



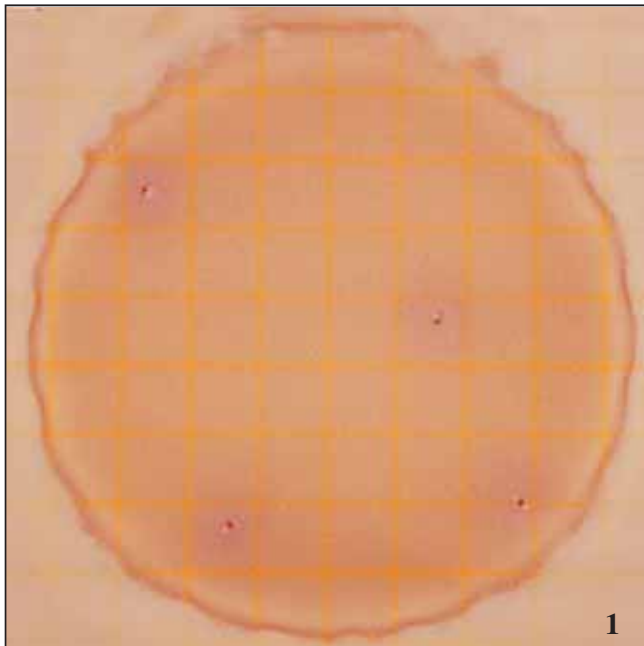
Petrifilm™

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

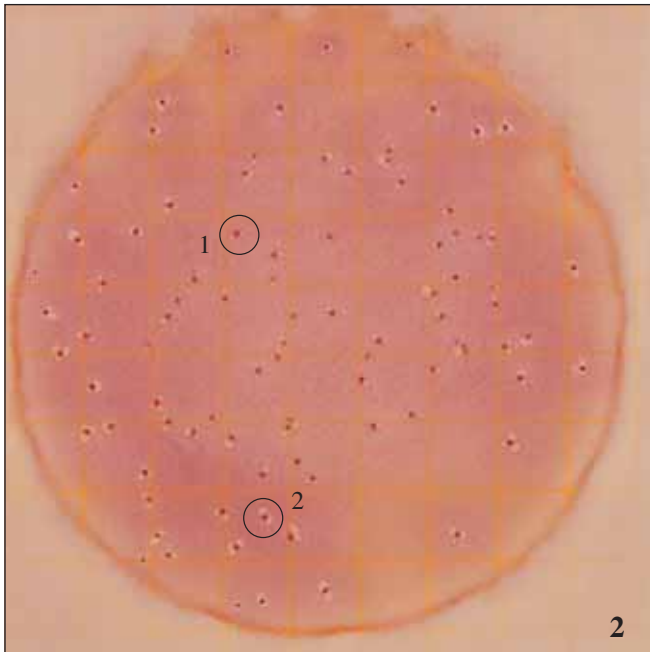
Las placas Petrifilm HSCC están diseñadas para la detección de coliformes totales, y también coliformes termotolerantes (fecales).

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.

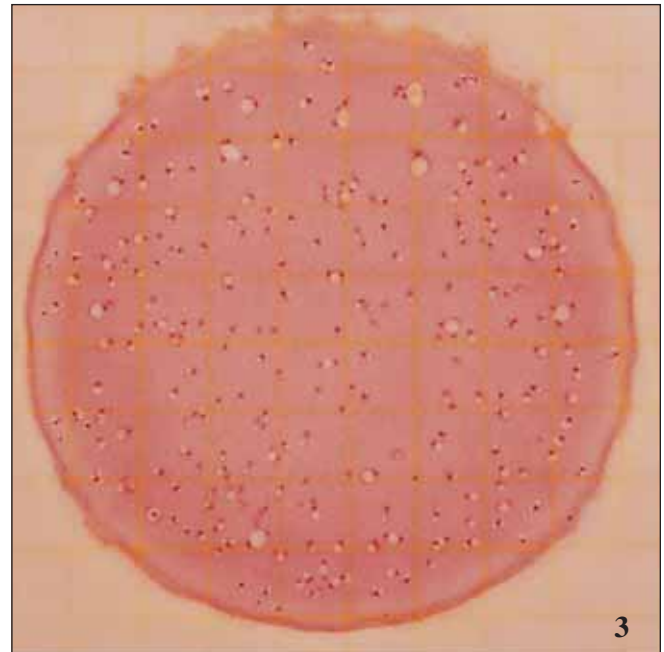
Placas 3M™ Petrifilm™ Alta Sensibilidad para Recuento de Coliformes

