento puede virar al rosa como muestra la Figura 7. Alguna colonia individual podría observarse en el borde del área de crecimiento. Registrar este resultado como incontable (TNTC).



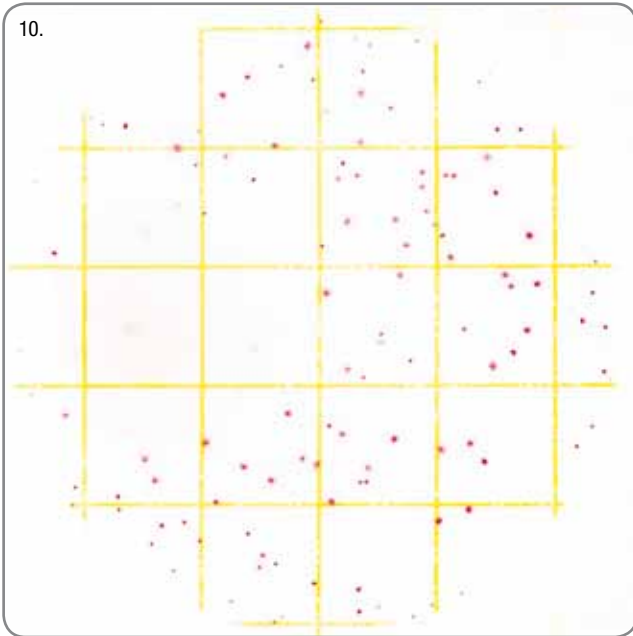
**Recuento = Incontable (TNTC)**

Ocasionalmente las colonias aparecen distribuidas de manera desigual como ocurre en la Figura 8. Es también un resultado incontable (TNTC). De hecho la distribución es uniforme.



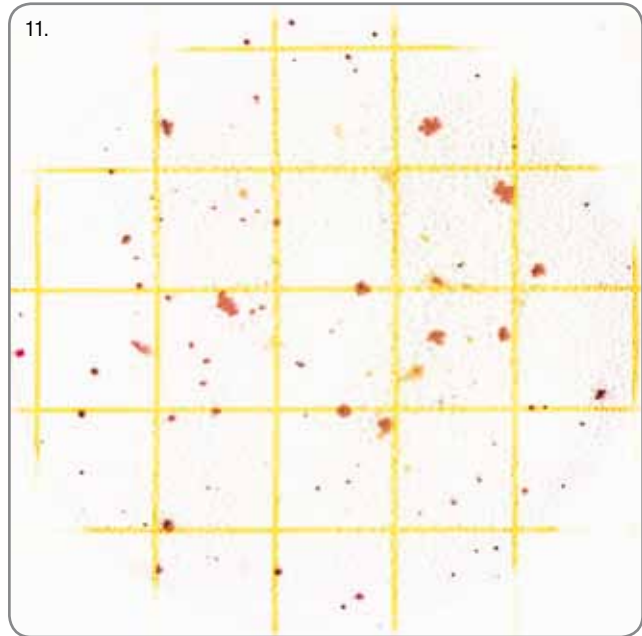
**Recuento = Incontable (TNTC)**

Las colonias de la placa Petrifilm de Aerobios de la Figura 9 parecen contables a primera vista. Sin embargo, cuando se miran los bordes del área de crecimiento puede verse una alta concentración de colonias. Registrar este resultado como incontable (TNTC).



**Recuento estimado = 160**

Algunas bacterias licúan el gel en la placa Petrifilm de Aerobios como muestra la Figura 10. Cuando esto ocurre, realizar un recuento aproximado en las cuadrículas no afectadas y luego estimar el recuento total. No contar las manchas rojas de la zona licuada.



**Recuento = 83**

Las colonias de las placas Petrifilm de Aerobios son rojas y pueden distinguirse fácilmente de las partículas alimenticias opacas que causan confusión en las placas Petri normales. Ver Figura 11.

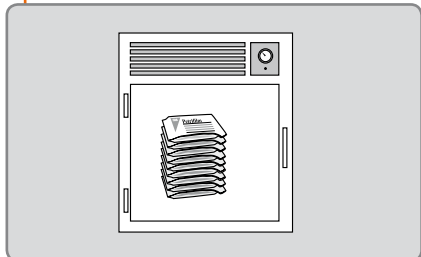
# 3M™ Petrifilm™. Placas para Recuento de Aerobios

Para información detallada acerca de PRECAUCIONES, GARANTÍAS, LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, así como INSTRUCCIONES DE USO ver folleto de producto en las cajas.

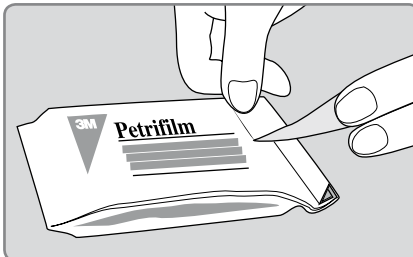
Instrucciones  
de uso



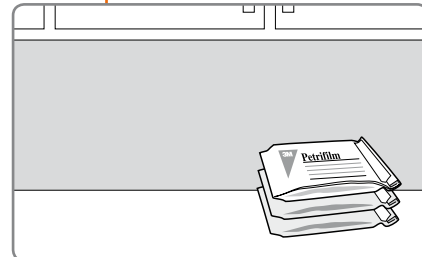
## Almacenamiento



**1** Refrigerar las bolsas originales sin abrir de las placas Petrifilm. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje.



**2** Abrir las bolsas con unas tijeras o cúter por el lado que aparece indicado. Retirar de la bolsa únicamente las placas que vayan a usarse. Volver a cerrar la bolsa doblando el lado abierto y asegurando el cierre con una pinza o cinta adhesiva.

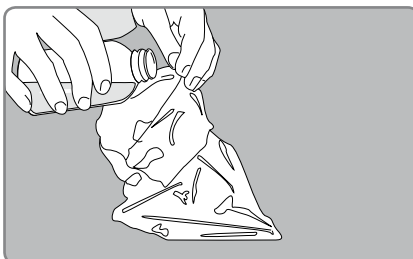


**3** Mantener las bolsas que se han abierto y vuelto a cerrar a  $\leq 21^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 70^{\circ}\text{F}$ ). **No refrigerar las bolsas que han sido abiertas.** En este caso, usar las placas Petrifilm no más tarde de 1 mes desde su apertura.

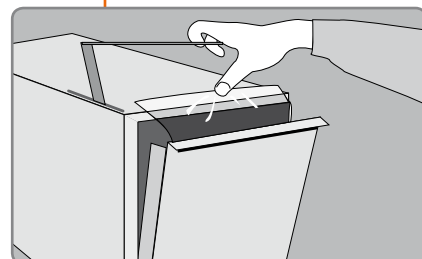
## Preparación de Muestra



**4** Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro recipiente estéril apropiado.

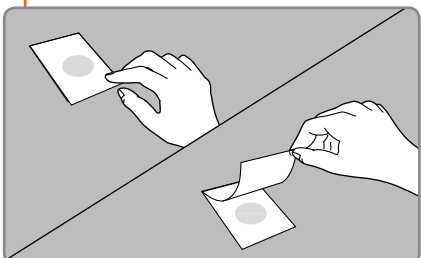


**5** Añadir el diluyente apropiado. Usar diluyentes estándar tales como tampón fosfato, agua de peptona, tampón de Butterfield, solución Ringer, peptona-sal, agua destilada y otros. No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

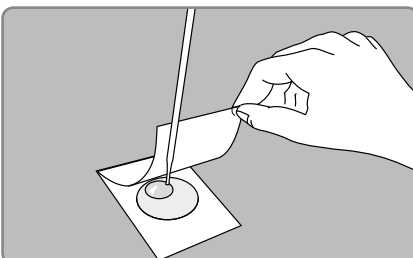


**6** Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales

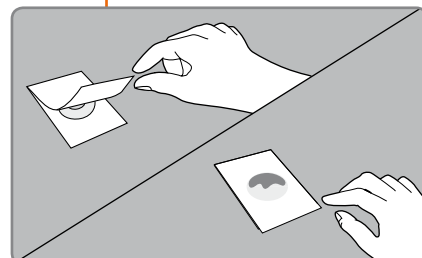
## Siembra



**7** Disponer la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



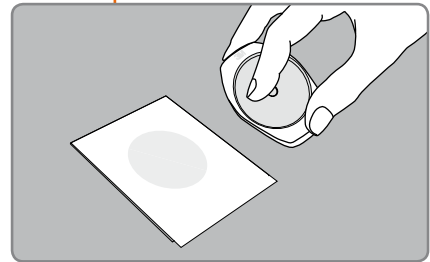
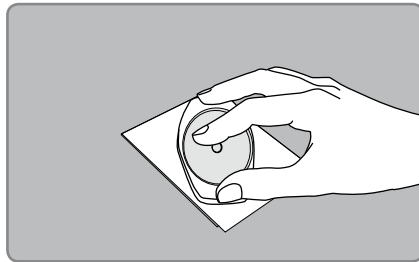
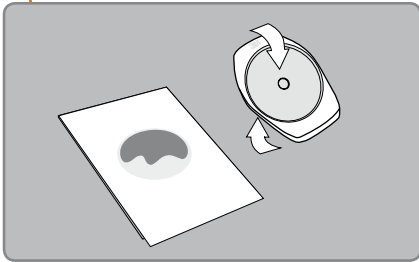
**8** Pipetear 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior. Mantener la pipeta en posición vertical. No tocar el film inferior mientras se pipetea.



**9** Soltar el film superior y dejarlo caer. No deslizar el film hacia abajo.

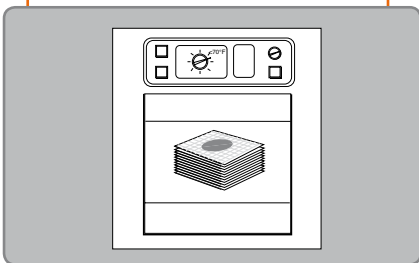


## Siembra

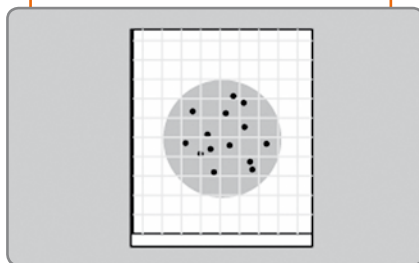


- 10** Colocar el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Usar el aplicador con la **cara rebajada hacia abajo (cara lisa hacia arriba)**.
- 11** Aplicar presión de **manera suave** sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular. **No mover ni girar el aplicador.**
- 12** Levantar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

## Incubación



## Interpretación



- 13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas. Incubar a 30 +/-1°C durante 72 +/-2 horas para cualquier tipo de alimento. Consultar otras condiciones particulares de incubación.
- 14** Leer las placas. Usar un lector de placas 3M™ Petrifilm™ contador de colonias estándar Quebec u otros. No usar luz de fondo para la lectura de esta placa, usar luz directa. Consultar la Guía de Interpretación para leer los resultados.

## Comentarios Adicionales

- Los pasos 9 y 10 son específicos de las placas Petrifilm para recuento de aerobios.
- Nota: Sembrar e inmediatamente poner el aplicador con cada placa antes de sembrar la siguiente placa.

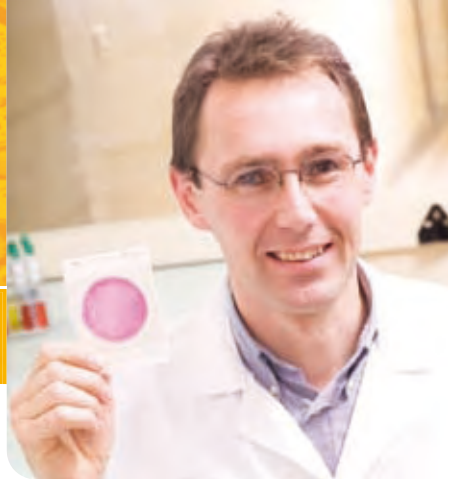
**3M**

**3M España, S.A.**  
**3M Seguridad Alimentaria**  
C/ Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
28027 Madrid  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

Llamada Gratuita  
**900 210 584**  
3M Centro de Información al Cliente

Por favor recicle. Impreso en España  
©3M 2009. Todos los derechos reservados. Ref. 1354-101-EU

3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M

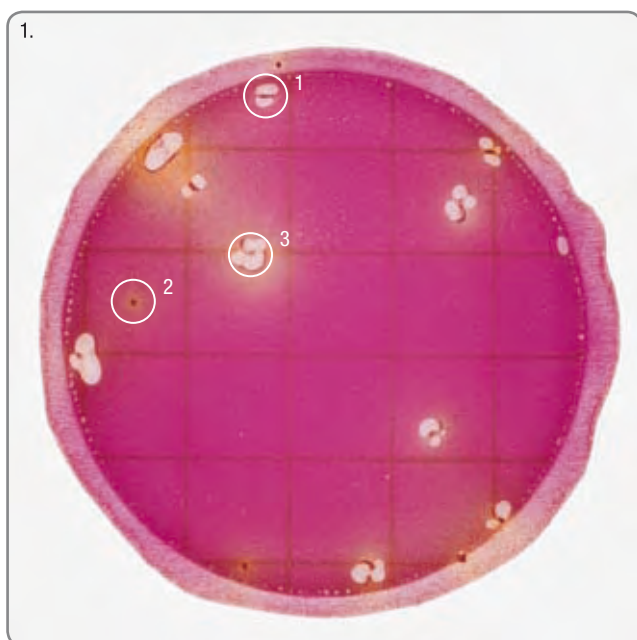


# 3M™ Petrifilm™

## Guía de Interpretación

### 3M™ Petrifilm™

### Placas para Recuento de Enterobacteriaceae

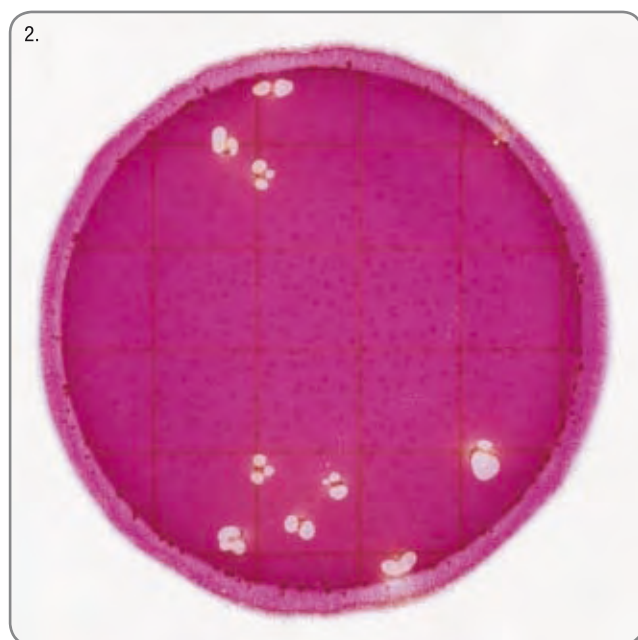


#### **Recuento de Enterobacteriaceae = 13**

Resulta fácil contar las colonias de enterobacterias en las placas Petrifilm para *Enterobacteriaceae*. Un indicador rojo en la placa colorea todas las colonias y el film superior atrapa el gas en caso de que éste sea producido por las bacterias. Las bacterias acidificantes aparecen como colonias rojas rodeadas por una zona amarilla asociada a la producción de ácido que es detectado por el indicador de pH del medio.

Las colonias de enterobacterias tienen las siguientes características en las placas Petrifilm para *Enterobacteriaceae*: Las enterobacterias pueden producir colonias asociadas a burbujas de gas (ver figura 1, círculo 1). Las enterobacterias pueden producir también colonias rojas con zonas ácidas solamente (ver figura 1, círculo 2). Por último, las enterobacterias pueden producir colonias rojas asociadas a zona ácida y burbujas de gas (ver figura 1, círculo 3).

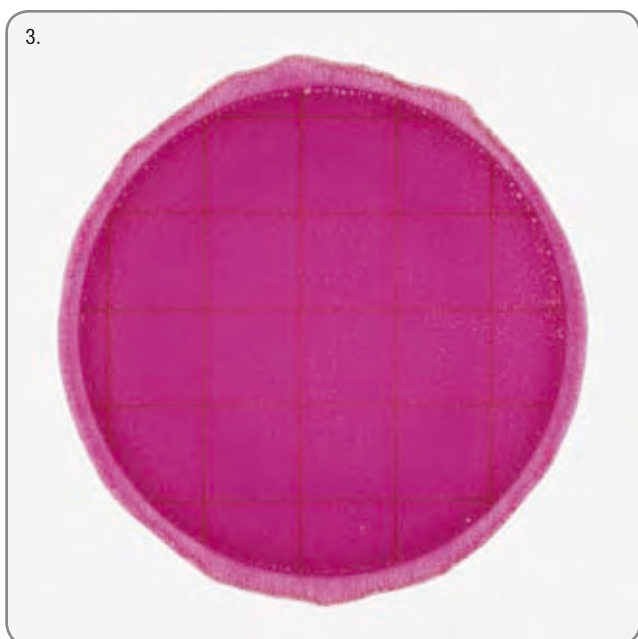
Los círculos 1 y 3 de la figura 1 muestran también como las formas de las burbujas pueden variar. A veces el gas deforma la colonia y hace que ésta “profile” la burbuja como el círculo 3.



#### **Recuento de Enterobacteriaceae = 9**

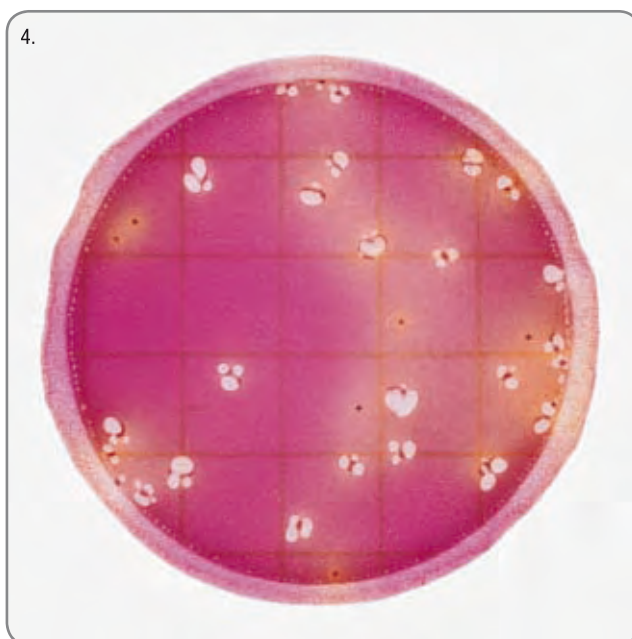
La figura 2 muestra una placa Petrifilm para *Enterobacteriaceae* con algunas enterobacterias y un gran número de colonias Gram negativas que no son enterobacterias al no ser acidificantes o formadoras de gas.

## 3M™ Petrifilm™. Placa para Recuento de Enterobacteriaceae

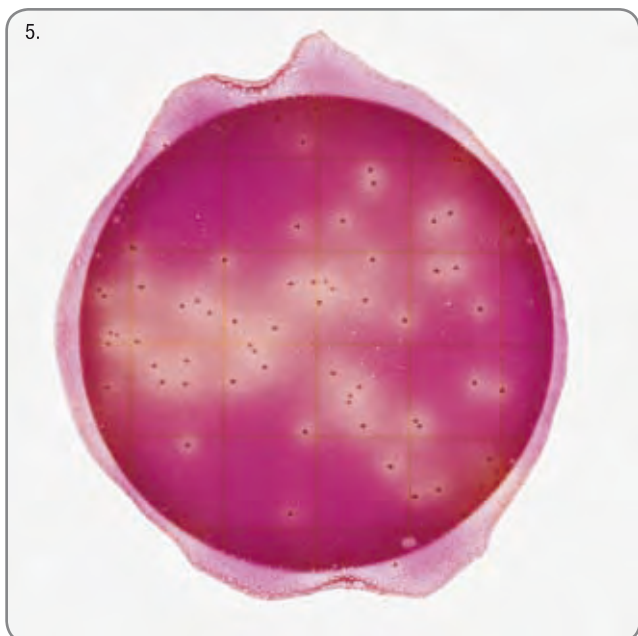


**Recuento de Enterobacteriaceae = 0**

Observar el cambio de color del gel en las figuras 3 a 8. Al aumentar el recuento de enterobacterias, el color del gel se aclara, virando del violeta al amarillo o crema.

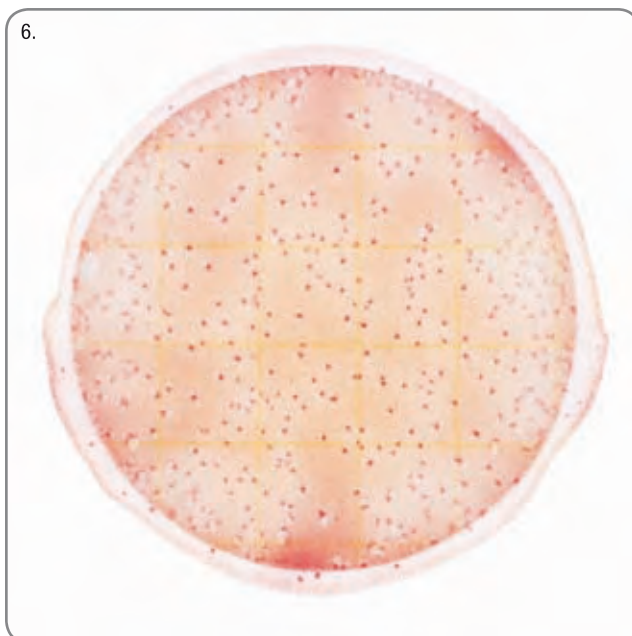


**Recuento de Enterobacteriaceae = 35**



**Recuento de Enterobacteriaceae = 77**

El rango de recuento recomendado para las placas Petrifilm para *Enterobacteriaceae* es entre 15-100 colonias. Las muestras con recuentos mayores de 100 colonias de enterobacterias por placa deben de estimarse. Ver figura 5.

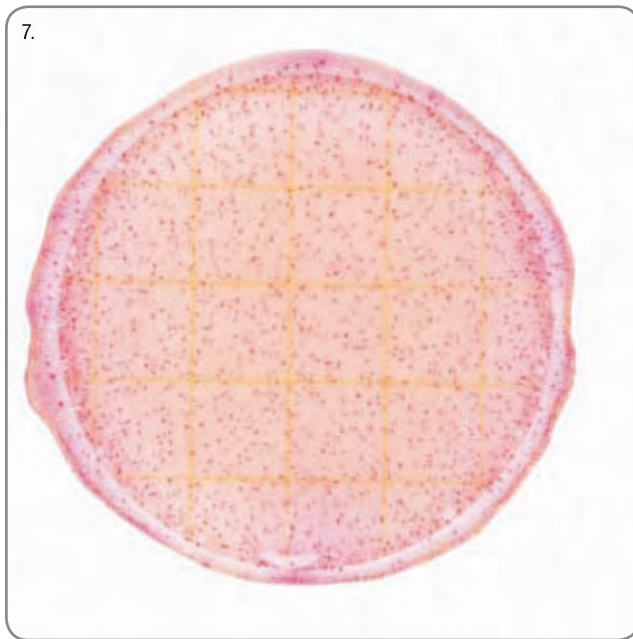


**Recuento de Enterobacteriaceae = Incontable (estimado)**

Las placas con una cantidad incontable (TNTC) de colonias de enterobacterias aclaran el color del gel y además ofrecen una o las dos siguientes características: 1) colonias muy pequeñas, o, 2) muchas burbujas de gas. Ver figura 6.

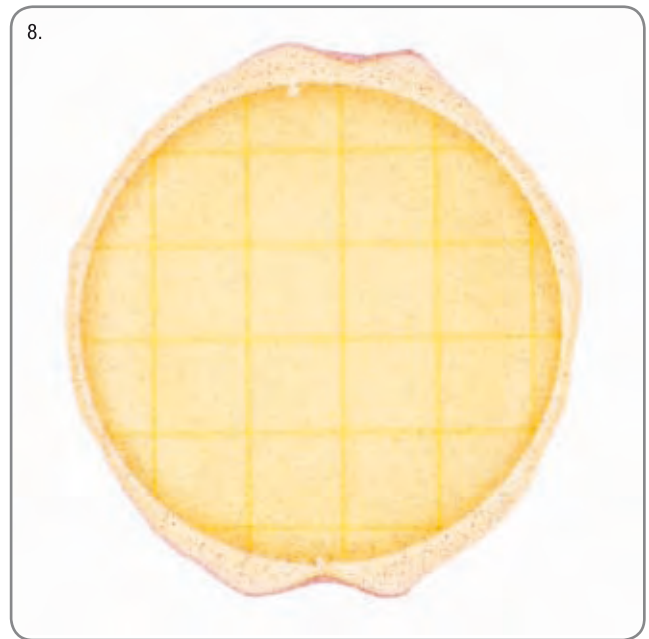


## 3M™ Petrifilm™. Placa para Recuento de Enterobacteriaceae



### **Recuento de Enterobacteriaceae = Incontable (estimado)**

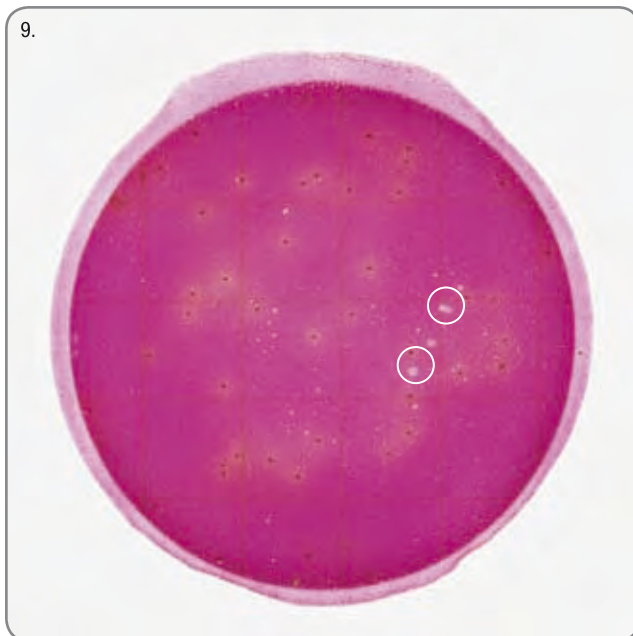
En la figura 7, el recuento es tan alto que las zonas ácidas y las burbujas de gas no se ven claramente. Un color amarillento del gel es indicativo de un resultado incontable (TNTC).



### **Recuento de Enterobacteriaceae = Incontable (estimado)**

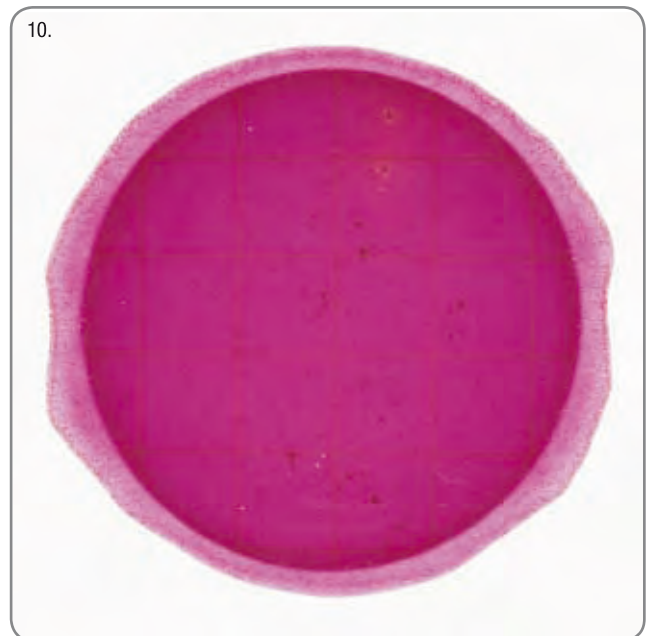
La placa Petrifilm para *Enterobacteriaceae* de la figura 8 tiene dos características que indican un resultado incontable (TNTC):

- 1) color amarillento del gel, y
- 2) muchas colonias pequeñas..



### **Recuento de Enterobacteriaceae = 44**

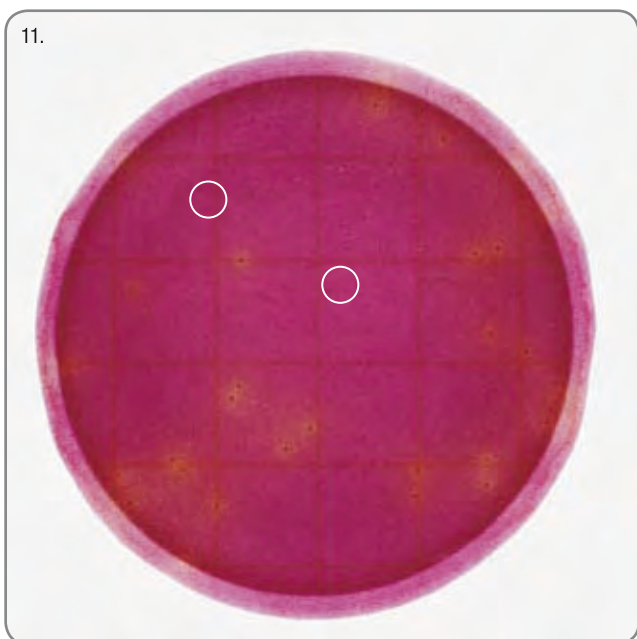
Pueden aparecer burbujas de aplicación debido a una siembra inadecuada en las placas Petrifilm para *Enterobacteriaceae*. No confundir con las burbujas de gas de las colonias. En el caso de burbujas de aplicación, tienen una forma irregular y no están asociadas a colonias rojas. Ver figura 9.



### **Recuento de Enterobacteriaceae = 2**

Las partículas de alimento tienen a menudo formas irregulares o filamentosas y no están asociadas a burbujas de gas o zonas ácidas. Ver figura 10.

## 3M™ Petrifilm™. Placa para Recuento de Enterobacteriaceae



**Recuento de Enterobacteriaceae = 29**

Las partículas de alimentos también pueden aparecer como puntos oscuros pero no asociados a burbujas de gas o zonas ácidas. Ver figura 11.

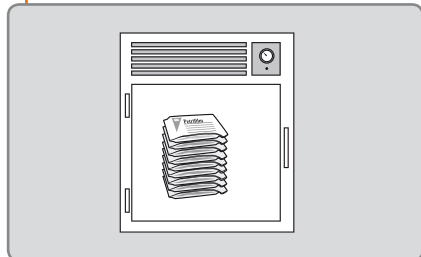
# 3M™ Petrifilm™. Placas para Recuento de Enterobacteriaceae

Para información detallada acerca de PRECAUCIONES, GARANTÍAS, LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, así como INSTRUCCIONES DE USO ver folleto de producto en las cajas.

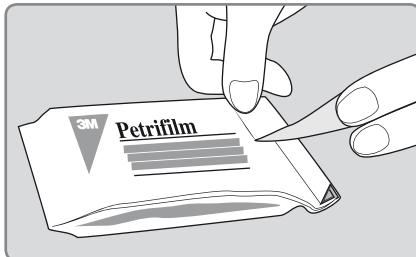
## Instrucciones de uso



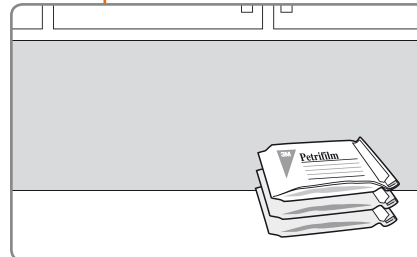
### Almacenamiento



**1** Refrigerar las bolsas originales sin abrir de las placas Petrifilm. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje.



**2** Abrir las bolsas con unas tijeras o cúter por el lado que aparece indicado. Retirar de la bolsa únicamente las placas que vayan a usarse. Volver a cerrar la bolsa doblando el lado abierto y asegurando el cierre con una pinza o cinta adhesiva.

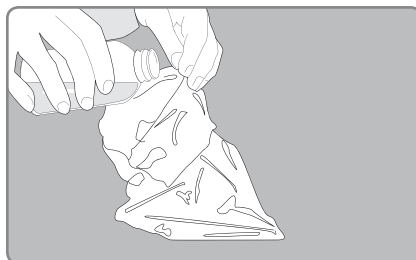


**3** Mantener las bolsas que se han abierto y vuelto a cerrar a  $\leq 21^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 70^{\circ}\text{F}$ ). **No refrigerar las bolsas que han sido abiertas.** En este caso, usar las placas Petrifilm no más tarde de 1 mes desde su apertura.

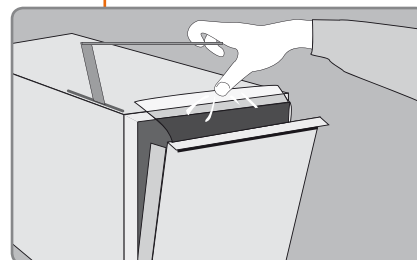
### Preparación de Muestra



**4** Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro recipiente estéril apropiado.



**5** Añadir una cantidad adecuada de alguno de los diluyentes de uso general indicados en ISO 6887 o ISO 8261/IDF 122 tales como diluyente peptona-sal y agua de peptona tamponada. Pueden usarse otros diluyentes, por ejemplo, fosfato hidrógeno dipotásico, caldo letheen o agua destilada.



**6** Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales

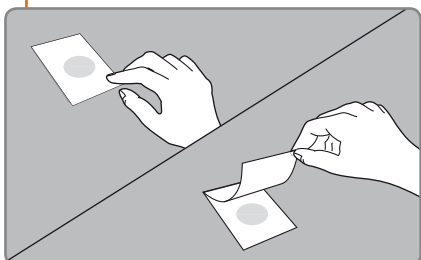
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6,5 y 7,5:

- Para productos ácidos, usar NaOH 1N
- Para productos alcalinos, usar HCl 1N

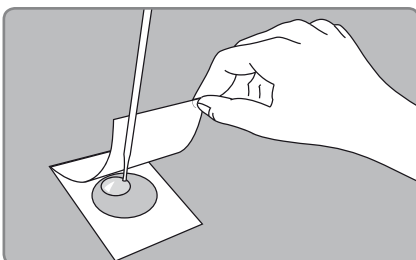
O usar un diluyente tampón que permita mantener el pH en el rango deseado

No usar tampones que contengan citratos, bisulfitos o tiosulfatos ya que pueden inhibir el crecimiento bacteriano.

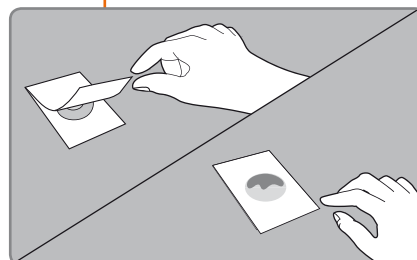
### Siembra



**7** Disponer la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.

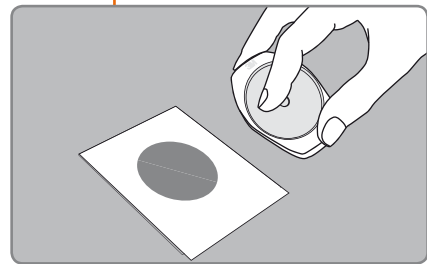
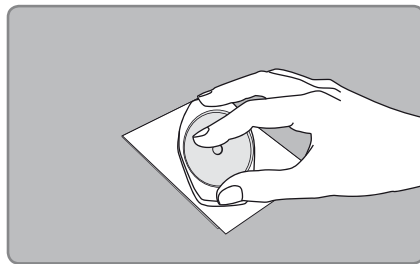


**8** Pipetear 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior. Mantener la pipeta en posición vertical. No tocar el film inferior mientras se pipetea.



**9** Bajar el film superior con cuidado, sin dejarlo caer, para evitar la formación de burbujas de aire.

## Siembra

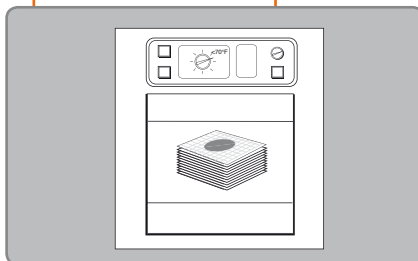


**10** Con la cara **lisa hacia abajo**, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo.

**11** Con cuidado, aplicar presión sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular. No girar ni deslizar el aplicador.

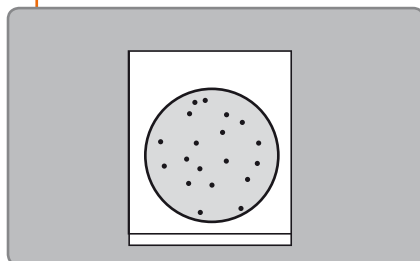
**12** Levantar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

## Incubación

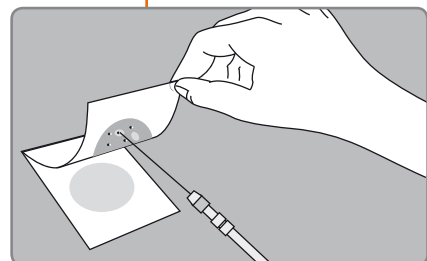


**13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba en grupos de no más de 20 placas a temperatura de 30°C+/-1°C o 35°C+/-1°C o 37°C+/-1°C durante 24+/-2 horas.

## Interpretación



**14** Leer las placas. Usar un lector de placas 3M™ Petrifilm™, contador de colonias estándar Quebec u otros. Consultar la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Para aislar colonias para posterior identificación, levantar el film superior y repicar la colonia del gel.

## Comentarios Adicionales

- Nota: Sembrar e inmediatamente poner el aplicador con cada placa antes de sembrar la siguiente placa.

**3M**

3M España S.A.  
3M Microbiología  
C/ Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
28027 Madrid  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

Llamada Gratuita  
**900 210 584**  
3M Centro de Información al Cliente

Por favor recicle. Impreso en España  
©3M 2009. Todos los derechos reservados. Ref. 1387-101-EU

3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M



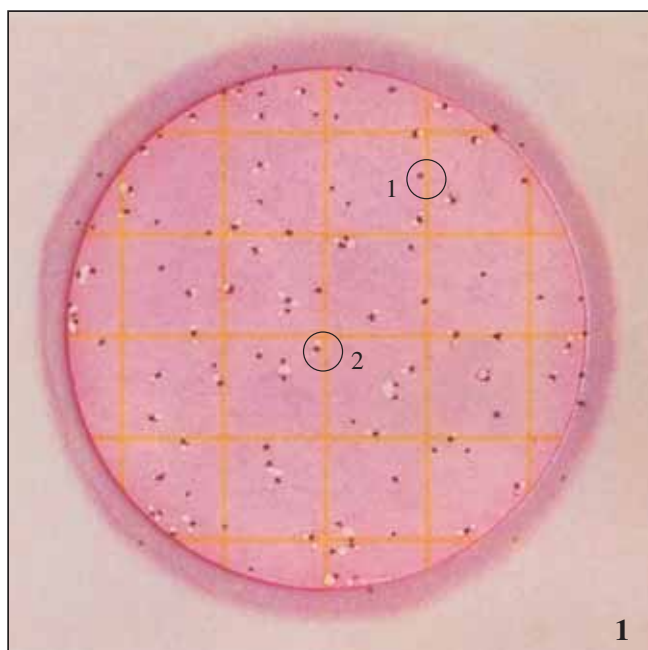
# Petrifilm™

## Placas para Recuento de Coliformes

Esta guía sirve para familiarizarse con los resultados obtenidos en las placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento de Coliformes (CC). Para más información, contactar con el distribuidor oficial de Productos 3M Microbiology.

Las placas Petrifilm CC contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes.

- La **ISO** define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos. El **método ISO 4832**, que enumera los coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm CC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas (ver Círculo 1). El **método ISO 4831**, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm CC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas (ver Círculo 2).
- La **AOAC INTERNATIONAL** y la **FDA** (Food and Drug Administration) / **BAM** definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm CC producen ácido que provoca que el indicador de pH oscurezca el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias indica coliformes (ver Círculo 2).

