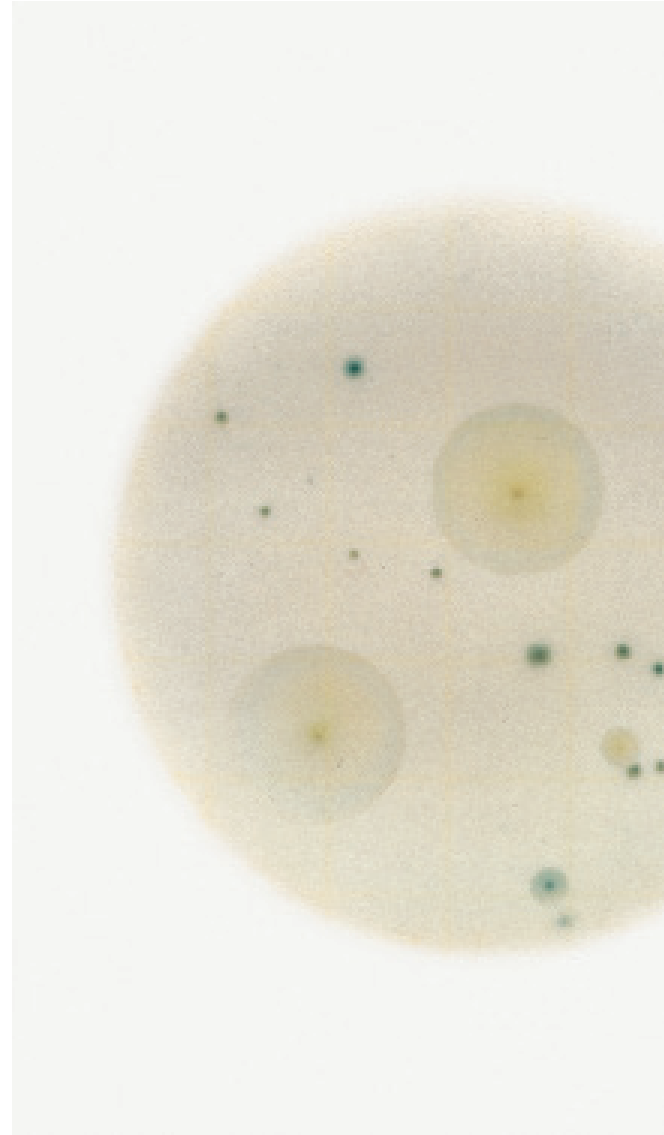




Petrifilm®

Guía de Interpretación

La placa de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® es un sistema de medio de cultivo listo para usar que contiene nutrientes complementados con antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de levadura y moho. Las placas de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® se utilizan para la enumeración de levaduras y mohos en las industrias de alimentación y de bebidas.



YM

Placa de recuento de levaduras y mohos

Aplicación en Alimentos y Bebidas

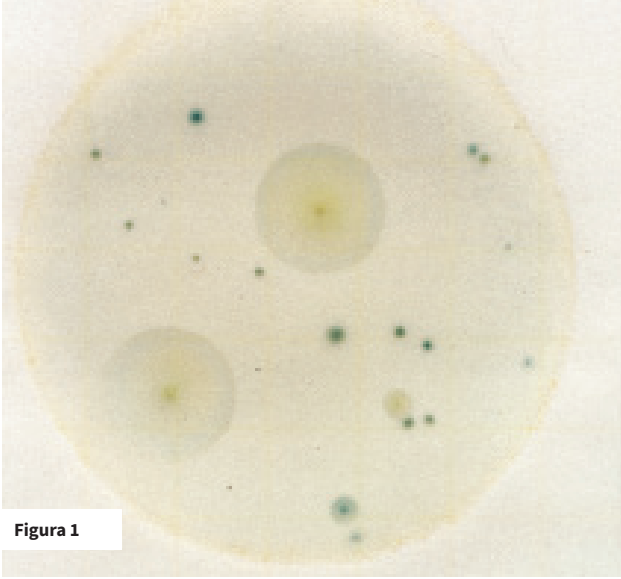


Figura 1

Recuento total = 20
Recuento de Levaduras = 16
Recuento de Mohos = 4

La placa de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® contiene colonias de levadura y colonias de moho.

