



Petrifilm®

Guía de Interpretación

La Placa de recuento de coliformes/*E. coli* Neogen® Petrifilm® es un sistema de medio de muestra ya preparada de cultivos, que contiene nutrientes biliares rojos violetas (VRB, por su sigla en inglés), un activo gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de glucuronidasa, 5 bromo- 4 chloro-3- indolyl-D- glucuronide (BCIG, por su sigla en inglés) y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. Las Placas de recuento de coliformes/ *E. coli* Neogen® Petrifilm® se usan para la enumeración de *Escherichia coli* (*E. coli*) y coliformes en las industrias de alimentos y bebidas.



EC

Placa de recuento de coliformes/*E. coli*

En el Manual de análisis bacteriológico (BAM, por su sigla en inglés) de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por su sigla en inglés), se definen a los coliformes como bacilos Gram negativos, que producen ácidos y gases a partir de la fermentación láctica.

La mayor parte de la *E. coli* (alrededor del 97 %) produce beta-glucuronidasa, que produce un precipitado azul relacionado con la colonia e indicado por las colonias azules a roja-azules. La película superior atrapa los gases producidos por los coliformes fermentados en lactosa y *E. coli*. Cerca del 95 % de la *E. coli* produce gases, como lo indican las colonias asociadas con los gases atrapados (dentro de, aproximadamente, un diámetro de la colonia). Las colonias azules sin gases no son contadas como *E. coli*. * Otras colonias de coliformes son rojas y están altamente relacionadas con los gases atrapados. El recuento total de coliformes comprende tanto las colonias rojas y azules asociadas con los gases.*

La mayoría de las cepas de *E. coli* O157 son inusuales, por ejemplo, son glucuronidasa negativas; no producen un color azul y no son detectadas por las Placa Neogen® Petrifilm® para recuento de coliformes/ *E. coli*.

*Validado a través del programa AOAC® Official Methods of AnalysisSM. Las definiciones de *E. coli* y de los coliformes varían según el método de referencia. En especial, la confirmación de *E. coli* puede variar por país.

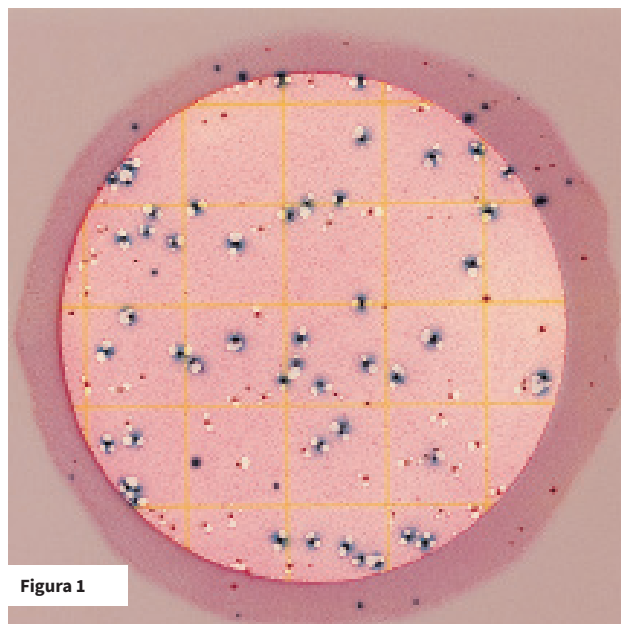


Figura 1

Recuento de *E. coli* = 49 (colonias azules con gases)
Recuento total de coliformes = 87
(colonias rojas y azules con gases)

Todas las figuras han sido contadas conforme a AOAC® Official Methods of AnalysisSM #998.08 y #991.14. La confirmación de *E. coli* puede variar por país.