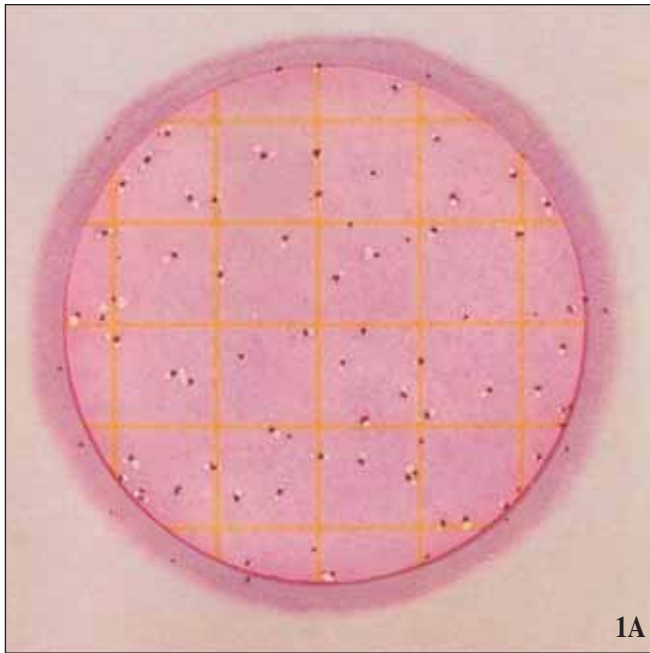


El tiempo y temperatura de incubación, así como la interpretación de las placas Petrifilm CC puede variar con el método.

La AOAC®, la AFNOR y la NMKL han validado el uso de las placas Petrifilm CC bajo condiciones específicas. Ver páginas 2 y 3 de esta Guía de Interpretación.

Recuento de colonias productoras de gas : 75  
Recuento de colonias no productoras de gas : 24  
Recuento total : 99

Interpretación de las Placas 3M Petrifilm CC según los protocolos descritos por las siguientes organizaciones:  
AOAC<sup>®</sup>, NMKL y AFNOR



65 coliformes, AOAC<sup>®</sup> Official Methods

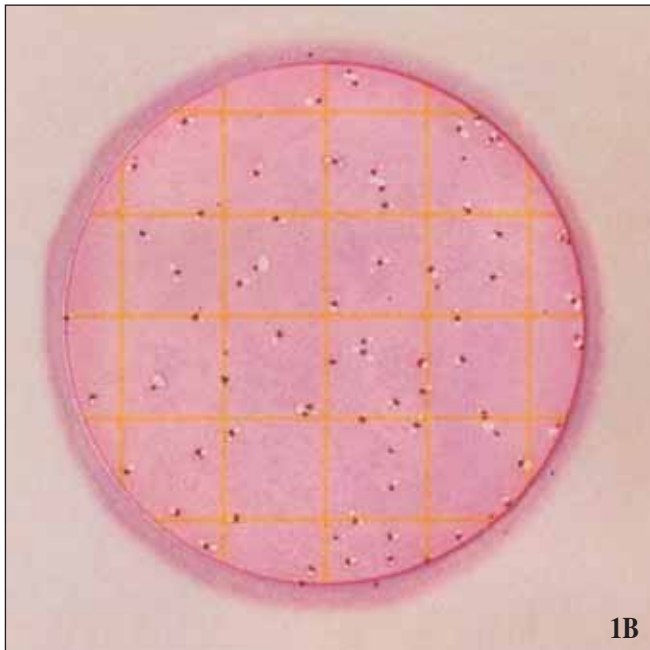
**Lectura según los AOAC<sup>®</sup>, Official Methods<sup>SM</sup>**  
**(986.33, 989.10 y 991.14)**

Incubación :

- *Enumeración de coliformes en leche, leche cruda y productos lácteos (Métodos Oficiales 986.33 y 989.10) :* incubar 24h +/- 2h a 32°C +/- 1°C.
- *Enumeración de coliformes en todos los productos, excepto los arriba mencionados (Método Oficial 991.14) :* incubar 24h +/- 2h a 35°C +/- 1°C.

Interpretación :

- Coliformes : Contar todas las colonias rojas con gas.



67 coliformes, método validado NMKL.

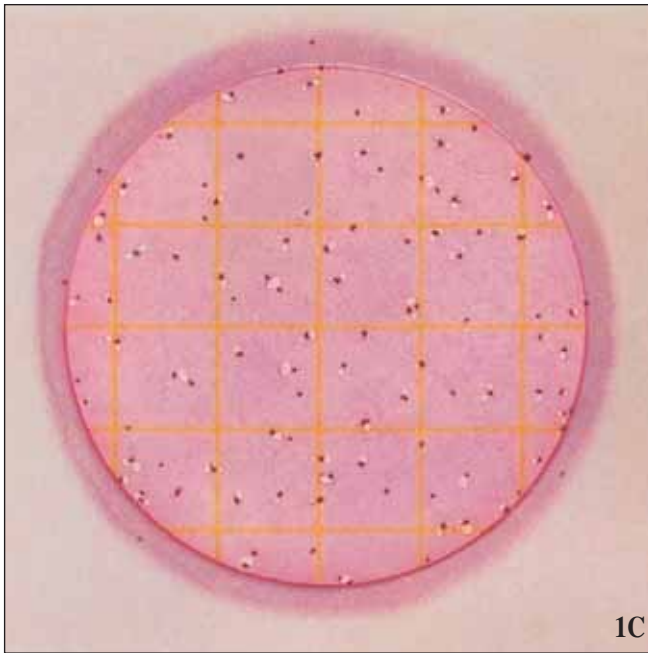
**Lectura según el método validado por la NMKL**  
**(147.1993)**

Incubación :

24h +/- 2h a 37°C +/- 1°C

Interpretación :

- Coliformes : Contar todas las colonias rojas con gas.



**97 coliformes**, método aprobado **AFNOR** comparado con el método ISO 4832

**72 coliformes productores de gas**, método aprobado **AFNOR** comparado con el método ISO 4831.

**Lectura según la aprobación AFNOR para coliformes totales**

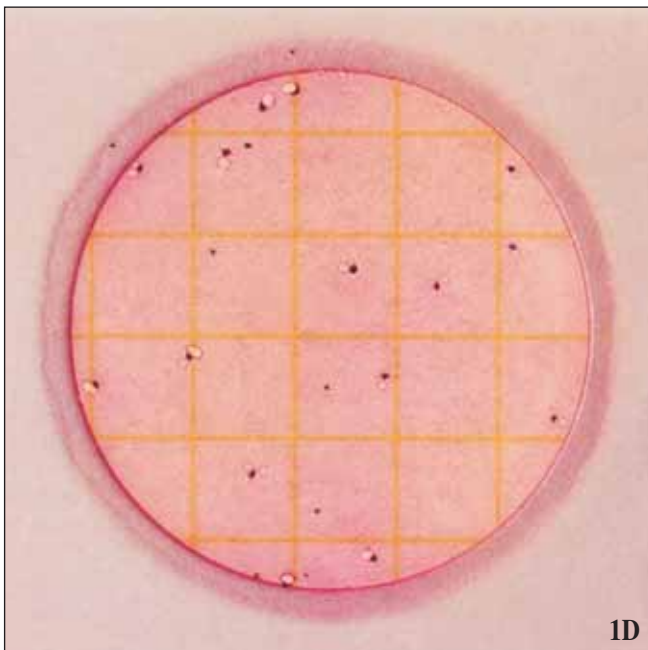
(certificados número 3M 01/2-09/89A y 3M 01/2-09/89B)

Incubación :

24h +/- 2h a 30°C +/- 1°C

Interpretación :

- *Comparación con el método ISO 4832 (certificado 3M 01/2-09/89A) :*  
Contar todas las colonias rojas con o sin gas
- *Comparación con el método ISO 4831 (certificado 3M 01/2-09/89B) :*  
Contar sólo las colonias rojas con gas.



**21 coliformes**, método aprobado **AFNOR** comparado con el método NF V08-017.

**Lectura según la aprobación AFNOR para coliformes termotolerantes**

(certificados número 3M 01/2-09/89C)

Incubación :

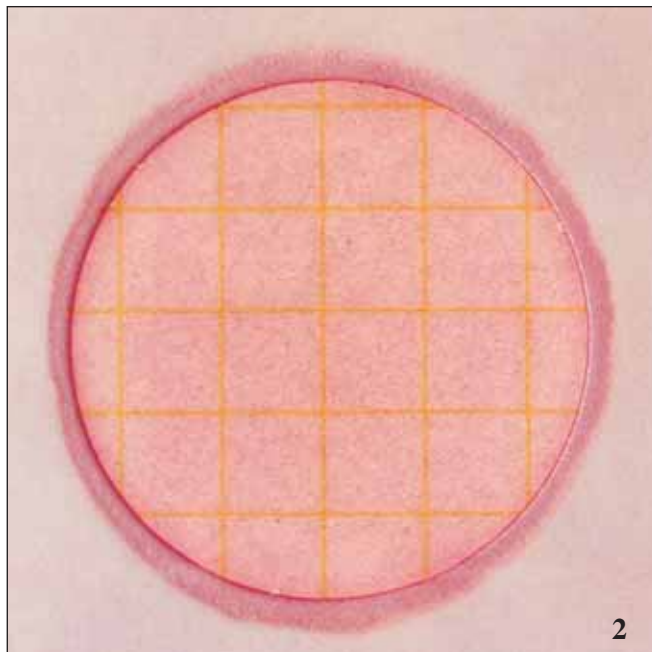
24h +/- 2 a 44°C +/- 1°C

Interpretación :

- *Comparación con el método NF V08-017 :*  
Contar todas las colonias rojas con o sin gas.

# Placas 3M™ Petrifilm™ Recuento de Coliformes

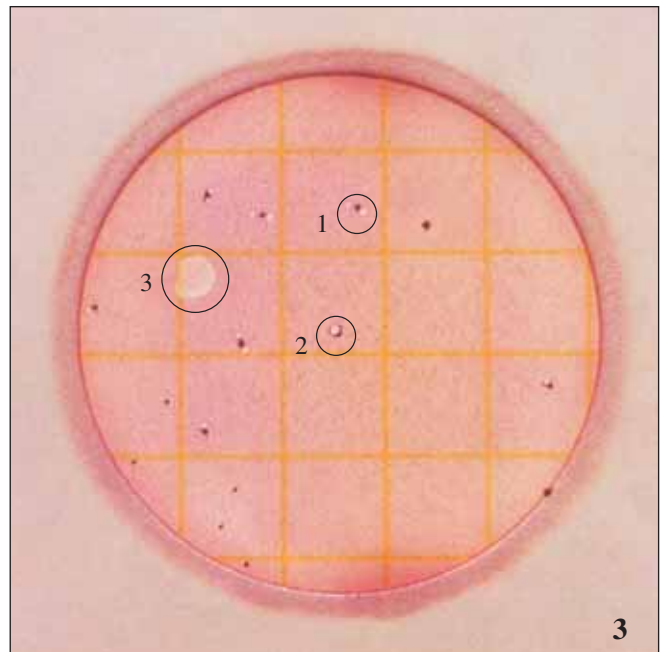
Al incrementar el recuento de coliformes, el color del gel se oscurece, como se muestra en las figuras 2 a 6.



2

## Recuento de colonias = 0

Las burbujas de fondo son una característica del gel y no resultado del crecimiento de coliformes. Las burbujas de fondo son pequeñas o puntiformes y no tienen una colonia asociada.

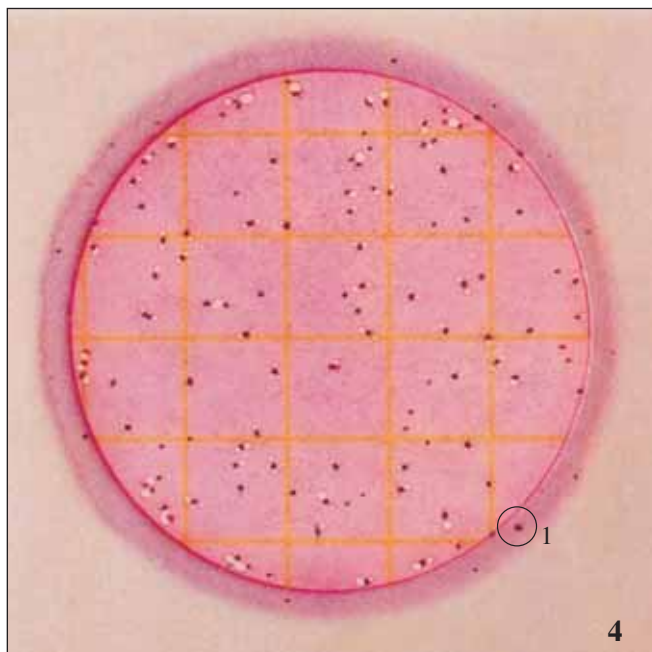


3

## Recuento de colonias no productoras de gas : 7 Recuento de colonias productoras de gas : 8 Recuento total : 15

La Figura 3 muestra como la forma de las burbujas puede variar. Algunas veces el gas deforma la colonia y hace que la colonia "perfile" la burbuja (ver Círculos 1 y 2). Estas burbujas de gas tienen aproximadamente el diámetro de una colonia.

Pueden aparecer burbujas como artefactos debidas a una inoculación inadecuada de la placa Petrifilm CC o de aire atrapado en la muestra. Las burbujas tienen forma irregular y no están asociadas a una

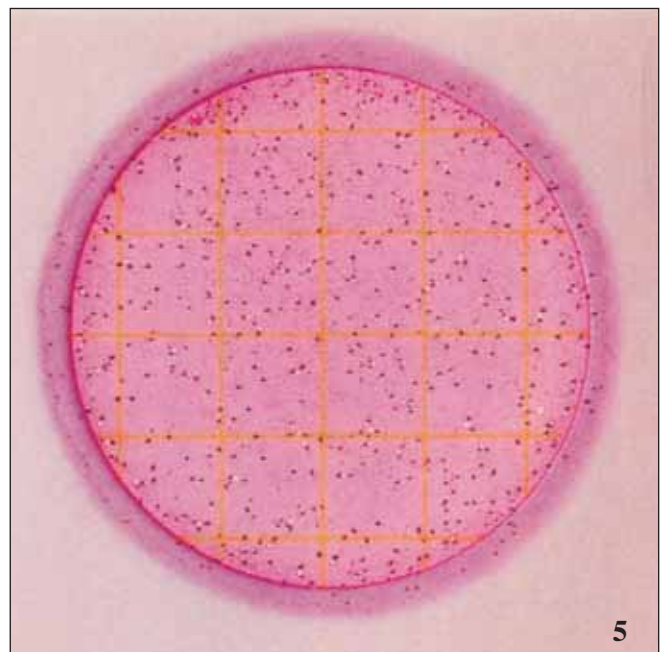


4

## Recuento de colonias productoras de gas : 29 Recuento de colonias no productoras de gas : 83 Recuento total : 112

El intervalo óptimo de recuento (colonias totales) en las placas Petrifilm CC es 15 - 150 colonias.

No contar las colonias que aparecen sobre la zona blanca ya que no están bajo la influencia selectiva del medio (ver Círculo 1).



5

## Recuento total estimado : 310

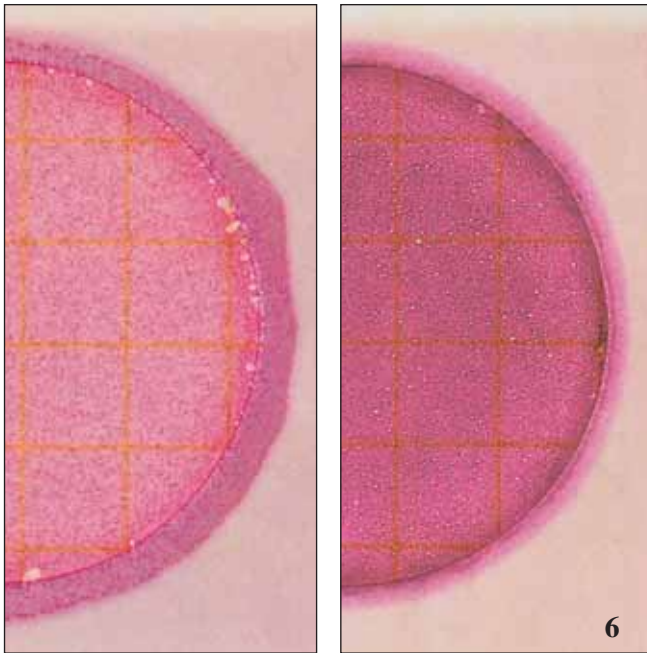
El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm CC es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento estimado por placa Petrifilm CC.

*Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.*



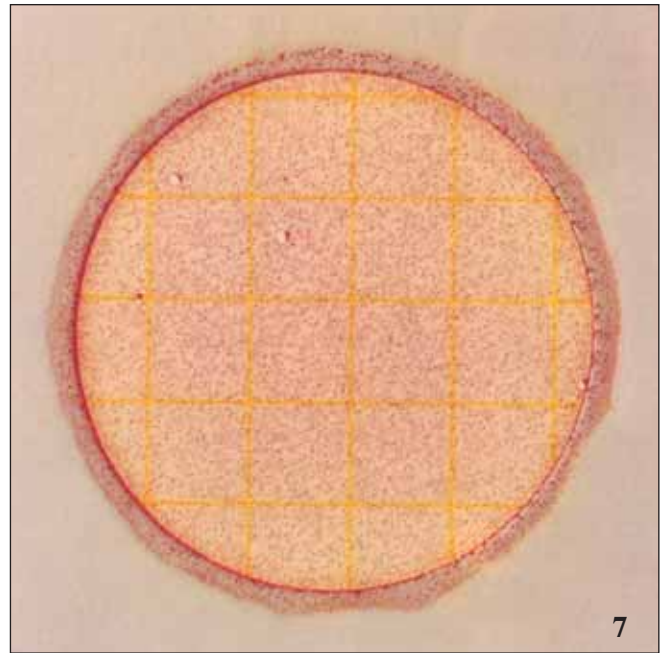
# Placas TNTC Demasiado Numerosas Para Contar

Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.



## Placas TNTC (Demasiado Numerosas Para Contar)

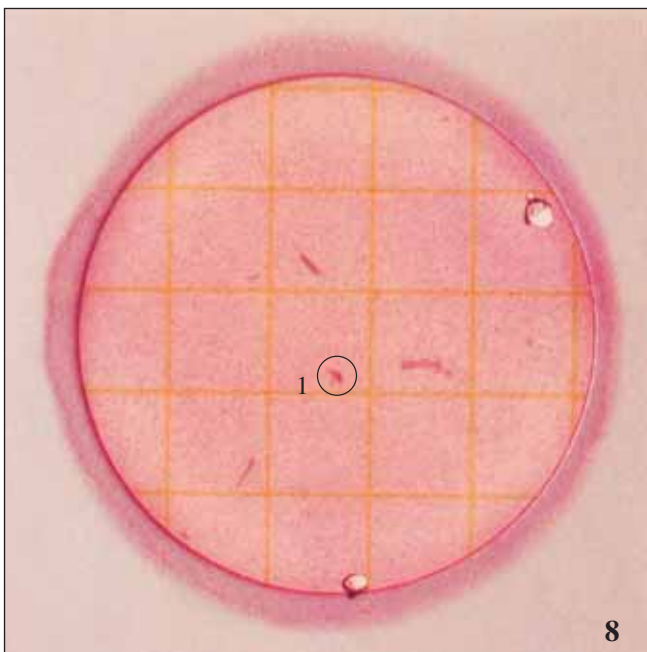
Las placas Petrifilm CC con colonias TNTC tienen una o más de las características siguientes: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y un oscurecimiento del color del gel



## Colonias productoras de gas : 4

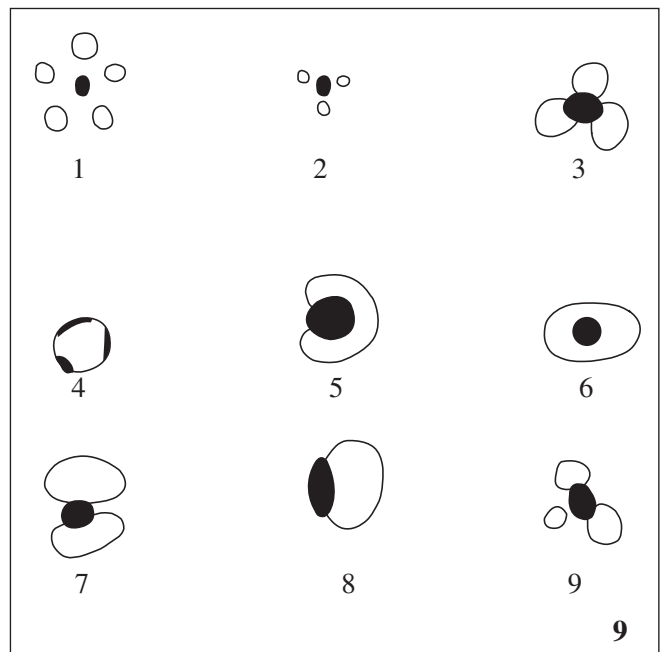
Cuando un alto número de microorganismos no-coliformes, tales como *Pseudomonas*, están presentes en las placas Petrifilm CC, el gel puede virar a amarillo.

## Burbujas



## Colonias productoras de gas : 2

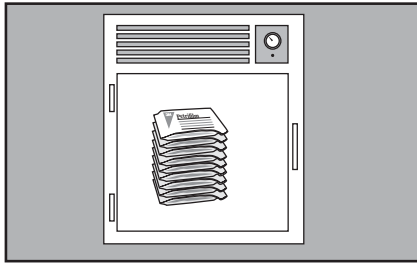
Las partículas alimenticias tienen forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas (ver Círculo 1).



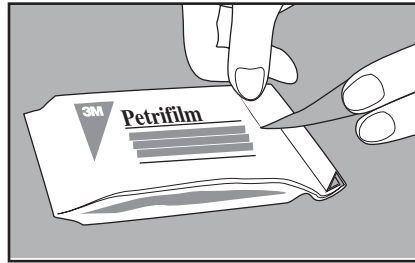
Arriba se muestran varios ejemplos de burbujas asociadas a una colonia. Todos ellos se deben contar.



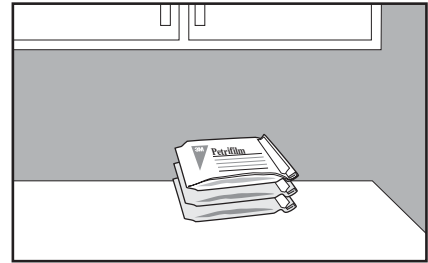
### Almacenamiento



**1** **Conservar** las bolsas cerradas a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa. En zonas con alta humedad donde puede haber condensación, es mejor dejar que las bolsas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas.



**2** Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

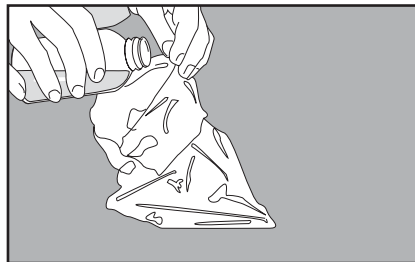


**3** Mantener las bolsas una vez cerradas a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ , a HR  $< 50\%$ . **No refrigerar las bolsas abiertas.** Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

### Preparación de la muestra

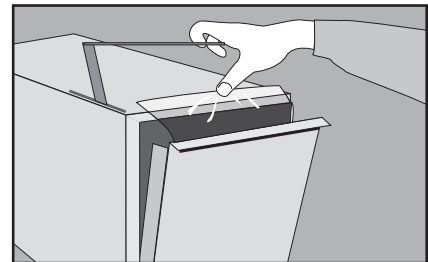


**4** Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



**5** Si es necesario, utilizar diluyentes **estériles** apropiados : agua peptona sal (método ISO 6887) (Diluyente de Máxima Recuperación), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0.0425g/l , ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, agua peptonada tamponada (método ISO 6579), solución salina (0.85 - 0.90%), caldo letheen sin bisulfito, o agua destilada.

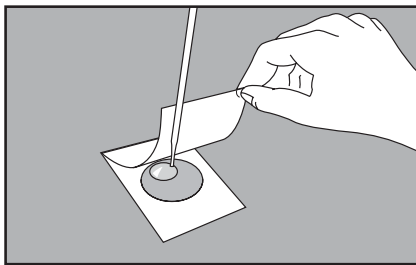
No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.



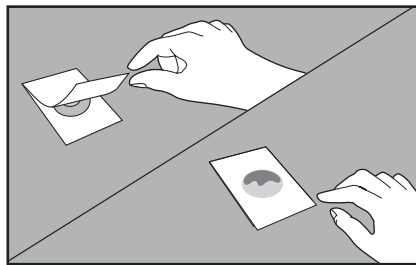
**6** Mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.

Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:  
• para productos ácidos, usar NaOH 1N,  
• para productos alcalinos, usar HCl 1N.

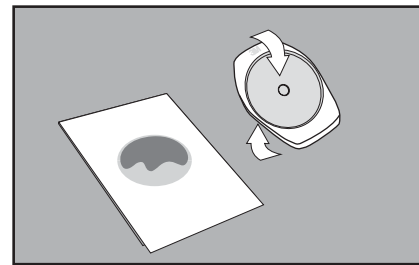
## Inoculación



- 7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie **plana**. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma **perpendicular** a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.

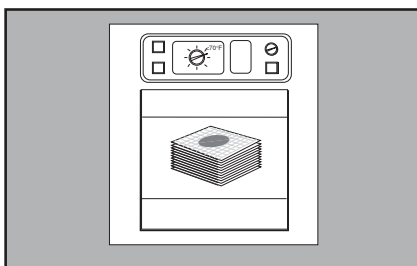


- 8 Bajar el film superior **con cuidado** evitando introducir burbujas de aire. **No** dejarlo caer.



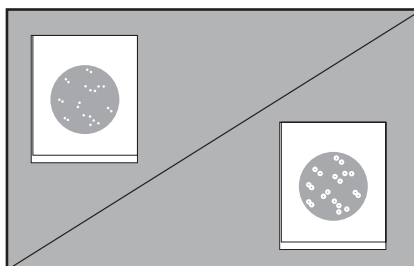
- 9 Con la cara **lisa** hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo. **Con cuidado**, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar al menos un minuto a que solidifique el gel.

## Incubación

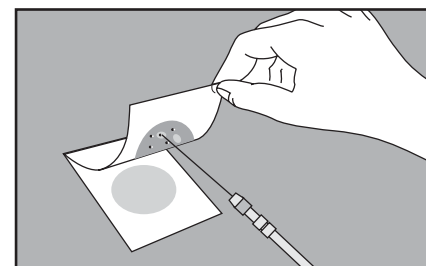


- 10 Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas. El tiempo e incubación varía según el método.

## Interpretación



- 11 Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



- 12 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

Métodos aprobados más usuales :

### Coliformes totales

• Métodos Oficiales 986.33 y 989.10 (leche, leche cruda, otros productos lácteos) :

Incubar  $24h \pm 2h$  a  $32^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ .

• Método Oficial AOAC 991.14 (todos los alimentos) : Incubar  $24h \pm 2h$  a  $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ .

• Método NMKL 147.1993 :

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

• Métodos validados AFNOR 3M

01/2-09/89A y B :

Incubar  $24h \pm 2h$  a  $30^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ .

### Coliformes termotolerantes (fecales)

• Método validado AFNOR

3M 01/2-09/89C :

Incubar  $24h \pm 2h$  a  $44^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ .

Para esta alta temperatura, es necesario una humidificación del incubador.

For Europe, please contact :  
Laboratoires 3M Santé  
Tel. : (33) 1 30 31 85 71  
Fax : (33) 1 30 31 85 78



**Microbiology Products**  
**Laboratoires 3M Santé**

Boulevard de l'Oise  
95029 Cergy-Pontoise Cedex – France  
Tel. : + 33 (0) 1 30 31 85 71  
Fax : + 33 (0) 1 30 31 85 78

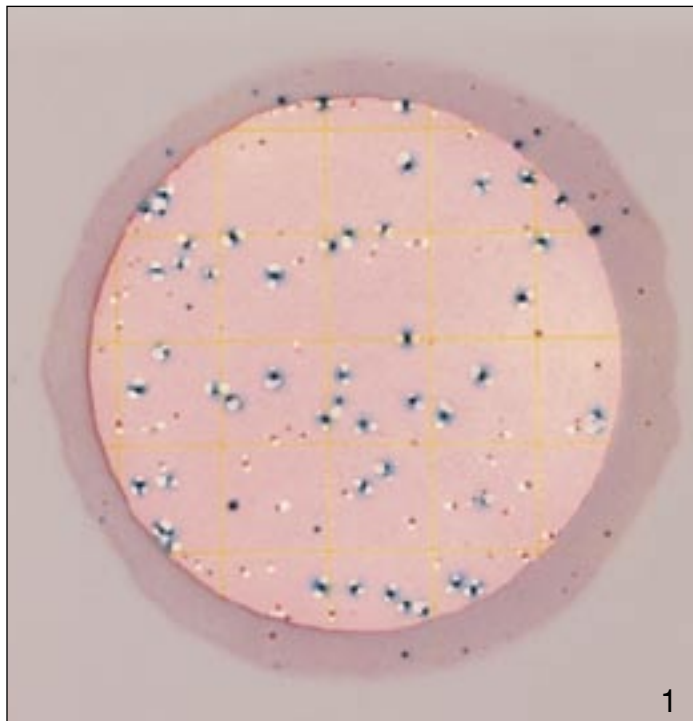
3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M

# Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Microbiología más cercano.

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, 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 fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.



La identificación de la *E. coli* puede variar de país a país (ver en "Recomendaciones de uso" tiempos de incubación y temperaturas).

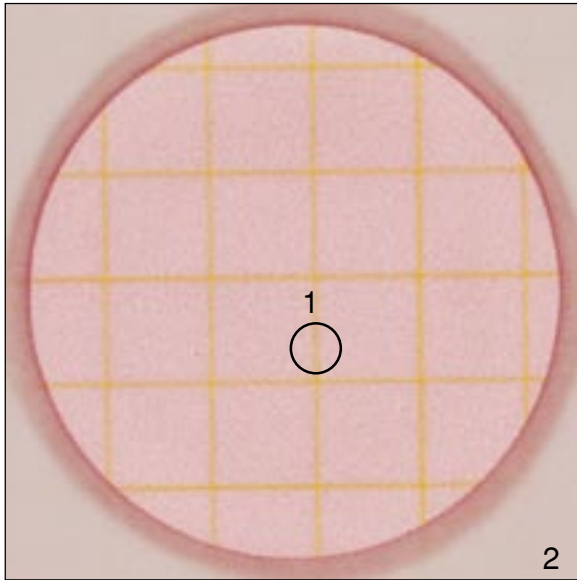
Método validado por la AOAC Internacional

***E. coli* = 49** (colonias azules con gas)

**Total coliformes = 87** (colonias rojas y azules con gas)

(NO use esta placa sola para la detección de *E. coli* O157. Como la mayoría de otros medios para enumeración de *E. coli* coliformes, esta placa no señalará específicamente si está presente algún O157).

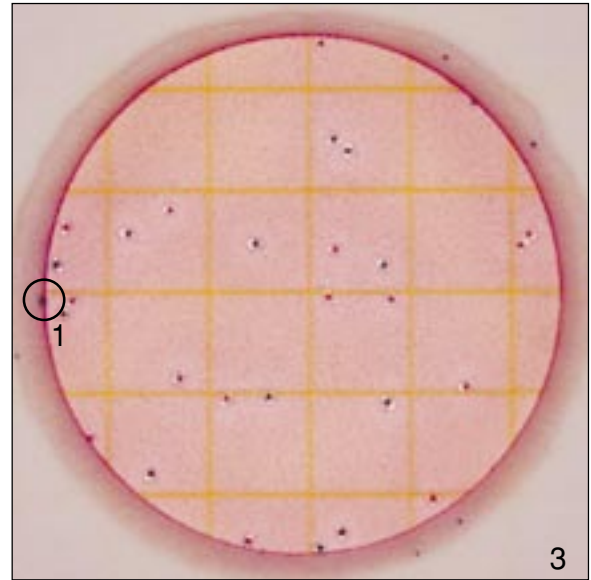
# 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli* / Coliformes



## No crecimiento = 0

Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.



## Recuento de *E. coli* = 13

## Total de recuento de coliformes = 28

El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

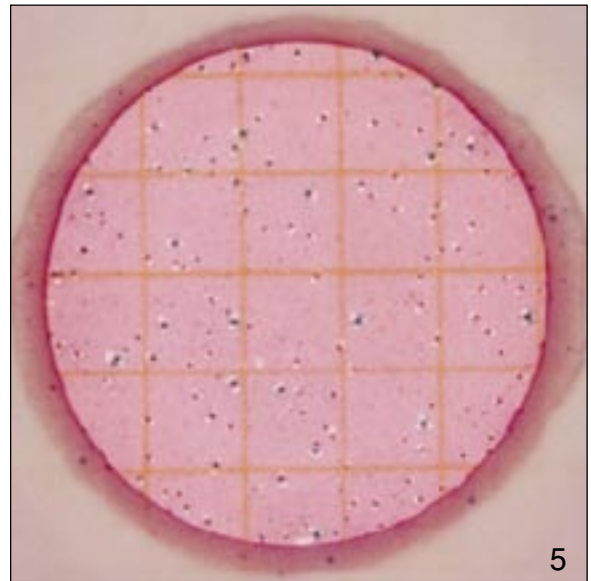
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



## Recuento de *E. coli* = 3

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.

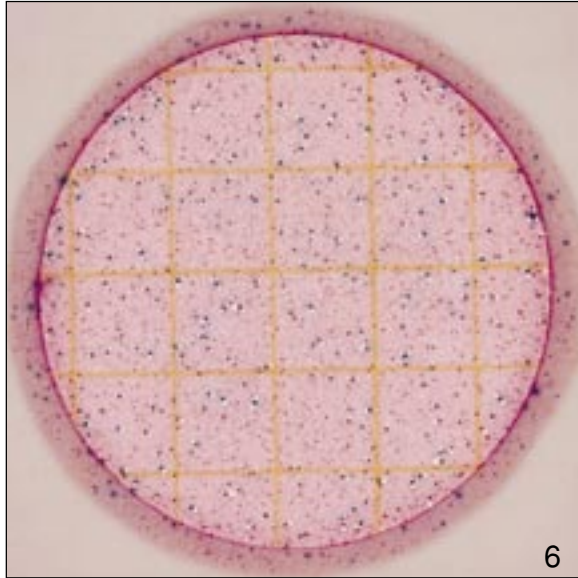


## Recuento de *E. coli* = 17

## Recuento total estimado de coliformes = 150

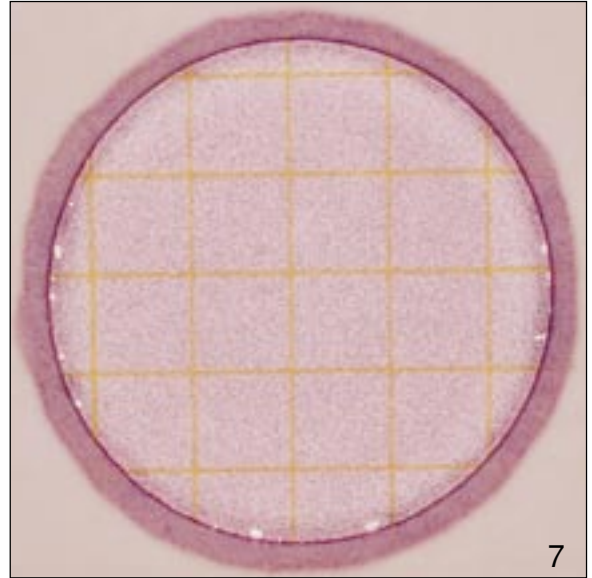
El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el conteo estimado por placa.

**MNPC** (Muy Numerosas Para Contar): para obtener un recuento más preciso, diluya más la muestra



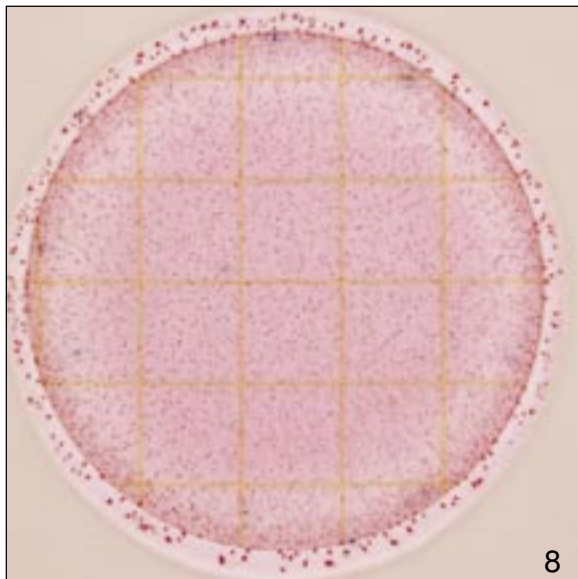
**Recuento actual aprox.  $\sim 10^6$**

Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



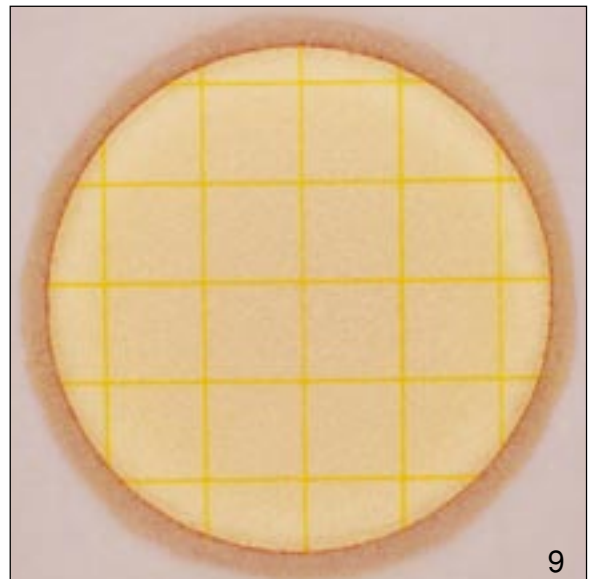
**Recuento actual aprox.  $\sim 10^8$**

Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



**Recuento presuntivo de *E. coli*  $\sim 8$**

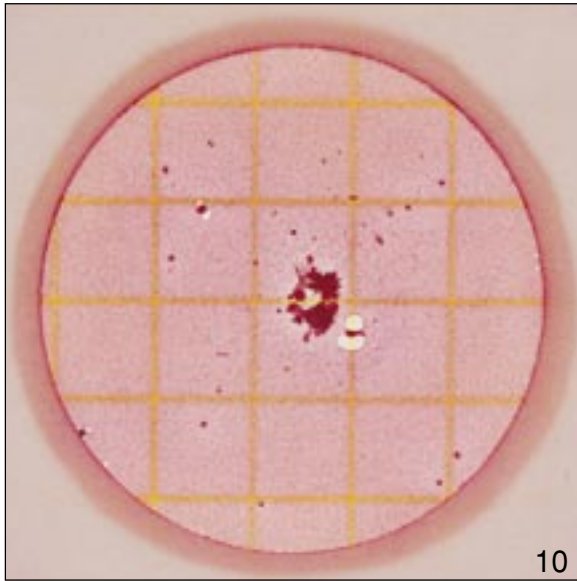
**Recuento total estimado de coliformes aprox.  $\sim 10^8$**   
Cuando existen cifras altas de coliformes ( $10^8$ ), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuento todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aisle las colonias azules con gas para su posterior identificación.



**Recuento actual aprox. de  $\sim 10^8$**

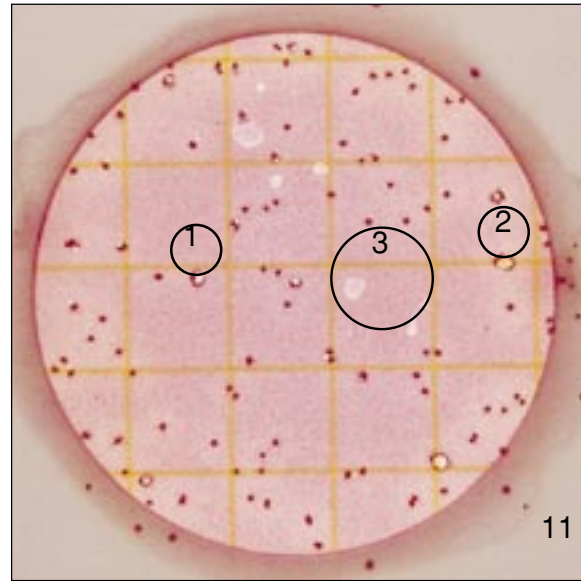
Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

# Burbujas



**Recuento total de coliformes = 3**

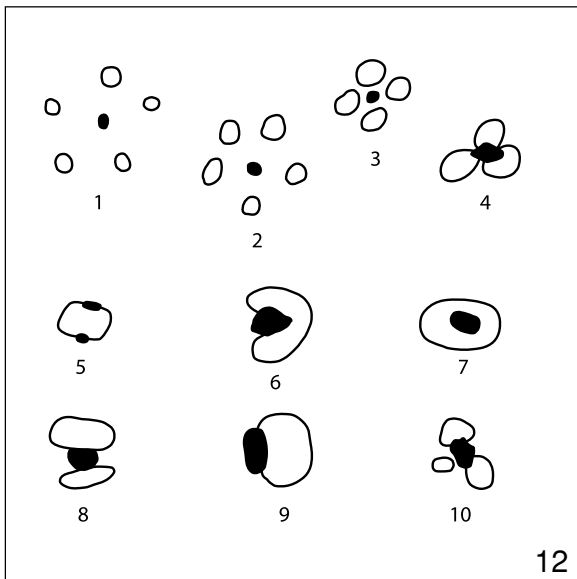
Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



**Recuento total de coliformes = 78**

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2.

Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.



# 3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli / Coliformes Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre 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.

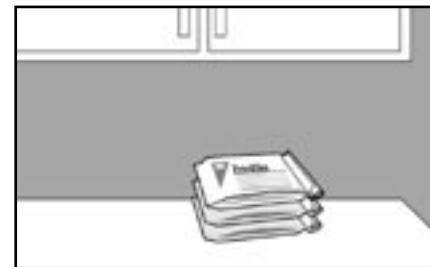
## Almacenamiento



- 1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). 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 extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



- 3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) y una humedad relativa  $\leq 50\%$ . **No refrigere** los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

## Preparación de la muestra



- 4 Prepare una dilución de una muestra de alimento.\* Pese o pipete la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado. \*Vea las indicaciones para *Productos Lácteos y Jugos*.



- 5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); *buffer* de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.



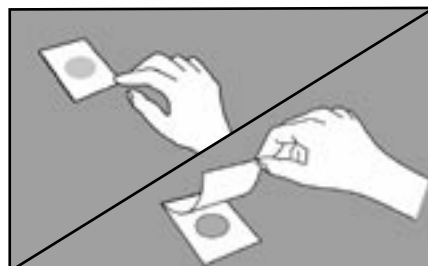
- 6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

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

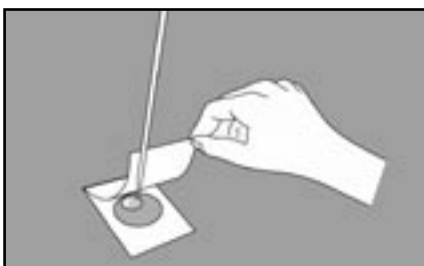
- Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
- Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

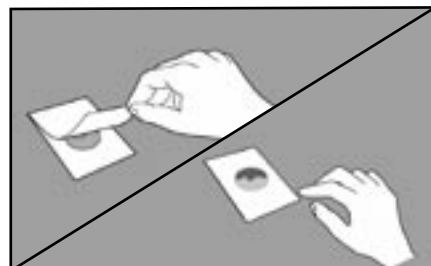
## Inoculación



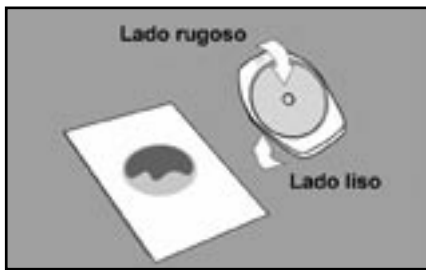
- 7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



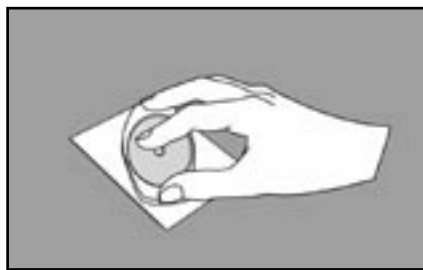
- 8 Con la Pipeta Electrónica 3M™, o una pipeta equivalente **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



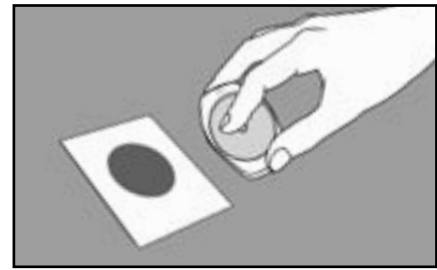
- 9 Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No** la deje caer.



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

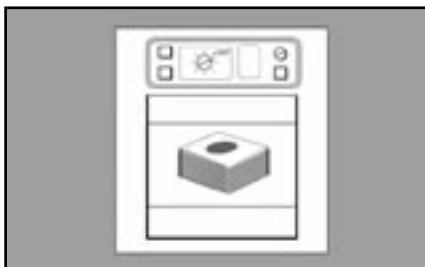


**11** Presione **suavemente** el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire Ni deslice el dispensador.



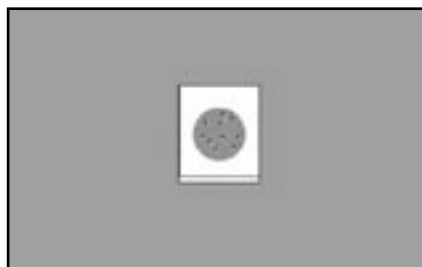
**12** Levante el dispensador. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

## Incubación



**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

## Interpretación



**14** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

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

• **AOAC método oficial 991.14**

Para coliformes:

Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 35 °C  $\pm$  1 °C.

Para *E. coli*:

Incubar 48 h  $\pm$  2 h a 35 °C  $\pm$  1 °C.

• **AOAC método oficial 998.08**

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

Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 35 °C  $\pm$  1 °C.

• **Método NMKL (147.1993)**

Para coliformes:

Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 37 °C  $\pm$  1 °C.

Para *E. coli*:

Incubar 48 h  $\pm$  2 h a 37 °C  $\pm$  1 °C.

## Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: [www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección [serviciotecnomicrommm.com](mailto:serviciotecnomicrommm.com) o llame al 5255-5270-2223.

**3M**

**3M Microbiology**

3M Center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

**3M México**

Av. Santa Fe 190  
Col. Santa Fe, C.P. 01210  
México, D.F.  
Tel. (55-52) 5270-0454  
01 800-712-2527  
[microbiologiamx@mmm.com](mailto:microbiologiamx@mmm.com)

**3M Argentina**

Olga Cossettini 1031  
Buenos Aires,  
CP C1107CEA  
Argentina  
Tel. (54-11) 4339-2400  
[microbiologia-ar@mmm.com](mailto:microbiologia-ar@mmm.com)

Petrifilm es una marca registrada de 3M.  
Impreso en México.  
Revisión: 2006-01  
Referencia: 70-2008-8105-3.



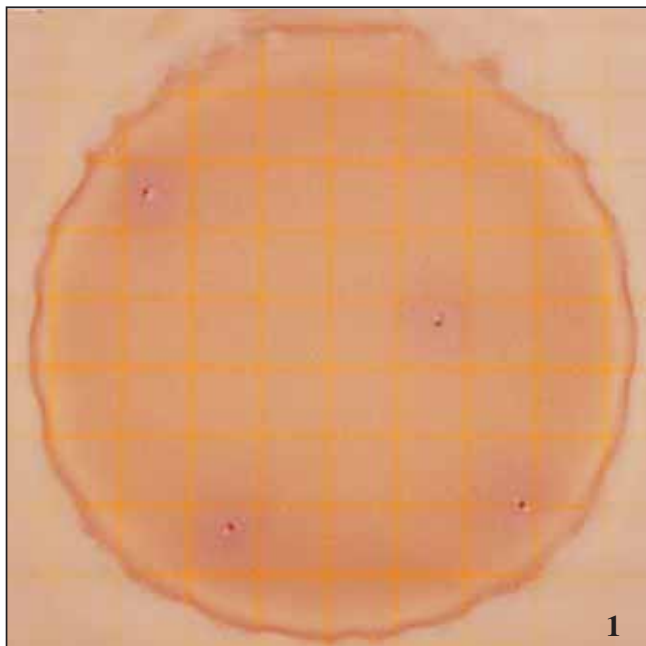
# Petrifilm™

## Placas Alta Sensibilidad para Recuento de Coliformes

Esta guía sirve para familiarizarse con los resultados obtenidos en las placas 3M™ Petrifilm™ Alta Sensibilidad para Recuento de Coliformes (HSCC). Para más información, contactar con el distribuidor oficial de Productos 3M Microbiology.

Las placas Petrifilm HSCC contienen un medio de cultivo selectivo listo para usar: Violeta Rojo Bilis (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes. El tiempo y la temperatura de incubación, así como la interpretación, varía según el método seguido.

- La **ISO** define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos. El **método ISO 4832**, que enumera los coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm HSCC, estos coliformes productores de ácido se muestran como colonias rojas con o sin gas (separadas aproximadamente un diámetro de la colonia). El **método ISO 4831**, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm HSCC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas (separadas aproximadamente un diámetro de la colonia).
- La **AOAC INTERNATIONAL** y la U.S. Food and Drug Administration (FDA) / Bacteriological Analytical Manual (BAM) definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm HSCC producen ácido que oscurece el color del gel; el gas atrapado alrededor de dichas colonias indica coliformes (separadas aproximadamente un diámetro de la colonia).



Recuento de colonias productoras de gas : 4

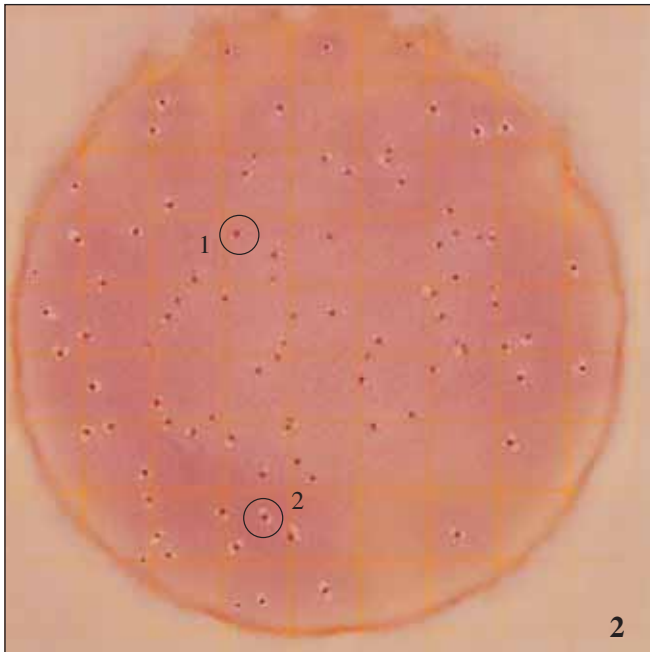
Las placas Petrifilm HSCC están diseñadas para la detección de coliformes totales, y también coliformes termotolerantes (fecales).

Estas placas Petrifilm HSCC están especialmente recomendadas para detectar coliformes en bajo número en todos los alimentos.

La AFNOR ha validado el uso de las placas Petrifilm HSCC bajo condiciones específicas. Ver las Instrucciones de Uso de esta Guía de Interpretación.

# Placas 3M™ Petrifilm™ Alta Sensibilidad para Recuento de Coliformes

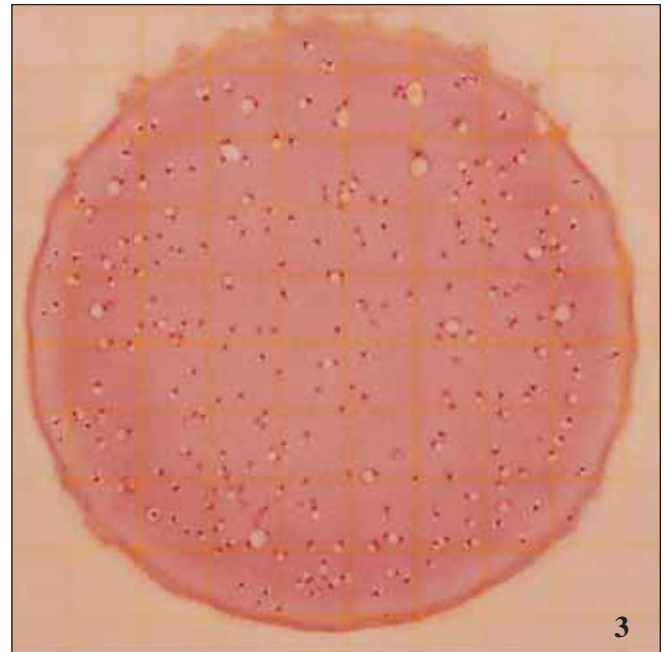
Observar el cambio del color del gel en las Figuras 1 a 5. Al incrementar el recuento de coliformes y la producción de ácido, el color del gel pasa de naranja claro a rojo-rosáceo fuerte.



**Recuento de colonias productoras de gas : 82**  
**Recuento de colonias no productoras de gas : 8**  
**Recuento total : 90**

La forma de las burbujas puede variar : ver Círculos 1 y 2.

Algunas veces, el gas producido deforma la colonia de coliformes y hace que la colonia “perfile” la burbuja.

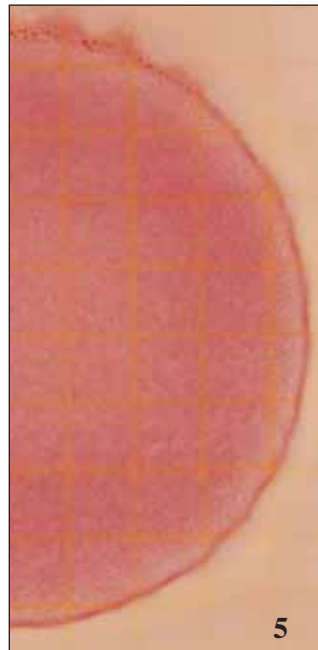


**Recuento total estimado : 320**

El área de crecimiento circular es aproximadamente 60 cm<sup>2</sup>.

Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 60 para obtener el recuento estimado por placa.

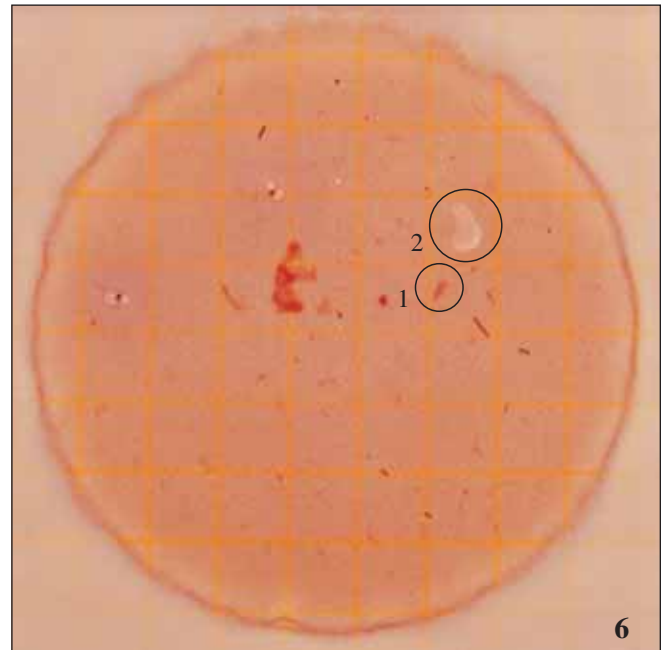
*Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.*



**Placas TNTC (Demasiado Numeroso Para Contar)**

Las placas Petrifilm HSCC con colonias TNTC tienen una o más de las características siguientes: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y un oscurecimiento del color del gel

*Para obtener un recuento más preciso, diluir más la muestra.*



**Colonias productoras de gas : 2**

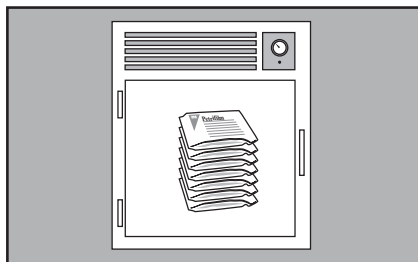
Las partículas alimenticias tienen forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas (ver Círculo 1).

Pueden aparecer burbujas como artefactos debidas a una inoculación inadecuada de las placas Petrifilm HSCC.

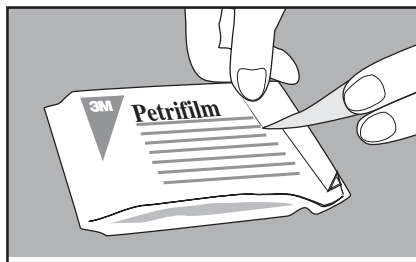
Las burbujas tienen forma irregular y no están asociadas a una colonia. (ver Círculo 2).



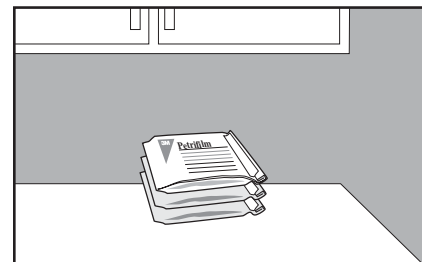
### Almacenamiento



**1** Conservar las bolsas cerradas a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa. En zonas con alta humedad donde puede haber condensación, es mejor dejar que las bolsas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas.

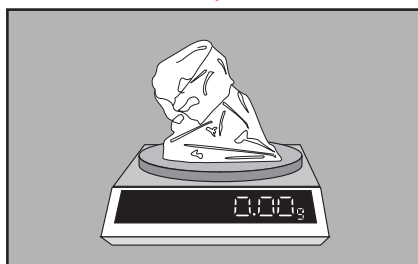


**2** Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

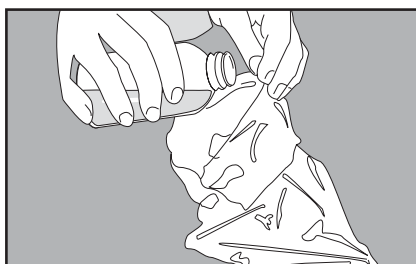


**3** Mantener las bolsas una vez cerradas a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ , a HR  $\leq 50\%$ . **No refrigerar las bolsas abiertas.** Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

### Preparación de la muestra

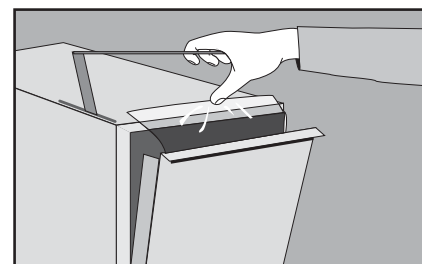


**4** Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



**5** Si es necesario, utilizar diluyentes estériles apropiados: agua peptona sal (o Diluyente de Máxima Recuperación) (método ISO 6887), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0.0425g/l, ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, agua peptonada tamponada (método ISO 6579), solución salina (0.85 - 0.90%), caldo letheen sin bisulfito, o agua destilada.

No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato, ya que pueden inhibir el crecimiento.

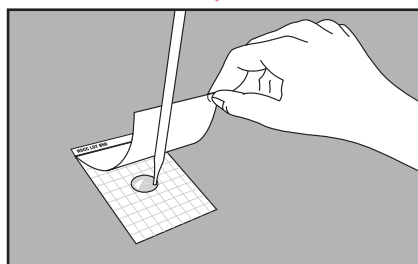


**6** Mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.

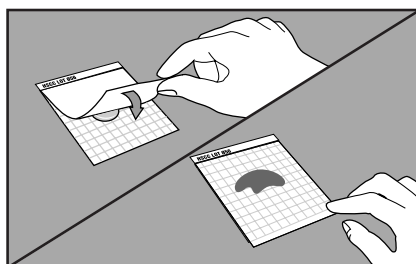
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5:

- para productos ácidos, usar NaOH 1N,
- para productos alcalinos, usar HCl 1N.

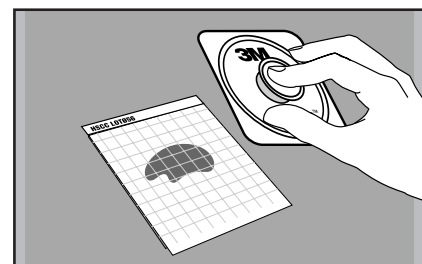
### Inoculación



**7** Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 5 ml. de la muestra en el centro del film inferior.

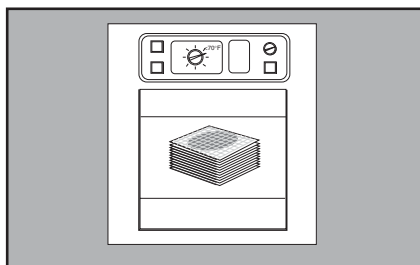


**8** Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.



**9** Colocar el aplicador para Alta Sensibilidad en el film superior sobre el inóculo. Distribuir la muestra ejerciendo una ligera presión sobre el mango del aplicador. No girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar de **2 a 5 minutos** a que solidifique el gel.

## Incubación



**10** Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta **10 placas**. El tiempo de incubación y la temperatura varía según el método\*.

### Métodos más usuales utilizados en Europa

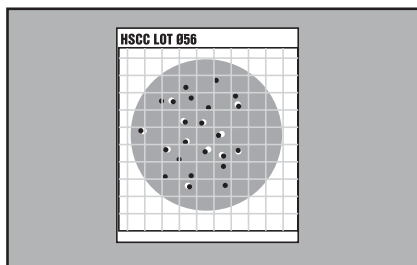
- Método validado AFNOR 3M 01/7-03/99 :  
incubar  $24h \pm 2h$  a  $30^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ,  
ó  $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$  ó  $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ,  
para coliformes totales.
- incubar  $24h \pm 2h$  a  $44^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ,  
para coliformes termotolerantes  
Para esta alta temperatura, es necesario una humidificación del incubador.

### Métodos más usuales utilizados en Estados Unidos

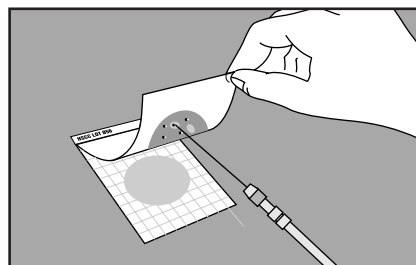
- incubar  $24h \pm 2h$  a  $32^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$   
(productos lácteos)
- incubar  $24h \pm 2h$  a  $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$   
(todos los alimentos, excepto productos lácteos)

\*Ver el folleto del producto.

## Interpretación



**11** Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



**12** Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

## Diluciones

### Diluciones recomendadas

- Para yogurts, mantequilla y productos lácteos deshidratados, se recomienda una dilución **1 : 10**. Esto da una sensibilidad de **2 coliformes por gramo**.
- Para nata, helados, leche con chocolate y nata fermentada, se recomienda una dilución **1 : 5**. Esto da una sensibilidad de **1 coliforme por gramo**.
- Leche cruda, pasterizada entera y descremada, se puede sembrar directamente.

Ref. documento

Fecha	Version
Mayo 1999	1.0

For Europe, please contact :  
Laboratoires 3M Santé  
Tel. : (33) 1 30 31 85 71  
Fax : (33) 1 30 31 85 78

**3M**

3M Espana, S.A.

Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
Madrid 28027, Spain  
Tel. : 34-1-321-60-00  
Fax : 34-1-321-60-02



# Petrifilm™ Serie 2000

## Placas para Recuento Rápido de Coliformes

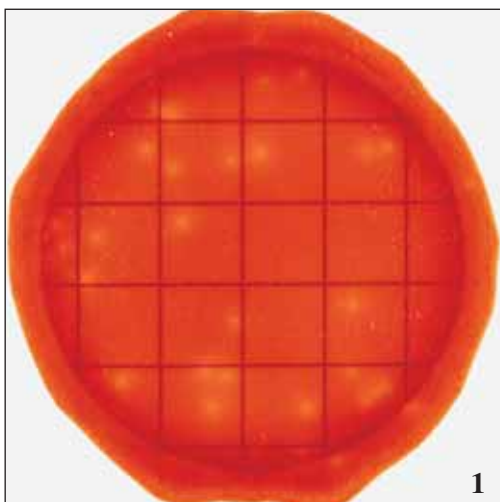
Esta guía sirve para familiarizarse con los resultados obtenidos en las placas Petrifilm™ Serie 2000 para Recuento Rápido de Coliformes (RCC) definidos por tres de los métodos más generalmente aceptados para el recuento de coliformes. Para más información, contactar con el distribuidor oficial de Productos 3M™ Microbiology.

La **AOAC INTERNATIONAL** y el **U.S. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual (BAM)** definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias crecen en las placas Petrifilm RCC y producen ácido, con lo que el indicador de pH presente en la placa vira de rojo-anaranjado a amarillo, lo que indica una presencia presuntiva de coliformes. El gas atrapado alrededor de las colonias de coliformes indica coliformes confirmados.

La **ISO** define los coliformes por su capacidad de crecer en medios específicos y selectivos.

El **método ISO 4832**, que enumera los coliformes por la técnica del recuento de colonias, define los coliformes por el tamaño de las colonias y la producción de ácido en el Agar VRB con lactosa (VRBL). En las placas Petrifilm RCC, estos coliformes productores de ácido se muestran como zonas ácidas amarillas, o colonias rojas con o sin gas.

El **método ISO 4831**, que enumera los coliformes por el método del Número Más Probable (NMP), define los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las placas Petrifilm RCC, estos coliformes se muestran como colonias rojas asociadas a gas. La **AFNOR** ha validado las placas Petrifilm RCC en comparación con el método ISO 4831 y el método ISO 4832.



A las 6 horas de incubación.

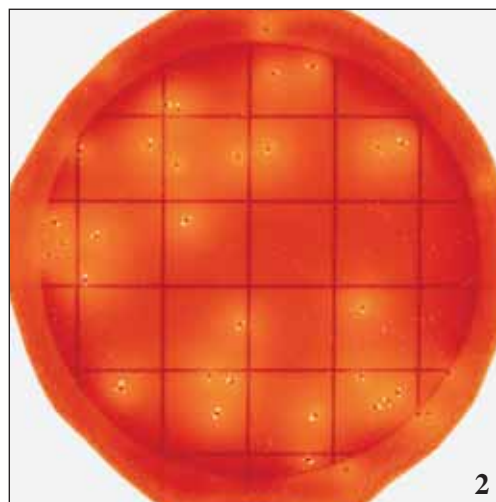
### Recuento de colonias mediante zonas ácidas (6-14 h)

Pueden empezar a aparecer zonas ácidas amarillas ya a las 6 h. Si hay coliformes presentes, aparecerán zonas amarillas y difusas en el transcurso de la incubación.

• Interpretación al comparar con los métodos AOAC/BAM  
Contar las zonas ácidas amarillas con o sin centros rojos como coliformes presuntivos.

• Interpretación al comparar con el ISO 4832 (VRBL)  
Contar las zonas ácidas amarillas con o sin centros rojos como coliformes.

Resultados finales a las 14 h (validación AFNOR).



A las 14 horas de incubación

### Recuento de colonias de coliformes (8-24 h)

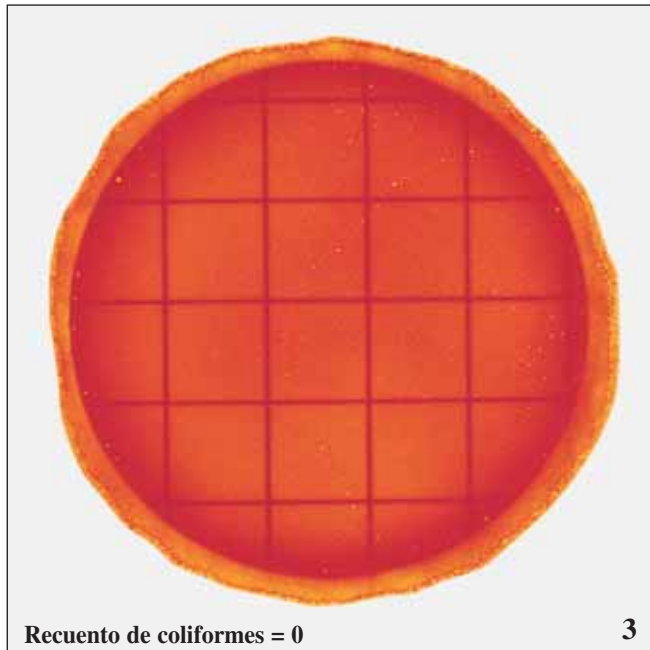
Pueden empezar a aparecer colonias rojas con o sin gas ya a las 8 h y continuar creciendo en el transcurso de la incubación

• Interpretación al comparar con los métodos AOAC/BAM  
Contar las colonias rojas asociadas a gas como coliformes confirmados.

• Interpretación al comparar con el ISO 4831(NMP)  
Contar las colonias rojas asociadas a gas como coliformes. Resultados finales a las 24 ± 2 h (validación AFNOR), excepto para carne de cerdo procesada.

• Interpretación al comparar con el ISO 4832(VRBL)  
Contar las colonias rojas con o sin gas como coliformes. Resultados finales a las 24 ± 2 h (validación AFNOR).

## *La lectura temprana del crecimiento Petrifilm Serie 2000 para Recuento (medida por la producción de ácido de bacterias, su estado metabólico)*



Recuento de coliformes = 0

3

### **Recuento de Zonas Ácidas (6-14 h)**

Observar el cambio del gel en las figuras 3 a 10. Como los coliformes producen ácido, el color del gel cambia de rojo-anaranjado a naranja-amarillento.

Altas concentraciones de coliformes (>1000 colonias / placa) pueden causar que toda el área de crecimiento se vuelva amarilla tras 4 horas de incubación.

Ver Figura 4. Cuando ésto ocurra, se debe diluir más la muestra para obtener un recuento más exacto.

Algunos coliformes producen gran cantidad de ácido. En este caso, se podría dar una fusión de las zonas ácidas sólo con 20 colonias por placa. Se pueden hacer estimaciones en placas que contengan más de 50 zonas ácidas claras.



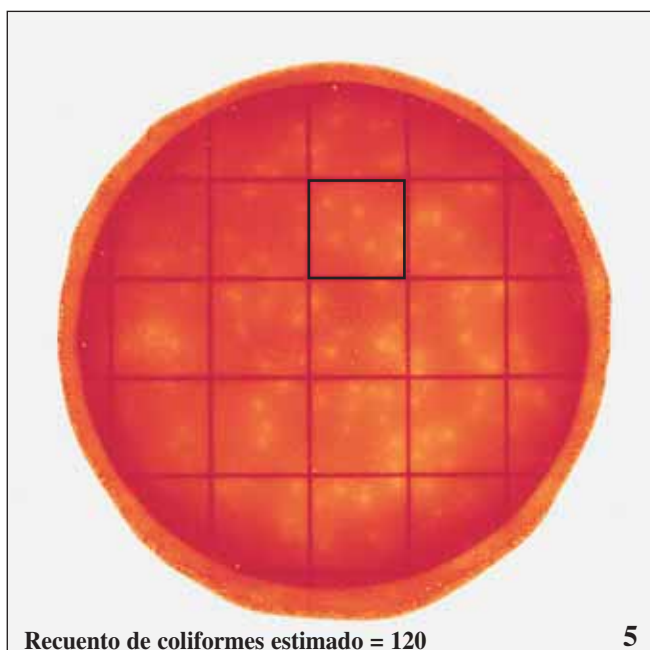
Recuento de coliformes estimado = TNTC (recuento real > 10<sup>5</sup>)

4

El área circular de crecimiento en una placa Petrifilm RCC es de aproximadamente 20cm<sup>2</sup>. Se pueden hacer estimaciones contando el número de zonas ácidas en uno o más cuadrados representativos, determinando el promedio por cuadrado y multiplicando por 20.

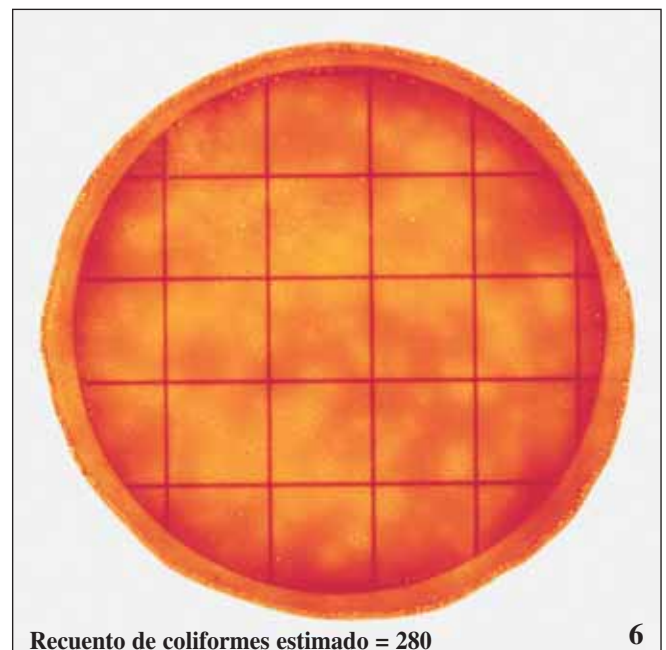
Hay 6 zonas ácidas en el cuadrado marcado en la Figura 5.

Empezarán a aparecer colonias rojas en las zonas ácidas al continuar creciendo los coliformes. Ver Figura 6.



Recuento de coliformes estimado = 120

5



Recuento de coliformes estimado = 280

6



*bacteriano en las placas  
Rápido de Coliformes  
y gas) depende del tipo  
y su concentración.*

**Recuento de colonias y gas (8-24 h)**

Las Figuras 7 y 8 muestran los resultados para la misma concentración de diferentes organismos incubados durante el mismo tiempo. Aparecen claramente visibles colonias rojas con zonas ácidas en ambas placas. Los organismos de la Figura 8 parece que fermentan la lactosa para producir gas más fácilmente que los de la Figura 7.

Contar las colonias con o sin gas, según el método seguido. Una colonia está asociada a una(s) burbuja(s) si ésta está separada como máximo un diámetro de una colonia o en forma

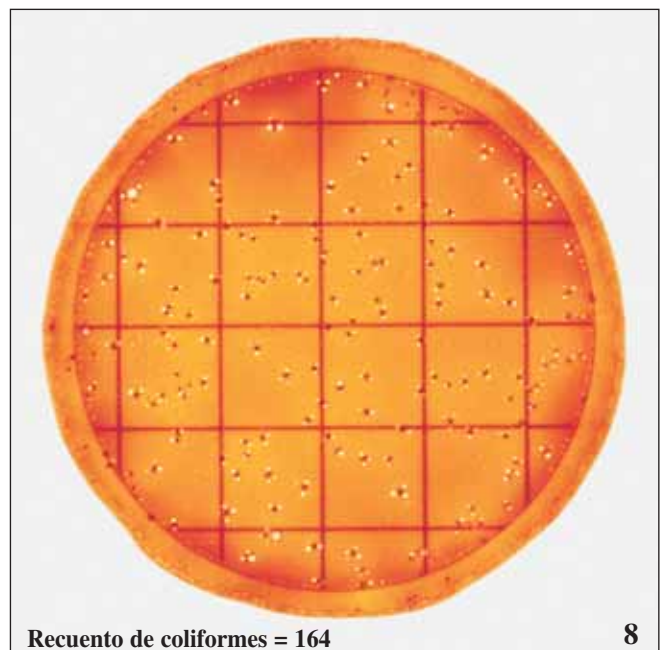
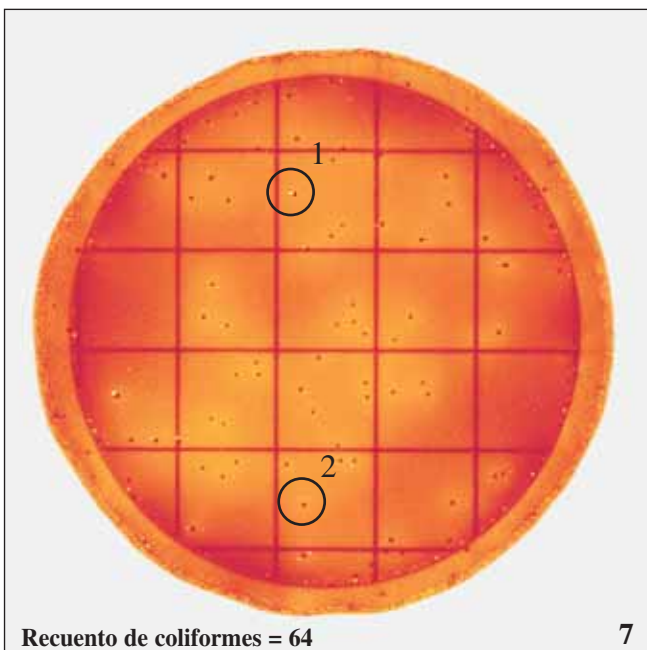
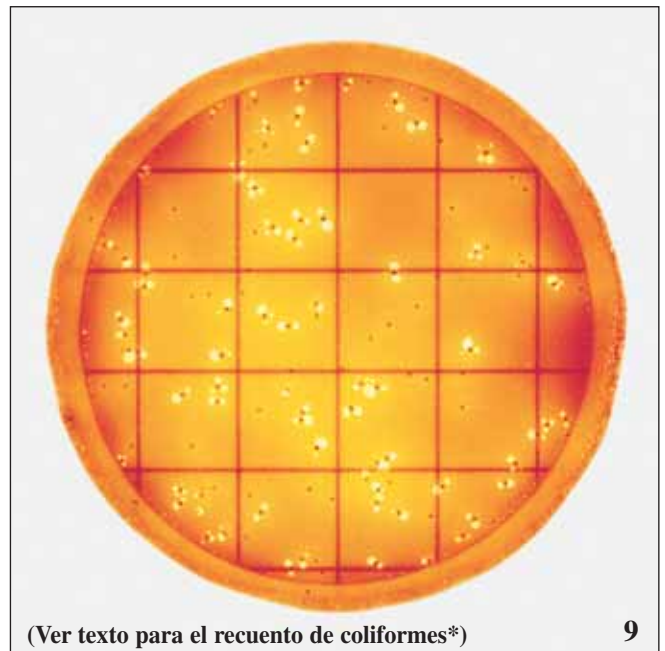
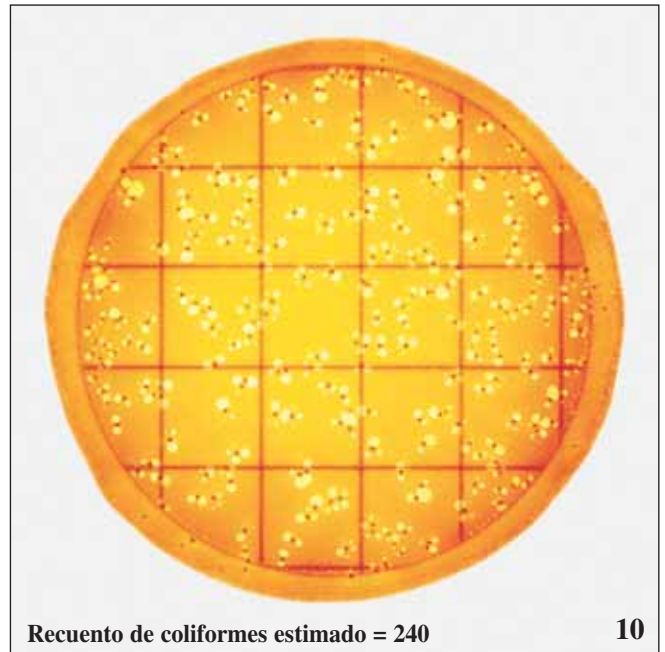
de un anillo alrededor de la misma.

Ver Círculos 1 y 2 respectivamente de la Figura 7.

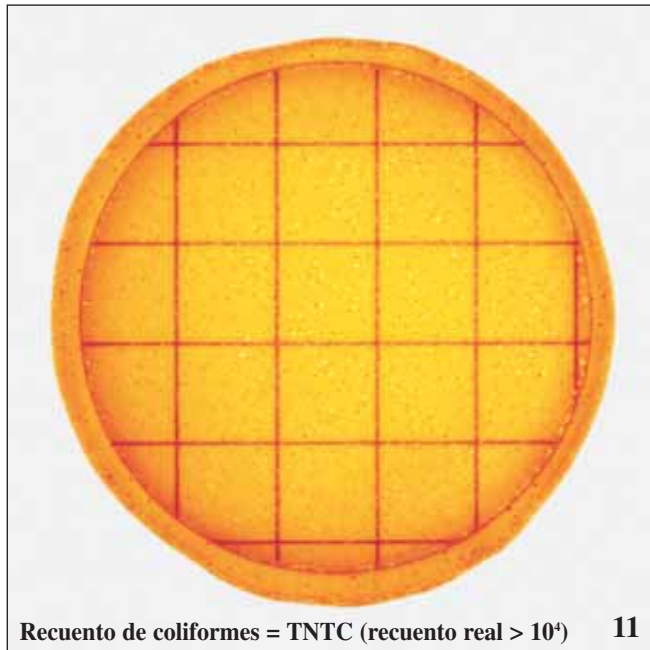
\*La Figura 9 es otro ejemplo de recuento de colonias con o sin burbujas de gas. El recuento depende del método seguido.