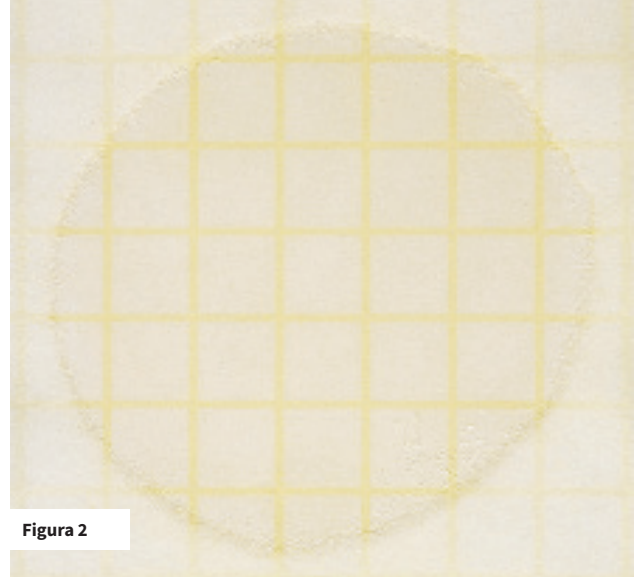


Figura 2

Recuento de levaduras y mohos = 0

Placa de recuento de levaduras y mohos sin levaduras ni mohos. Las cuadrículas se pueden ver usando retroiluminación lo cual ayuda a realizar las enumeraciones estimadas.

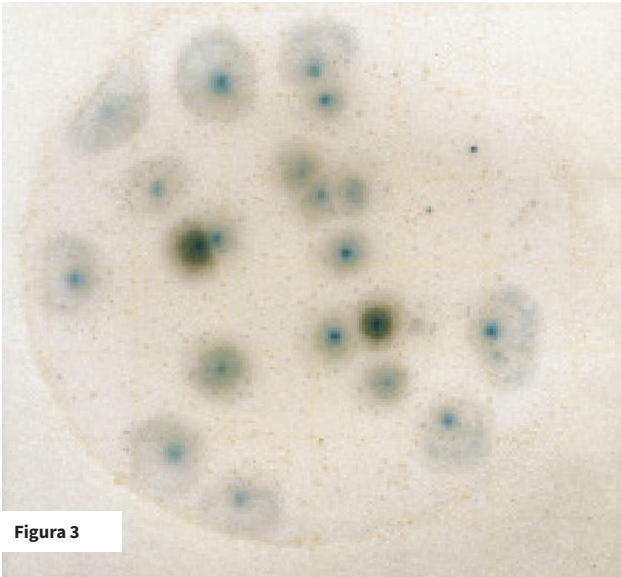


Figura 3

Recuento total estimado = 500
Recuento estimado de levaduras = 480
Recuento estimado de mohos = 21

Cuando el número de colonias es más de 150, haga un recuento estimado. Las cuadrículas se pueden ver usando retroiluminación lo cual facilita las enumeraciones estimadas. Determine la media de colonias en una cuadrícula (1 cm²) y multiplíquela por 30 para obtener el recuento total por placa. El área inoculada es de aproximadamente 30 cm². Las colonias de levadura varían de color desde marrón claro (como en este ejemplo) pasando por rosa hasta verde azulado.

Para obtener un recuento más preciso, podría ser necesario diluir más la muestra.

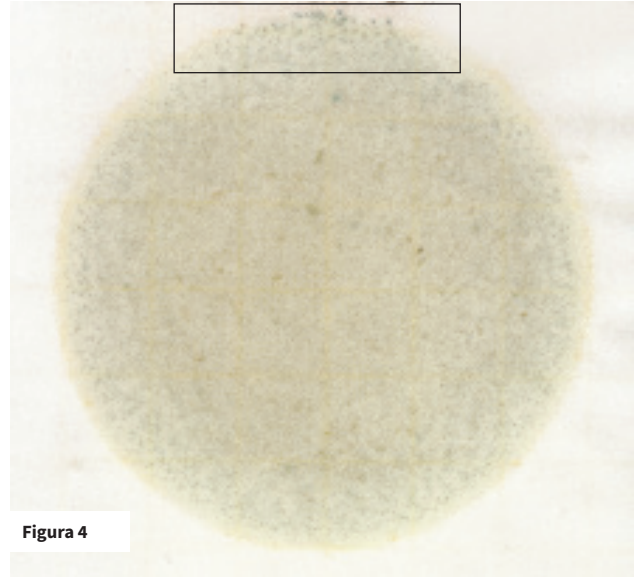


Figura 4

Recuento estimado de levaduras = MNPC

Placa de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® que contiene una cantidad de colonias de levadura muy numerosa para contar (sigla MNPC). Las colonias pequeñas de color azul que están en el borde de la placa (destacadas en el recuadro) están presentes en toda la placa aunque son menos visibles.

Para obtener un recuento más preciso, podría ser necesario diluir más la muestra.

