

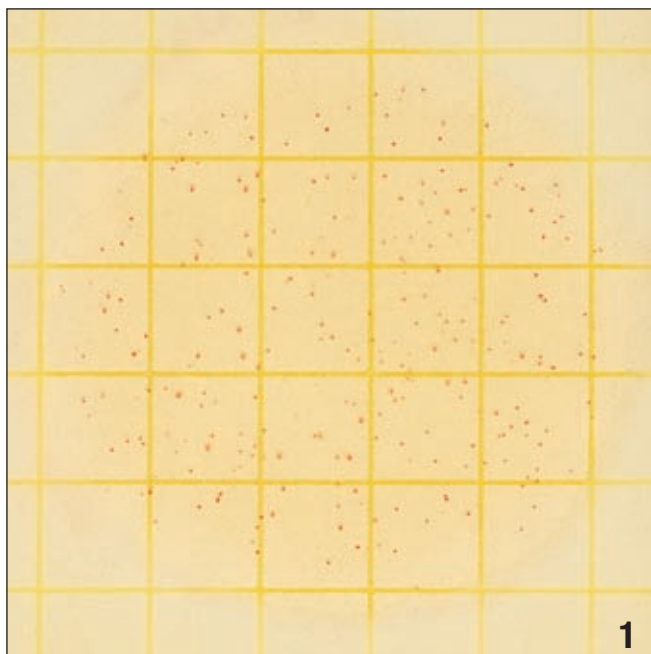


Placas Petrifilm™

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.

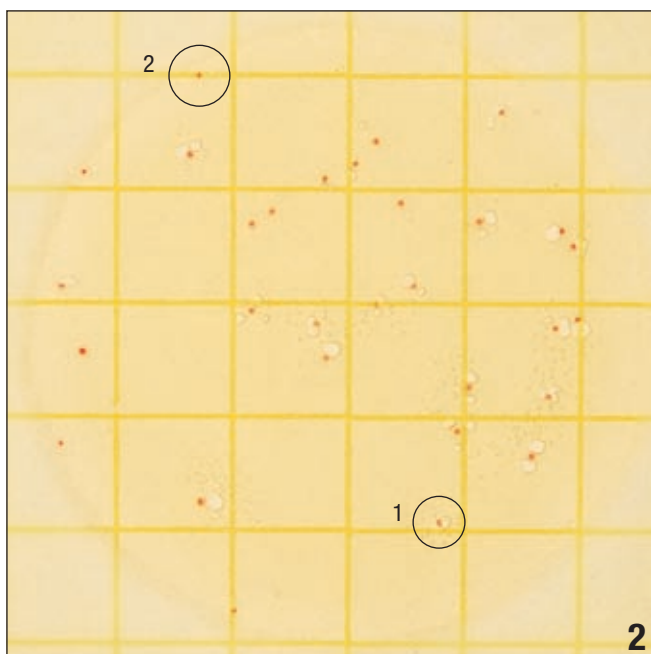


Recuento de bacterias ácido-lácticas = 238

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

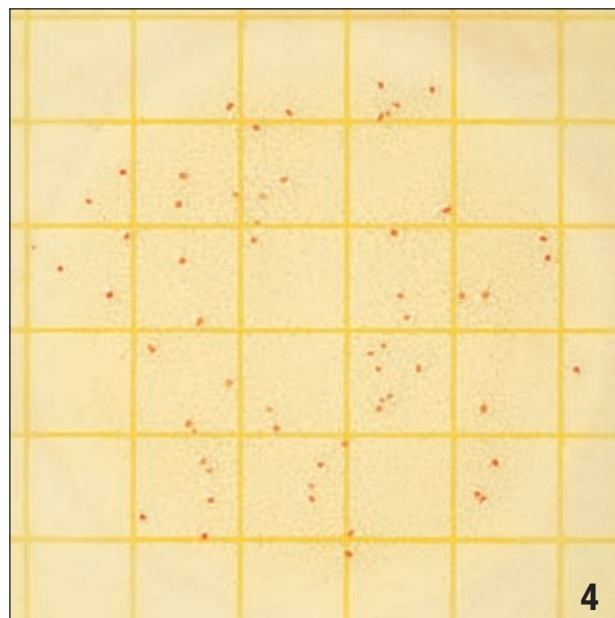
En la Figura 2 se muestran tanto organismos homofermentativos como heterofermentativos (productores de gas). El diluyente MRS provee un color de fondo oscuro que resalta la producción de gas de los organismos heterofermentativos (véase el círculo 1). Las colonias heterofermentativas a 0.6 cm (1/4 pulgada) 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