- Comparado con los métodos AOAC/BAM, las colonias confirmadas de coliformes con gas = 72.
- Comparado con la ISO 4831, los coliformes son colonias con gas = 72.
- Comparado con la ISO 4832, los coliformes son colonias con y sin gas = 128.

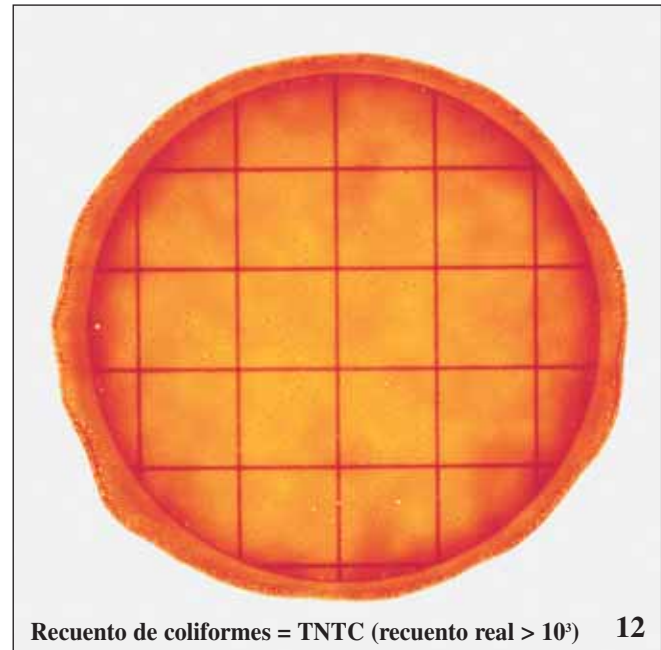
Cuando el número de colonias es más de 150 por placa, se debe estimar el recuento. No contar colonias que aparecen en el límite del círculo, ya que se hallan fuera de la influencia selectiva del medio. Ver Figuras 7 - 10.



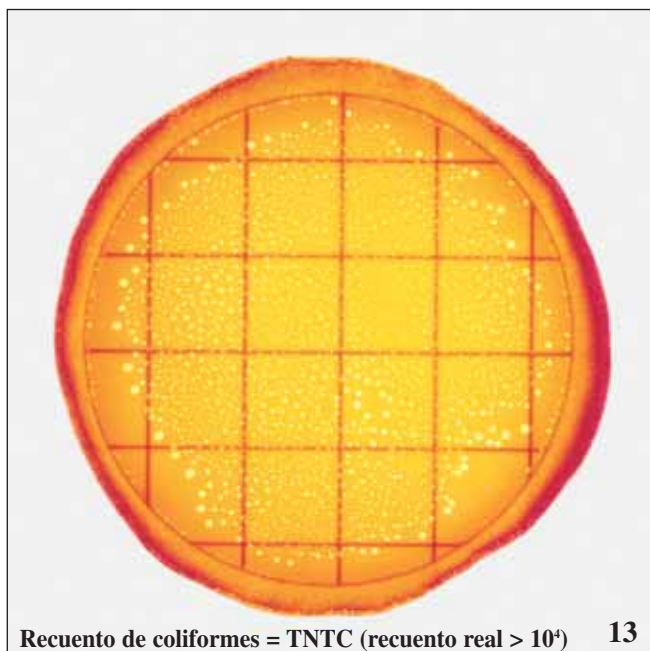
## TNTC Número de Colonias Incontable (> 1000 colonias/placa)



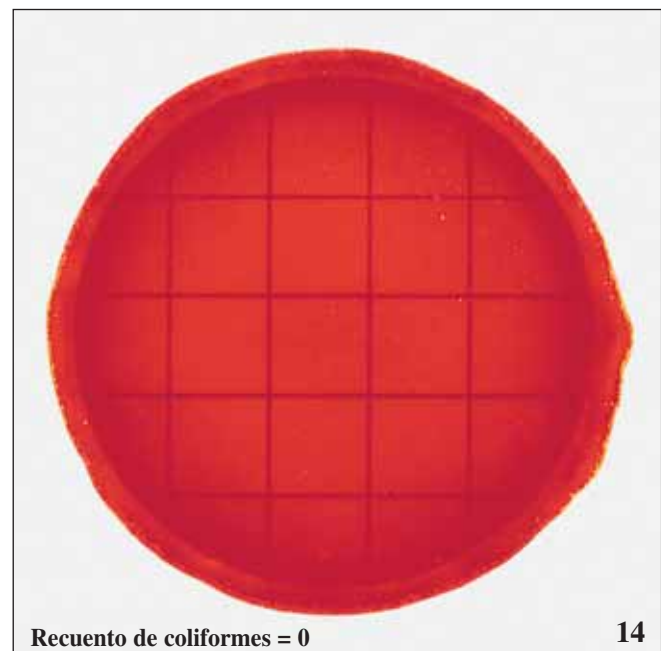
Las placas Petrifilm RCC con un número de colonias Demasiado Numeroso Para contar (TNTC) tienen una o más de las siguientes características : cambio del color del gel de rojo-anaranjado a naranja-amarillento, muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas.



La placa Petrifilm RCC de la Figura 12 tiene dos características que indican colonias TNTC: cambio del color del gel y muchas colonias pequeñas.



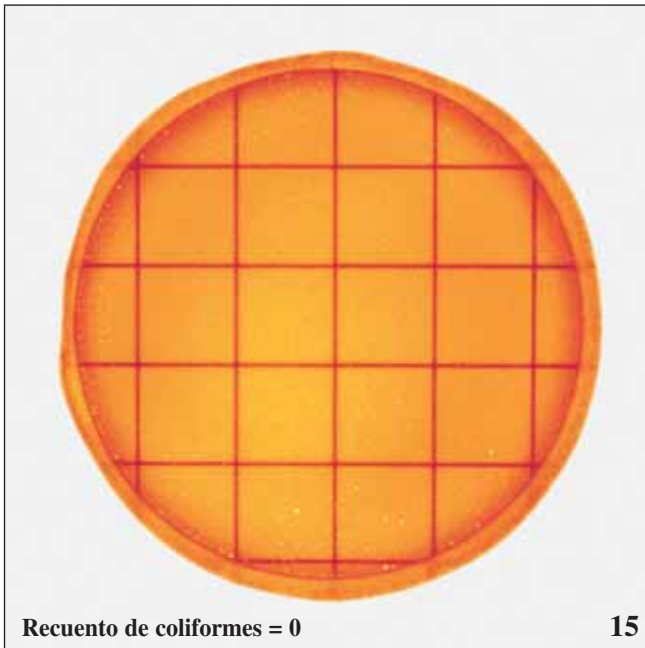
En la Figura 13, el recuento es tan alto que no aparecen colonias individuales. Un cambio del color del gel a amarillo y muchas burbujas de gas indican colonias TNTC.



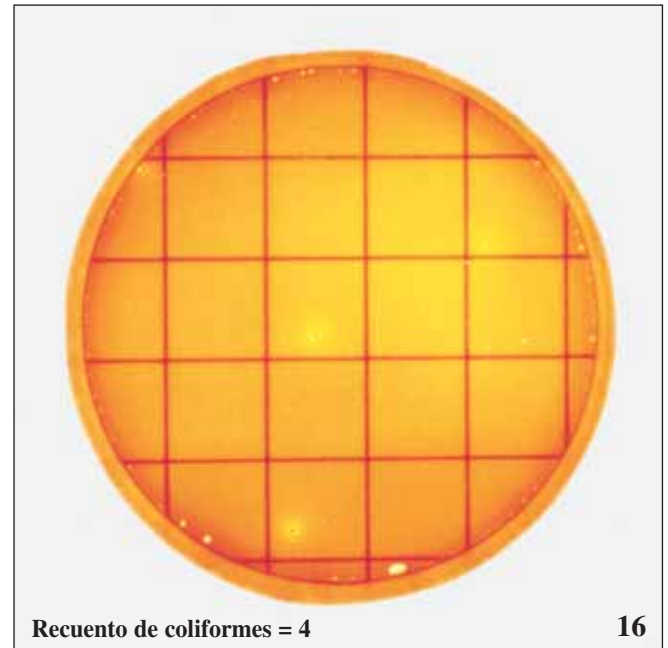
La Figura 14 muestra una placa Petrifilm RCC con un alto número de colonias Gram-negativas no-coliformes. Cuando un alto número de organismos que no fermentan la lactosa están presentes, el gel puede aparecer de color rojo oscuro.

**pH :** La mayoría de bacterias muestran un crecimiento óptimo a pH cercano a 7.0. Las diluciones de productos de pH bajo requieren un reajuste del pH a 6.5 - 7.5 antes de inocular las placas Petrifilm.

Las Figuras 15 y 16 muestran ejemplos de yogurt fresco sembrado tras el reajuste de pH. Los inhibidores del medio evitan que crezca el cultivo starter Gram positivo, pero el ácido producido por el cultivo starter puede cambiar el color base del gel de rojo-anaranjado a naranja-amarillento, simulando un resultado TNTC temprano. Realizar placas control con un cultivo de yogurt fresco durante la incubación para comprobar que continúa el crecimiento de coliformes TNTC.

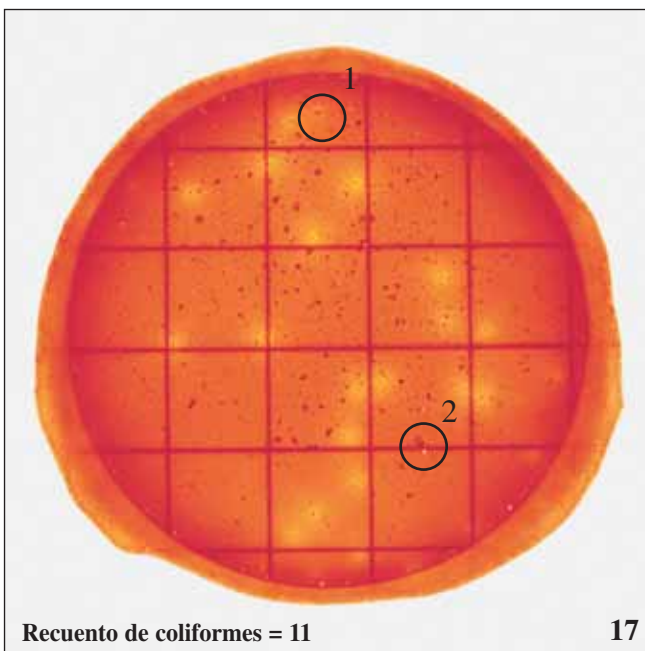


Comparar la placa negativa de arriba con las placas TNTC de la página anterior. Notar que no hay colonias ni burbujas de gas presentes en la Figura 15 que indiquen un resultado TNTC.

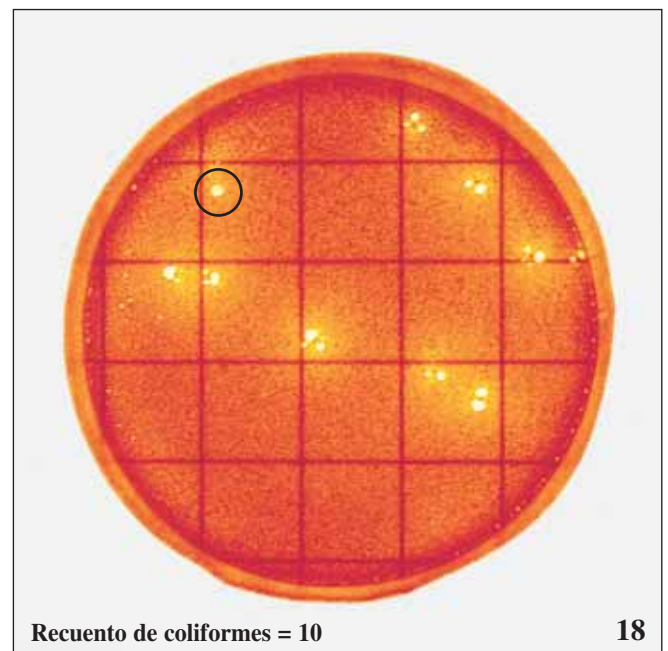


A pesar del cambio en el color del gel, el ácido producido por los coliformes se continúa viendo fácilmente, como se muestra en la Figura 16.

**Producto :** Las partículas alimenticias a menudo son de forma irregular y no se hallan asociadas a burbujas de gas



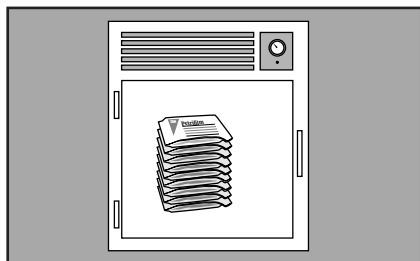
La Figura 17 es una lectura temprana de una dilución de pimienta negra. El Círculo 1 muestra una zona ácida alrededor de una partícula alimenticia roja y de forma irregular. Algunos alimentos pueden contener partículas ácidas que reaccionen con el indicador de pH. El Círculo 2 muestra una burbuja próxima a una partícula alimenticia roja, de forma irregular, pero no una zona ácida. Tampoco este caso debe ser contado como una colonia.



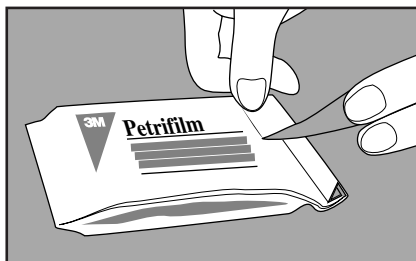
En la Figura 18 se muestra una dilución de chocolate. Durante la incubación, las zonas de ácido asociadas con colonias continuarán su extensión. Las burbujas de gas asociadas a colonias son otros criterios que ayudarán en la identificación de los coliformes. Las burbujas de gas pueden perfilar la colonia, como se muestra en el Círculo. El recuento con o sin gas depende del método seguido.



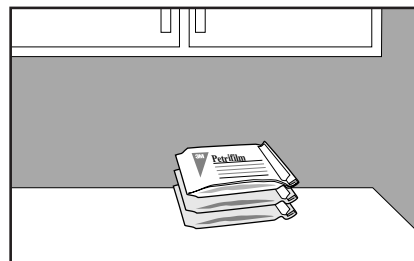
### Almacenamiento



1 Conservar las bolsas cerradas a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

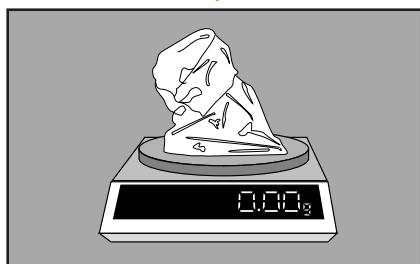


2 Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

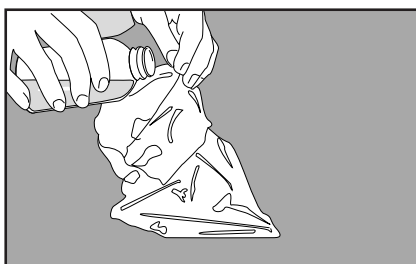


3 Mantener las bolsas una vez cerradas a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ , a HR  $< 50\%$ . **No refrigerar las bolsas abiertas.** Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

### Preparación



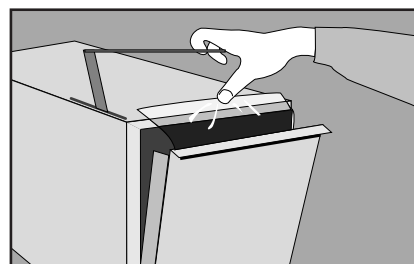
4 La leche con alto y bajo contenido de grasa puede inocularse directamente. Para otros productos alimenticios o lácteos, diluir la muestra al menos al 1:10. Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



5 Usar diluyentes **estériles** apropiados: peptona sal (método ISO 6887) (o Diluyente de Máxima Recuperación), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0.0425g/l, ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, solución salina (0.85 - 0.90%) o agua destilada.

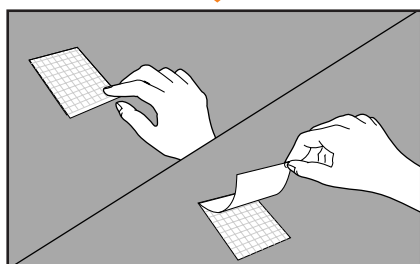
No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato.

Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5 : para productos ácidos, usar NaOH 1N, para productos alcalinos, usar HCl 1N.

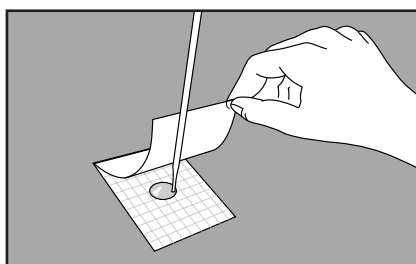


6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos habituales.

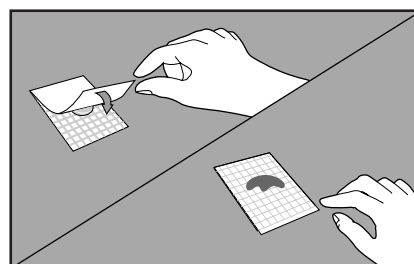
### Inoculación



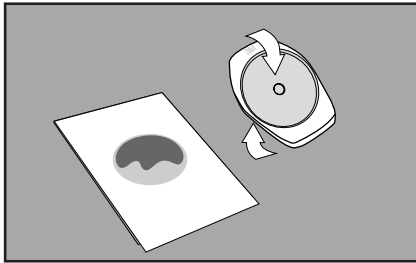
7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie **plana**. Levantar el film superior.



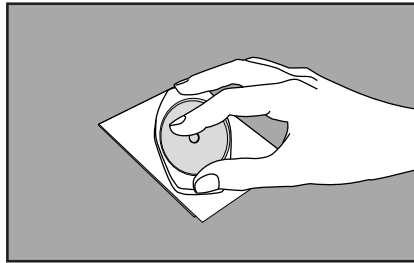
8 Con una pipeta colocada de forma **perpendicular** a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.



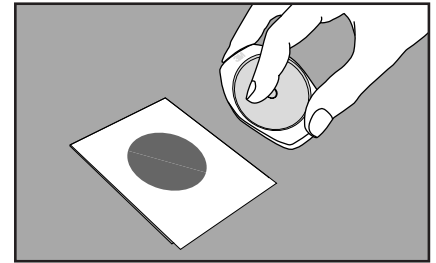
9 Bajar el film superior **con cuidado** evitando introducir burbujas de aire. **No dejarlo caer.**



**10** Con la cara **lisa** hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo.

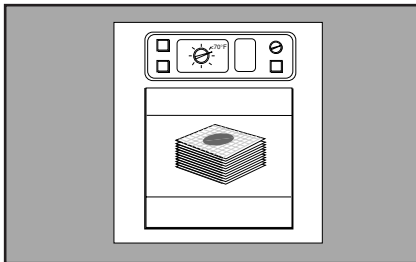


**11** **Con cuidado**, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



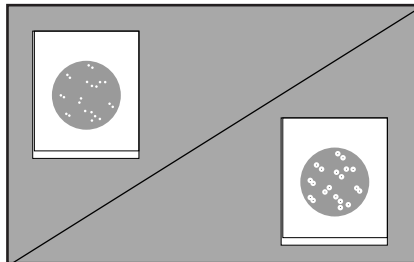
**12** Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

## Incubación

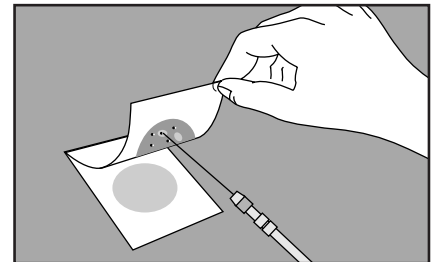


**13** Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}^*$  durante  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ , examinando las placas a intervalos determinados, según la información que se desee obtener (ver el folleto del producto).  
\*Ver el folleto del producto para la excepción que hace la AFNOR en la temperatura de incubación para la carne de cerdo procesada.

## Interpretación



**14** Leer las placas Petrifilm usando una luz indirecta para una detección temprana. Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



**15** Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

## Comentarios adicionales

La interpretación de las colonias de coliformes en el Petrifilm Serie 2000 para Recuento Rápido de Coliformes varía según el método utilizado; ver el folleto del producto.

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de Aerobios

- Réf. : 06400 / 100 unidades
- Réf. : 06406 / 1000 unidades

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de *Enterobacteriaceae*

- Réf. : 06420 / 50 unidades
- Réf. : 06421 / 1000 unidades

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de Coliformes

- Réf. : 06410 / 50 unidades
- Réf. : 06416 / 1000 unidades

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de Coliformes Alta Sensibilidad

- Réf. : 06405 / 50 unidades
- Réf. : 06415 / 500 unidades

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de *E.coli* y Coliformes

- Réf. : 06404 / 50 unidades
- Réf. : 06414 / 500 unidades

- **3M™ Petrifilm™**

Recuento de Levaduras y Mohos

- Réf . : 06407 / 100 unidades
- Réf . : 06417 / 1000 unidades

- **3M™ Petrifilm™ Serie 2000**

Recuento Rápido de Coliformes

- Réf . : 06402 / 50 unidades
- Réf . : 06412 / 500 unidades

For Europe, please contact  
Laboratoires 3M Santé  
Tel. : (33) 1 30 31 85 71 - Fax : (33) 1 30 31 85 78



**BIOSER, S.A.**

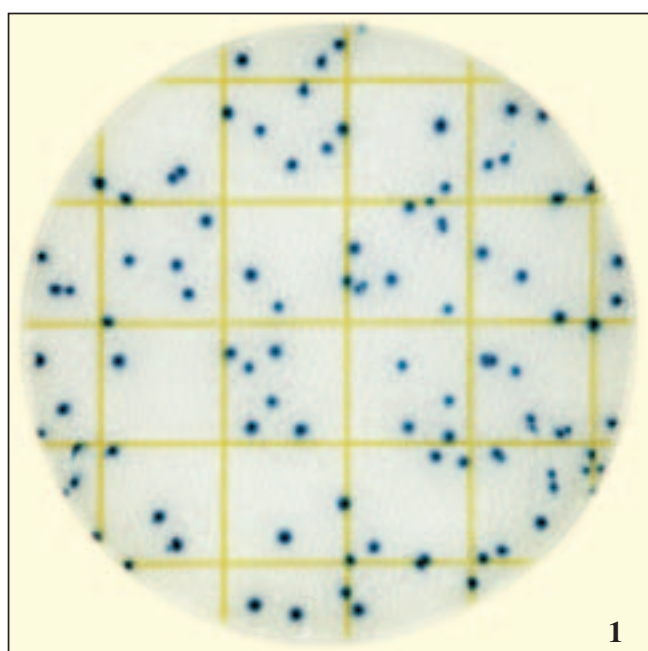
c/ Tarragona, 106  
08015 - Barcelona (España)  
Tel. : 93-226.44.77  
Fax : 93-226.79.79  
e-mail : bioser@bioser.com



# Petrifilm™

## Placas para recuento selectivo de *E. coli*

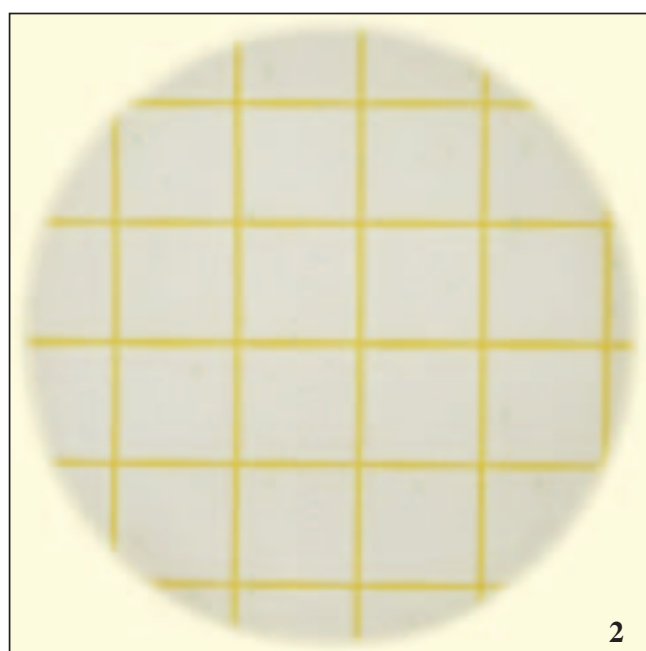
Esta guía le familiarizará con los resultados obtenidos con las placas Petrifilm™ Select *E. coli* (SEC). Si desea más información, contacte con el representante habitual de Productos de Microbiología de 3M.



### Recuento de *E. coli* = 97

Las placas Petrifilm Select *E. coli* permiten la detección específica de *E. coli*. Aproximadamente un 97% de las cepas de *E. coli* producen  $\beta$ -glucuronidasa, que reacciona con un colorante indicador presente en la placa produciendo colonias con una gama de colores de verde oscuro a azul verdoso.

**Las placas Petrifilm SEC no detectarán *E. coli* O 157, porque la mayoría de las cepas *E. coli* O 157 no producen glucuronidasa**



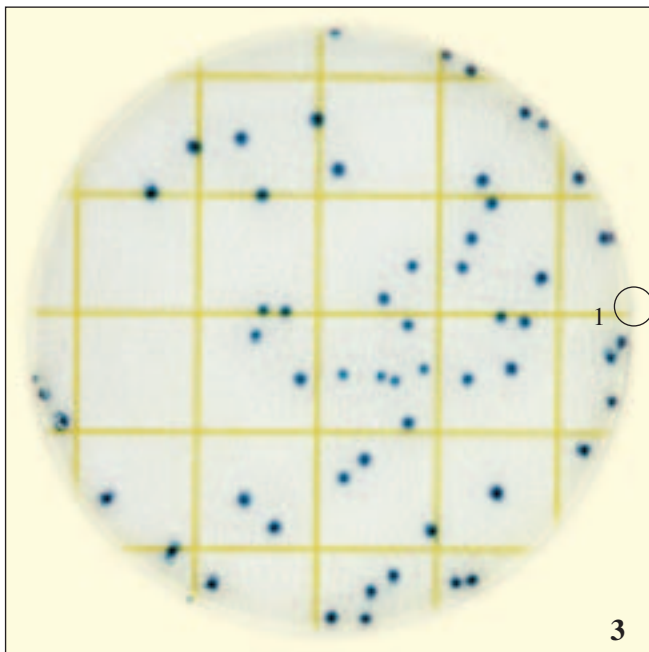
### Recuento de *E. coli* = 0

Es difícil ver colonias distintas de *E. coli*, porque o son incoloras o tienen un color gris claro- beige.

# Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento selectivo de *E. coli*

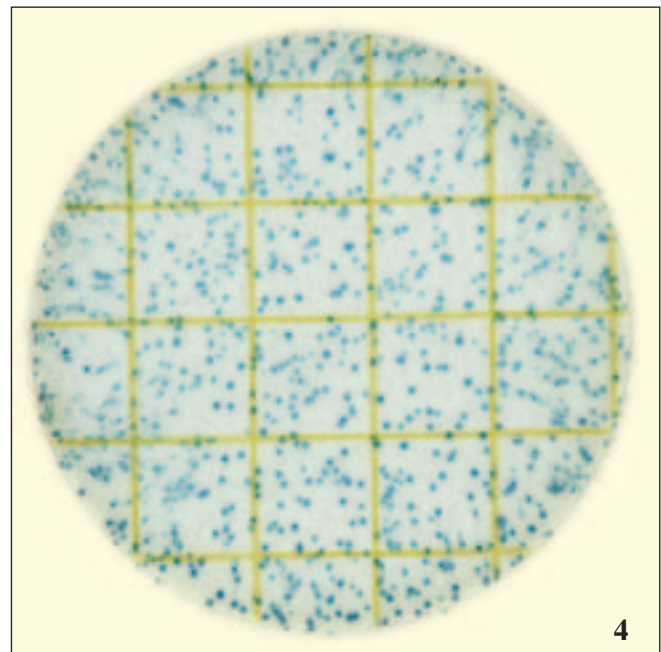
## Intervalo de recuento:

El intervalo de recuento de las placas Petrifilm Select *E. coli* es de 15 a 150 colonias. Un número de colonias mayor de 150 puede estimarse o considerarse demasiado alto para el recuento (TNCT). *Para conseguir un recuento preciso, diluir adicionalmente la muestra.*



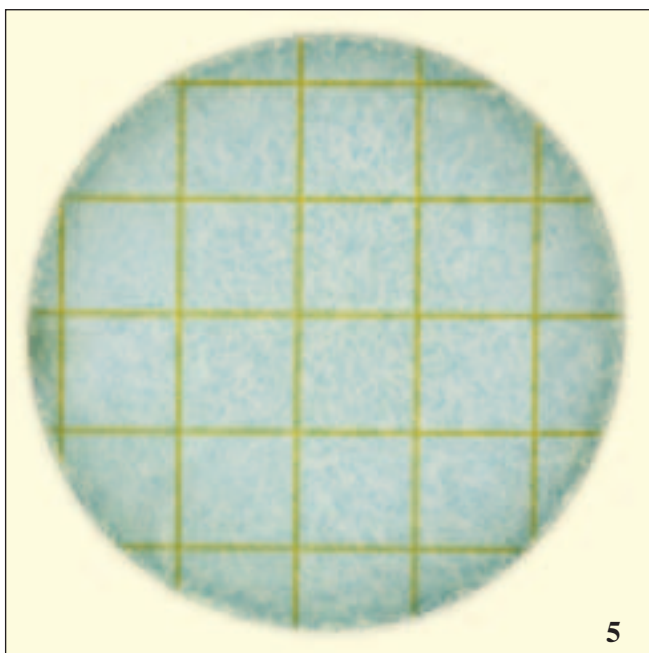
### Recuento de *E. coli* = 56

No contar las colonias de la zona porosa, porque están exentas de la influencia selectiva del medio. Ver círculo 1.



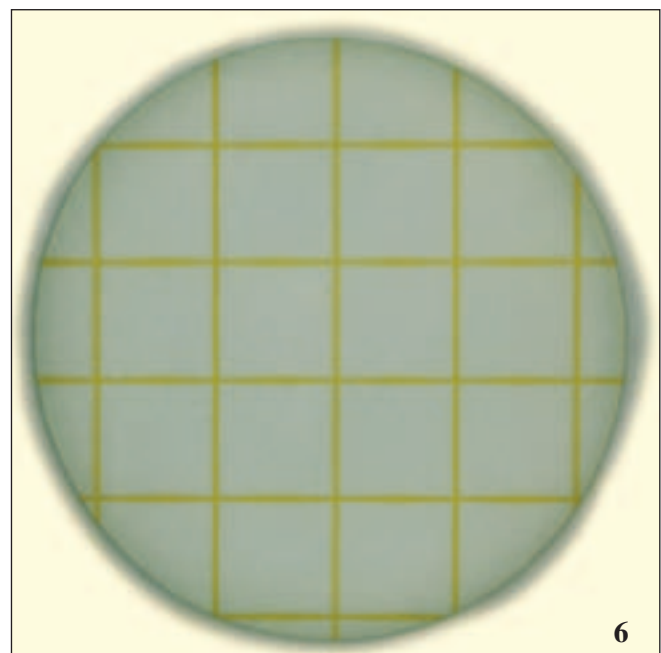
### Recuento de *E. coli* estimado $\approx 740$

Cuando el número de colonias es mayor de 150, pueden realizarse estimaciones. Contar el número de colonias de uno o más cuadrados representativos y multiplicar el número medio por 20 para obtener el recuento estimado por placa.



### Recuento de *E. coli* = TNTC

Cuando están presentes en gran número, las colonias de *E. coli* pueden ser pequeñas y poco definidas.



### Recuento de *E. coli* = TNTC

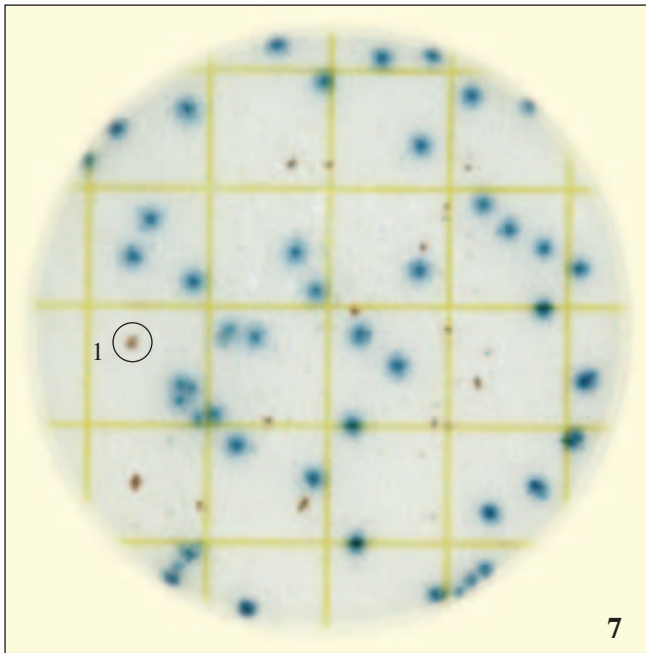
Una concentración elevada de *E. coli* hará que todo el área de crecimiento tome un color azul-verdoso.



# Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento selectivo de *E. coli*

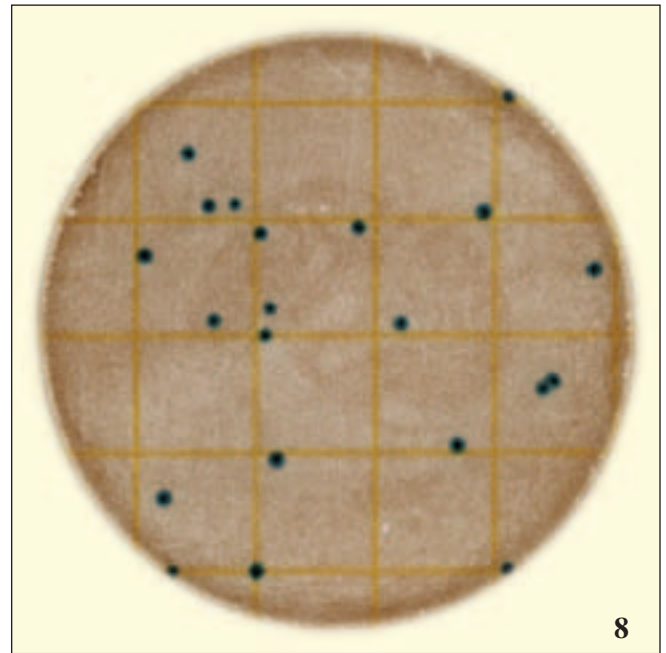
## Interferencias debidas a alimentos:

Las placas Petrifilm Select *E. coli* se han evaluado usando muestras de muchos, pero no de todos los alimentos. Los alimentos ensayados incluyen ciertas carnes frescas y congeladas, verduras y mariscos; comidas preparadas congeladas; y productos lácteos frescos, fermentados y deshidratados. En un número limitado de casos, tales como cuando el alimento es hígado, éste puede interferir con la enumeración. *Para reducir tal interferencia del alimento, diluir adicionalmente la muestra.*



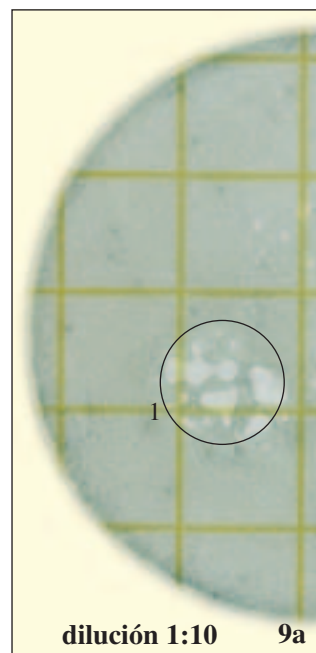
### Recuento de *E. coli* = 42

Las colonias de *E. coli* pueden distinguirse fácilmente de las partículas de alimento, ya que éstas a menudo tienen formas irregulares y presentan tamaños y colores variables. El círculo 1 muestra partículas de nuez.

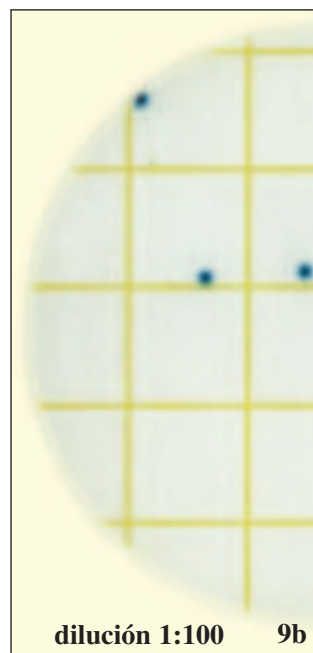


### Recuento de *E. coli* = 21

Algunos alimentos oscuros pueden producir un fondo coloreado que dificulta la diferenciación de las colonias de *E. coli*. Las diluciones adicionales aclararán el color de fondo facilitando el recuento de las colonias de *E. coli*. La figura 8 muestra cacao en polvo diluido 1:50.



dilución 1:10 9a



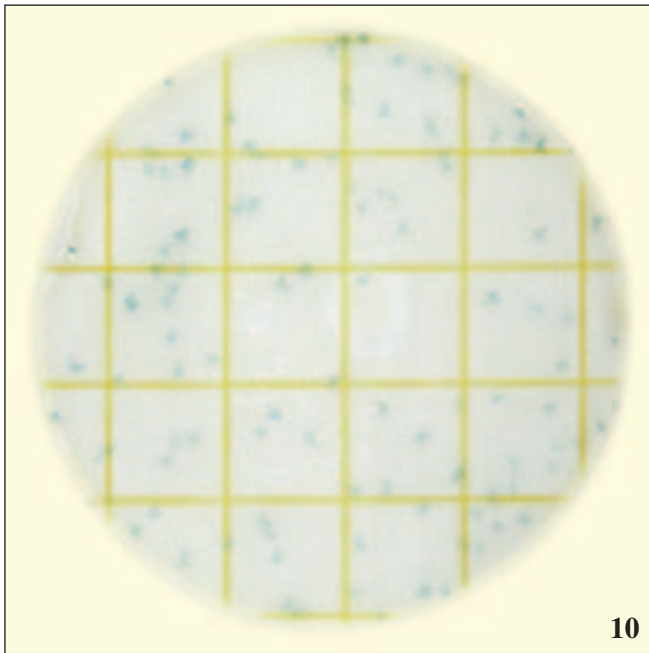
dilución 1:100 9b

El hígado crudo contiene  $\beta$ -glucuronidasa, que produce un fondo azul-verdoso del área de crecimiento de las placas que dificulta la diferenciación de las colonias de *E. coli*. Una dilución adicional aclarará el color de fondo facilitando el recuento de las colonias de *E. coli* y ayudará a distinguir la interferencia de los alimentos en las placas TNTC que tienen colonias confluentes (véase la figura 6). Se pueden producir burbujas por una inoculación incorrecta de la placa o por quedar aire atrapado en la muestra. Véase el círculo 1.

# Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento selectivo de *E. coli*

## Variabilidad en el aspecto de las colonias de *E. coli*

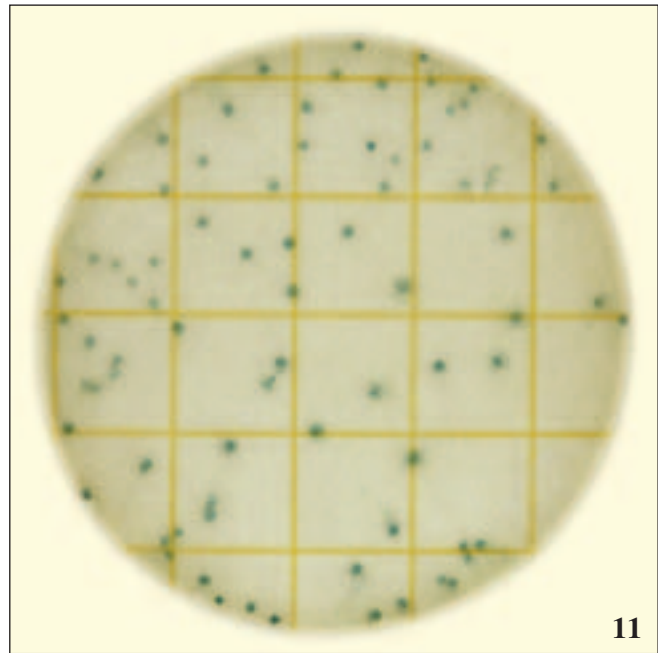
Las colonias de *E. coli* que producen glucuronidasa pueden tener tamaños, intensidades de color y formas variables en función de la propia cepa, del alimento y de la influencia de factores externos tales como los protocolos de ensayo. Las colonias de *E. coli* de color azul-verdoso pueden tener asociadas burbujas de gas.