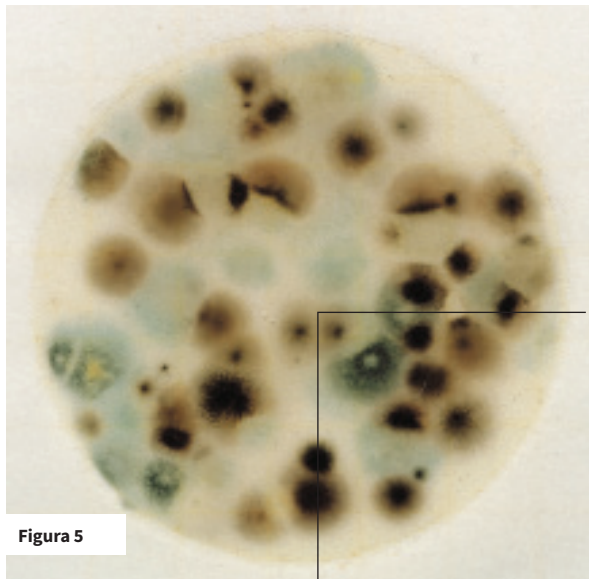


Figura 5

Recuento estimado de mohos = 64

Las colonias de moho empiezan a aglomerarse y solaparse unas con otras en la placa. Cuente cada margen o foco de colonia. La placa puede dividirse en secciones para facilitar el recuento. En este ejemplo, se contó aproximadamente 1/4 de la placa, después el número de colonias contadas se multiplicó por 4 para obtener el recuento estimado de la placa. La sección que se muestra tiene 16 mohos.

Para obtener un recuento más preciso, podría ser necesario diluir más la muestra.

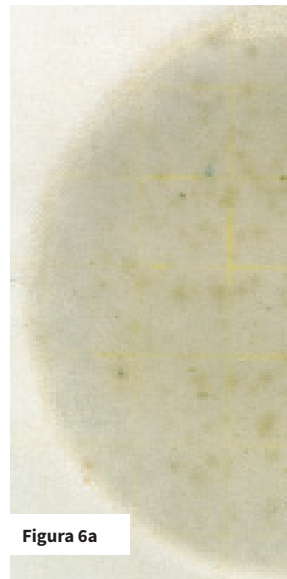


Figura 6a

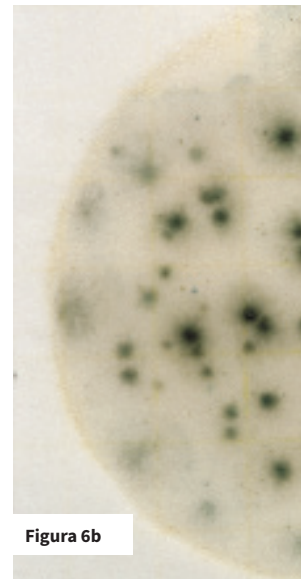


Figura 6b

Recuento de mohos = MNPC Recuento de mohos = 64

Las placas de las figuras 6a y 6b son la misma muestra. La figura 6a es una disolución 1:10 y tiene colonias que son pequeñas y numerosas, lo cual dificulta el recuento. La figura 6b es una disolución de 1:100 y muestra cómo se puede facilitar el recuento diluyendo una muestra para obtener un recuento de colonia de menos de 150 colonias. Como sucede con la mayoría de los medios de cultivo, en un ambiente muy competitivo (como el de la figura 6s), el crecimiento típico de colonias se inhibirá. En muestras altamente contaminadas como estas, se recomienda diluir más obtener un recuento más exacto y un crecimiento de colonia más típico (como el de la figura 6b).

Reacción de fosfatasa

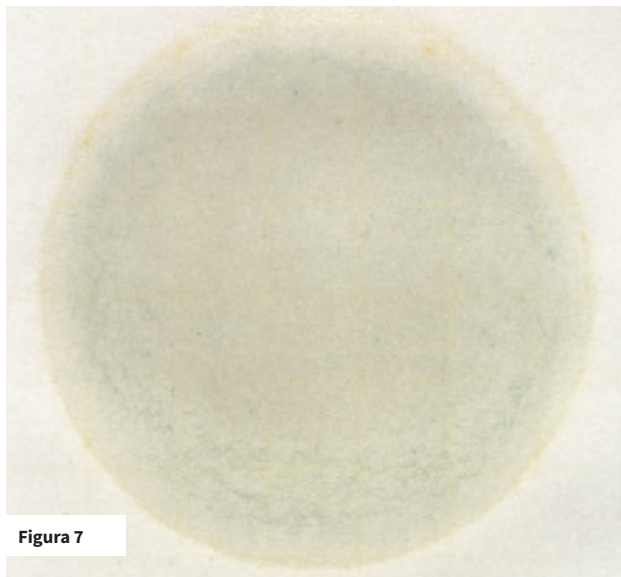


Figura 7

Recuento de levaduras y mohos = 0

Las placas de recuento de levaduras y mohos utilizan un indicador cromogénico para fosfatasa. Todas las células vivas contienen fosfatasa; por tanto, la fosfatasa natural de las muestras puede hacer que el indicador reaccione. A menudo se observan dos tipos de reacciones de color: un color de fondo azul uniforme o puntos de color azul intenso. En la figura 7, se observa un color de fondo azul uniforme y en la figura 8, puntos de color azul intenso que, a menudo, se observan en especias o productos granulados. En la figura 8, se observan partículas de alimento que producen fosfatasa.