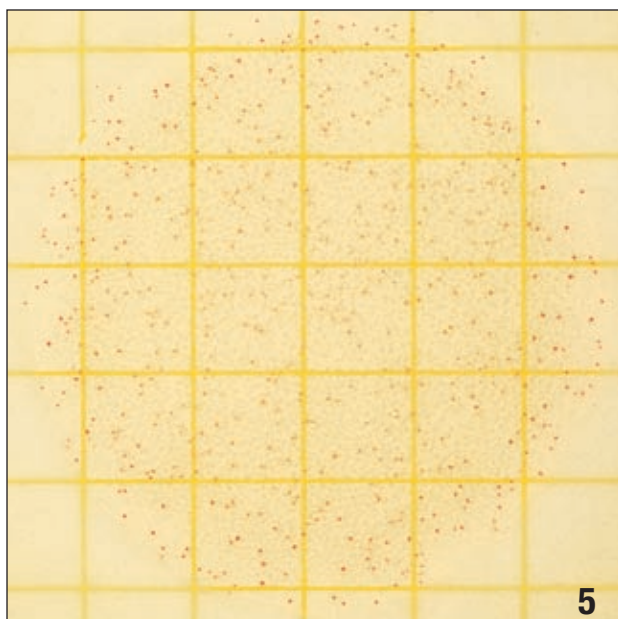
Recuento de bacterias ácido-lácticas = 0

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.



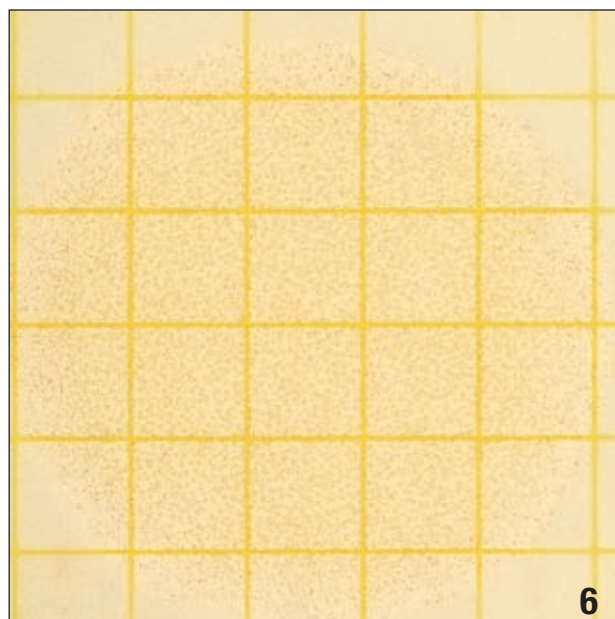
Recuento de bacterias ácido-lácticas = 60

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



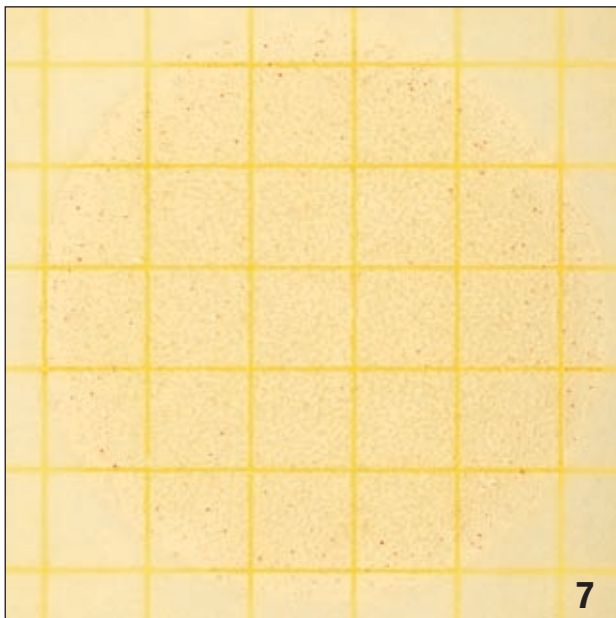
Recuento estimado de bacterias ácido-lácticas = 440

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 cm²) 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 cm².