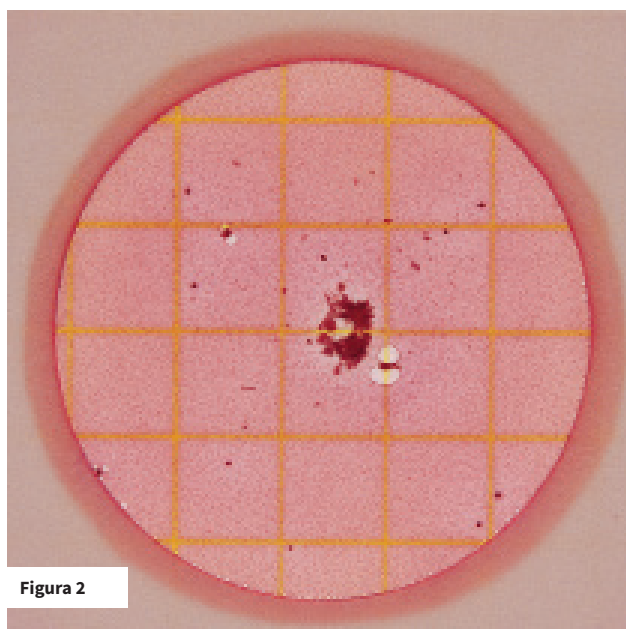


Figura 2

Recuento total de coliformes = 3 (colonias rojas con gases)

Las partículas de alimentos son de forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas.

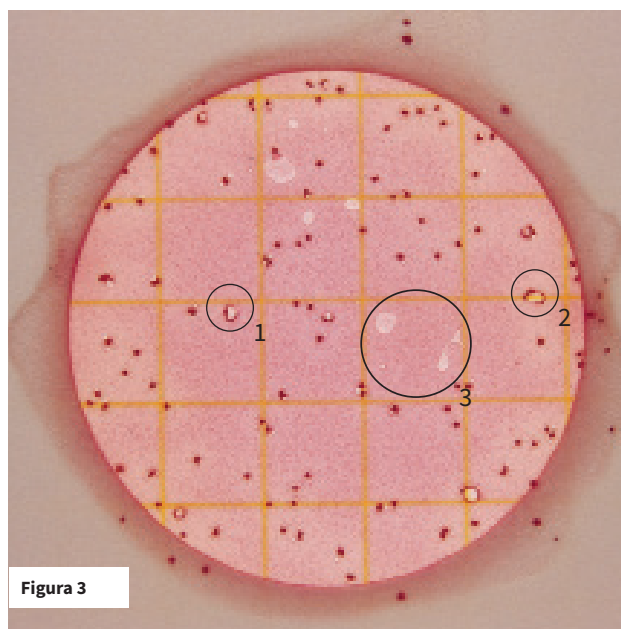


Figura 3

Recuento estimado total de coliformes = 150

El límite recomendado de recuento en una Placa Neogen® Petrifilm® de recuento de coliformes/*E. coli* es de 150 colonias.

Los patrones de las burbujas pueden variar. El gas puede alterar la colonia, de modo que "delinea" la burbuja de gas. Ver los Círculos 1 y 2. Burbujas de gas pueden resultar de una siembra inadecuada o del aire atrapado dentro de la muestra. Son de forma irregular y no se relacionan con una colonia. Ver el Círculo 3.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