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

1. Diluya la muestra: Diluir más la muestra minimiza el color de fondo azul o reduce la cantidad de puntos de color azul intenso.
2. Preparación de la muestra: Extraiga la muestra del sobrenadante o use una bolsa para homogenizar con filtro para evitar transferir partículas grandes.
3. Revisar y anotar: Observe las placas dentro de 24 a 48 horas después de la incubación y anote cualquier cambio de color para facilitar la interpretación.

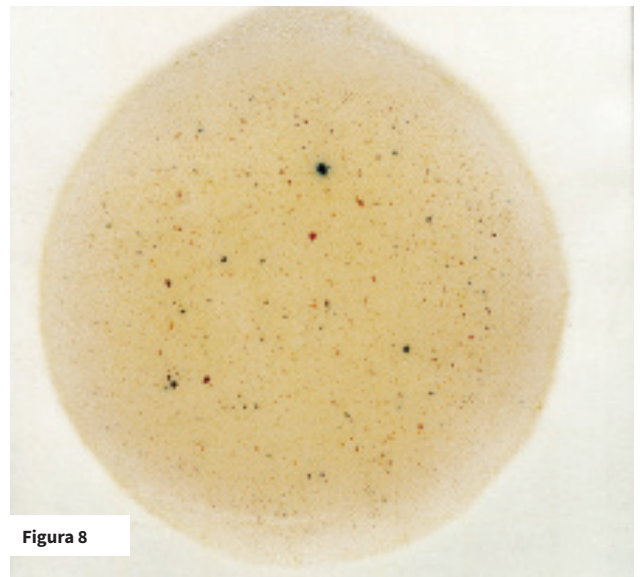


Figura 8

Recuento de levaduras y mohos = 0

Aplicación en Agua Embotellada

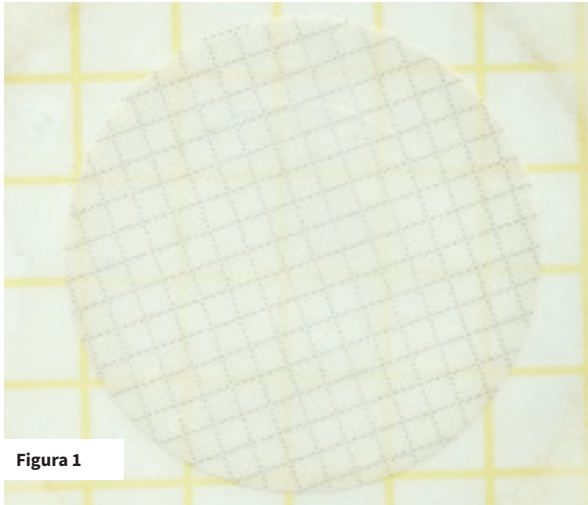


Figura 1

Recuento de levaduras y mohos = 0

Placa de recuento de levaduras y mohos sin colonias.

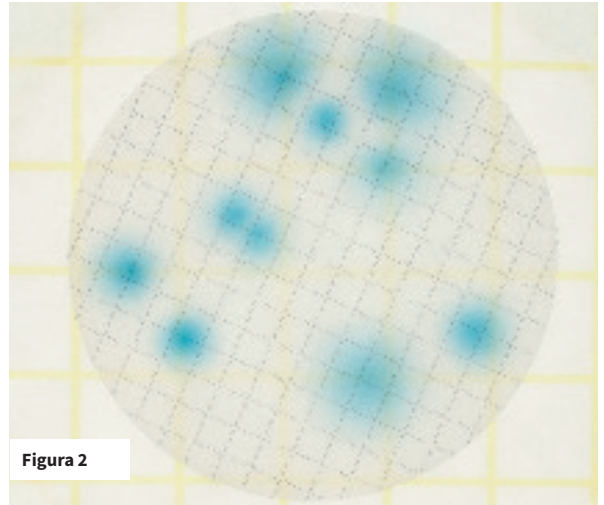


Figura 2

Recuento de levaduras y mohos = 10

Las colonias de mohos son grandes, con un centro oscuro y un borde difuso.