### Recuento de *E. coli* = 92

Pueden aparecer colonias de color verde pálido cuando las células *E. coli* son productores débiles de glucuronidasa o cuando existe una interacción con alimentos que contienen mucho ácido o mucho azúcar.

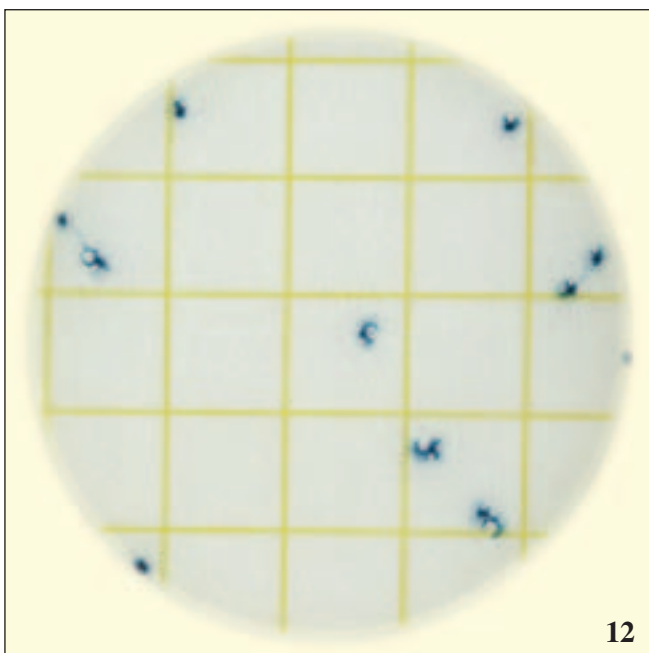
La Figura 10 muestra un producto lácteo fermentado muy ácido.



### Recuento de *E. coli* = 75

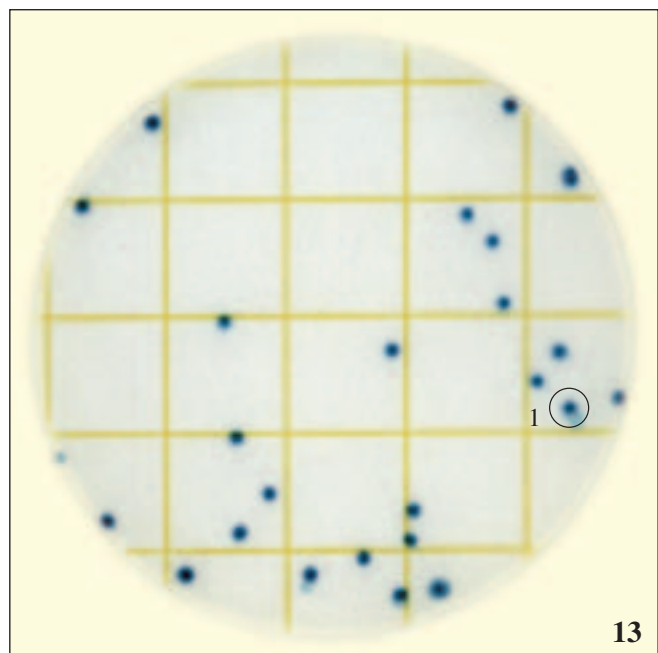
Con algunos alimentos puede aparecer una variabilidad de color pardo-verdoso.

La Figura 11 ilustra una muestra de riñón.



### Recuento de *E. coli* = 10

Las colonias de *E. coli* pueden tener asociadas burbujas de gas dependiendo de la cepa de *E. coli* y del alimento. Contar todas las colonias, tengan gas o no.



### Recuento de *E. coli* = 25

Pueden aparecer colonias difuminadas. Ver círculo 1. Para minimizar la producción de colonias difuminadas, presionar **suavemente** el centro del esparcidor y extender inmediatamente después de la inoculación.

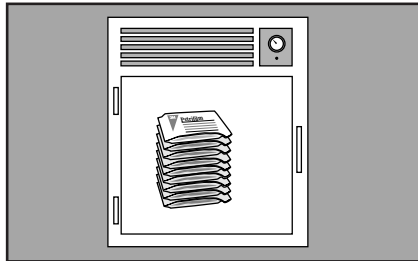
# 3M™ Petrifilm™ Placas para recuento selectivo de E. coli

Para una información detallada sobre las ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, RENUNCIA DE GARANTÍAS/LIMITACIÓN DE LAS REPARACIONES, LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, y sobre las INSTRUCCIONES DE USO, véase el prospecto del Producto.

Advertencias  
para el uso



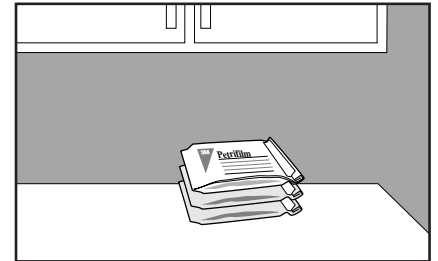
## Almacenamiento



**1** Conservar los envases no abiertos a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad indicada en el envase. En zonas de humedad alta donde la condensación puede ser un problema es mejor dejar que los envases alcancen la temperatura ambiental antes de abrirlos.

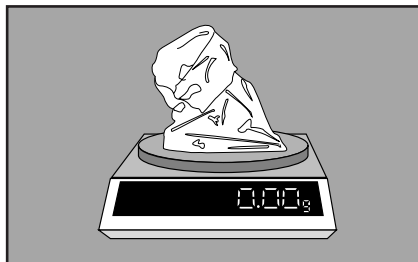


**2** Para cerrar un envase abierto, doblar el extremo y fijar con cinta adhesiva.

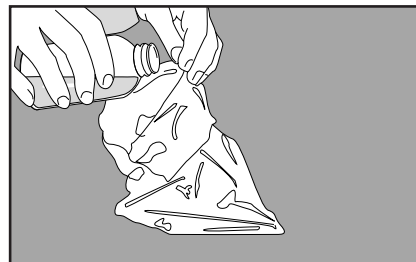


**3** Almacenar los envases que se han cerrado en un lugar frío y seco durante no más de un mes. **No refrigerar los envases abiertos.** Conservar los envases que se han cerrado en un congelador si la temperatura del laboratorio excede de  $25^{\circ}\text{C}$  y/o el laboratorio está localizado en un área en el que la humedad frecuentemente excede del 50%.

## Preparación



**4** Pesar o pipetear el producto alimenticio en un recipiente estéril apropiado tal como una bolsa tipo Stomacher, un frasco de dilución o una bolsa Whirl-Pak®.



**5** Añadir la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: agua de peptona tamponada (ISO 6887), diluyente de sal de peptona (ISO 6887), agua de peptona al 0,1%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (IDF 122B), tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF 122B,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,0425 g/l, ajustado a pH 7,2), caldo de cultivo letheen sin bisulfito, solución de Ringer diluida hasta un cuarto de la concentración normal (IDF 122B), solución salina (0,85-0,90%) o agua destilada.

No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato; ya que pueden inhibir el crecimiento.

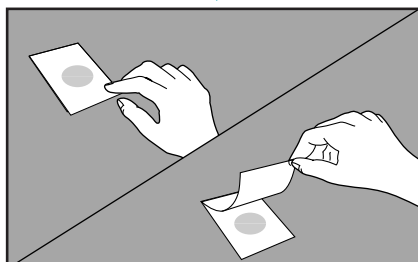


**6** Mezclar u homogeneizar la muestra mediante un procedimiento convencional.

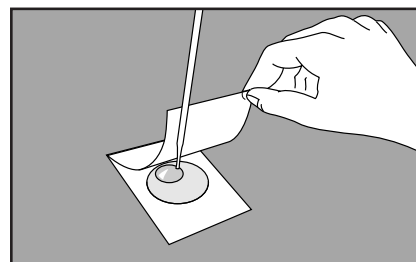
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6,5 y 7,5:

- para productos ácidos, usar NaOH, 1 N,
- para productos alcalinos, usar HCl 1 N.

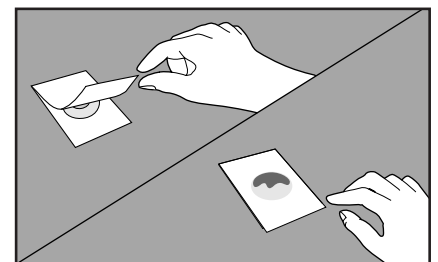
## Inoculación



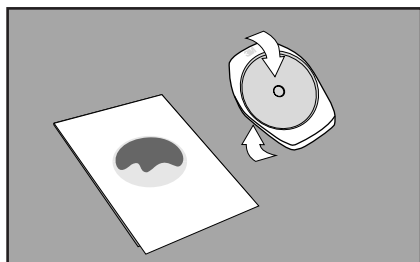
**7** Colocar la placa Petrifilm sobre una superficie **plana**. Levantar la película superior.



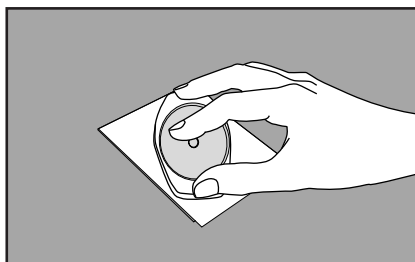
**8** Con la pipeta **perpendicular** a la placa Petrifilm, poner 1 ml de muestra en el centro de la película inferior.



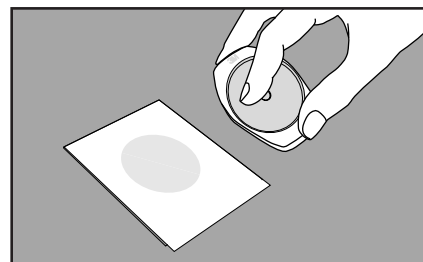
**9** Bajar **cuidadosamente** la película superior para evitar la acumulación de burbujas de aire. **No** hay que dejarla caer.



**10** Con la cara lisa hacia abajo, poner el aplicador en la película superior sobre el inóculo.

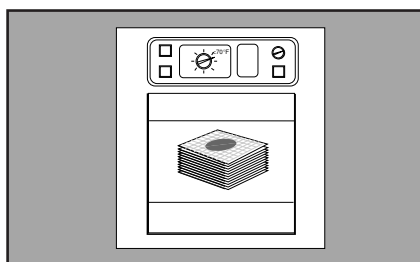


**11** Aplicar presión suavemente sobre el aplicador para distribuir el inóculo en un área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



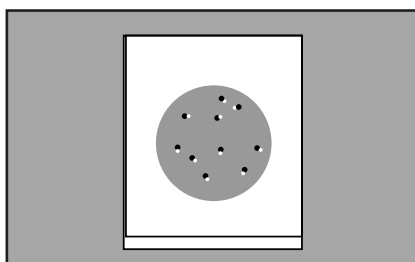
**12** Levantar el aplicador. Esperar al menos un minuto para que se forme el gel.

## Incubación

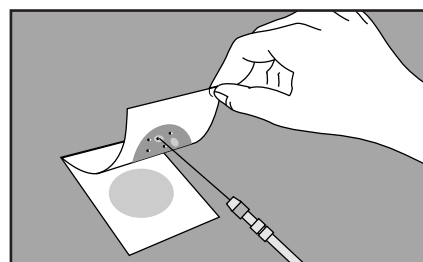


**13** Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba, en pilas de hasta 20 unidades. Incubar durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $42^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  o a  $44^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . Puede ser necesario humidificar la estufa para minimizar la pérdida de humedad durante la incubación.

## Interpretación



**14** Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias convencional u otra lente de aumento. Véase la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Es posible aislar las colonias para realizar identificaciones adicionales. Levantar la película superior y extraer la colonia del gel. Proceder según métodos convencionales.

### Referencia a documentos

Fecha	Versión
September 2000	1.0

**3M**

**Departamento de Microbiología  
3M España, S.A.**

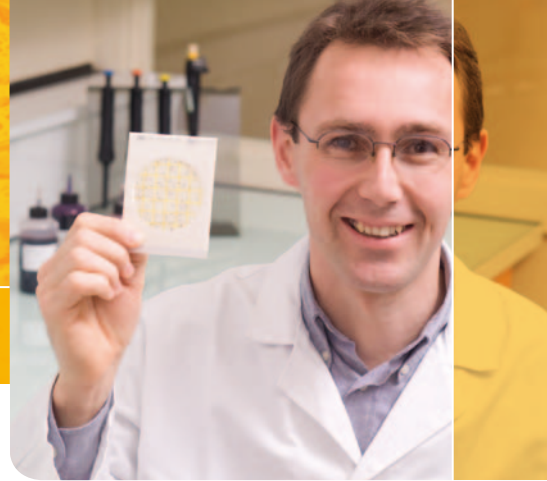
Juan Ignacio Luca de Tena 19-25  
28027 Madrid  
Spain  
Tel.: +34 913 216 246  
Fax: +34 913 216 328

**Europe  
Laboratoires 3M Santé**

Boulevard de l'Oise  
95029 Cergy Pontoise Cedex  
France  
Tel : +33 (0) 1 30 31 85 71  
Fax: +33 (0) 1 30 31 85 78  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)



3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M Company  
Whirl-Pak es una marca registrada de Nasco



3M™ Petrifilm™

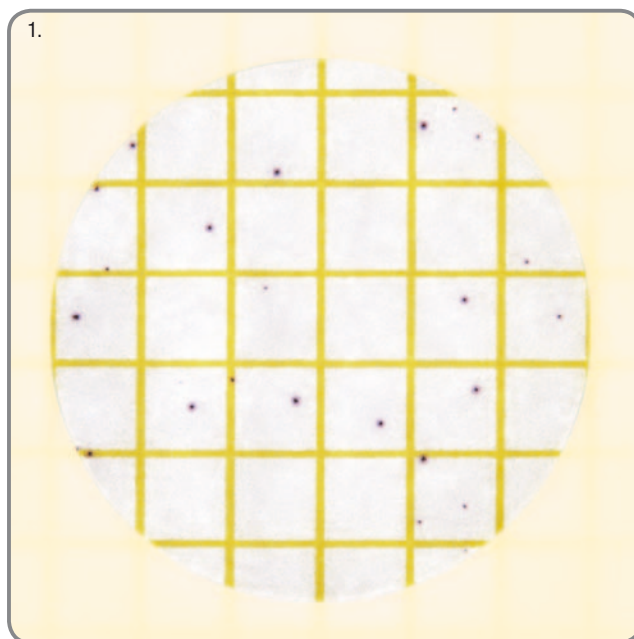
# Guía de Interpretación

## Sistema de Recuento 3M Petrifilm Staph Express

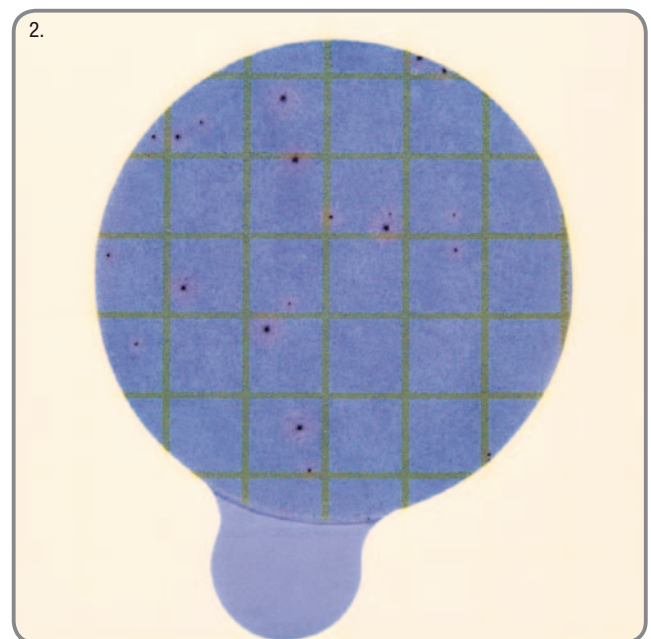
El sistema de recuento Petrifilm Staph Express consiste en una placa de recuento Petrifilm Staph Express y un disco de confirmación Petrifilm Staph Express

La placa de recuento Petrifilm Staph Express contiene un sistema de medio de cultivo preparado. El medio cromogénico tipo Baird-Parker modificado es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*. El *Staphylococcus aureus* se manifiesta en la placa bajo la forma de colonias rojo-violeta (figura 1). Pueden también aparecer en la placa otras colonias que no sean de color rojo-violeta (figura 5).

El disco Petrifilm Staph Express ha sido diseñado para la detección de las reacciones de desoxiribonucleasa (DNasa) específicas de *Staphylococcus aureus* aislado en la placa de recuento Petrifilm Staph Express; contiene azul-O toluidina que facilita la visualización de las reacciones de DNasa (figura 2). El disco Petrifilm Staph Express debe de usarse siempre que aparezcan en la placa otras colonias que no sean de color rojo-violeta.



La figura 1 muestra las colonias rojo-violeta de *S. aureus*. Las colonias de *S. aureus* pueden variar de tamaño.



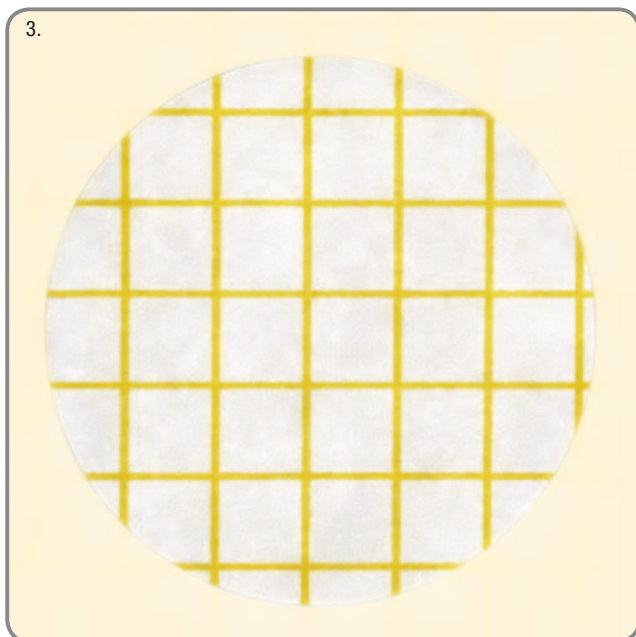
La figura 2 muestra las zonas rosa que se forman cuando ocurre la reacción de DNasa de *S. aureus*. Las zonas rosas pueden variar de tamaño debido a la cantidad variable de DNasa en diferentes *S. aureus*.

# Interpretación del sistema 3M™ Petrifilm™ Staph Express

## 1. Recuento de colonias en las placas Petrifilm Staph Express

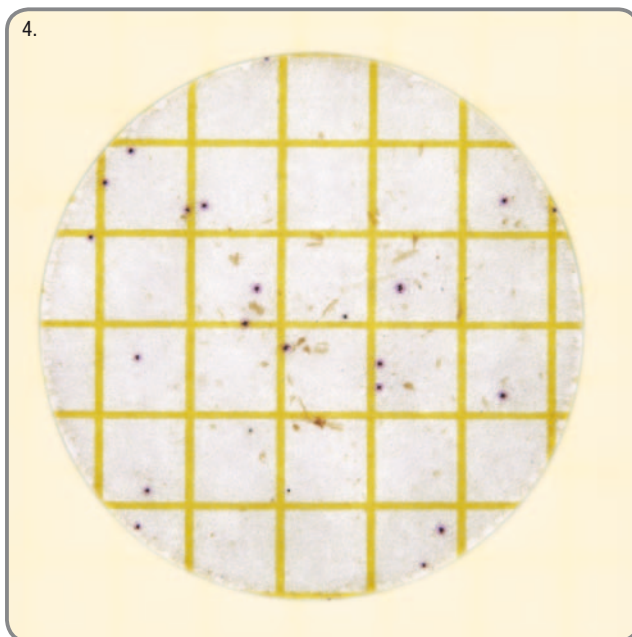
Después de 24 h. de incubación, si únicamente aparecen colonias de color rojo-violeta, proceder al recuento.

Contar todas las colonias rojo-violeta como *Staphylococcus aureus*. Usar una lupa iluminada para una más fácil visualización de las colonias.



**Recuento de *S. aureus* = 0**

La figura 3 muestra la placa de Petrifilm Staph Express sin colonias después de 24 horas de incubación.

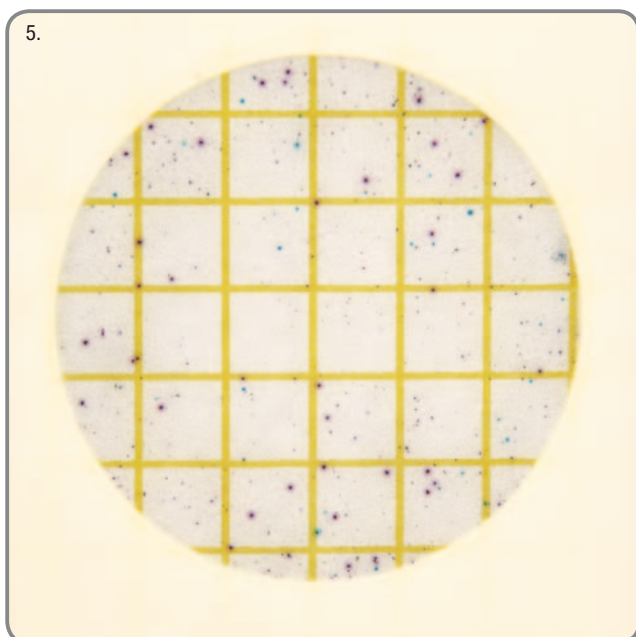


**Recuento de *S. aureus* = 20**

La figura 4 muestra la placa Petrifilm Staph Express con colonias rojo-violeta únicamente. Contar todas las colonias rojo violeta como *S. aureus* independientemente de su tamaño. Pueden verse también en esta placa partículas de alimento de forma irregular.

## 2. Recuento de zonas rosas de DNasa con el sistema Petrifilm Staph Express

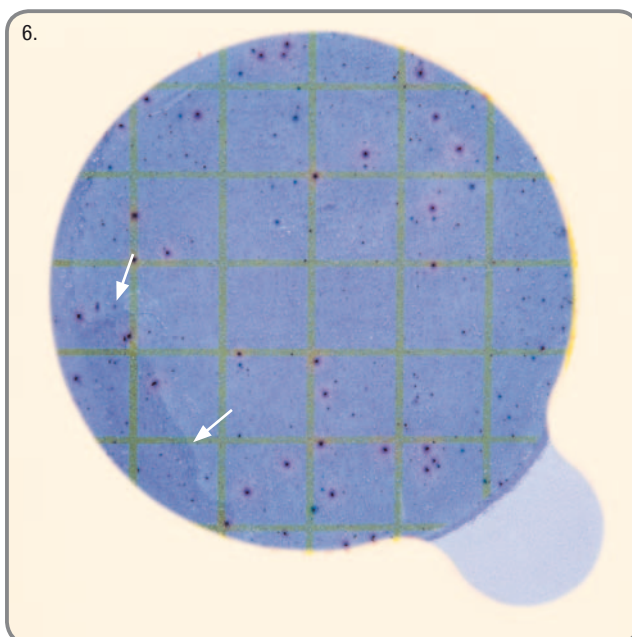
Siempre que se vean en la placa colonias que no sean de color rojo-violeta, usar el disco Petrifilm Staph Express para el recuento de *Staphylococcus aureus*. Las figuras 5 y 6 muestran el mismo sistema Petrifilm Staph Express antes y después de usar el disco.



La figura 5 muestra los diferentes colores de colonias que pueden aparecer en las placas Petrifilm Staph Express

- Las colonias rojo-violeta son *S. aureus*
- Las colonias azul-verde no son *S. aureus*
- Las colonias negras pueden ser o no *S. aureus*

**En este caso de la figura 5, usar un disco antes de proceder al recuento definitivo de *S. aureus*.**



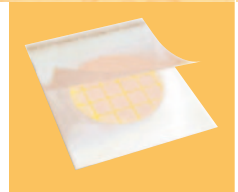
**Recuento de *S. aureus* = 33**

La figura 6 muestra 33 zonas rosas producidas por igual número de colonias de *S. aureus*. Contar todas las zonas rosas como *S. aureus*. Las flechas en la figura muestran desdoblamiento del gel. El desdoblamiento del gel no afecta al sistema de recuento.

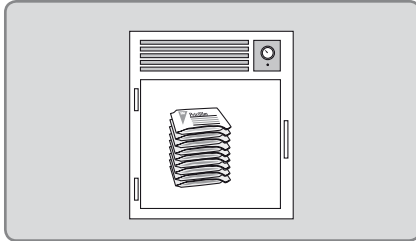
# Sistema 3M™ Petrifilm™ Staph Express

Para detalles de ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, RESPONSABILIDAD DEL USUARIO, GARANTIA LIMITADA, información de ALMACENAMIENTO Y ELIMINACION, e INSTRUCCIONES DE EMPLEO, ver folleto del producto.

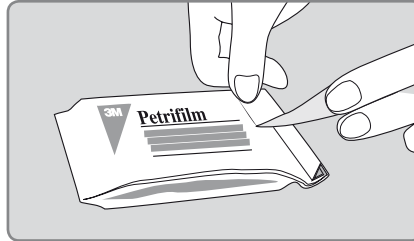
## Instrucciones de empleo



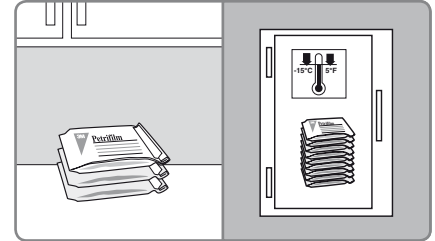
### Almacenamiento



**1** Conservar las bolsas cerradas de placas y discos a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa. Antes de abrir las bolsas, permitir que éstas se acondicionen a temperatura ambiente para evitar condensaciones.



**2** Para sellar las bolsas abiertas, doblar los extremos y cerrar usando cinta adhesiva.

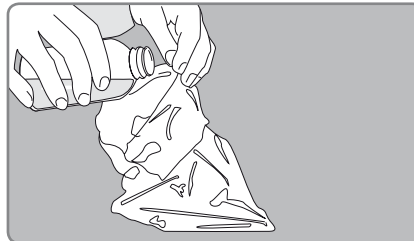


**3** **Placas:** Mantener las bolsas una vez cerradas en ambiente fresco y seco ( $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ) durante no más de un mes. **No refrigerar las bolsas abiertas.** Almacenar en el congelador si la temperatura excede de  $25^{\circ}\text{C}$  ( $77^{\circ}\text{F}$ ) o si la humedad en el laboratorio excede con frecuencia del 50%. **Discos:** Almacenar las bolsas abiertas en el congelador ( $\leq -15^{\circ}\text{C}$ ) durante no más de 6 meses. **No almacenar bolsas abiertas de discos a temperatura ambiente.**

### Preparación de la muestra

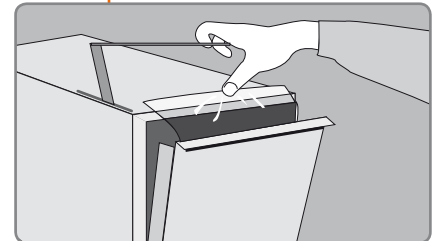


**4** Preparar a una dilución 1:10 o superior. Pesar o pipetear el producto alimenticio en un recipiente estéril adecuado, como una bolsa stomacher, frasco de dilución o cualquier otro recipiente estéril.



**5** Añadir la cantidad apropiada de diluyentes estériles recomendados de uso general (ISO 6887 e ISO 8261/IDF 122), tal como peptona sal y agua de peptona tamponada. Pueden usarse otros diluyentes como caldo letheen exento de bisulfito.

No usar tampones que contengan citratos, bisulfitos o tiosulfatos puesto que podrían inhibir el crecimiento.

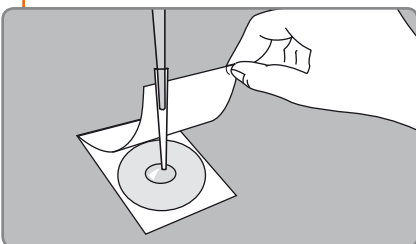


**6** Mezclar y homogeneizar la muestra mediante métodos habituales.

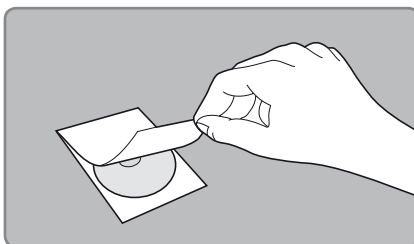
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6 y 8:

- para productos ácidos usar NaOH 1N
- para productos alcalinos usar ClH 1N

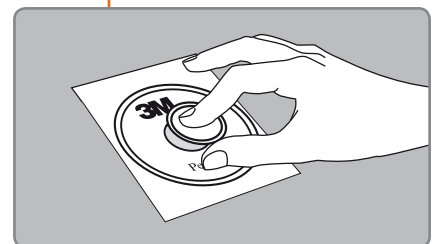
### Siembra de la muestra



**7** Disponer el Petrifilm en una superficie bien nivelada. Levantar el film superior. Con una pipeta dispuesta de forma perpendicular a la placa Petrifilm dispensar 1 ml de muestra en el centro del film inferior.



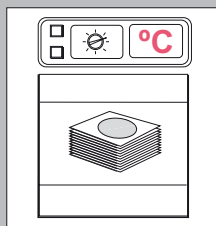
**8** Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.



**9** Ejercer suavemente presión con el aplicador para distribuir el inóculo sobre la superficie circular antes de la formación del gel. No girar ni desplazar el aplicador. Esperar al menos 1 minuto para que solidifique el gel. **Nota:** Extender con el aplicador cada muestra antes de inocular la siguiente. Esto es importante puesto que el gel de la placa Petrifilm Staph Express se forma rápidamente.

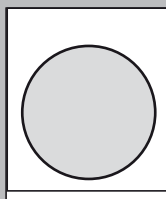


## Incubación

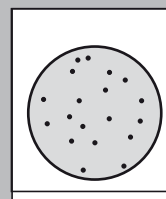


**10** Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas. Incubar durante  $24 \pm 2$  h a  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .

## Interpretación



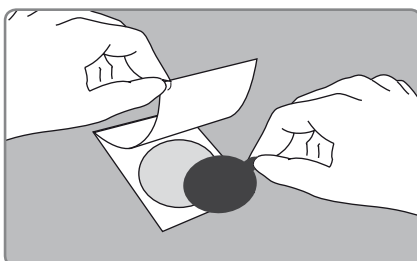
**11** Si no aparecen colonias después de  $24 \pm 2$  h de incubación, el recuento es 0 y el ensayo se da por concluido.



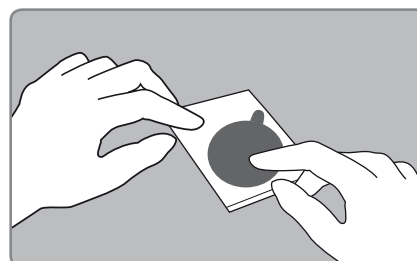
**12** Si únicamente aparecen colonias rojo-violeta, contarlas como *S. aureus*. El ensayo se da por concluido. Las placas pueden contarse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento. Consultar la Guía de Interpretación al leer los resultados.

## Empleo del disco

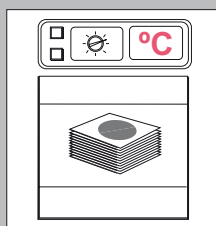
Si parecen otras colonias de color diferente al rojo-violeta, emplear el disco Petrifilm Staph Express (ver 13-16).



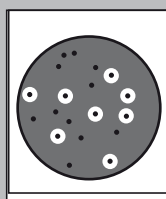
**13** Retirar un disco de su envase individual agarrándolo por la lengüeta. Levantar el film superior de la placa Petrifilm y colocar el disco en el alojamiento central de la placa. Bajar el film superior.



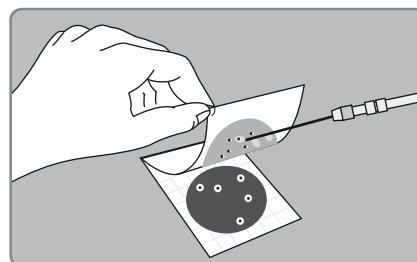
**14** Aplicar presión sobre la zona que ocupa el disco incluidos los bordes del mismo. Deslizar de manera firme los dedos sobre el film superior al objeto de obtener un buen contacto del disco con el gel y eliminar posibles burbujas de aire.



**15** Incubar las placas con el disco en pilas de no más de 20 placas durante 3h a  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$



**16** Contar todas las zonas rosa haya o no colonia como *S. aureus*. Consultar la Guía de Interpretación al leer los resultados.



**17** Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y recuperar la colonia del gel. Ensayar e identificar mediante métodos habituales.

**3M**

3M España, S.A.  
Dpto. de Seguridad Alimentaria

C/ Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
28027 Madrid  
www.3M.com/microbiology

Llamada Gratuita  
**900 210 584**  
3M Centro de Información al Cliente

Por favor recicle. Impreso en España  
© 3M 2010. Todos los derechos reservados. Ref. 1376-101-EU

3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M





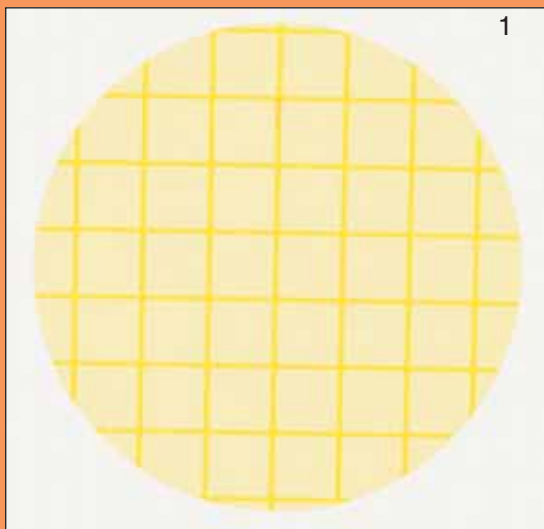
# Petrifilm™

## Placa para control ambiental de Listeria

Este guía le familiarizará con los resultados de las placas 3M™ Petrifilm™ para control ambiental de Listeria. Para mayor información, por favor contacte con su proveedor de productos 3M Microbiología.

Las placas Petrifilm™ para control ambiental de Listeria (EL) consisten en un medio de cultivo listo para usar que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador cromogénico que facilita la detección de colonias de Listeria. Las placas Petrifilm EL han sido diseñadas para análisis ambiental y constituyen una ayuda para el control de la eficiencia de las operaciones de limpieza y desinfección en las plantas. La presencia de microorganismos tipo *Listeria* tales como *Listeria innocua* aporta evidencia de que las condiciones ambientales son propicias para la ocurrencia de *Listeria monocytogenes*. La placa Petrifilm EL detecta la mayoría de las especies de *Listeria* presentes en el ambiente tales como *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* y *Listeria welshimeri*.(\*)

Las condiciones de limpieza o sanitización pueden dañar los microorganismos. Se emplea agua de peptona tamponada (BPW) como caldo de reparación en combinación con las placas Petrifilm al objeto de revivificar colonias dañadas o estresadas de *Listeria* sin alterar el recuento. Este proceso se considera una fase de reparación y **no** de enriquecimiento.

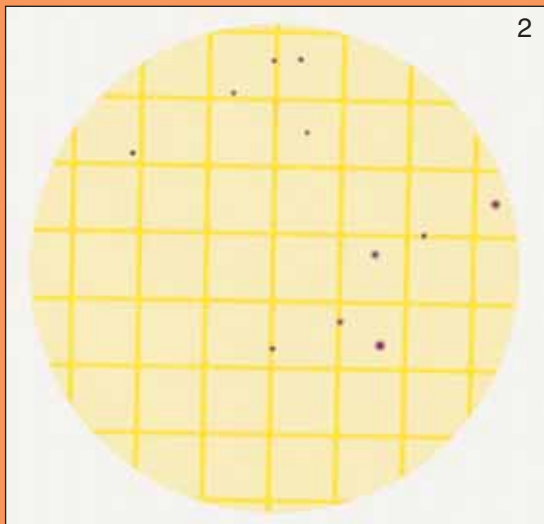


1. Esta placa de Petrifilm EL no muestra colonias después de 28 h de incubación. Dar por concluido el ensayo.

**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* en esta placa: <1. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* no detectada



2. Esta placa de Petrifilm EL muestra SOLAMENTE colonias de color rojo-violeta intenso después de 28 h de incubación. Dar por concluido el ensayo.

**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* en esta placa: 11 Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

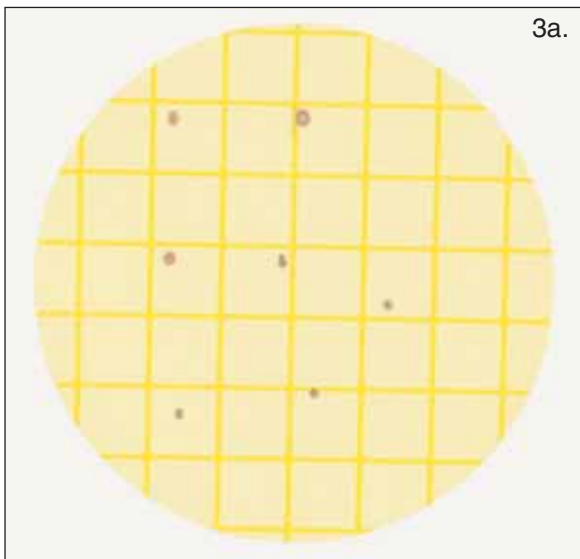
**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* detectada

\* Para información adicional acerca de la prevalencia de las especies de Listeria, por favor, contactar con 3M Microbiología. *L. ivanovii*, *L. grayi/murrayi* y *L. seeligeri* crecen en esta placa pero no forman colonias típicas.

# 3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de *Listeria*

Factores tales como el tipo de cepa, la naturaleza y el grado de estrés al que pueden haberse sometido los microorganismos, influyen en la velocidad a la cual el indicador cromogénico vira a un color rojo-violeta intenso.



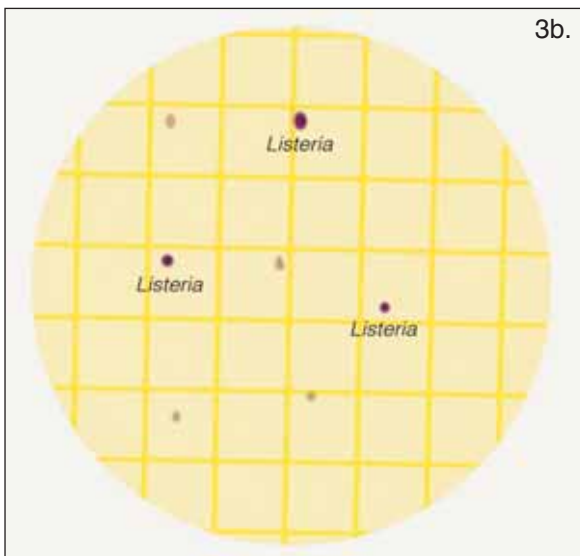
3a.

3a. Antes de las 30 horas de incubación, si hay colonias presentes pero no son de color rojo-violeta intenso (por ejemplo, gris o rosa suave como se muestra en 3a), continuar en este caso la incubación hasta 30 horas. Las colonias que no hayan virado al rojo-violeta intenso después del período de incubación máximo de 30 h (las colonias permanecen de color gris o rosa suave como se muestra en 3a), no deben de interpretarse como *Listeria*.

**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* en esta placa: <1. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* no detectada



3b.

3b. Una vez transcurrido el período de incubación máximo de 30 horas, las colonias que aparecían de color gris o rosa suave y han virado a color rojo-violeta intenso a las 30 horas (como se muestra en 3b), deben de interpretarse como *Listeria*.