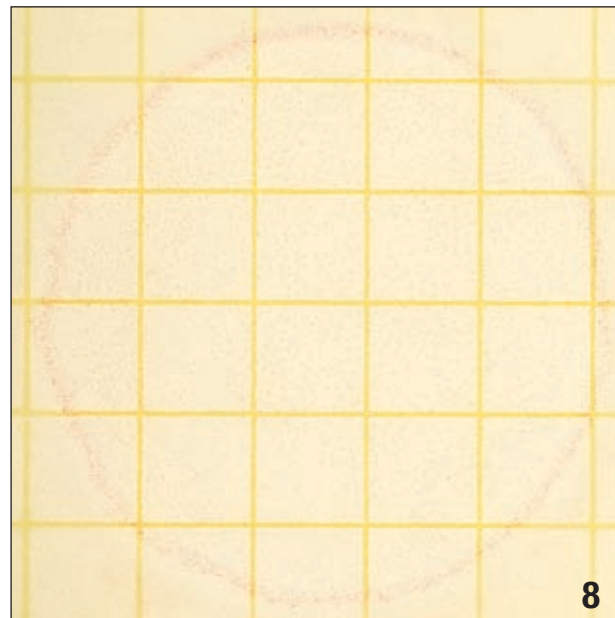
**Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC
(Recuento estimado: 10⁶)**

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.



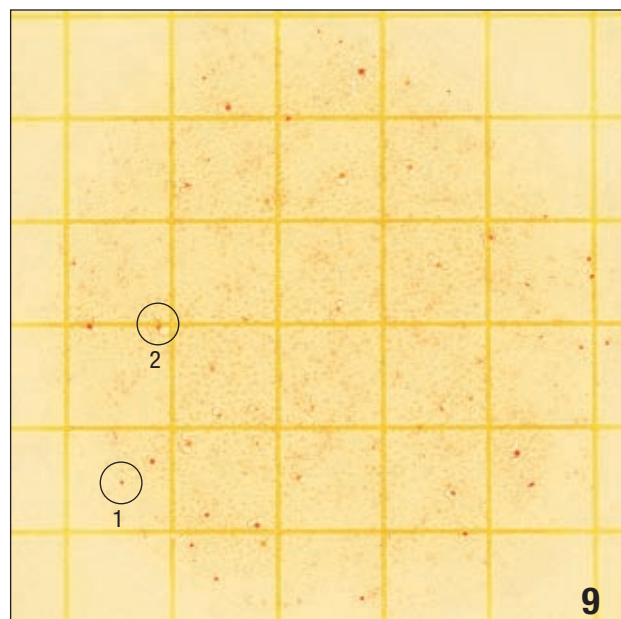
Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC
(Recuento estimado: 10^6)

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



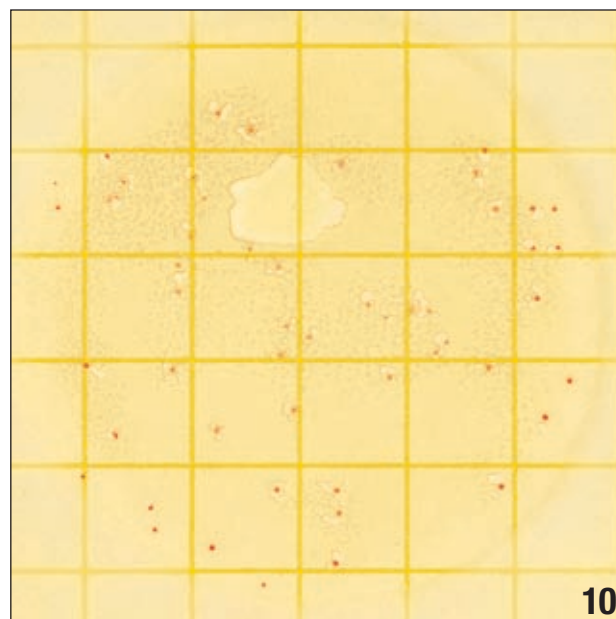
Recuento de bacterias ácido-lácticas = MNPC
(Recuento estimado: 10^8)

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

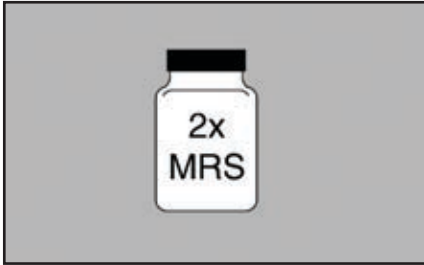
Las burbujas pueden ser resultado de una inapropiada inoculación de la Placa Petrifilm. Tienen forma irregular y no están asociadas a ninguna colonia.