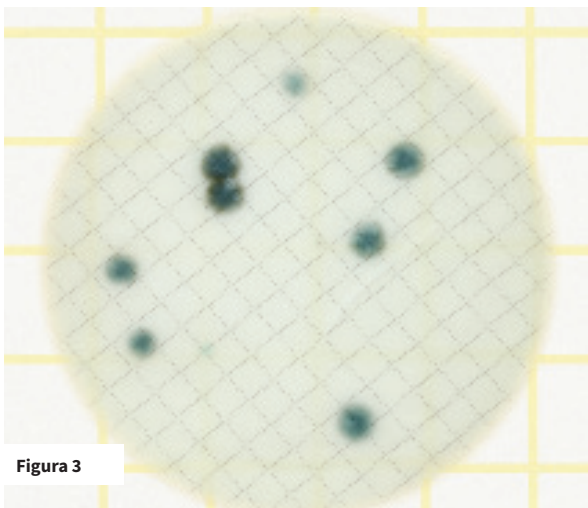


Figura 3

Recuento de levaduras y mohos = 10

Observe dos colonias pequeñas y débiles.

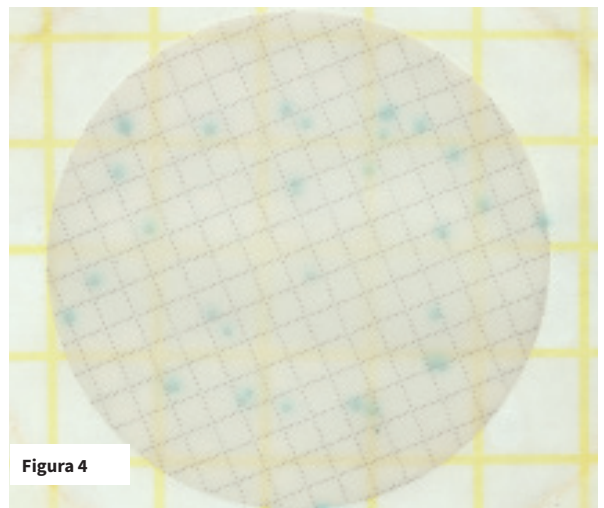


Figura 4

Recuento de levaduras y mohos = 31

Cuente las colonias que están parcial o totalmente fuera del filtro.

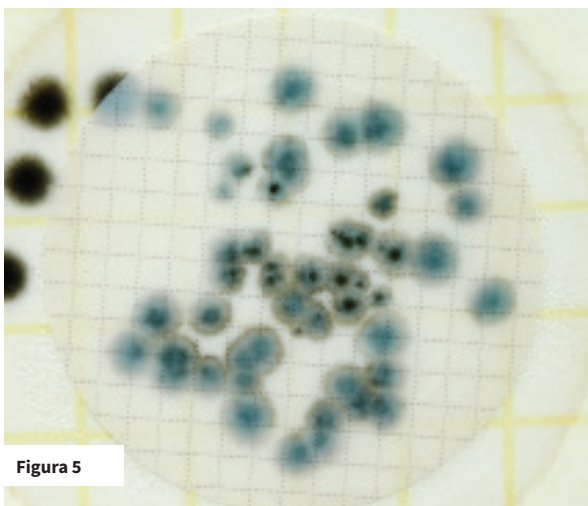


Figura 5

Recuento de levaduras y mohos = 51

Estime el conteo de colonias cuando los mohos se fusionen; los centros más oscuros pueden ayudar a enumerar las colonias. Cuente las colonias que están parcial o totalmente fuera del filtro.

Diferenciación macroscópica

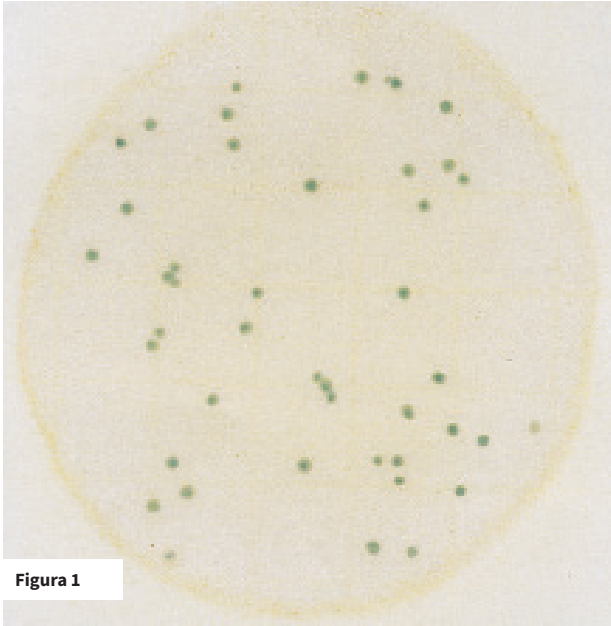


Figura 1

Recuento de levaduras = 43

La figura 9 muestra colonias típicas de levaduras. Entre las características típicas de las levaduras están:

- La colonia es pequeña.
- La colonia tiene bordes definidos.
- El color de la colonia puede variar de marrón rosa a verde azulado.
- La colonia puede verse elevada.
- Normalmente, la colonia es uniforme en cuanto al color, sin foco central (centro oscuro).