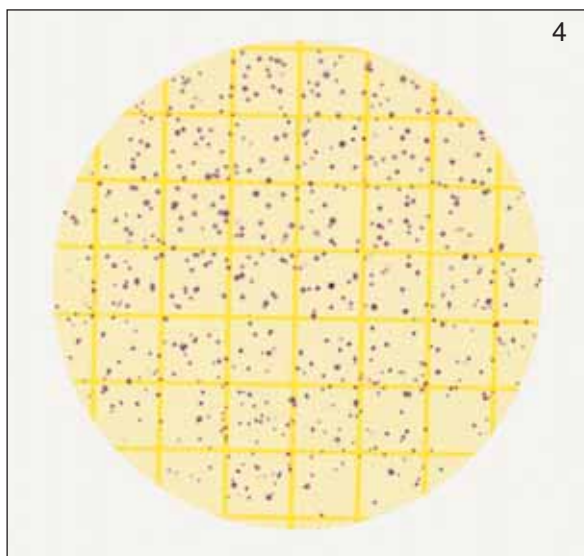
**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* en esta placa: 3. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* detectada

**Nota:** No contar las colonias que pudieran aparecer sobre la espuma blanca puesto que están fuera de la influencia del medio.

# 3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de *Listeria*

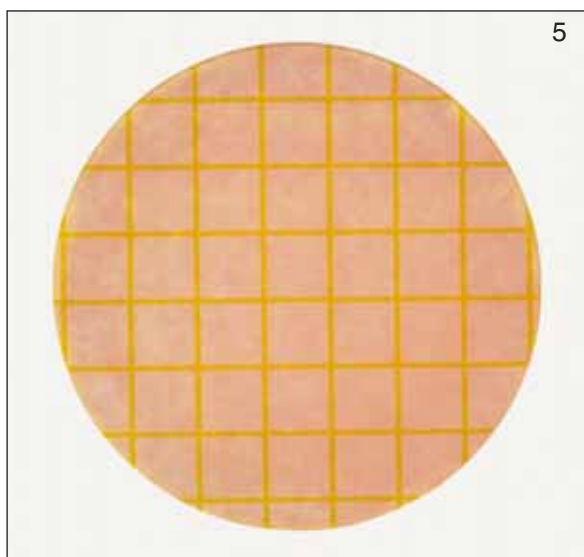


4. Puesto que la placa Petrifilm EL puede ser interpretada de tres maneras no se recomienda ningún rango de recuento en concreto. Interpretar el resultado (cualitativo o semi-cuantitativo) o estimar el recuento (cuantitativo) de la manera que se indica a continuación:

**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* estimadas en esta placa: **600 est.** Cuando aparece un gran número de colonias de *Listeria*, estimar el resultado calculando la media del recuento de dos o más cuadrículas representativas. Determinar la media por cuadrícula y multiplicar por 42. La superficie de inóculo de la placa es de 42 cm<sup>2</sup> aproximadamente.

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* detectada

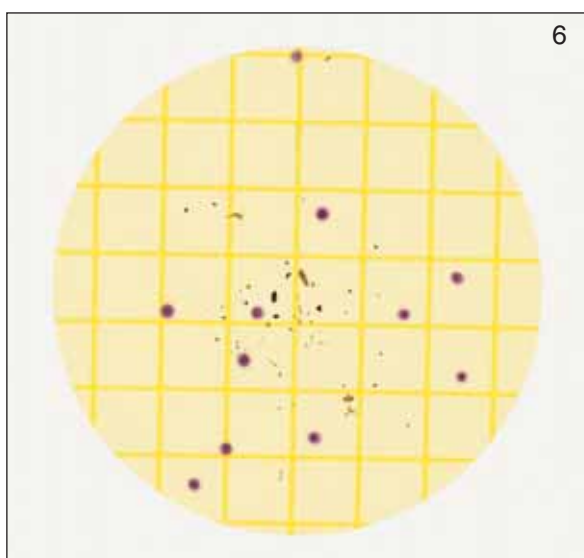


5. Cuando las colonias están presentes en gran cantidad, la placa Petrifilm EL puede mostrar muchas colonias pequeñas difíciles de distinguir o un color de tono rosa-marrón en toda la placa.

**Interpretación Cuantitativa:** El resultado es un incontable para *Listeria* (10000 ufc en esta imagen aproximadamente).

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Interpretación Cualitativa:** *Listeria* detectada



6. El color de fondo puede variar debido a la presencia de polvo, partículas y otros sedimentos de la muestra ambiental, del tipo de sistema usado en la toma de la muestra o incluso del tipo de agua de peptona tamponada empleado. Interpretar o contar como *Listeria* las colonias rojo-violeta intensas.

**Interpretación Cuantitativa:** Colonias de *Listeria* en esta placa: **11** Hacer referencia a la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

**Interpretación Semi-Cuantitativa:** El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

**Qualitative Interpretation:** *Listeria* detectada

# 3M™ Petrifilm™

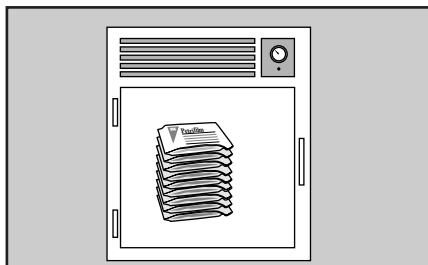
## Placa para control ambiental de Listeria

Para detalles acerca de Advertencias, Precauciones, Garantías, Responsabilidades de 3M, Almacenamiento, Eliminación de Residuos, e Instrucciones de Empleo, ver folleto del producto.

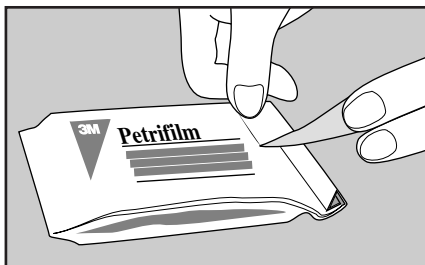
Instrucciones  
de uso



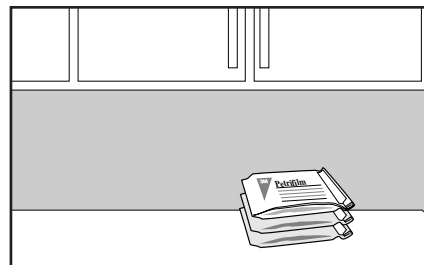
### Almacenamiento



**1** Conservar las bolsas cerradas a  $\leq 8^{\circ}\text{C}$ . Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje. En zonas de humedad alta en donde pueden producirse condensaciones, acondicionar las bolsas hasta alcanzar la temperatura ambiente antes de abrirlas.

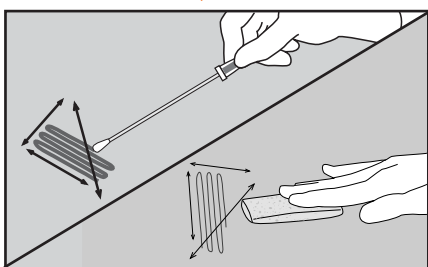


**2** Cerrar las bolsas ya abiertas que se estén utilizando, doblando el borde abierto y aplicando cinta adhesiva como muestra el dibujo.



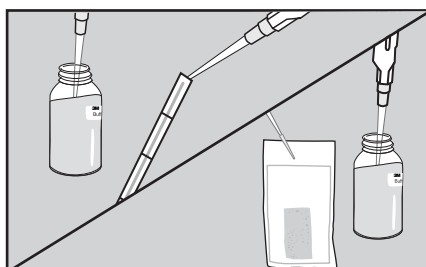
**3** **No refrigerar las bolsas abiertas para evitar exposiciones a la humedad.** Mantener las bolsas abiertas a temp. ambiente en lugar fresco y seco y durante no más de 1 mes desde la apertura. Evitar la exposición de las bolsas abiertas a temp. o humedades ambientales elevadas ( $>25^{\circ}\text{C}$ ,  $>50\%$  H.R.).

### Preparación de la muestra



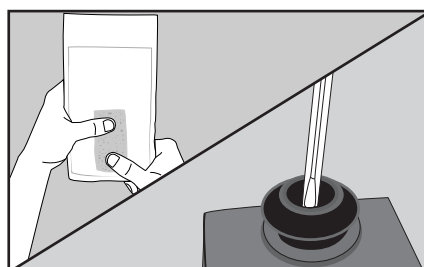
**4** Tomar las muestras ambientales usando un hisopo swab o equivalente, esponjas o cualquier otro dispositivo previamente humedecido.

Usar  $\leq 10$  ml de humedecedor. El agente humedecedor puede ser agua estéril, agua de peptona tamponada o caldo neutralizante tal como caldo letheen (sobre todo si existieran restos de agentes de limpieza).



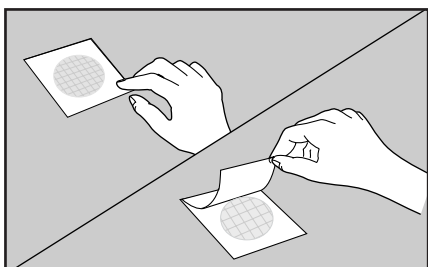
**5** Añadir 2 ml (hisopo) o 5 ml (esponja) de agua de peptona tamponada estéril (caldo de reparación) a la muestra en condiciones asépticas. Mantener el agua de peptona tamponada a  $20-30^{\circ}\text{C}$ .

No emplear ningún tipo de caldo de enriquecimiento para Listeria con esta placa.

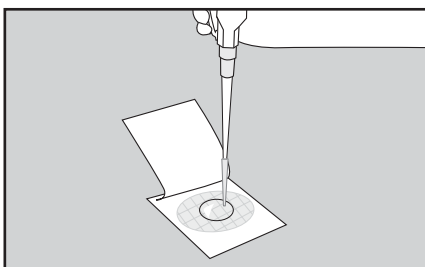


**6** Mezclar y homogeneizar la muestra mediante stomacher o vortex durante 1 minuto aprox. Mantener la muestra a **temp. amb. ( $20-30^{\circ}\text{C}$ ) durante 1 h., máximo 1,5 h. Mezclar nuevamente a continuación.** Esta etapa es necesaria para la reparación de las *Listeria* dañadas.

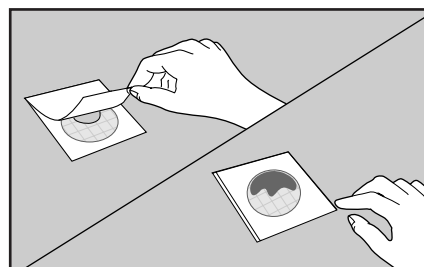
### Inoculación



**7** Colocar la placa Petrifilm EL sobre una superficie plana y nivelada. Levantar la película superior.

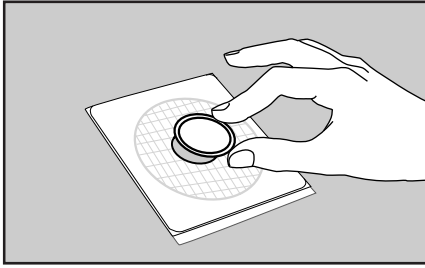


**8** Pipetear con la Pipeta Electrónica 3M o equivalente unos **3 ml** de la muestra en el centro de la película inferior. Pipetear en posición perpendicular a la placa Petrifilm EL.

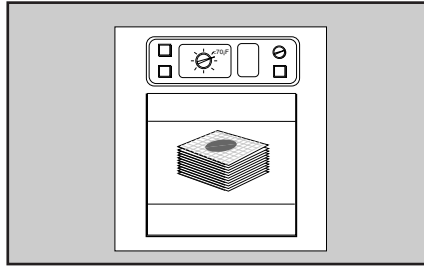


**9** Dejar caer la película superior sobre la muestra.

## Incubación

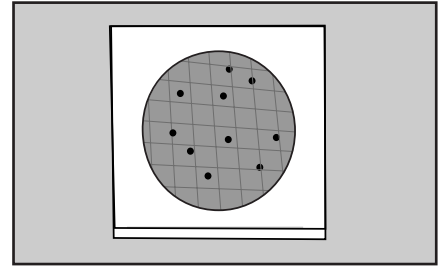


10 Colocar **suavemente** el aplicador plástico sobre la película superior cubriendo el inóculo. **No presionar**, ni girar ni desplazar el aplicador. Levantar y retirar el aplicador. Esperar al menos **10 minutos** para permitir la formación del gel. Nota: En caso de que el inóculo se extienda por sí mismo, no resulta necesario el uso del aplicador.



11 Incubar las placas cara arriba en grupos de 10 máximo durante **28 h +/- 2 h**, a **35°C +/-1°C** o **37°C +/-1°C**. **No exceder el período de incubación más de 30 h**. **Períodos de incubación superiores a 30 h. pueden dar lugar a resultados confusos.**

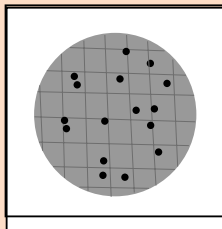
## Interpretación



12 Contar o interpretar las placas de Petrifilm EL usando un contador de colonias o una lupa con luz. No contar las colonias que aparezcan en la zona de la espuma blanca ya que están fuera de la zona de influencia del medio selectivo.

La placa 3M™ Petrifilm™ para control ambiental de *Listeria* puede usarse como método de análisis cuantitativo, semi-cuantitativo o cualitativo.

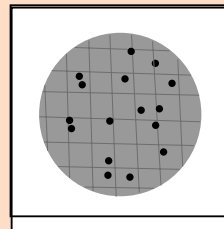
13 Para resultados **cuantitativos**, contar y registrar todas las colonias de color rojo-violeta intenso. Elegir este método cuantitativo en caso de que la toma de decisión esté basada en el número de colonias presentes.



*Listeria* colonies on this plate: 16

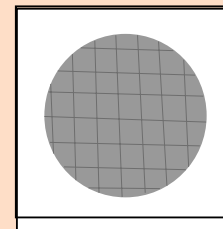
Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo de la cantidad de *Listeria* por muestra ambiental.

14 Para resultados **semi-cuantitativos**, registrar resultados basados en el **nivel relativo** de colonias rojo-violeta presentes. Elegir este método semi-cuantitativo en caso de que la toma de decisión se base en el nivel relativo presente y no se requiera reportar un número de recuento concreto.

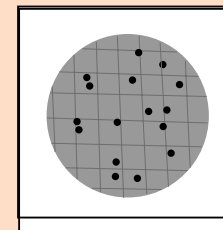


El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

15 Para resultados **cualitativos**, registrar resultados como **detectado** o **no detectado** basados en la presencia o ausencia de colonias rojo-violeta intensas. Elegir este método cualitativo en caso de que este resultado de respuesta sea adecuado para los requerimientos establecidos.



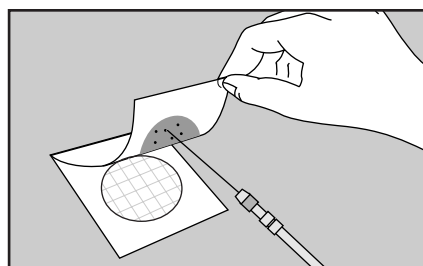
No detectado



Detectado

## Opcional

16 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar la película superior y seleccionar la colonia del gel.



# 3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de Listeria

## Muestreo Cuantitativo e Interpretación

En el caso de que el método de muestreo elegido con la Placa Petrifilm para control ambiental de Listeria sea el método cuantitativo, hacer referencia al folleto de producto, y calcular las unidades formadoras de colonias (ufc) por área, tal y como se indica a continuación. Tomar en consideración los siguientes aspectos:

- La consistencia es la clave para obtener información útil acerca del programa de muestreo ambiental establecido. Utilizar un procedimiento consistente cada vez que se tomen muestras. Utilizar siempre el mismo sistema, dispositivo y accesorios para las tomas de muestra.
- Definir de manera coherente el área de muestreo en función de legislación, estándares internos o ubicación de la zona a muestrear. Por ejemplo, muestrear un área más grande en líneas de producto terminado puesto que el número de bacterias que pueden aparecer será presumiblemente bajo.
- Puede encontrarse más información sobre muestreo ambiental en las referencias que se citan a continuación y también en el folleto Placas 3M Petrifilm Control ambiental y de superficies.

PARA DETERMINAR la cantidad de Listeria por área muestreada, registrar:

- 1) Tamaño del área muestreada
- 2) Volumen del líquido de hidratación en el método de muestreo
- 3) Volumen de agua de peptona tamponada adicionada
- 4) Volumen inoculado
- 5) Número de colonias contadas

APLICAR la siguiente ecuación u hoja de cálculo para determinar las ufc/área muestreada. Ver ejemplos en páginas siguientes. Ver Folleto de Producto e Instrucciones de Uso para detalles completos del método.

Puede determinarse el resultado por muestra, por ejemplo ufc/drenaje

$$\text{ufc/área} = (\text{Número de colonias} \times (\text{ml de solución de hidratación} + \text{ml de agua de peptona tamponada}) / 3 \text{ ml}) / \text{área muestreada}$$

o usar la tabla siguiente:

A. Total ml de agua de peptona tamponada + solución de hidratación	_____	A
B. Total ml inoculados	3 mL _____	B
C. Dividir A por B	_____	C
D. Número de colonias contadas (si el número de colonias es 0, insertar "<1" en línea "D")	_____	D
E. Multiplicar C por D	_____	E
F. Area muestreada	_____	F
G. Dividir E por F	_____	G

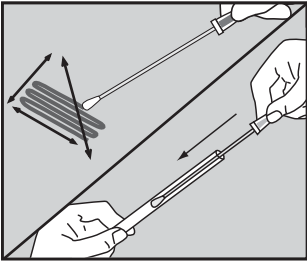
**La línea G es igual a ufc/área**

**El muestreo cuantitativo de ambientes es consistente con las siguientes referencias:**

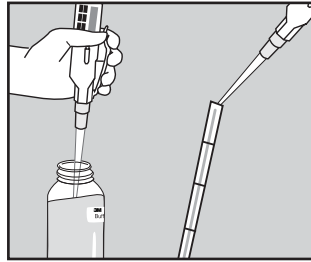
- Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Section 3.7D, American Public Health Association, Washington D.C., 1992
- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Section 3.512 and 3.521, American Public Health Association, Washington D.C., 2001.

## Interpretación Cuantitativa

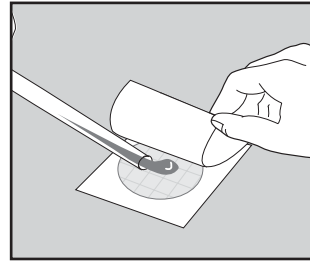
### Ejemplo: Método de contacto con hisopo swab



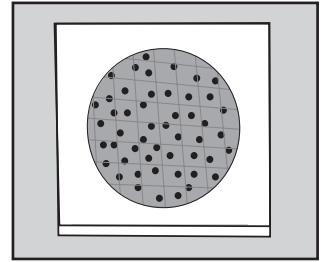
1 Usar un hisopo swab (o equivalente) humedecido con **1 ml** de líquido de hidratación, muestrear el área (ver línea A). En este caso el área muestreada es de **50 cm<sup>2</sup>** (ver línea F). Retornar el swab al dispositivo estéril del hisopo.



2 Añadir **2 ml** de agua de peptona tamponada (ver línea A).



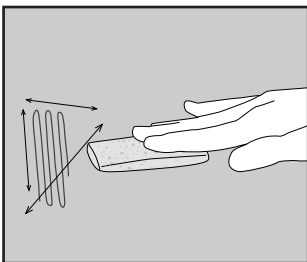
3 Inocular **3 ml** en la placa Petrifilm para control ambiental de Listeria después de la fase de reparación (ver línea B).



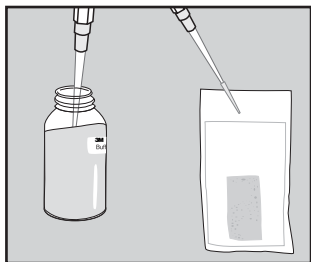
4 Contar las colonias después de la incubación. Para este ejemplo, se asume un recuento de **50 colonias** (ver línea D)

A. Total ml de agua de peptona tamponada + fluido de hidratación	$1 + 2 = 3$	A
B. Total ml inoculados	3	B
C. Dividir A por B	1	C
D. Número de colonias contadas	50	D
E. Multiplicar C por D	50	E
F. Área muestreada	50 cm <sup>2</sup>	F
G. Dividir E por F	<b>1 CFU/cm<sup>2</sup></b>	G

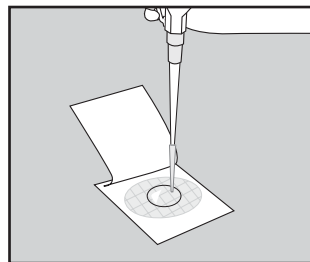
### Ejemplo: Método de contacto con esponja



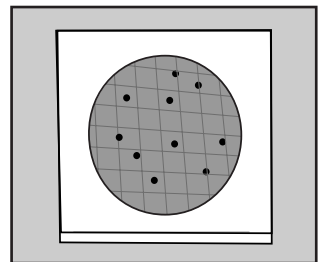
1 Usar una esponja humedecida en **10 ml** de líquido de hidratación y muestrear el área (ver línea A). Para este ejemplo el área es de 1 pie cuadrado (**50 cm<sup>2</sup>**). (Ver línea F).



2 Retornar la esponja al recipiente estéril y añadir **5 ml** de agua de peptona tamponada (ver línea A).



3 Inocular **3 ml** en la placa Petrifilm para control ambiental de Listeria después de la fase de reparación (ver línea B).



4 Contar las colonias después de la incubación. Para este ejemplo, se asume un recuento de **10 colonias** (ver línea D)

A. Total ml de agua de peptona tamponada + fluido de hidratación	$10 + 5 = 15$	A
B. Total ml inoculados	3	B
C. Dividir A por B	5	C
D. Número de colonias contadas	10	D
E. Multiplicar C por D	50	E
F. Área muestreada	50 cm <sup>2</sup>	F
G. Dividir E por F	<b>1 CFU/cm<sup>2</sup></b>	G

# 3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de Listeria

## Comentarios Adicionales

Para mayor información de producto, **visitar nuestra dirección web:**  
**[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)**.

### Referencia del documento

<i>Fecha</i>	<i>Versión</i>
Mayo 2002	1.1



**Departamento de Microbiología**  
**3M España, S.A.**

Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25  
28027 Madrid  
SPAIN

Tel.: +34913216246  
Fax.: +34913216328

Sello del distribuidor

Petrifilm y 3M son marcas registradas de 3M co.  
© 3M Health Care Limited 2005 70-2009-6295-2





# Petrifilm™ Aerobic Count Plates for Lactic Acid Bacteria



1

Processors of high acid/low pH or vacuum-packed products, such as salad dressings, tomato-based products and processed meats, need to continually monitor for the presence of lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria are spoilage organisms known to shorten product shelf life and degrade product quality.

Following a simple procedure, you'll find 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates can be an efficient, cost-effective method for detecting lactic acid bacteria in no more than 48 hours.

Because of its unique construction, Petrifilm Aerobic Count plates can differentiate important gas-producing organisms (heterofermenters) from non-gas-producing organisms (homofermenters). In fact, Petrifilm plates are more sensitive than the MRS tube method at detecting these destructive gas-producing organisms.

By using labor-saving Petrifilm plates, you'll have more time to monitor critical control points more frequently. The end result is better process control and a higher quality product.

# Lactic Acid Bacteria Detection.

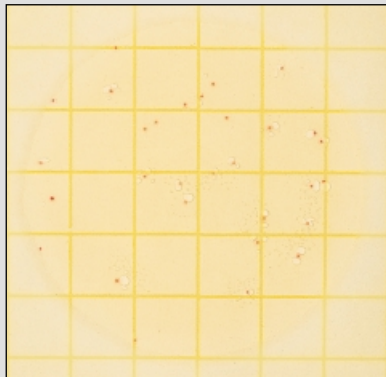
**Fast, accurate testing.** Only four simple steps are required.

1. Prepare sample using standard methods with MRS broth in final dilution step.
2. Inoculate and spread Petrifilm Aerobic Count plate with one mL of sample.
3. Incubate **anaerobically** at the appropriate temperature.
4. Count the colonies.

Because Petrifilm plates are consistent and easy-to-use, there's less chance for error when compared to other methods.

A built-in grid facilitates counting colonies, giving you fast, precise and consistent results.

3M offers the 3M™ Redigel™ MRS Test as an additional option for lactic acid bacteria testing.



Petrifilm Aerobic Count plates, in combination with MRS broth and anaerobic incubation, enhance the growth of homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria.

Lactic acid bacteria colonies are red to reddish-brown in color and may or may not be associated with gas bubbles.

**3M Reliability.** All Petrifilm plates are manufactured at an ISO 9002-certified site. Strict quality control procedures help reduce media variations. They are backed by 3M's commitment to quality products, customer service, and technical support. In addition, most Petrifilm plate methods have been collaboratively tested and are included in the *Official Methods of Analysis* of AOAC INTERNATIONAL.

There's a full line of Petrifilm plates to monitor conditions for quality: coliform count, rapid coliform count, high-sensitivity coliform count, aerobic count, E. coli/coliform count, yeast and mold count, Enterobacteriaceae count and rapid S. aureus count.

For detailed CAUTIONS, LIMITED WARRANTY and LIMITED REMEDIES, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see Product's package insert.

## Ordering Information

Product	Application	Catalog No.	Contents
Petrifilm Aerobic Count Plates (AC)	For lactic acid bacteria identification	6400 6406	100 plates 1000 plates

To order Petrifilm products in the U.S., call **1-800-328-1671**.  
Latin America /Africa and Asia Pacific regions, call **651-733-7562**.



### Microbiology Products

3M Center, Building 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000 USA  
1 800 228-3957  
www.3M.com/microbiology  
E-mail: microbiology@3M.com

### 3M Canada Inc.

Post Office Box 5757  
London, Ontario N6A 4T1  
Canada  
1 800 364-3577

### 3M Europe

Laboratoires 3M Santé  
Boulevard de l'Oise  
F-95029 Cergy-Pontoise Cedex  
France  
33 1 30 31-8571



40% Pre-consumer waste paper  
10% Post-consumer waste paper

Printed in U.S.A.  
Copyright © 3M (IPC) 2000.  
All rights reserved.  
70-2009-3271-6 (90.8) DPI



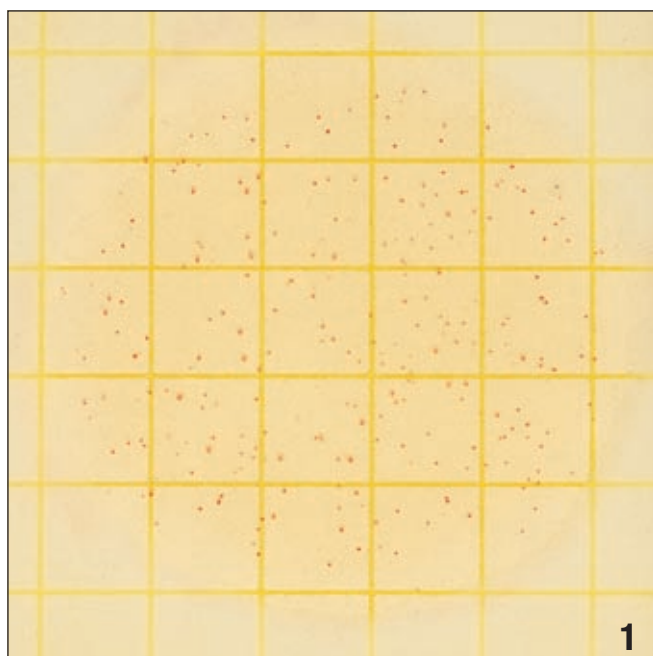
# Placas Petrifilm™

## para el Recuento de Aerobios

## como Método para Crecimiento de Bacterias Ácido-lácticas

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios cuando son usadas para el crecimiento de Bacterias Ácido-lácticas. Para mayor información contacte al representante autorizado de productos de 3M Microbiología más cercano.

Guía de interpretación

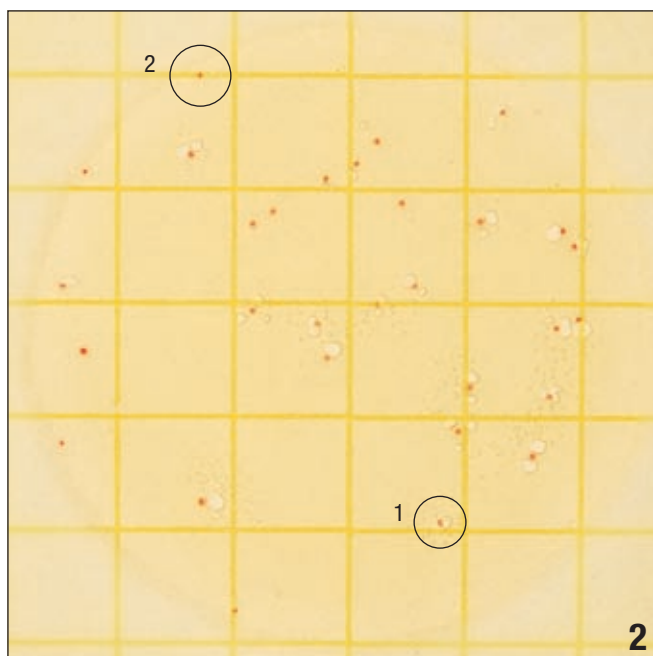


**Recuento de bacterias ácido-lácticas = 238**

Las Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios en combinación con el caldo MRS y una incubación anaerobia favorece el crecimiento de bacterias ácido-lácticas homofermentativas y heterofermentativas.

Las colonias son de un color rojo a café-rojizo, y pueden o no estar asociadas a burbujas de gas.

Las colonias en la Figura 1 son muestra de organismos homofermentativos (no productores de gas).



**Recuento de bacterias ácido-lácticas = 30**

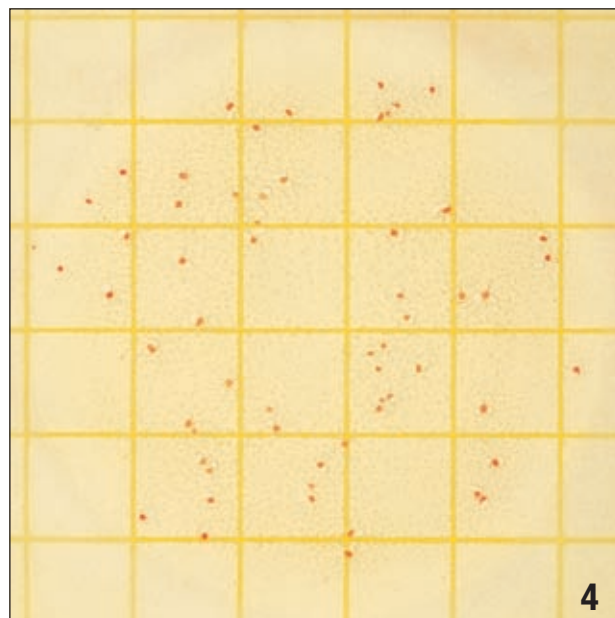
En la Figura 2 se muestran tanto organismos homofermentativos como heterofermentativos (productores de gas). El diluyente MRS provee un color de fondo oscuro que resalta la producción de gas de los organismos heterofermentativos (véase el círculo 1). Las colonias heterofermentativas a 0.6 cm (1/4 pulgada) aproximadamente del borde de la placa pueden no producir burbujas visibles de gas (véase el círculo 2).

# 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios como Método para Crecimiento de Bacterias Ácido-lácticas



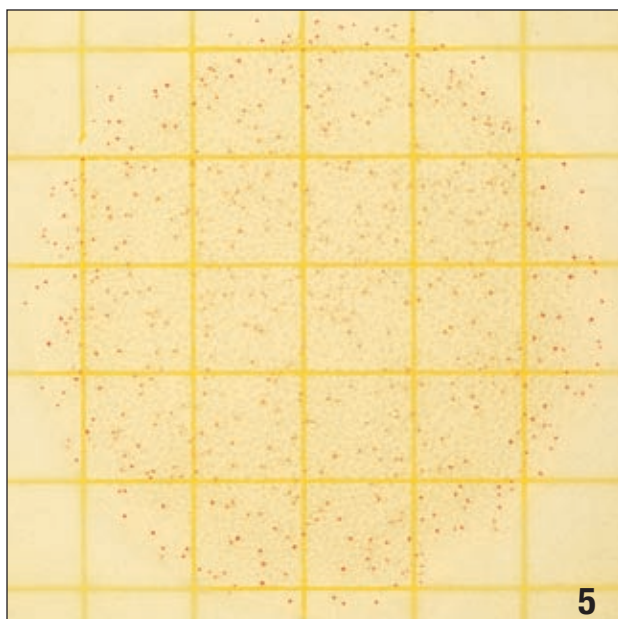
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = 0**

La Figura 3 muestra una Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios inoculada con caldo diluyente MRS. A esto se le denomina como "control de diluyente MRS". El diluyente MRS y la incubación anaerobia generan un área de crecimiento ligeramente sombreada u oscurecida con un halo pálido sobre la superficie de la placa.



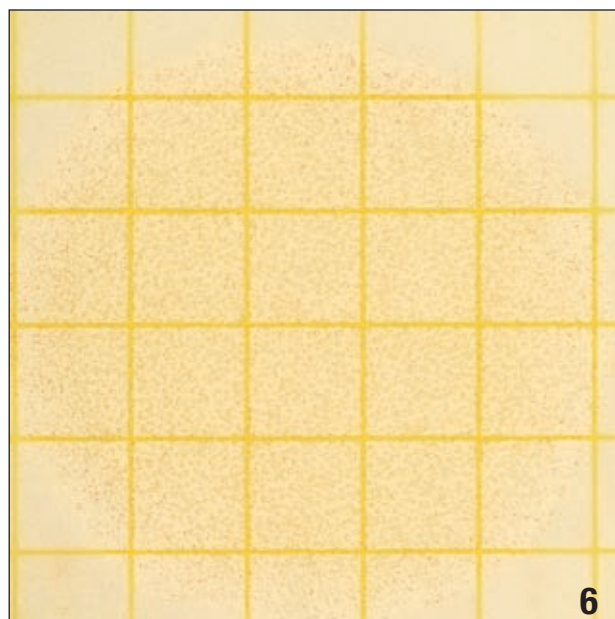
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = 60**

El rango de recuento deseable es de 25 – 250 colonias. Cuente todas las colonias sin importar su tamaño o coloración.



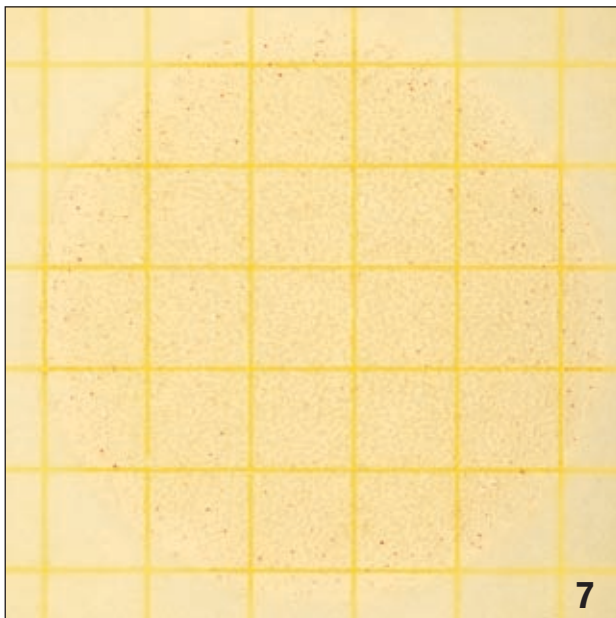
**Recuento estimado de bacterias ácido-lácticas = 440**

Cuando el número de colonias es mayor a 250, como se puede observar en la Figura 5, estime el recuento. Determine el promedio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplíquelo por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de inoculación de la Placa Petrifilm para Recuento de Aerobios es 20 cm<sup>2</sup>.



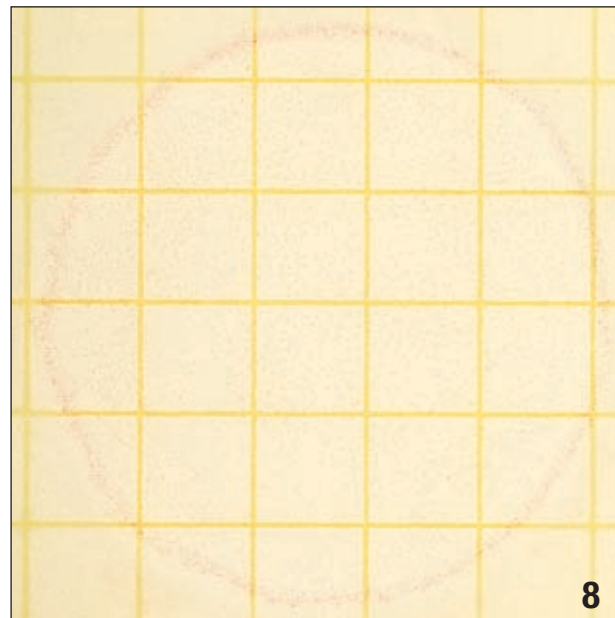
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC  
(Recuento estimado: 10<sup>6</sup>)**

Cuando las colonias son muy numerosas para contar (MNPC), el área total de crecimiento puede virar a rosa, como se muestra en la Figura 6. Compare las placas incubadas con el control de diluyente MRS, ya que el cambio en el color del fondo puede ser mínimo (Véase la Figura 3 para el control MRS). Puede ser necesario una dilución mayor de la muestra.



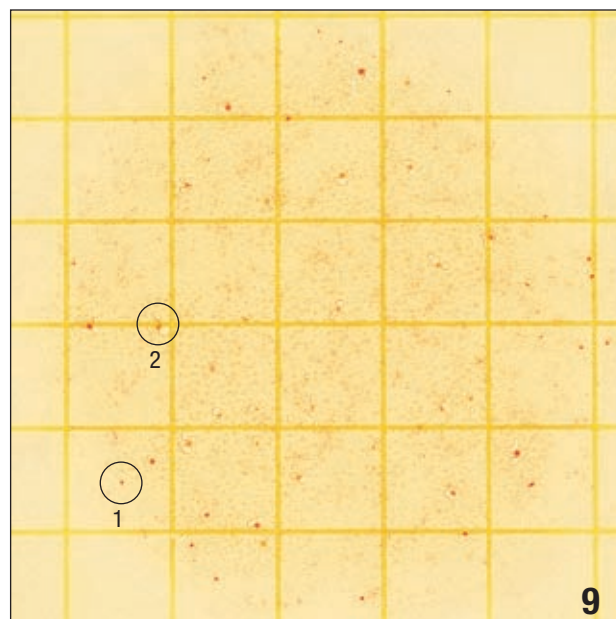
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC**  
(Recuento estimado:  $10^6$ )

Si usted observa detalladamente, notará pequeñas colonias punteadas en el centro y en el borde del área de crecimiento. Registre estos resultados como MNPC.



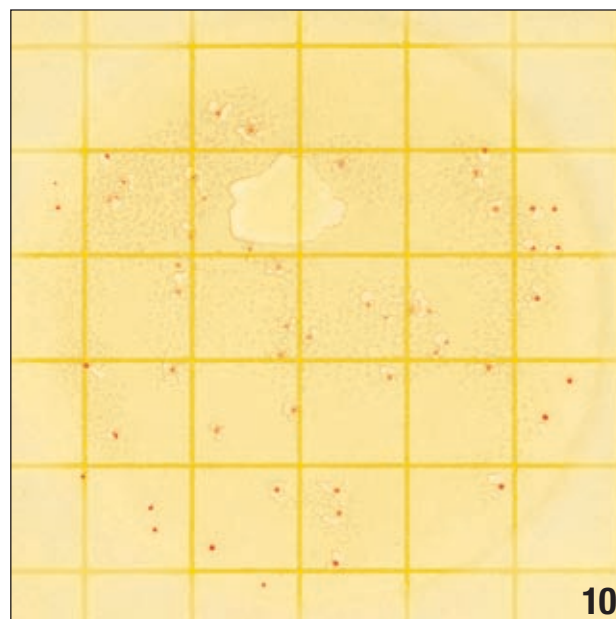
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC**  
(Recuento estimado:  $10^8$ )

En recuentos muy altos se podrán observar pequeñas colonias punteadas rodeando el área de crecimiento circular de la placa. Registre estos resultados como MNPC.



**Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC**

La Placa Petrifilm que se muestra en la Figura 9 es un ejemplo MNPC. Están presentes tanto organismos homofermentativos (no productores de gas) en el círculo 1, como heterofermentativos (productores de gas) en el círculo 2.



**Recuento de bacterias ácido-lácticas = 52**

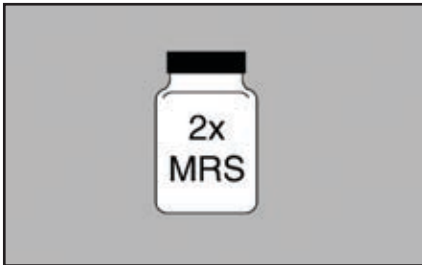
Las burbujas pueden ser resultado de una inapropiada inoculación de la Placa Petrifilm. Tienen forma irregular y no están asociadas a ninguna colonia.

## Procedimientos de prueba múltiple

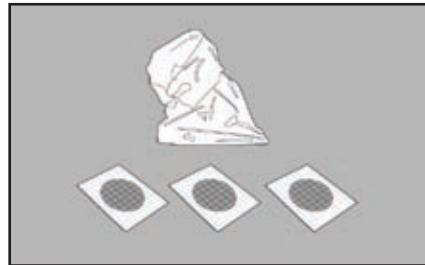
Si considera más conveniente usar una dilución 1:10 preparada con un diluyente estándar, en lugar de preparar una dilución nueva 1:10 específicamente para la evaluación láctica, puede utilizar el siguiente procedimiento de pruebas múltiple:

### Procedimiento de concentración doble MRS 2X

#### Preparación de la muestra



- 1 Prepare el caldo MRS en una concentración al doble (2X) de la cantidad sugerida por el fabricante y esterilícelo. Por ejemplo, si el caldo MRS se prepara agregando 55 gramos a 1 litro, agregue en su lugar 110 gramos a 1 litro.

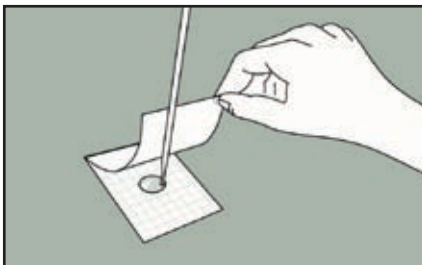


- 2 Prepare una dilución 1:10 de su muestra con el diluyente estándar. Utilice la dilución 1:10 para inocular otras pruebas microbianas.



- 3 Haga una dilución de 1:2 de su dilución 1:10 utilizando el Pipetor Electrónico 3M de 1 mL. Programe el pipetor para hacer diluciones de 1:2. Tome primero 0.5 mL del caldo de doble concentración MRS 2X, después tome 0.5 mL de la dilución 1:10. Esto dará como resultado una dilución 1:20 con una concentración fuerte del caldo MRS.

#### Inoculación



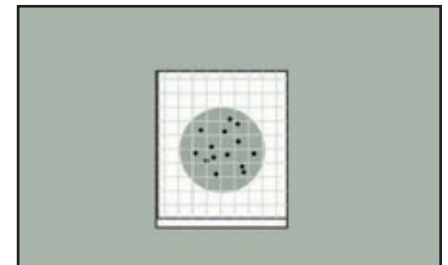
- 4 Inocule 1 ml de la muestra con dilución 1:20 (0.5 mL de la dilución 1:10 + 0.5 mL de la concentración 2X del MRS = 1:20).

#### Incubación



- 5 Incube las Placas Petrifilm **anaerobiamente**. Coloque las Placas Petrifilm con cara arriba, dentro de una jarra GasPak, en grupos de no más de 20 placas. Se pueden apilar varios grupos de 20 Placas si existe un separador rígido. Coloque la jarra dentro de la incubadora. Incube las placas a una temperatura de 30 - 35 °C (86 - 95 °F) por 48 ± 3h.

#### Interpretación



- 6 Las placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Cuente todas las colonias, y multiplique el recuento por el factor de dilución (20), para determinar el número de colonias por mL. Refiérase a la guía de interpretación para leer los resultados.

### Procedimiento de concentración cuádruple MRS 4X

1. Prepare el caldo MRS con una concentración de 4 veces (4X) la cantidad sugerida por el fabricante.
2. Prepare una dilución 1:10 con un diluyente estándar (11g/99 mL ó 25 g/225 mL). Inocule los 8 mL a otras pruebas microbiológicas.
3. Agregue el caldo concentrado MRS (4X) a la dilución existente de 1:10. Resultará una solución con una concentración a la mitad del caldo MRS.
  - Si la dilución involucra la adición de 11 gramos del producto a 99 mL del diluyente, inocule otras pruebas microbiológicas y luego adicione **18 mL** a la solución concentrada MRS 4X. Multiplique el recuento final por 11, para establecer el recuento por gramo.
  - Si la dilución involucra la adición de 25 gramos del producto a 225 mL del diluyente, inocule otras pruebas microbiológicas y luego adicione **41 mL** a la solución concentrada MRS 4X. Multiplique el recuento final por 11, para determinar el recuento por gramo.

# 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios

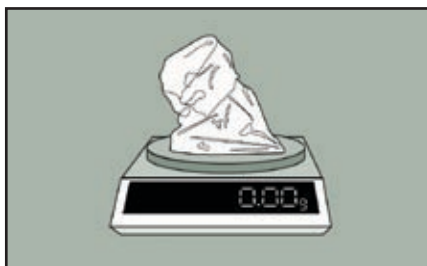
## Método para el Recuento de Bacterias Ácido-lácticas

Para información detallada sobre 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.

Las Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios pueden ser usadas para el recuento de bacterias ácido-lácticas en ciertos alimentos.

- La fabricación exclusiva de las Placas Petrifilm hace posible distinguir los organismos heterofermentativos productores de gas de los homofermentativos no-productores de gas.
- La adición de caldos MRS a la Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios, en combinación con la incubación anaerobia permiten el crecimiento de los *Lactobacillus* y de otras bacterias ácido-lácticas en productos de **alta concentración de ácido y azúcar**, productos crudos y procesados, así como pimientos, productos a partir de tomate, salsas y aderezos para ensaladas y en **productos cárnicos procesados**.

## Preparación de la muestra

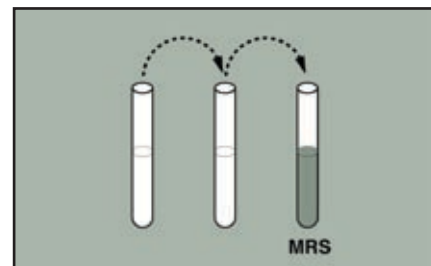


- 1** Prepare una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipeteo la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



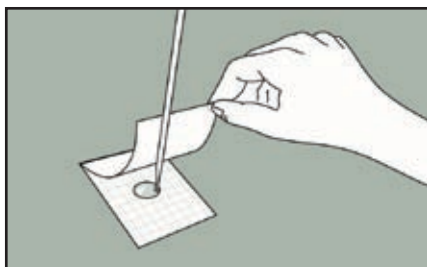
- 2** Adicione la cantidad apropiada de diluyente de caldo MRS. El caldo MRS deberá ser preparado según las instrucciones del fabricante. Si se van a realizar múltiples análisis de una dilución 1:10, puede ser más conveniente un **procedimiento de prueba múltiple**.

**No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.**



- 3** Si se necesitan diluciones múltiples, sólo se requiere usar caldo MRS como diluyente para el paso final. En las diluciones iniciales puede usarse diluyente estándar como: Tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal de peptona (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. Mezcle u homogenice la muestra por los métodos convencionales.

## Inoculación



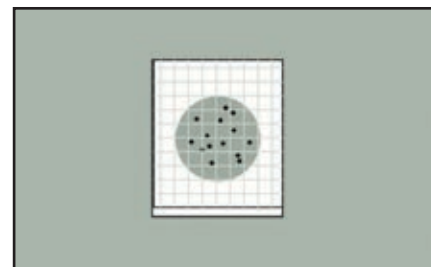
- 4** Con la Pipeta Electronica 3M™, o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, de acuerdo con las instrucciones en el inserto.

## Incubación



- 5** Incube las Placas Petrifilm **anaerobiamente**. Coloque las Placas Petrifilm con cara arriba dentro de una jarra GasPak, en grupos de no más de 20 placas. Se pueden apilar varios grupos de 20 Placas, si existe un separador rígido. Coloque la jarra dentro de la incubadora. Incube las Placas a una temperatura de 30 - 35 °C (86 - 95 °F) por 48 ± 3h.

## Interpretación



- 6** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Cuente todas las colonias y multiplique el recuento por el factor de dilución, para determinar el número de colonias por mL. Refiérase a la Guía de interpretación para leer los resultados.

# Diferencias entre bacterias productoras y no productoras de gas

El método de las Placas Petrifilm fue comparado al método de agar MRS<sup>a</sup> para la recuperación de bacterias ácido-lácticas en 161 productos alimenticios contaminados naturalmente. El método Petrifilm fue más sensible que el método en tubo MRS al identificar la producción de gas de heterofermentadores obligados y facultativos. La siguiente tabla proporciona ejemplos de la producción de gas a partir de algunos organismos evaluados.

Organismos	Producción de gas	
	Placas Petrifilm (48 horas)	Tubos MRS <sup>a</sup> (2-7 días)
<b>Heterofermentativos obligados:</b> (Estos organismos producen gas)		
<i>Lactobacillus fermentum</i> (2 cepas)	+	+
<i>Lactobacillus buchneri</i>	+	+
<i>Lactobacillus brevis</i>	+	+
<b>Heterofermentativos facultativos</b> (Éstos pueden o no producir gas)		
<i>Lactobacillus plantarum</i> (10 cepas)	+	+/- <sup>b</sup>
<i>Lactobacillus casei</i> (2 cepas)	+	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> (3 cepas)	+	-
<b>Homofermentativos obligados</b> (Éstos no producen gas)		
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	-	-
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	-	-
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	-	-
<i>Lactobacillus animalis</i>	-	-
<i>Lactobacillus farciminis</i>	-	-
<i>Lactobacillus helveticus</i>	-	-

a. MRS: Agar de Man, Rogosa y Sharpe es el medio común para detección de bacterias Ácido-lácticas en alimentos.

b. 8 de 10 cepas fueron negativas.

## Comentarios adicionales

- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: [www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección [serviciotecnomicro@mmm.com](mailto:serviciotecnomicro@mmm.com) o llame al 5255-5270-2223.



### 3M Microbiology

3M Center Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)

### 3M México

Av. Santa Fe 190  
Col. Santa Fe, CP 01210  
México, DF  
Tel. (55-52) 5270-2286  
01 800-712-2527  
[microbiologiamx@mmm.com](mailto:microbiologiamx@mmm.com)

### 3M Argentina

Olga Cossettini 1031  
Buenos Aires,  
CP C1107CEA  
Argentina  
Tel. (54-11) 4339-2400  
[microbiologia-ar@mmm.com](mailto:microbiologia-ar@mmm.com)



Petrifilm es una marca registrada de 3M.  
Impreso en México.  
Revisión: 2007-12  
Referencia: 70-2008-8099-8

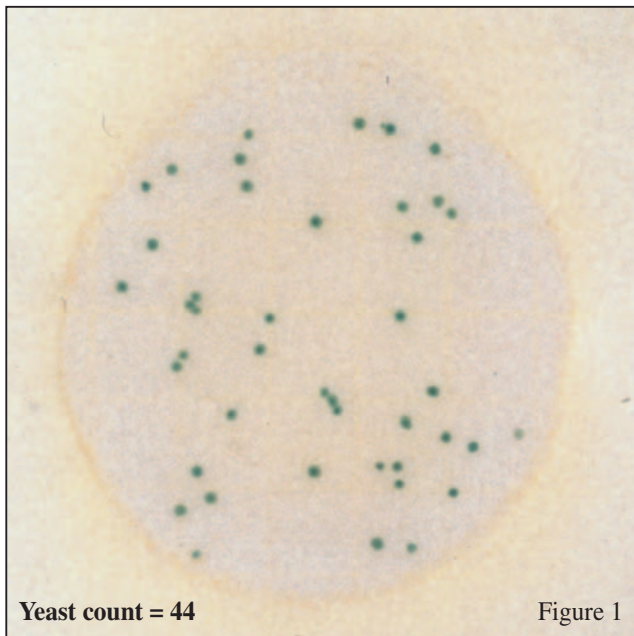
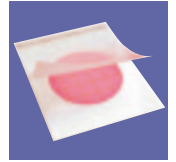




# Petrifilm™

## Levaduras y Mohos

Guía de Interpretación



Yeast count = 44

Figure 1

Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:

### LEVADURAS

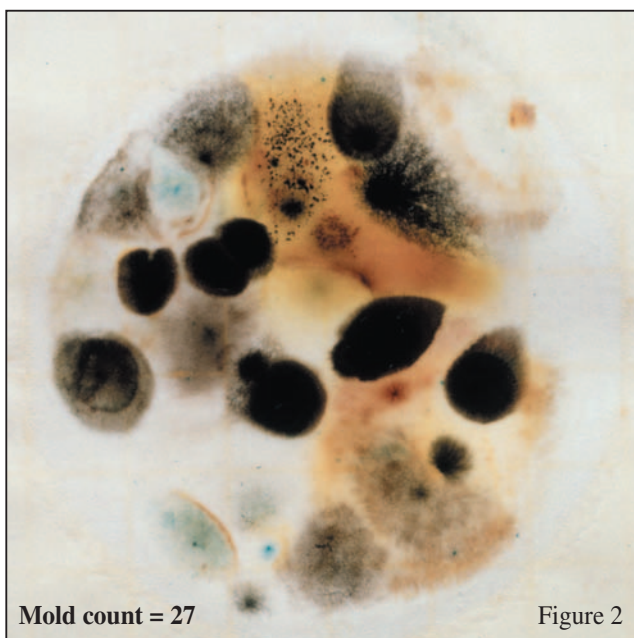
- Colonias pequeñas
- Las colonias tienen bordes definidos
- De color rosa-tostado a azul-verdoso
- Las colonias pueden aparecer alzadas ("3D")
- Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia

### MOHOS

- Colonias grandes
- Las colonias tienen bordes difusos
- Color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos)
- Las colonias son planas
- Generalmente con un foco en el centro de la colonia

Las colonias en la figura 1 son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, de color azul-verdoso, con bordes definidos y sin foco (**Recuento de levaduras = 44**).

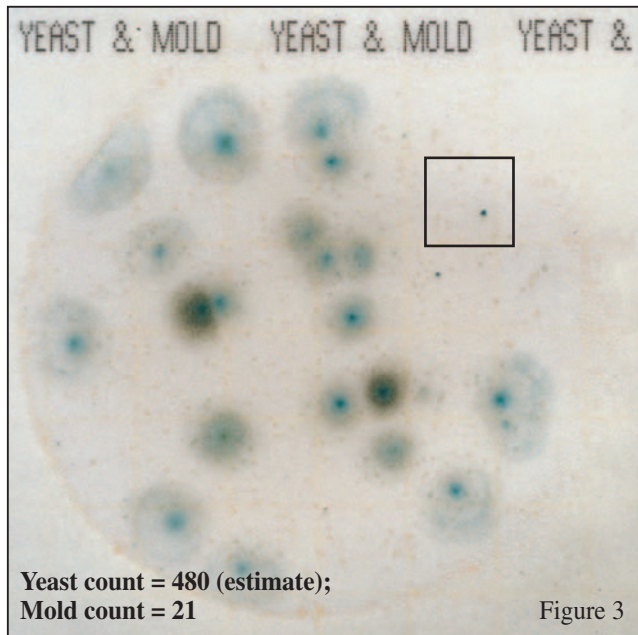
Las colonias de la figura 2 son ejemplos de mohos característicos: grandes, colonias de color variable, con bordes difusos y un foco en el centro (**Recuento de mohos = 27**).



Mold count = 27

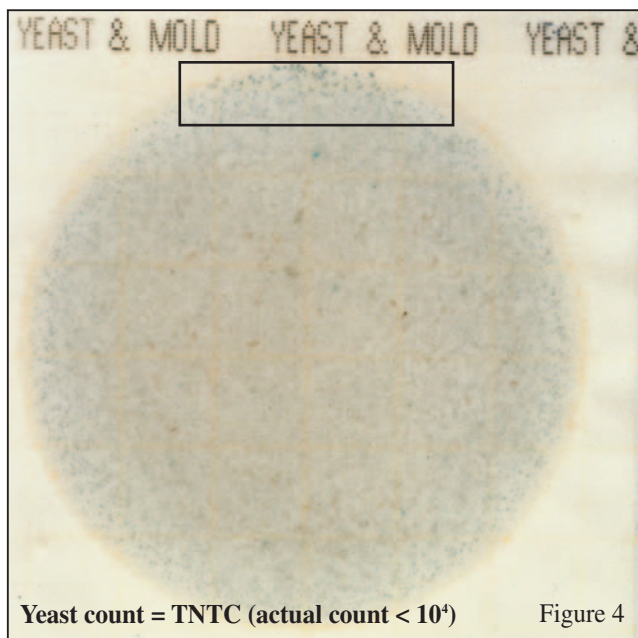
Figure 2

## Levaduras



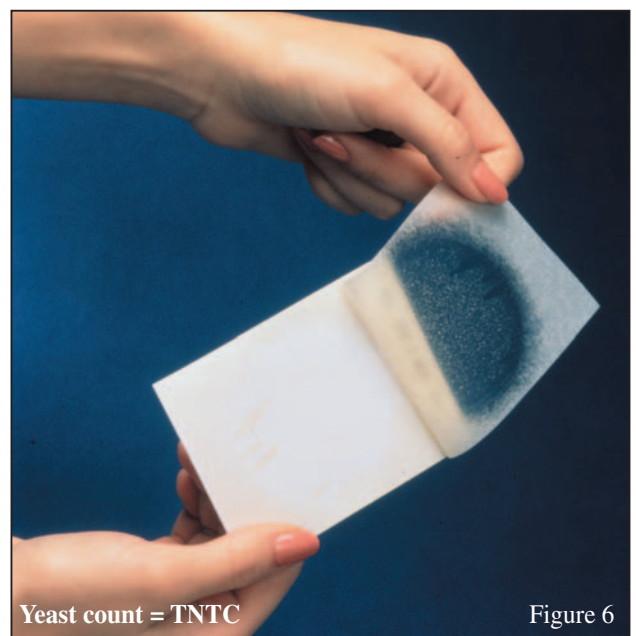
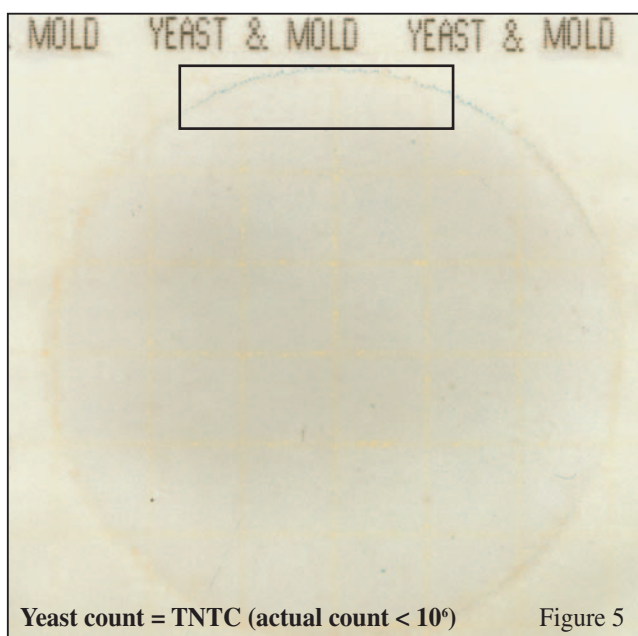
La placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 3 contiene un número fácilmente contable de mohos, (colonias grandes, verdes, con bordes difusos y un foco central) y un gran número de colonias de levaduras. Las colonias de levaduras son pequeñas, de color tostado, con bordes definidos y sin foco. Cuando el número de colonias es más de ISO, se debe hacer una estimación: determinar el número medio de colonias en un cuadrado (1 cm<sup>2</sup>) y multiplicar por 30 para obtener el recuento total por placa. El área inoculada de una placa Petrifilm Levaduras y Mohos es de aproximadamente 30 cm<sup>2</sup> (**Recuento de levaduras = 480 (estimado) ; Recuento de mohos = 21**).

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 4 contiene un elevado número de colonias de levaduras, demasiado numeroso para ser contado (TNTC). Las colonias pequeñas y azules en el borde de la placa la diferencian de una placa de mohos TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>6</sup>**).

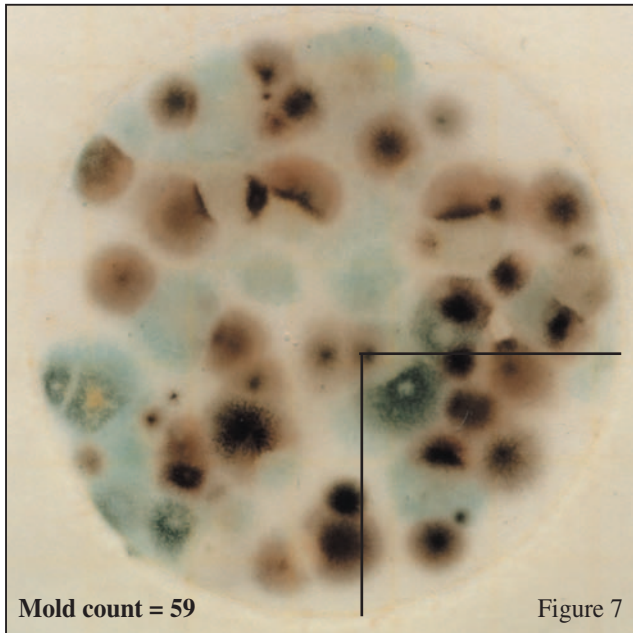


Algunas veces las placas Petrifilm Levaduras y Mohos con un número alto de colonias de levaduras pueden parecer que tengan un crecimiento azul sólo en los bordes (figura 5). También es un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10<sup>6</sup>**).

Si las placas Petrifilm Levaduras y Mohos parecen no tener crecimiento, levantar el film superior (figura 6). Si hay presentes muchas levaduras, se verán colonias blancas en el gel. Se anota como un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC**).



# Mohos



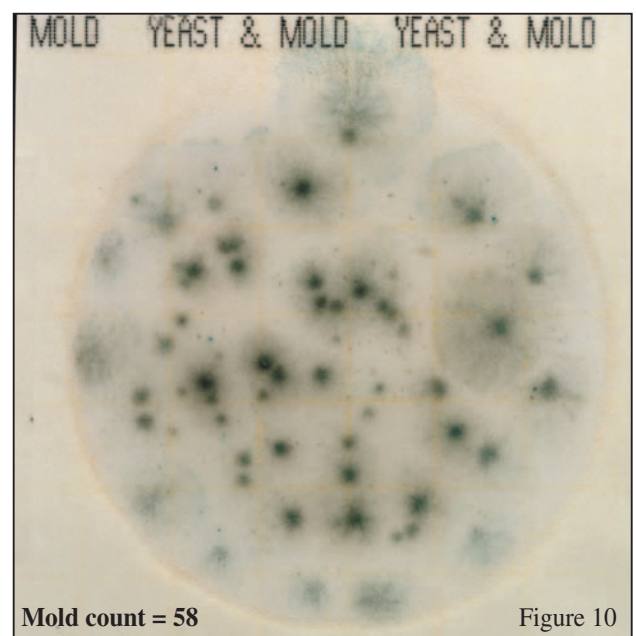
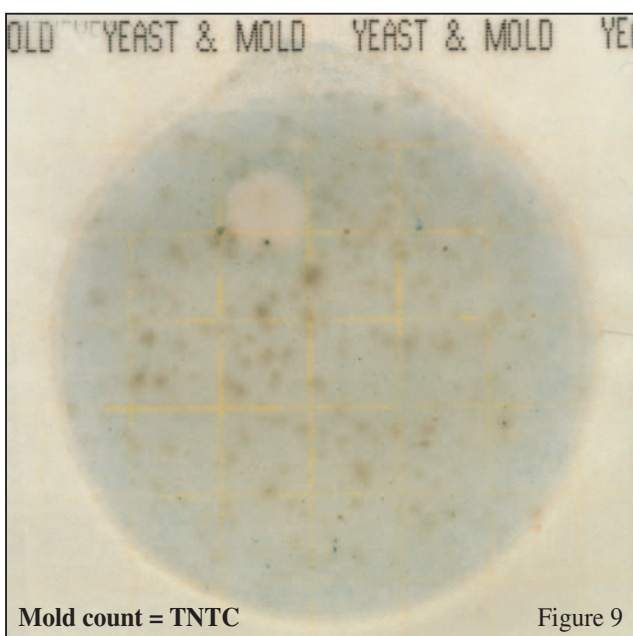
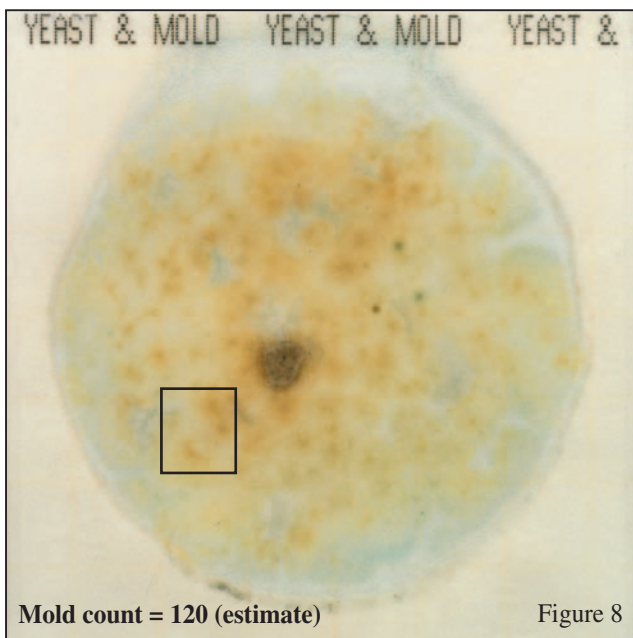
Las colonias de mohos en la placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 7 son colonias de pigmentación variable, con bordes difusos y un foco central. Son grandes, empezando a esporular y superponerse entre sí en la placa. Para facilitar el recuento dividir la placa en secciones y buscar focos que permitan distinguir colonias individuales. El recuadro muestra 15 mohos (**Recuento de mohos = 59**).

Notar la pigmentación variable con bordes vellosos en la placa de la figura 8, causado por el elevado número de colonias de mohos y la esporulación que ha tenido lugar. Estimar el número contando los focos. En el cuadrado que se muestra hay 4 colonias (**Recuento de mohos = 120 (estimado)**).

Igual que con todos los métodos de recuento en placas, las placas con muchas colonias pueden mostrar características de colonias atípicas. Es importante hacer una correcta dilución para asegurar un recuento exacto.

Las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 9 y 10 son diluciones 1 : 10 y 1 : 100, respectivamente, del mismo producto. Las colonias de la figura 9 son pequeñas, pálidas y numerosas, haciendo el contaje difícil de estimar. Hay una burbuja como artefacto (**Recuento de mohos = TNTC**).

La dilución del producto para obtener un recuento de colonias en el margen deseado ( 15-150 colonias) facilita el recuento. Los mohos de la figura 10 son grandes, con bordes difusos y focos centrales (**Recuento de mohos = 58**). El apiñamiento de las colonias de la placa en la figura 9 impide su crecimiento típico.



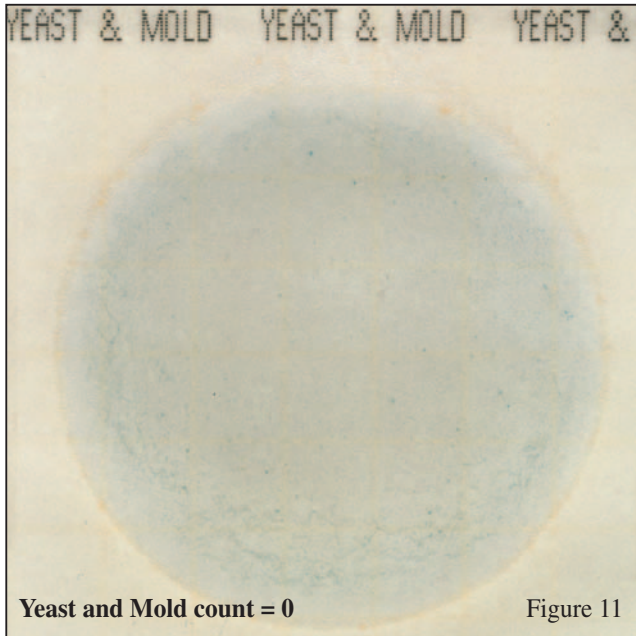


Figure 11

## Reacción de la fosfatasa

Todas las células vivas contienen el enzima fosfatasa. En presencia de la fosfatasa el indicador de las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos se activa y las colonias de levaduras y mohos se colorean de azul.

Algunos alimentos crudos o procesados que contienen células vivas (y por tanto, fosfatasa) pueden dar reacción a color azul. A veces pueden observarse 2 tipos diferentes de reacciones de color de los productos: un color azul uniforme del medio o puntos azules intensos (se ven a menudo en especias o productos granulados).

La reacción de color por la fosfatasa natural en un producto se puede distinguir de las colonias de levaduras y mohos mediante una o varias de las siguientes técnicas:

**1) DILUCION :** Si es posible, una mayor dilución eliminará el color azul del medio, o reducirá el número de puntos azules.

**2) SOBRENADANTE DE LA PLACA:** Mezclar la muestra y dejar reposar 3-5 minutos para eliminar partículas grandes del producto que pueden a menudo causar las reacciones de color de tipo puntiforme.

**3) TEMPERATURA DE INCUBACION :** Incubar las placas a la temperatura apropiada:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las reacciones enzimáticas (fosfatasa) ocurren más rápidas al incrementar la temperatura.

**4) CONTROL:** Leer las placas Petrifilm Levaduras y Mohos tras 24-28 horas. Observar cualquier cambio de color que pueda ser de ayuda en la interpretación final.

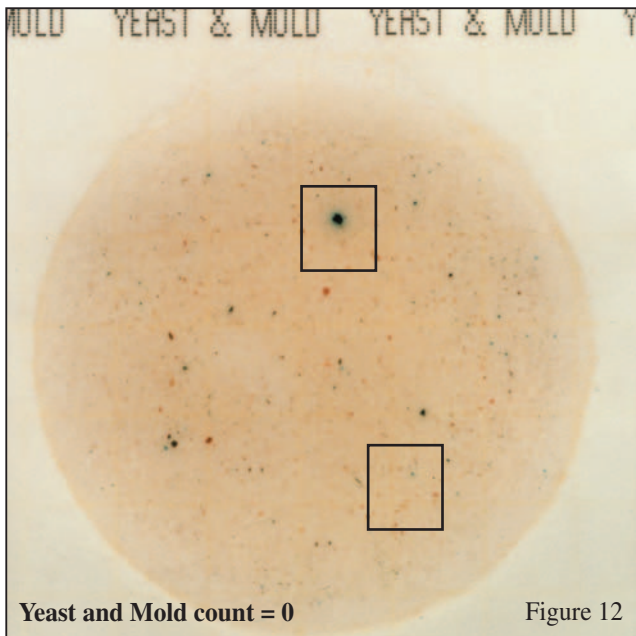


Figure 12

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 11 es un ejemplo de una placa con un color uniforme del medio causado por la "fosfatasa natural" presente en la muestra analizada. El aspecto "granuloso", se debe a las partículas de producto que se hallan en la dilución inoculada. Para distinguirlo de un recuento de levaduras o mohos TNTC, observar los bordes de la placa (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

La figura 12 es un ejemplo de reacción con puntos azules, que se pueden ver con la "fosfatasa natural" en algunos alimentos. Observar su forma: pequeñas, puntiformes o irregulares y el color azul intenso, que a menudo colorea los bordes de algunas de las partículas más grandes (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

Otro ejemplo de reacciones que dan puntos de color azul se muestra en la figura 13. Los puntos son muy brillantes, pequeños y de forma irregular. Las colonias de levaduras son pequeñas, azul-verdosas, con bordes definidos. Las colonias de mohos son grandes, de pigmentación variable, con bordes difusos y foco en el centro (**Recuento de levaduras = 7 ; Recuento de mohos = 7**).

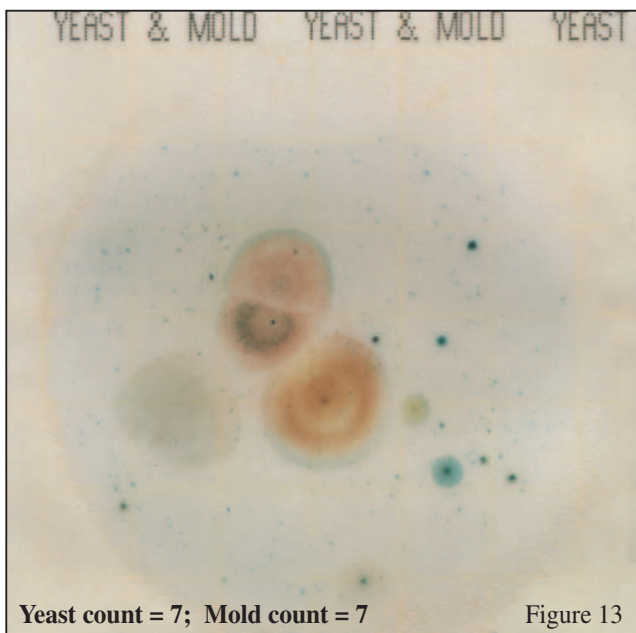
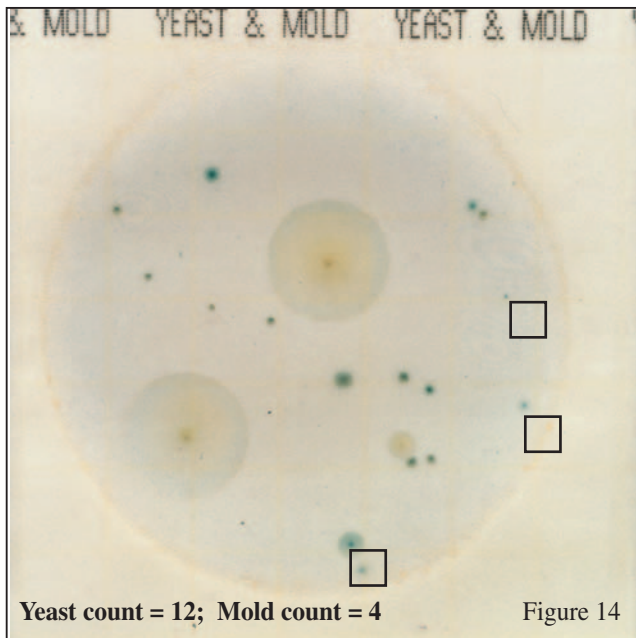


Figure 13



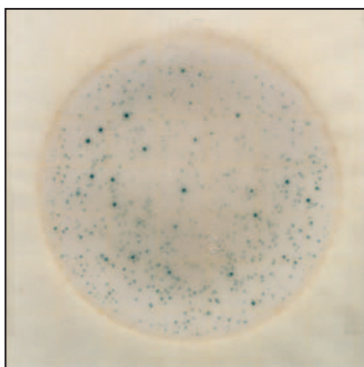
La figura 14 tiene el mismo producto que el de la figura 13, inoculado tras dejar reposar 3-5 minutos las partículas del producto. Todavía hay algunas manchas puntiformes (encuadradas) causadas por las partículas del producto, pero la mayor parte de la interferencia del producto se ha eliminado (**Recuento de levaduras = 12 ; Recuento de mohos = 4**).

## Tiempo y temperatura

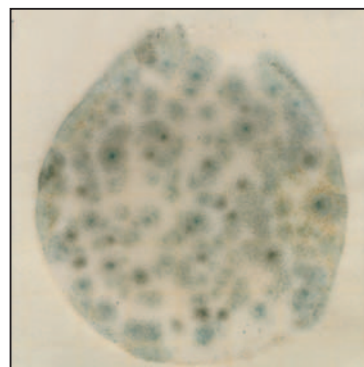
El tiempo y temperatura adecuada de incubación es importante para asegurar el crecimiento de los tipos de levaduras y mohos que pueden causar alteraciones. Estas levaduras y mohos crecen generalmente despacio, y son sensibles a altas temperaturas, sin tener en cuenta el método usado.

Para asegurar un crecimiento adecuado, incubar las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y leer las placas a los **3 y 5 días**. Como que las colonias de mohos crecen entre los films, la lectura de las placas Petrifilm no originará colonias adicionales a partir de nuevas esporas. La incubación de las placas Levaduras y Mohos a una

temperatura más alta no implica un resultado más rápido, sino que puede significar un resultado inexacto como se muestra en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 15 y 16. Son placas duplicadas con el mismo producto y dilución, pero incubadas a diferentes tiempos y temperaturas.



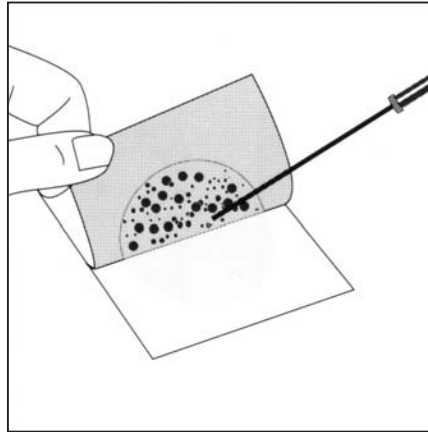
**Recuento de levaduras = TNTC**  
Incubado 3 días a  $35^{\circ}\text{C}$



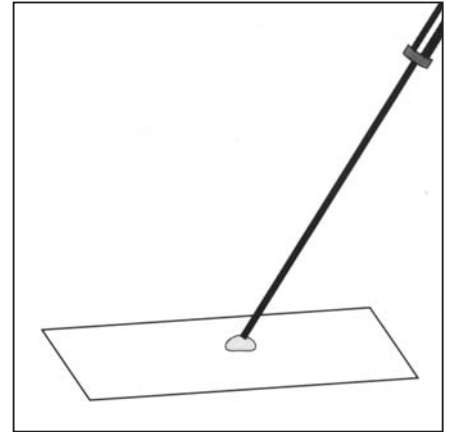
**Recuento de levaduras = TNTC**  
(recuento actual  $\geq 10^7$ )  
**Recuento de mohos = 120 (estimado)**  
Incubado 5 días a temperatura ambiente

# Diferenciación Microscópica

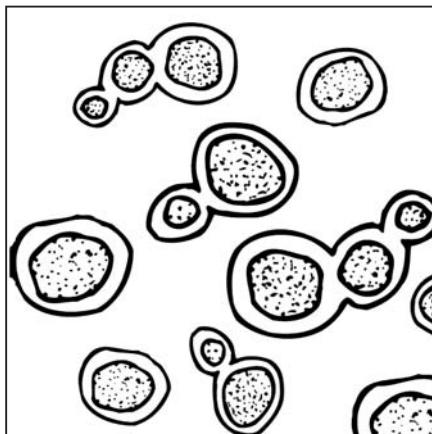
Las levaduras y mohos son organismos muy diversificados, y no siempre pueden ser distinguidos unos de otros macroscópicamente. Como cualquier otro método, se puede hacer una diferenciación con un examen microscópico.



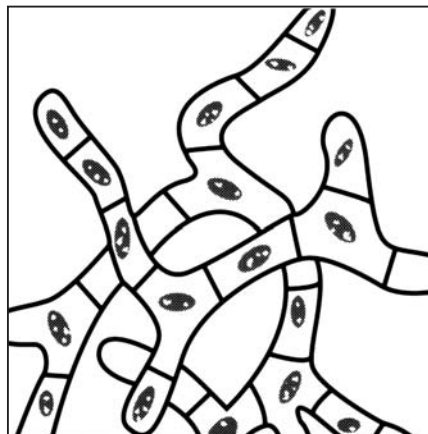
Para aislar las colonias para identificación levantar el film superior y coger la colonia del gel.



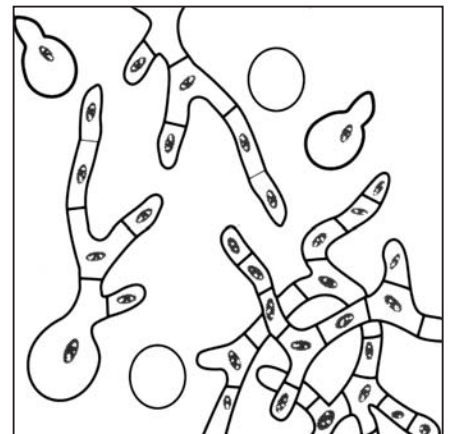
Transferir la colonia a una gota de agua destilada sobre un portaobjetos, cubrirla con un cubreobjetos, y observar con aceite de inmersión.