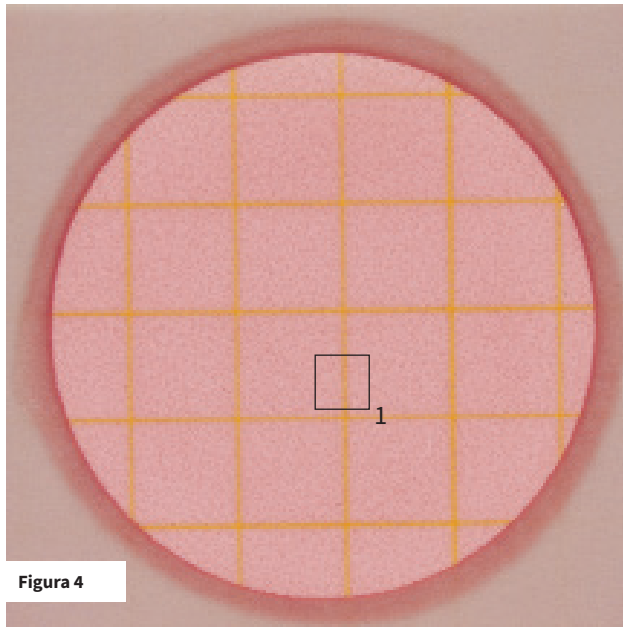


Figura 4

Sin crecimiento = 0

Observar los cambios en el color del gel en las Figuras 4 a 10. A medida que aumente el recuento de *E. coli* o de coliformes, el color del gel se tornará rojo oscuro o azul-púrpura. Las burbujas de fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el Cuadrado 1.

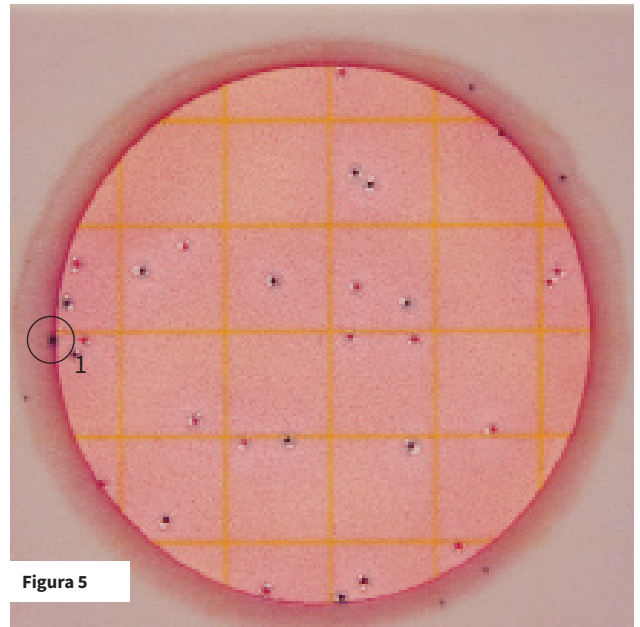


Figura 5

Recuento de *E. coli* = 13 (colonias azules con gases) Total coliform count = 28 (colonias rojas y azules con gases)

No contar las colonias que aparezcan en la barrera de espuma porque son eliminadas del influjo selectivo del medio. Ver el Círculo 1.

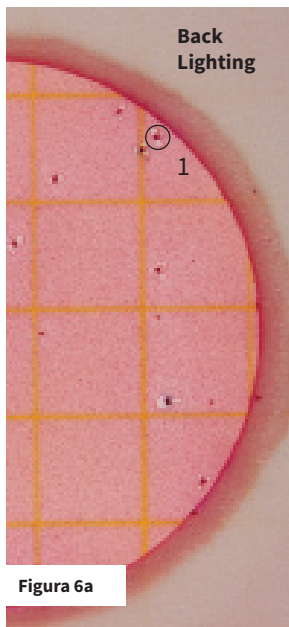


Figura 6a

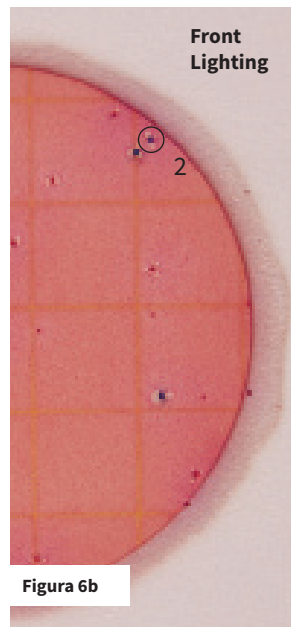


Figura 6b

Recuento de *E. coli* = 3 (colonias azules con gases)

Todo color azul en una colonia (azul a rojo-azul) con gases indica la presencia de *E. coli*. La iluminación frontal puede mejorar la detección del precipitado azul formado por una colonia. El Círculo 1 muestra una colonia roja-azul contada mediante retroiluminación. El Círculo 2 muestra la misma colonia con iluminación frontal. El precipitado azul es más evidente en el Círculo 2.