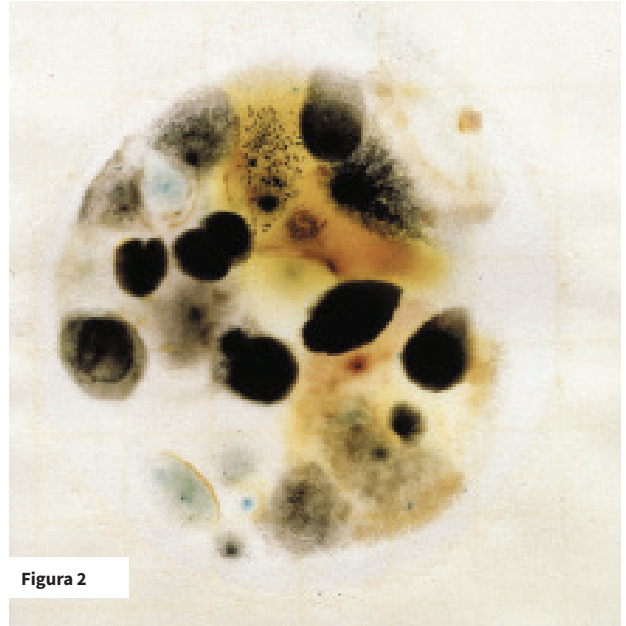


Figura 2

Recuento de mohos = 29

La figura 2 muestra colonias típicas de mohos. Entre las características típicas de los mohos están:

- La colonia crece mucho.
- La colonia tiene bordes difusos.
- El color de la colonia puede variar ya que el moho produce una variedad de pigmentos (marrón, beis, naranja, verde azulado).
- La colonia se ve plana.
- Por lo general, la colonia está centralizada (es decir, normalmente, es de color más oscuro y también puede tener un color diferente).

Diferenciación microscópica

Las levaduras y los mohos están estrechamente relacionados y no siempre pueden distinguirse entre ellos sin un examen microscópico.

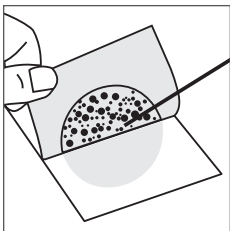


Figura 3

Para aislar a las colonias a fin de llevar a cabo más identificación, levante la película superior y con un asa o dispositivo similar recoja la colonia dentro del gel.

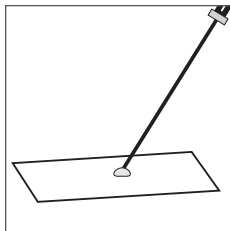


Figura 4

Transfiera la colonia a una gota de agua estéril sobre un portaobjetos de microscopio, cúbrala con un cubreobjetos y mire por el microscopio.

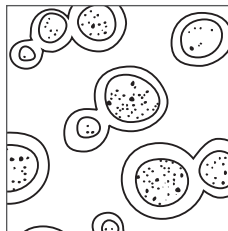


Figura 5

Normalmente, la levadura se ve ovalada y puede presentar brotes.



Figura 6

El moho, normalmente, aparece como ramificaciones o filamentos tipo hebras (micelio).

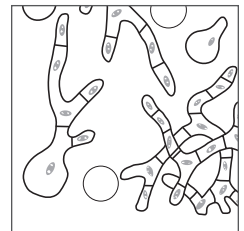


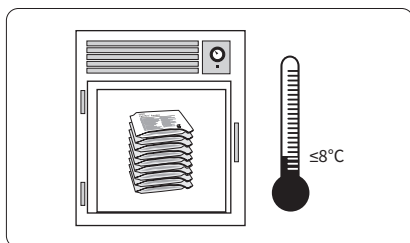
Figura 7

Los mohos que se muestran arriba se encuentran en diferentes estadios de germinación.