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

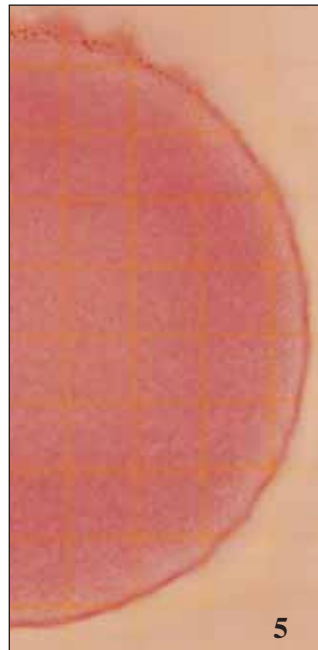
La forma de las burbujas puede variar : ver Círculos 1 y 2.
Algunas veces, el gas producido deforma la colonia de coliformes y hace que la colonia “perfile” la burbuja.



Recuento total estimado : 320

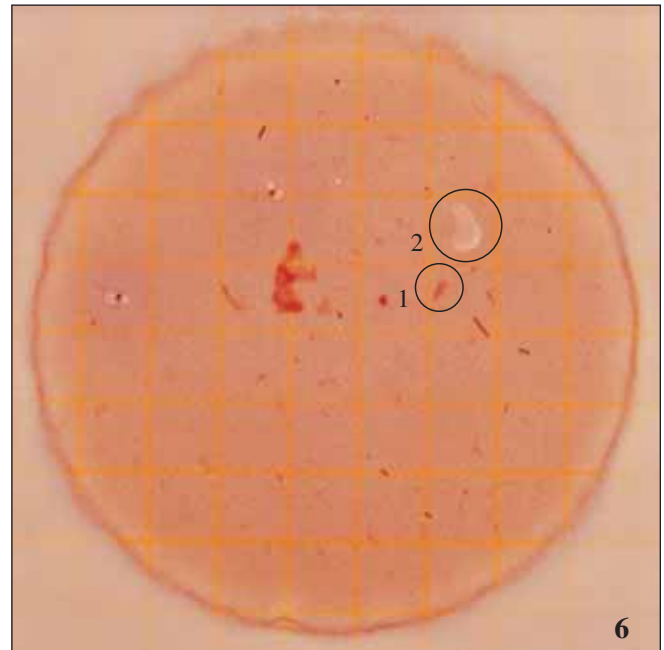
El área de crecimiento circular es aproximadamente 60 cm².
Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 60 para obtener el recuento estimado por placa.

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.

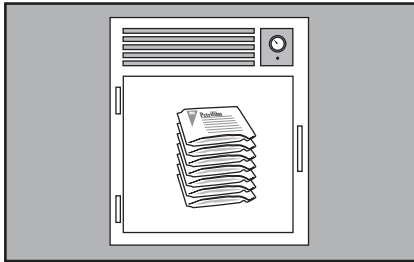


Colonias productoras de gas : 2

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).



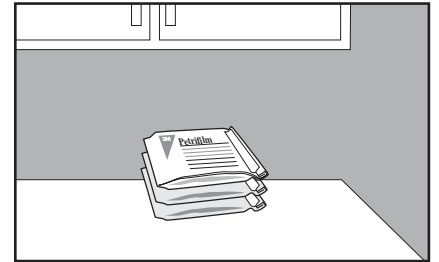
Almacenamiento



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.