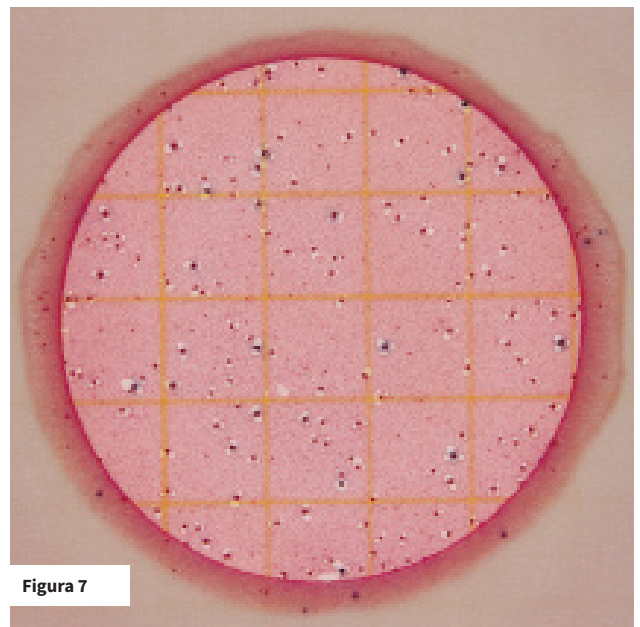


Figura 7

Recuento de *E. coli* = 17 (colonias azules con gases) Recuento total de coliformes = 150 (colonias rojas y azules con gases)

El área de crecimiento circular es de, aproximadamente, 20 cm. Los cálculos podrán hacerse en las placas que tengan más de 150 colonias mediante el recuento de la cantidad de colonias en uno o más de los recuadros representativos y determinando la cantidad promedio por recuadro. Multiplicar la cantidad promedio por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

Muy numerosos para contar (MNPC)

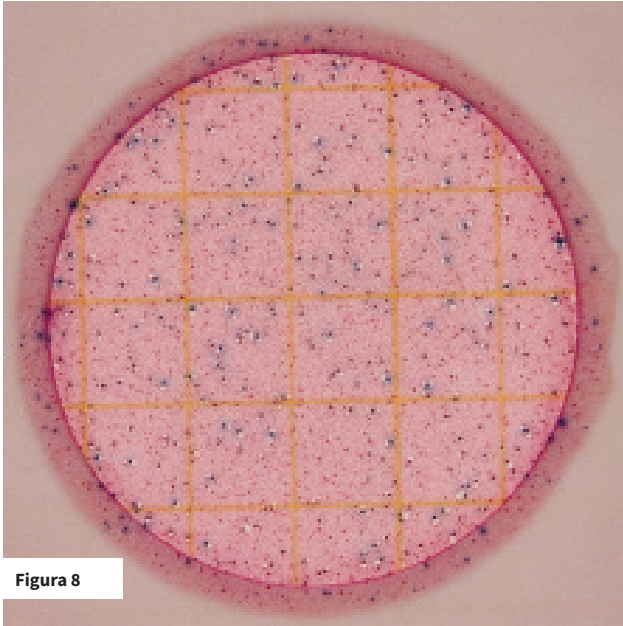


Figura 8

Recuento total de coliformes = MNPC

Las Placas Neogen® Petrifilm® de recuento de coliformes/*E. coli* con colonias que son muy numerosas para contar (MNPC) presentan una o más de las siguientes características: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gases y la profundización del color del gel de rojo a azul-púrpura.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