Recordatorios para el uso:

Aplicaciones en Alimentos y Bebidas

Almacenamiento



01

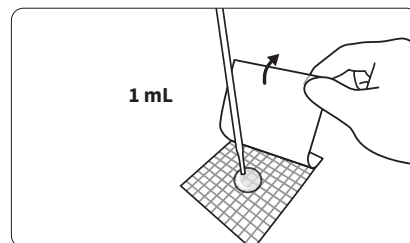
Guarde las bolsas no abiertas de placas de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® a temperaturas de congelación o refrigeradas. $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Úsela antes de la fecha de vencimiento que aparece en el envase. Justo antes de abrirlas y usarlas, deje que las bolsas no abiertas adquieran la temperatura ambiente.



02

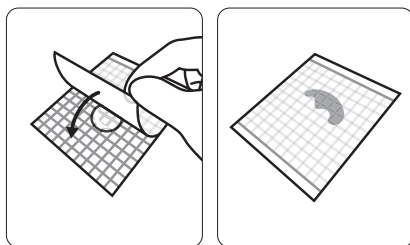
Sélelas doblando el extremo de la bolsa y aplicándole una cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas.** Almacene las bolsas reselladas en un lugar fresco y seco durante no más de un mes.

Inoculación



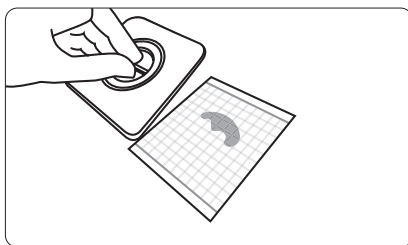
03

Coloque la placa de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® sobre una superficie plana. Levante la película superior y, con una pipeta perpendicular al área de inoculación, dispense 1 mL de suspensión de muestra sobre el centro de la película inferior.



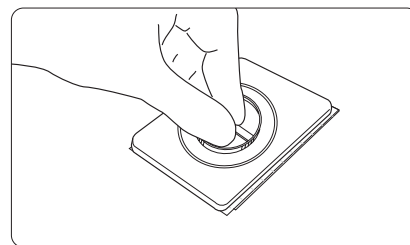
04

Deje caer la película superior sobre la muestra.



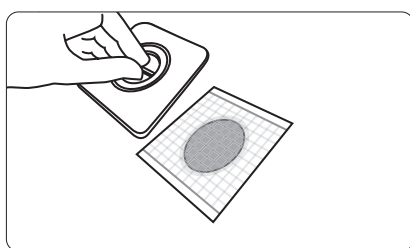
05

Coloque el difusor de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® sobre en el centro de la placa.



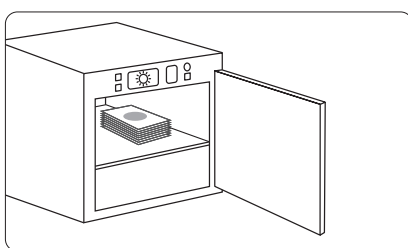
06

Suavemente, aplique presión sobre el difusor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire ni deslice el difusor.



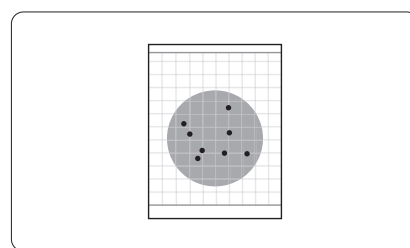
07

Levante el difusor y deje la placa intacta durante, al menos, un minuto para dejar que se forme el gel.



08

Incube las placas con la parte transparente hacia arriba en pilas de hasta 20 piezas. **Por favor, lea a las instrucciones del producto para consultar métodos validados de terceros.** Puesto que algunos mohos pueden crecer rápidamente, podría ser útil leer y contar las placas a los 3 días ya que las colonias más pequeñas pueden quedar oscurecidas por mohos más grandes que han crecido demasiado a los 5 días. Si esto sucediera, podría hacerse el recuento a los 3 días; sin embargo, se debe reportar como recuento estimado.



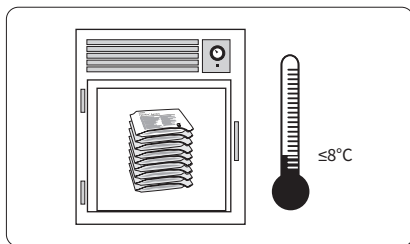
09

Las placas de recuento de levaduras y mohos Neogen® Petrifilm® pueden contarse usando un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con iluminación.

Recordatorios para el uso:

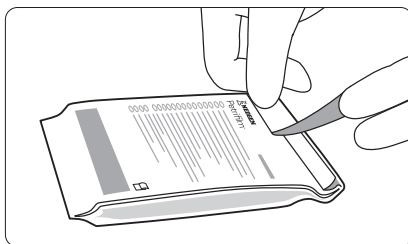
Aplicaciones en Agua Embotellada

Almacenamiento



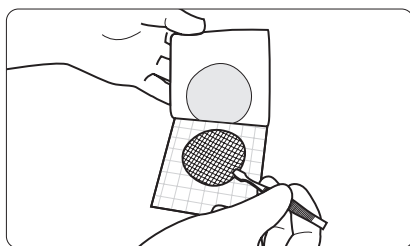
01

Siga los pasos 1 y 2 de los Recordatorios para el uso de aplicación en alimentos y bebidas.