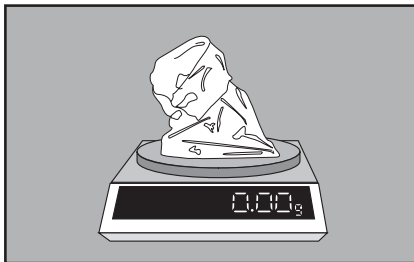


2 Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

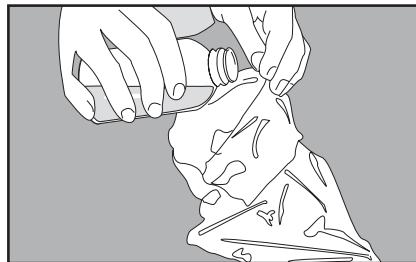


3 Mantener las bolsas una vez cerradas a $\leq 25^{\circ}\text{C}$, a HR $\leq 50\%$. **No refrigerar las bolsas abiertas.** Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

Preparación de la muestra

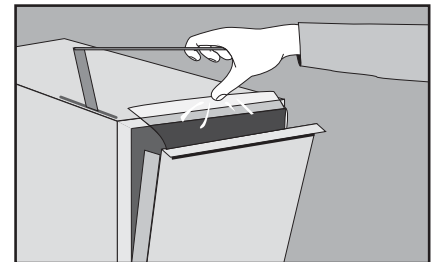


4 Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa tipo Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



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, KH_2PO_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.

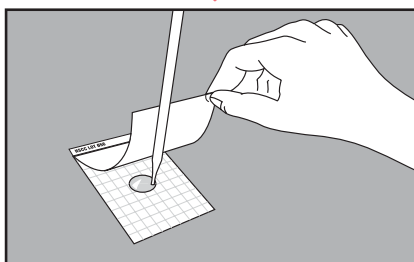


6 Mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.

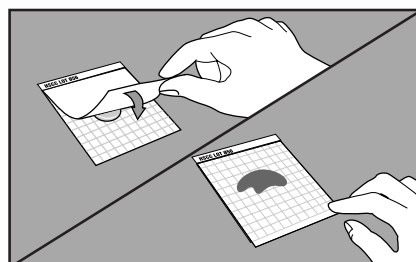
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.5:

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

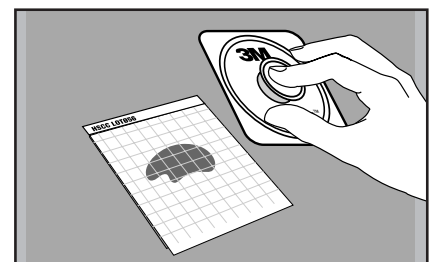
Inoculación



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.

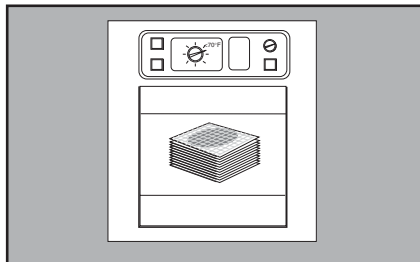


8 Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.



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

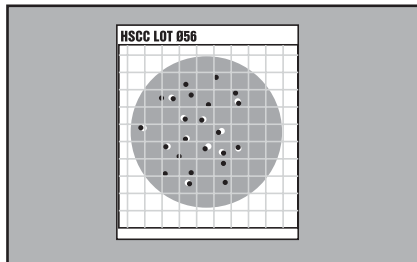
- Método validado AFNOR 3M 01/7-03/99 :
incubar $24h \pm 2h$ a $30^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
ó $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ó $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
para coliformes totales.
- incubar $24h \pm 2h$ a $44^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,
para coliformes termotolerantes
Para esta alta temperatura, es necesario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

Métodos más usuales utilizados en Estados Unidos

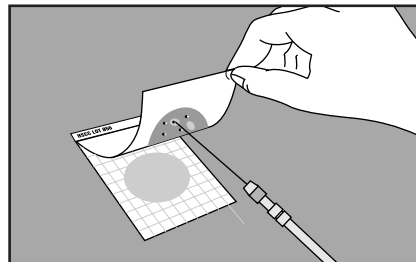
- incubar $24h \pm 2h$ a $32^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$
(productos lácteos)
- incubar $24h \pm 2h$ a $35^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$
(todos los alimentos, excepto productos lácteos)

*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, pasteurizada 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