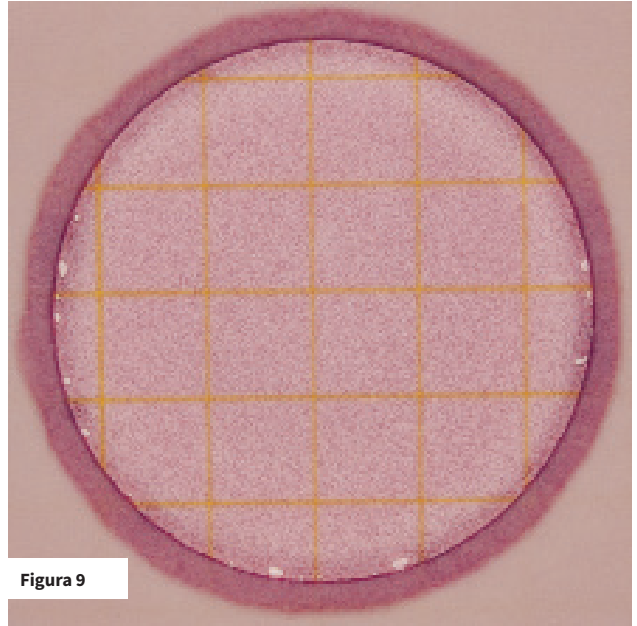


Figura 9

Recuento total de coliformes = MNPC

Las concentraciones altas de *E. coli* pueden hacer que el área de crecimiento se torne de color azul-púrpura.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

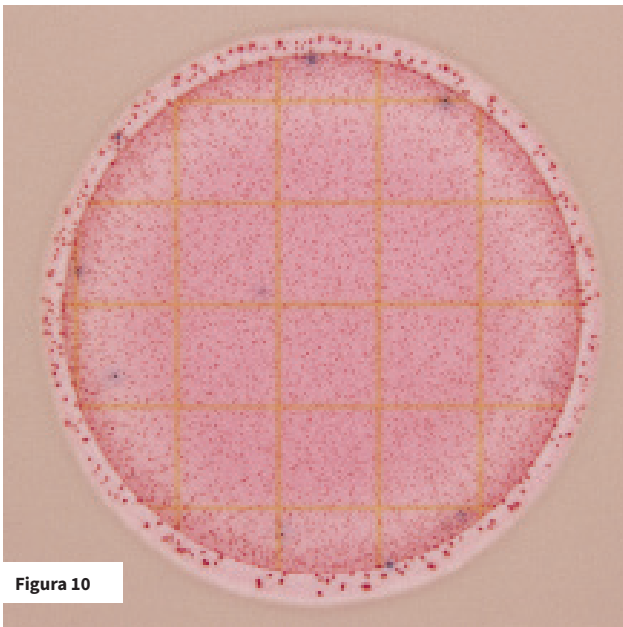


Figura 10

Recuento total de coliformes = MNPC

Las altas concentraciones de coliformes pueden generar la profundización del color del gel y muchas colonias pequeñas e indistintas.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

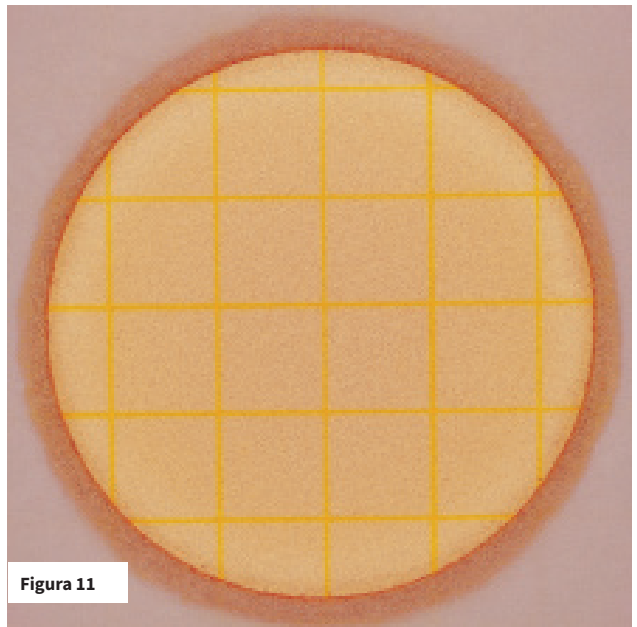


Figura 11

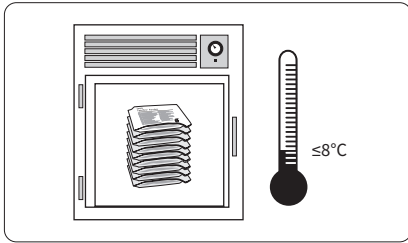
Recuento total de coliformes = MNPC

Cuando cantidades elevadas de organismos no coliformes, tales como *Pseudomonas*, se encuentran presentes en las Placas Neogen® Petrifilm® de recuento de coliformes/*E. coli*, el gel puede volverse amarillo.