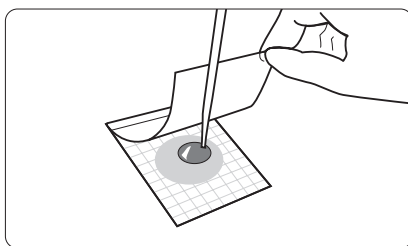
02

Sélelas doblando el extremo de la bolsa y aplicándole una cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas.** Almacene las bolsas reselladas en un lugar fresco y seco durante no más de un mes.



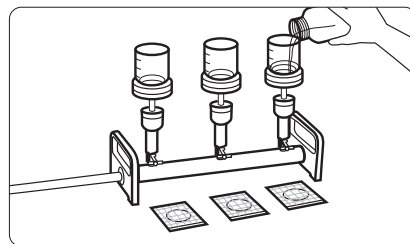
04

Coloque el filtro en el centro de la placa.



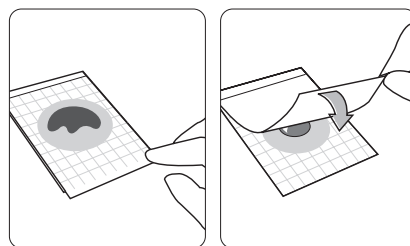
05

Con la pipeta perpendicular a la Placa de Recuento de Levaduras y Mohos, coloque 1 mL de diluyente de hidratación en el centro del filtro. Los diluyentes estériles apropiados incluyen agua destilada, agua desionizada (DI) y agua de ósmosis inversa (RO).



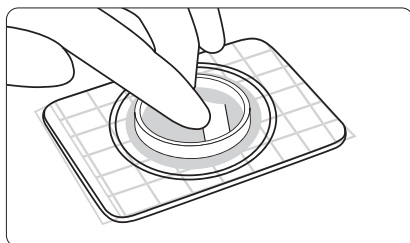
03

Para la filtración por membrana de muestras de agua, use un filtro de ésteres de celulosa mixta (MCE) con poros de 47 mm, 0,45 micrones.



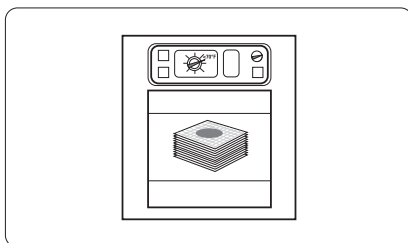
06

Cuidadosamente, desenrolle la película superior sobre el filtro.



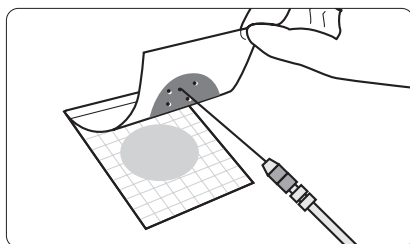
07

Aplique presión suavemente para asegurarse de que haya un contacto uniforme del filtro con el gel y para eliminar las burbujas de aire.



08

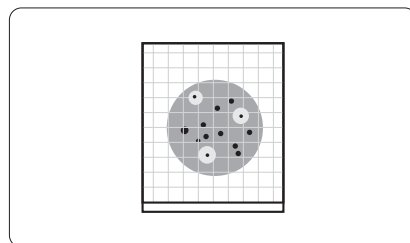
Incube las placas en una posición horizontal, con el lado transparente hacia arriba, en pilas de no más de 20 placas a entre 20 y 25 °C durante 3-5 días.



10

Las colonias pueden aislarse para una identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

Interpretación



09

Las Placas Neogen® Petrifilm® para recuento de Levaduras y Mohos pueden contarse en contador de colonias estándar u otras lentes de aumento iluminadas.

Use diluyentes estériles adecuados

Tampón de fosfato Butterfield, agua peptonada 0,1%, diluyente de sal peptonado, solución salina (0,85-0,90%), caldo Letheen sin bisulfito o agua destilada.

Con las placas de recuento de levadura y moho Neogen® Petrifilm®, no use diluyentes que contengan citrato, bisulfito ni tiosulfato ya que pueden inhibir el crecimiento.

Si se indicara usar un tampón de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyalo por uno de los tampones relacionados arriba, calentados de 40 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 Leshar Place, Lansing, MI 48912 USA.

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

FS02162