Buscar **Levaduras** de forma oval y en gemación.



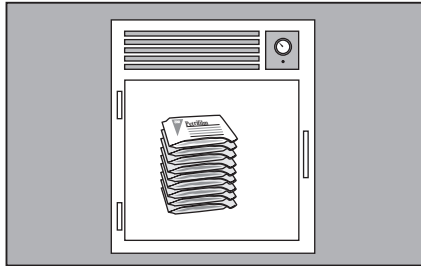
**Mohos** -filamentos ramificados y filiformes (micelios)



**Mohos** en varios estadios de germinación.



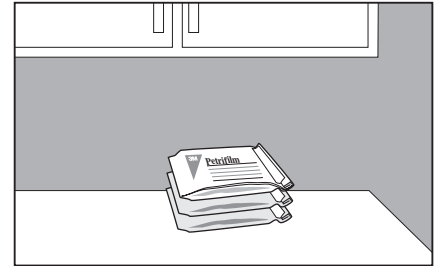
## Almacenamiento



**1** Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

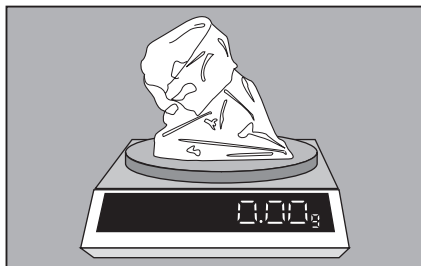


**2** Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

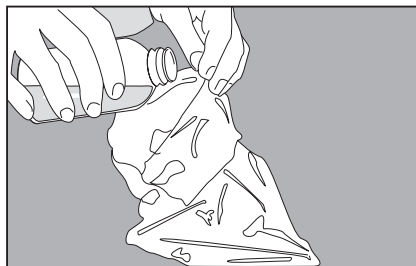


**3** Mantener las bolsas cerradas de nuevo a ~21 cC, a <50% HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en 1 mes desde su apertura.

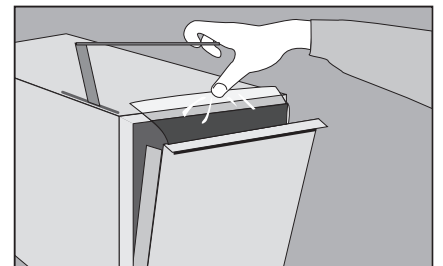
## Preparación



**4** Preparar una dilución del producto alimenticio a 1:10 o superior. Pesarse o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución, o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

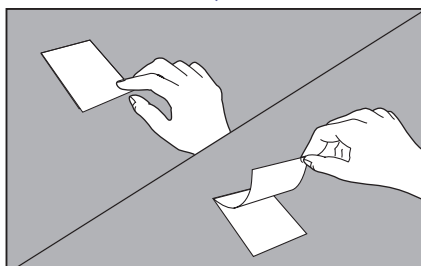


**5** Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Pueden ser los métodos standard de tampón fosfato, agua peptonada al 0,1 %, triptona sal, agua destilada, solución salina fosfato tamponada o tampón de Butterfield. No utilizar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

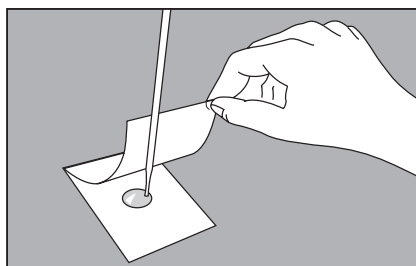


**6** Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales. Si se requiere una sensibilidad mayor con productos lácteos o zumos consultar el folleto para Petrifilm en productos lácteos y zumos.

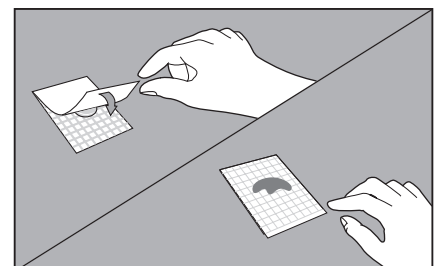
## Inoculación



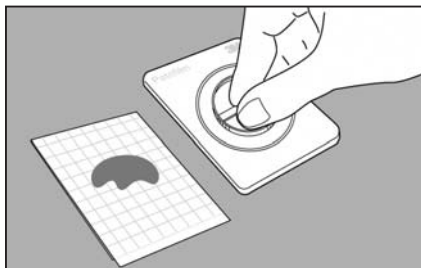
**7** Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



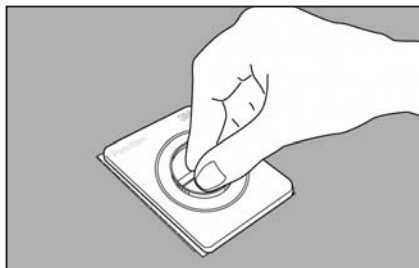
**8** Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 ml. de muestra en el centro del film inferior.



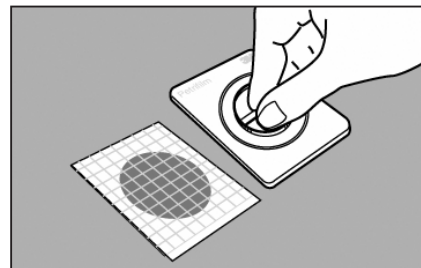
**9** Dejar caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire.



**10** Sujetando el aplicador por la barrita soporte, colocar el aplicador para Petrifilm levaduras y mohos sobre la placa Petrifilm.

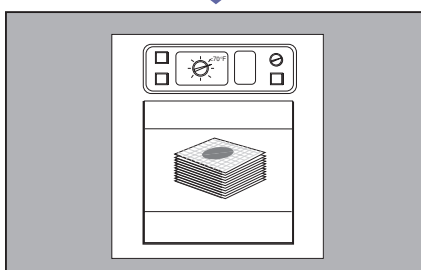


**11** Ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



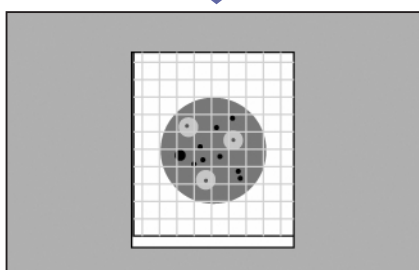
**12** Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

## Incubación



**13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3-5 días.

## Iterpretación



**14** Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias standard tipo Quebec o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados consultar la Guía de Interpretación.

## Comentarios adicionales

- los pasos 9 y 10 son únicos para las placas Petrifilm levaduras y Mohos.
- Nota: recordar inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

Date	Version
Février 2004	1.0

**3M**

Microbiology Products  
Laboratoires 3M Santé

Boulevard de l'Oise  
F - 95029 Cergy Pontoise Cedex  
Tél. 01 30 31 85 77

For Europe, please contact :  
Laboratoires 3M Santé  
Tél. : (33) 1 30 31 85 71  
Fax : (33) 1 30 31 85 78







# Productividad Maximizada

de los técnicos

## Guía de Interpretación

La placa recuento rápido de Mohos y Levaduras 3M™ Petrifilm™ es un sistema de medio de cultivo preparado que contiene nutrientes complementados con antibióticos, un agente gelificante en frío, soluble en agua y un sistema indicador que facilita el recuento de mohos y levaduras.



## Comparación de colonias de Levaduras y Mohos

Para diferenciar las colonias en la placa de recuento rápido de mohos y levaduras de 3M™ Petrifilm™, buscar uno o más de las siguientes características:

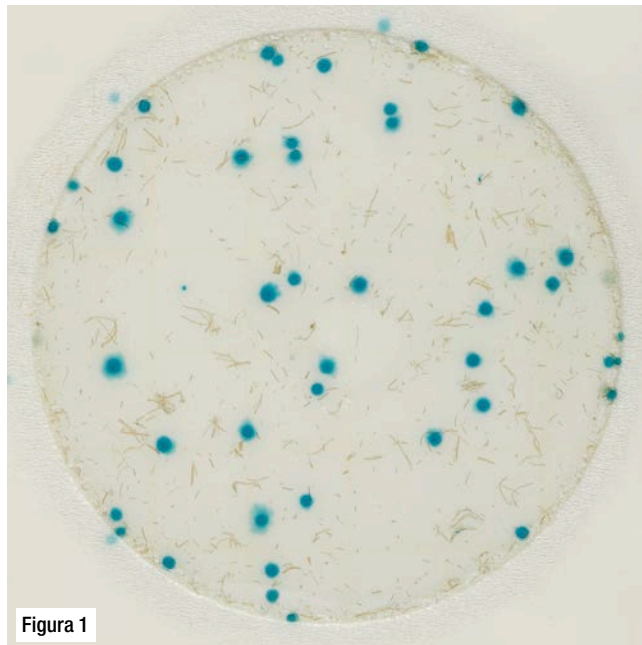


Figura 1

### Recuento levaduras: 44

Las colonias son ejemplos de una **levadura** característica: pequeñas colonias, las colonias tienen bordes definidos, de color rosa-tostado a azul-verdoso, las colonias pueden aparecer elevadas (3 dimensiones) y las colonias tienen un color uniforme.

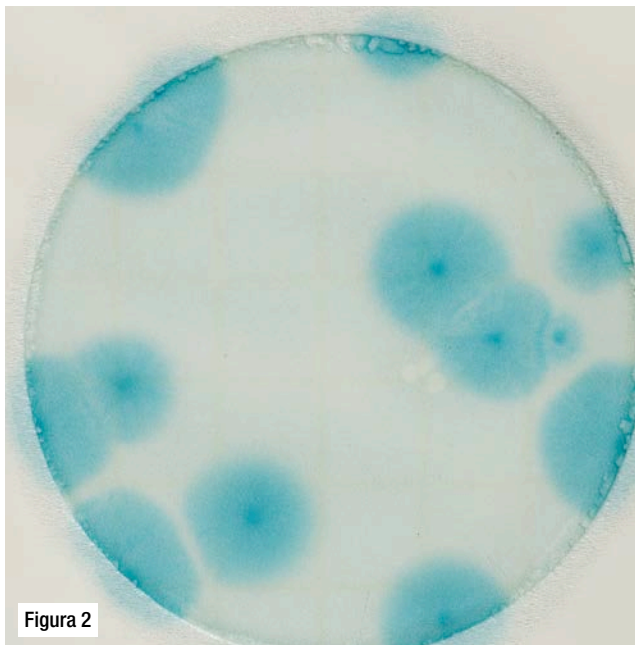


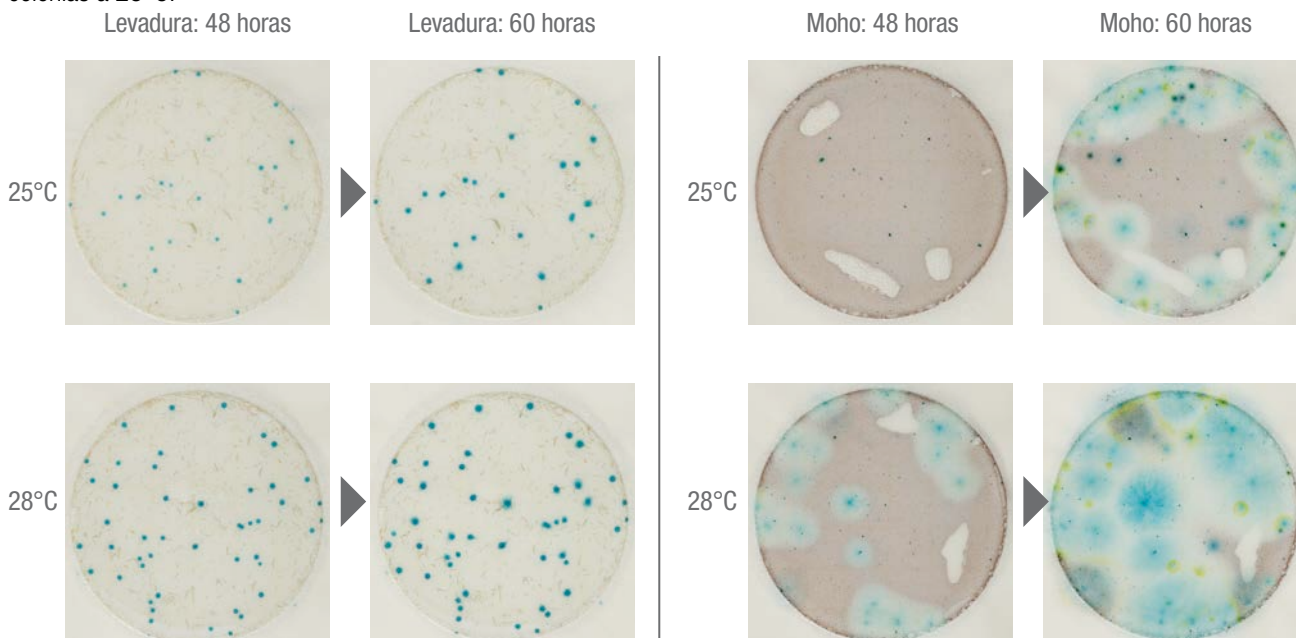
Figura 2

### Recuento de Mohos: 12

Las colonias son ejemplos de un **moho** característico: colonias grandes, con bordes difusos, color variable azul verdoso a variable con la incubación prolongada, las colonias aparecen planas y con un centro oscuro con borde difuso.

## Crecimiento y formación de colonias

Incubar la placa recuento rápido de Levaduras y Mohos 3M™ Petrifilm™ a 25–28°C durante 48±2 horas\* en posición horizontal cara arriba, apiladas en no más de 40. Algunos tipos de alimentos pueden presentar un crecimiento más claro y la formación de colonias a 28°C.



\* Si aparecen colonias débiles, deje un período adicional de 12 horas de tiempo de incubación para mejorar la interpretación. La presencia de pequeñas burbujas de aire no impedirá que el recuento sea preciso.

# Reacción enzimática

Ocasionalmente las muestras de alimentos pueden mostrar interferencias en la placa de recuento Rápido de Levaduras y Mohos 3M™ Petrifilm™, por ejemplo

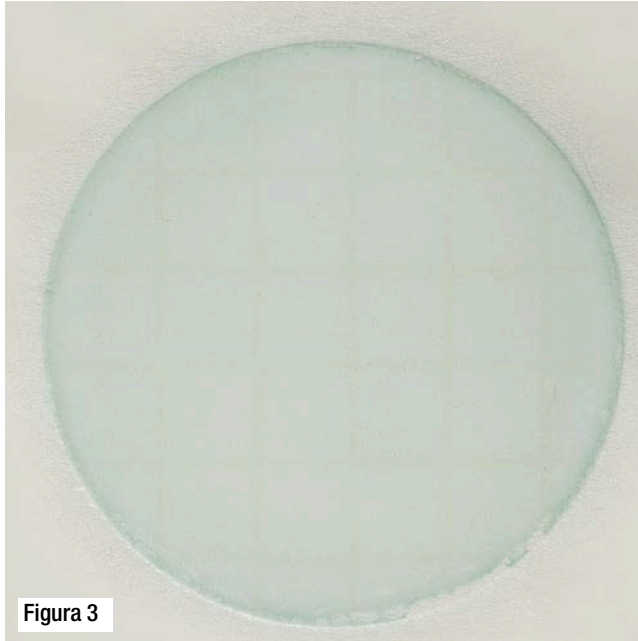


Figura 3

Recuento: 0

Un color de fondo azul uniforme (a menudo visto en los organismos utilizados en los productos cultivados) no debe ser considerado como TNTC (too numerous to count) (incontable).



Figura 4

Recuento: 5

Un color azul uniforme de fondo no impedirá que el recuento sea exacto.

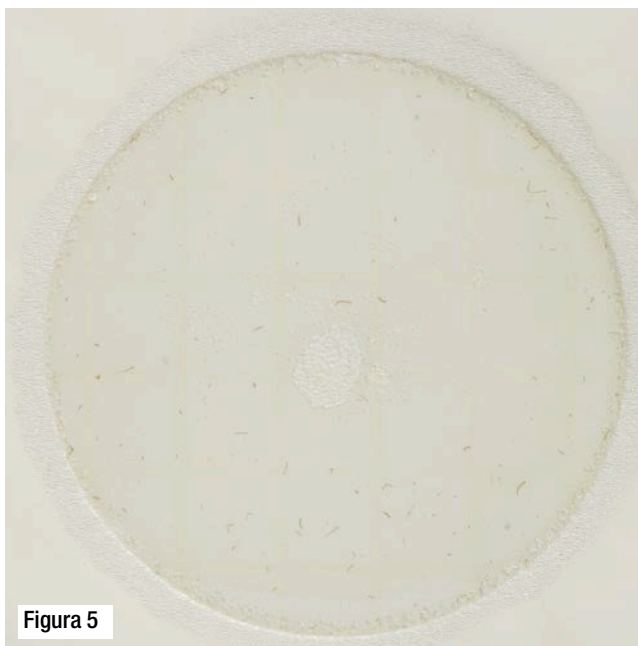


Figura 5

Recuento: 0

Placa sin una reacción enzimática.

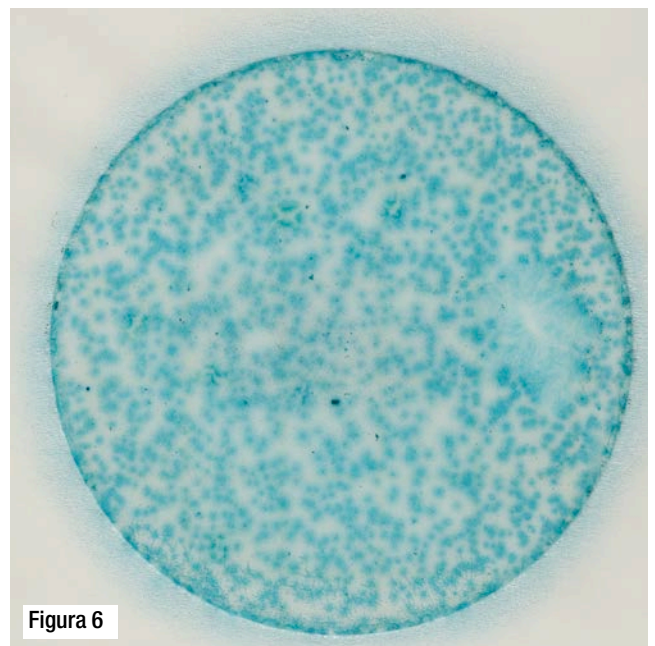
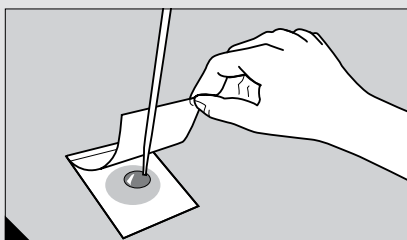


Figura 6

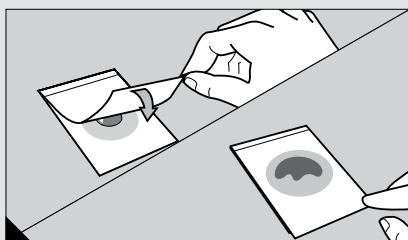
Recuento: TNTC

Algunos alimentos que contienen altos niveles de enzimas pueden causar un color azul uniforme de fondo. El crecimiento de la colonia todavía será visible si se produce una reacción enzimática

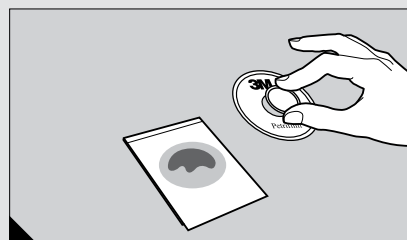
## Procedimiento inoculación



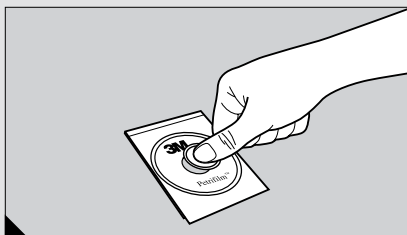
**1** Coloque la placa de recuento rápido de levaduras y mohos 3M™ Petrifilm™ sobre una superficie plana y nivelada. Levante la película superior y con la pipeta perpendicular distribuir 1 ml.



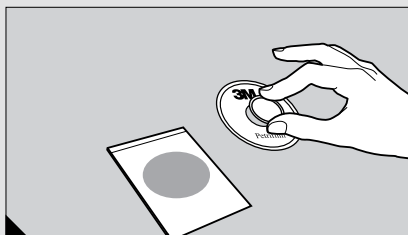
**2** Deje caer la película de arriba sobre la muestra.



**3** Coloque el aplicador refer. 6425 3M™ Petrifilm™ plano u otro aplicador en el centro de la placa de recuento rápido de levaduras y mohos 3M™ Petrifilm™.



**4** Presione firmemente en el centro de la barra de separación del aplicador para distribuir la muestra uniformemente. Extender el inóculo sobre la totalidad de la placa de recuento rápido de levaduras y mohos 3M™ Petrifilm™ por el área de crecimiento antes de que se forme el gel. No deslice la barra del aplicador a través de la película.

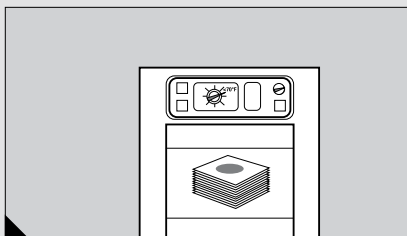


**5** Levantar el aplicador de la placa de recuento rápido de levaduras y mohos 3M™ Petrifilm™, dejándola en reposo durante al menos 1 minuto para que solidifique el gel.

### Usar diluyentes adecuados:

Tampón fosfato de Butterfield (ISO 5541-1), agua de peptona tamponada (ISO), 0,1% de agua peptona, diluyente sal peptona, solución salina (0,85-0,90%), caldo de Letheen bisulfito-libre o agua destilada. No utilice diluyentes que contienen citrato, bisulfito o tiosulfato con la placa rápida de Mohos y Levaduras de 3M™ Petrifilm™, ya que pueden inhibir el crecimiento. Si se indica en el procedimiento estándar tampón de citrato, sustituirlo con 0,1% de agua de peptona, calentada a 40-45° C.

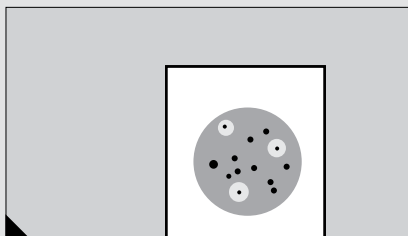
## Incubación



**6** Incubar las placas rápidas de mohos y levaduras de 3M Petrifilm a 25 a 28° C durante 48 ± 2 horas\* en una posición horizontal con la cara arriba, apiladas pero no más de 40 placas.

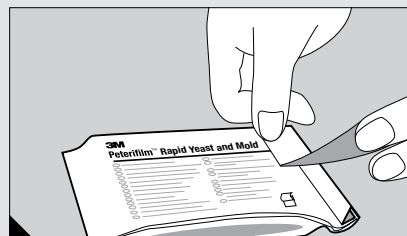
\*Si aparecen colonias débiles, deje un período adicional de 12 horas de tiempo de incubación para mejorar la interpretación.

## Interpretación



**7** Leer los resultados de levaduras y mohos a las 48 horas. Ciertas levaduras y mohos de crecimiento más lento pueden ser débil a las 48 horas. Para mejorar la interpretación de estos mohos deje un periodo adicional de 12 horas de tiempo de incubación.

## Almacenamiento



**8** Selle doblando el extremo de la bolsa y cierre con cinta adhesiva. Para evitar la exposición a la humedad, no refrigerar las bolsas abiertas. Almacene las bolsas abiertas y selladas en un lugar seco y fresco (20-25 ° C / <60% HR) durante no más de 4 semanas.



3M™ Petrifilm plates are a convenient and reliable way to detect environmental microbial contamination. The construction of Petrifilm plates allows them to be used for direct contact or swab contact monitoring procedures, as well as air sampling procedures.

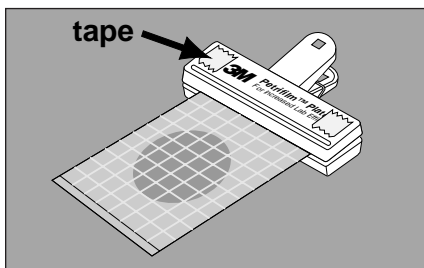
## Hydration Procedures for Air or Direct Contact Methods

Petrifilm Plate	Procedure	Hydration*
Aerobic Count Coliform Count E. coli/Coliform Count Rapid Coliform Count Enterobacteriaceae Count	Air or Direct Contact Method	Hydrate plates with 1 mL of appropriate sterile diluent. Allow hydrated plates to remain closed for a minimum of 1 hour before use.
Staph Express Count	Air or Direct Contact Method	Hydrate plates with 1 mL of appropriate sterile diluent. Refrigerate hydrated plates for a minimum of 3 days before using.
Yeast and Mold Count Rapid S. aureus Count	Air Method Only	Hydrate plates with 1 mL of appropriate sterile diluent. Allow hydrated plates to remain closed for a minimum of 1 hour before use.
Yeast and Mold Count	Direct Contact Method Only	Hydrate yeast and mold plates with 1 mL of sterile <b>letheen broth only</b> . Place letheen inoculated plates into sealed bag and incubate at 30-37°C (86-99°F) for 24 hours. After incubation, store sealed bag of plates in refrigerator for a minimum of 4 hours to allow gel to solidify. Petrifilm plates hydrated with letheen will have a mottled appearance.

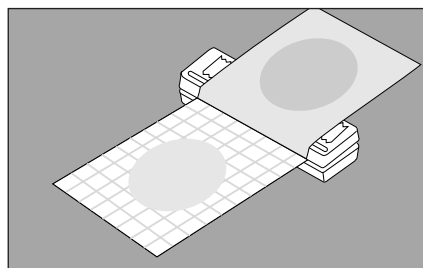
**Hydrated Plates Storage Procedures:** Store all hydrated Petrifilm plates in sealed pouch or plastic bag. Protect plates from light and refrigerate at 2-8°C (36-46°F). Hydrated Petrifilm Aerobic Count plates may be refrigerated up to 14 days, all other hydrated Petrifilm plates may be refrigerated up to 7 days.

*\*See relevant Petrifilm plate package insert for details and listing of appropriate diluents. If sanitizers are present, use letheen broth for both the direct contact and swab contact methods.*

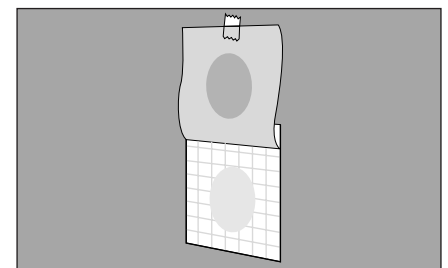
## Air Sampling Method



- 1 Use a Petrifilm plate clip in combination with double-sided tape. Position hinged edge of hydrated Petrifilm plate into clip. Apply a small piece of double-sided tape to each end of the clip handle.

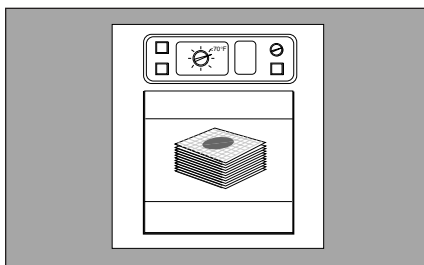


- 2 **Without touching circular growth area**, lift top film portion of hydrated plate and peel back until outer portion of film adheres to the tape. Make sure top film lies flat across clip.



- 3 Double-sided tape can also be used with or without clip for positioning of Petrifilm plates for air sampling.

Expose Petrifilm plate to air for no longer than 15 minutes. Remove tape and rejoin the top and bottom films.



- 4 Incubate and enumerate as directed in package inserts. Refer to 3M *Petrifilm Plate Interpretation Guide* when enumerating results.

### Air Sampling Method Results

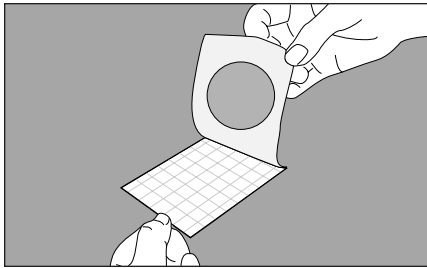
Petrifilm plate result is count/**40 cm<sup>2</sup>** for:

- Aerobic Count
- Coliform Count
- E.coli/Coliform Count
- Rapid Coliform Count
- Enterobacteriaceae Count

Petrifilm plate result is count/**60 cm<sup>2</sup>** for:

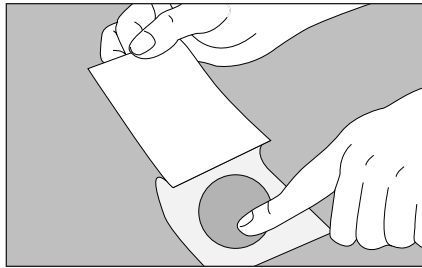
- Yeast & Mold Count
- Staph Express Count
- Rapid S. aureus Count

# Direct Contact Method



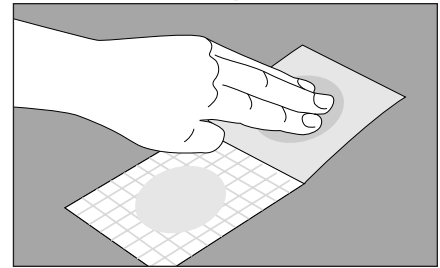
**1** Using a hydrated Petrifilm plate, carefully lift top film. Avoid touching circular growth area. Gel will adhere to top film. Go to step 2a for the surface method or 2b for the finger method.

## Surface



**2a** Allow the circular gel portion of the top film to contact the surface being tested. Gently rub fingers parallel to the surface over the outer film side of the gelled area to ensure good contact with surface. Rejoin the top and bottom films.

## Finger

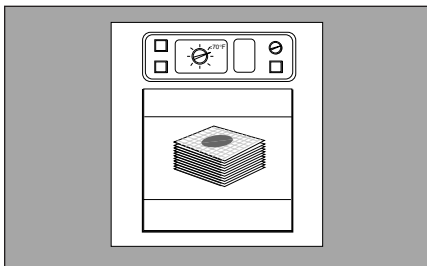


**2b** Touch finger or portion of hand to hydrated gel area. Rejoin the top and bottom films. Wash hands after finger or hand plating.

All Petrifilm plates except Yeast and Mold Count plates and the High-Sensitivity Coliform Count plates can be used for finger or hand plating. The Rapid *S. aureus* Count plates are not suitable for finger, hand or direct contact method plating.

### Petrifilm Yeast and Mold Count Plates

On occasion, the gel may split (adhering to both the top and bottom films) when the top film is lifted. If this happens, the plate with gel splitting may still be used for air testing, but is not recommended for direct contact use.



**3** Incubate and enumerate as directed in package inserts. Refer to 3M *Petrifilm Plate Interpretation Guide* when enumerating results.

### Direct Contact Method Results

Petrifilm plate result is count/**20 cm<sup>2</sup>** for:

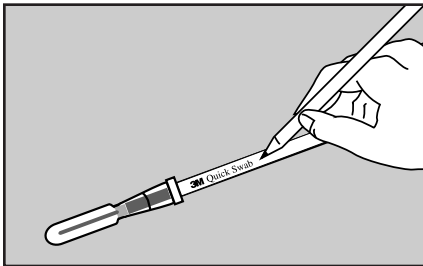
- Aerobic Count
- Coliform Count
- Enterobacteriaceae Count
- E.coli/Coliform Count
- Rapid Coliform Count

Petrifilm plate result is count/**30 cm<sup>2</sup>** for:

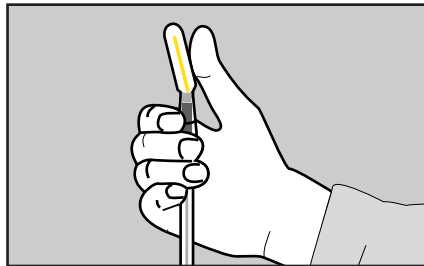
- Yeast & Mold Count
- Staph Express Count

# Swab Method

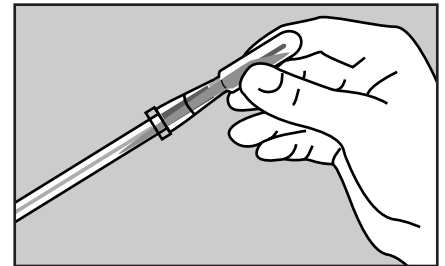
## 3M Quick Swab (wet swabbing method)\*



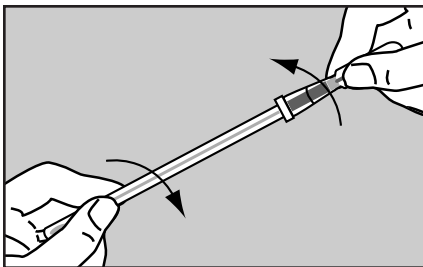
1 Remove the desired quantity of 3M Quick Swabs from the resealable plastic bag. Label the swab.



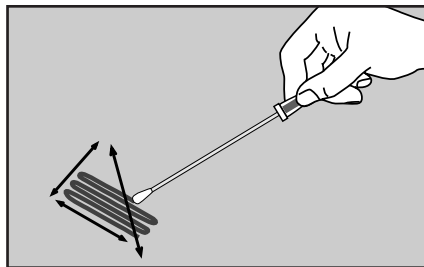
2 **At the sampling location**, prepare the swab by holding it with the bulb end near your thumb. Bend the red snap valve at a 45° angle until you hear the valve break. This allows the letheen broth to flow into the tube and wet the swab head.



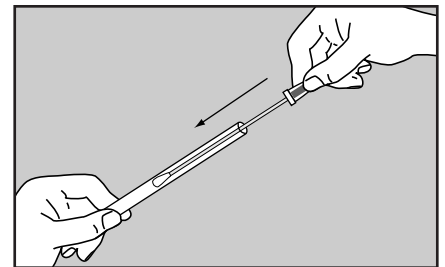
3 Squeeze the bulb of the swab to transfer all of the letheen broth to the tube end of the swab.



4 Twist and pull apart the bulb end of the swab from the tube end of the swab which contains the letheen broth.



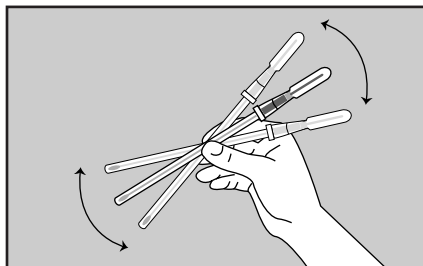
5 Hold the swab handle to make a 30° angle with the surface. Firmly rub the swab head slowly and thoroughly over the desired surface area. Rub the head of the swab three times over the surface, reversing direction between alternating strokes.



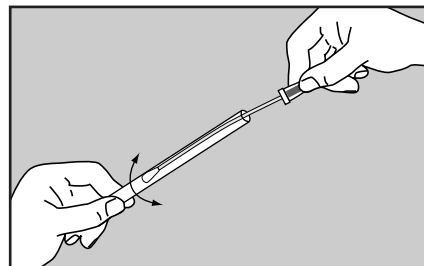
6 After sampling is complete, securely insert the swab head back into the swab tube and transport to the lab for plating. Plate the letheen broth swab solution as soon as possible.

## Inoculation Procedures

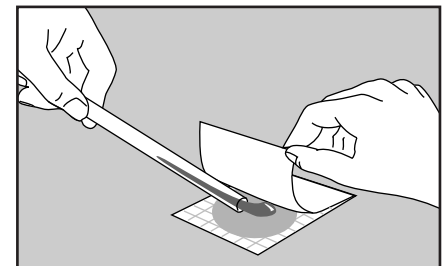
### 1 mL



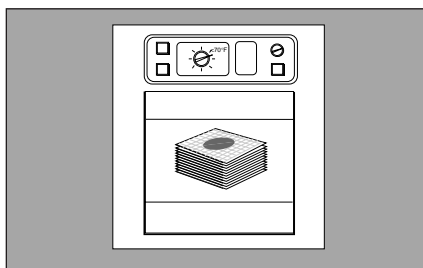
7 In the lab, vigorously shake or vortex the swab for 10 seconds, to release bacteria from the swab tip.



8 Wring out the contents of the swab tip by pressing and twisting the swab against the wall of the tube.



9 Carefully pour entire contents of the tube onto a 1mL 3M Petrifilm plate. Follow current industry standards for disposal.



10 Incubate and enumerate as directed in package inserts. Refer to 3M *Petrifilm Plate Interpretation Guide* when enumerating results.

### Swab Contact Method Results

Petrifilm plate count x volume of diluent (1 mL) = total count/area sampled

#### Example

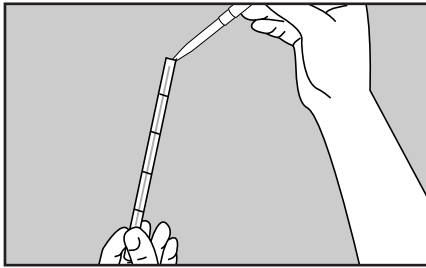
If area tested was 5 cm<sup>2</sup> and number of colonies on plate after incubation was 100, your result would be: 100 CFU x 1 mL = 100 CFU/5 cm<sup>2</sup>

\* For 3M Quick Swab dry swabbing method, see Quick Swab package insert.

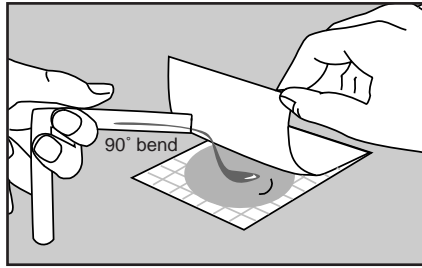
## Inoculation Procedures (continued)

### Multi-mL

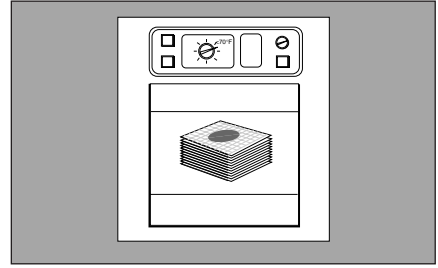
- 1 Complete steps 1-6 for the wet swabbing method from previous page.



- 2 Remove the swab from the tube. Add 1-3 mL's of sterile diluent to the swab tube. Replace the swab in the tube. Complete steps 7 & 8 of the 1 mL Inoculation Procedure from previous page.



- 3 Use your thumb to bend the swab tube at a 90° angle at the highest mark that has diluent above it. Pour off a 1 mL aliquot onto a Petrifilm plate. Repeat onto new plate until the entire sample is used.



- 4 Incubate and enumerate as directed in package inserts. Refer to *3M Petrifilm Plate Interpretation Guide* when reading results.

#### Quick Swab Multi-mL Method Results

Petrifilm plate count x volume of diluent (1 mL + added) = total count/area sampled

#### Example

If area tested was 5 cm<sup>2</sup>, number of mLs added was 2 (for total of 3) and number of colonies after incubation was 100, your result would be: 100 CFU x 3 mL = 300 CFU/5 cm<sup>2</sup>

### Alternative Swab Method

Petrifilm plates can be used with other swabbing techniques, however the rinse solution used must be compatible with Petrifilm plates. (See Petrifilm plate package insert for listing of appropriate diluents).

## Additional Information

3M Microbiology offers a full line of products to accomplish a variety of your microbial testing needs. For more product information, visit us at [www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology).

- Questions? U.S., call **1-800-328-6553**. To order Petrifilm plates, call **1-800-328-1671**.
- Canada, call **1-800-563-2921** for technical service.
- Latin America / Africa and Asia Pacific regions, call **1-651-733-7562**.

For detailed WARNING, CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see Product's package insert.

## 3M

#### 3M Microbiology

3M Center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1-800-228-3957  
microbiology@mmm.com  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

#### 3M Canada

Post Office Box 5757  
London, Ontario N6A4T1  
Canada  
1-800-563-2921

#### 3M Europe

Laboratoires 3M Santé  
Boulevard de l'Oise  
95029 Cergy Pontoise Cedex  
France  
33 1 30 30 85 71



Recycled Paper  
40% pre-consumer  
10% post-consumer

Printed in U.S.A.

© 3M 2003  
70-2008-2412-9 (33.5)ii