Para obtener un recuento más preciso, es posible que se requiera de una mayor dilución de la muestra.

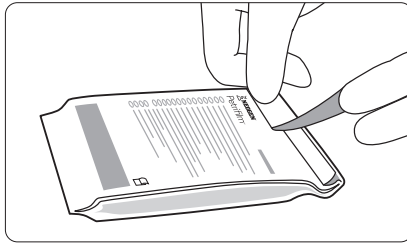
Recordatorios para el uso:

Almacenamiento



01

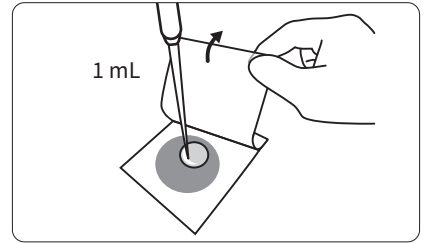
Almacene las bolsas sin abrir a temperaturas de congelación o refrigeración inferiores o iguales a 8 °C (46 °F). Utilícelas antes de la fecha de caducidad que aparece en el empaque. Lo mejor es dejar que las bolsas alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas.



02

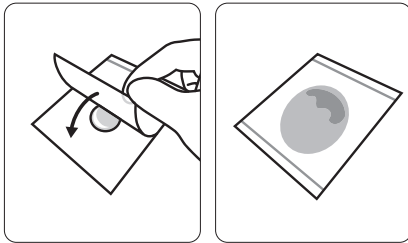
Selle la bolsa; para hacerlo, doble el extremo sobre sí mismo y aplique cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas.** Almacene las bolsas que volvió a cerrar en un lugar fresco y seco durante no más de cuatro semanas.

Inoculación



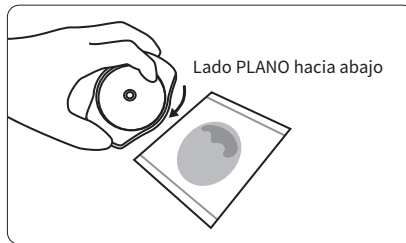
03

Coloque la Placa Neogen® Petrifilm® para recuento de coliformes/ *E. coli* en una superficie plana y pareja. Levantar la película superior con una Pipeta electrónica Neogen®, o instrumento equivalente, sostenido perpendicularmente a la placa, dispensar 1 mL de la suspensión de la muestra en el centro de la película base.



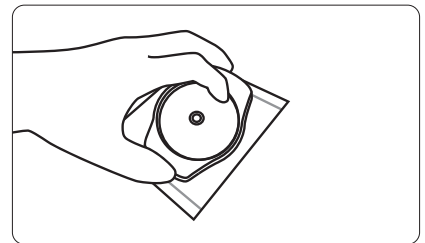
04

Enrolle suavemente la película superior sobre la muestra para evitar atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.



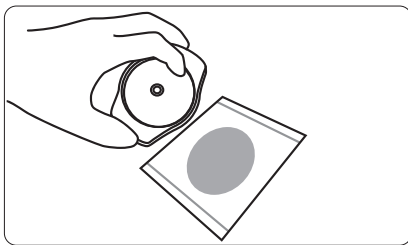
05

Con el lado plano hacia abajo, colocar el Difusor Neogen® Petrifilm® en el centro de la Placa de recuento de coliformes/*E. coli* Neogen® Petrifilm®.



06

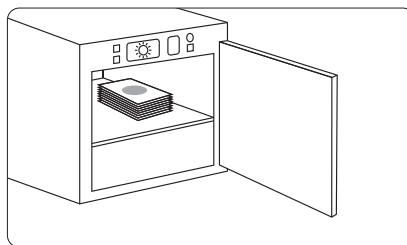
Presionar con firmeza en el centro del difusor para distribuir la muestra de manera pareja. Esparcir el inóculo dentro del área de crecimiento antes de que se forme el gel. No deslizar el dispersante a través de la película superior.



07

Remover el difusor y dejar la placa sin tocar durante un minuto para permitir que el gel se forme.

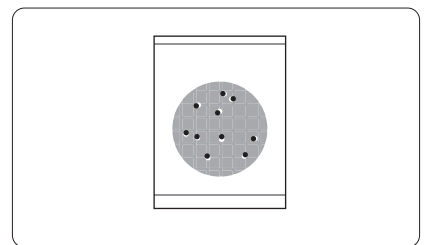
Incubación



08

Incuba las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas de no más de 20 placas. Puede ser necesario humidificar la incubadora para minimizar la pérdida de humedad. **Consulte las instrucciones para conocer los métodos validados por terceros.**

Interpretación

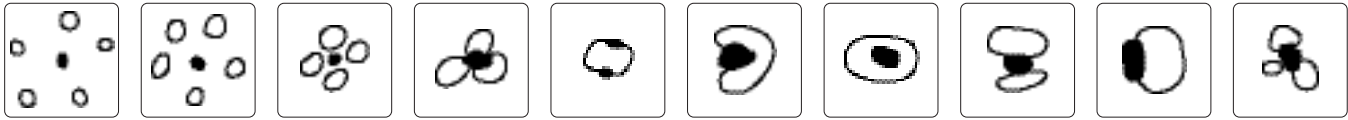


09

Las Placas Neogen® Petrifilm® para recuento de coliformes/ *E. coli* pueden contarse usando el Neogen® Petrifilm® Lector Avanzado de placas, con un contador de colonias estándar u otras lentes de aumento iluminadas. Las colonias pueden aislarse para una identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

Burbujas

Las siguientes ilustraciones muestran ejemplos de varios patrones de burbujas asociados con colonias productoras de gas. Todas deben enumerarse.



Use diluyentes estériles adecuados

Agua de dilución en base fosfatada de Butterfield, 0,1 % de agua peptonada, diluyente de sal peptonada, solución lactato de Ringer de 1/4 de concentración, solución salina (0,85 % – 0,90 %) y caldo letheen libre de bisulfito o agua destilada.

Para el crecimiento óptimo y la recuperación de los microorganismos, ajustar el pH de la suspensión de muestra hasta 6,6 – 7,2.

No use diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato con las Placas Neogen® Petrifilm® para recuento de coliformes/ *E. coli*, pueden inhibir el crecimiento.

Si la base de citrato está indicada en el procedimiento estándar, sustituirla con una de las bases enumeradas anteriormente templadas a 40 °C a 45 °C.

Neogen ofrece una línea completa de productos para satisfacer una variedad de sus necesidades de pruebas microbianas.

Para obtener más información, visítenos en info.neogen.com/petrifilm

Responsabilidades del usuario: El rendimiento de la Placa Neogen® Petrifilm® no ha sido evaluado con todas las combinaciones de flora microbiana, condiciones de incubación y matrices alimentarias. Es responsabilidad del usuario determinar que todos los métodos de prueba y resultados cumplan los requisitos del usuario. Si fuera necesaria la reimpresión de esta Guía de interpretación, los ajustes de impresión del usuario pueden afectar la calidad de las imágenes y el color.

Para obtener información sobre **PRECAUCIONES, DESLINDE DE GARANTÍAS/RECURSO LIMITADO y LIMITACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE NEOGEN®**, información sobre **ALMACENAMIENTO Y DESECHO, e INSTRUCCIONES DE USO**, consulte el inserto del paquete del producto.



Neogen Corporation, 620 Lesher Place, Lansing, MI 48912 USA.

© Neogen Corporation 2023. Todos los derechos reservados. Neogen y Petrifilm son marcas comerciales de Neogen Corporation.

FS02168