Procedimientos de prueba múltiple

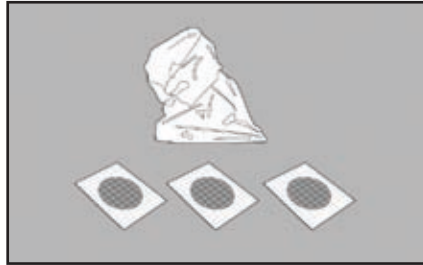
Si considera más conveniente usar una dilución 1:10 preparada con un diluyente estándar, en lugar de preparar una dilución nueva 1:10 específicamente para la evaluación láctica, puede utilizar el siguiente procedimiento de pruebas múltiple:

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.

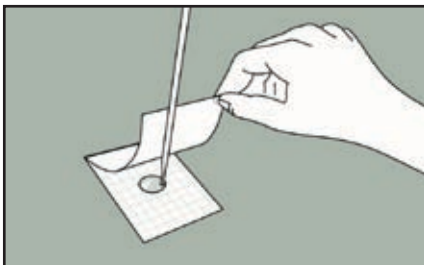


2 Prepare una dilución 1:10 de su muestra con el diluyente estándar. Utilice la dilución 1:10 para inocular otras pruebas microbianas.



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



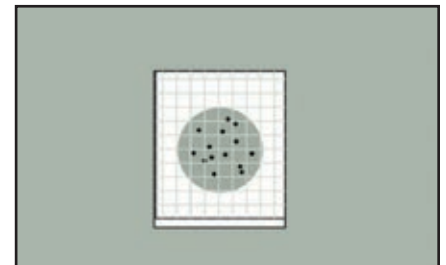
4 Inocule 1 ml de la muestra con dilución 1:20 (0.5 mL de la dilución 1:10 + 0.5 mL de la concentración 2X del MRS = 1:20).

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.

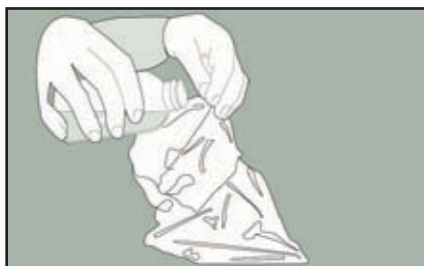
Las Placas Petrifilm para el Recuento de Aerobios pueden ser usadas para el recuento de bacterias ácido-lácticas en ciertos alimentos.

- 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

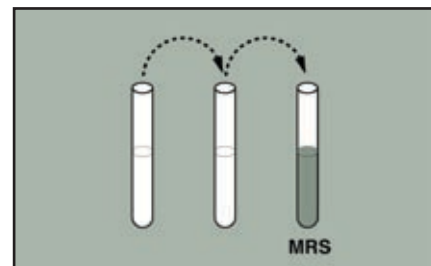


- 1** Prepare una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



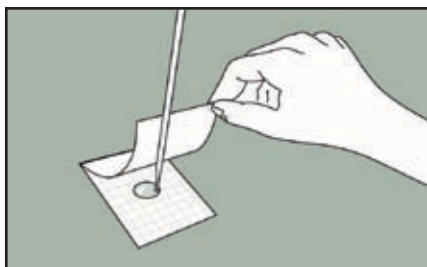
- 2** Adicione la cantidad apropiada de diluyente de caldo MRS. El caldo MRS deberá ser preparado según las instrucciones del fabricante. Si se van a realizar múltiples análisis de una dilución 1:10, puede ser más conveniente un **procedimiento de prueba múltiple**.

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 KH_2PO_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 bisulfito o agua destilada. Mezcle u homogenice la muestra por los métodos convencionales.

Inoculación



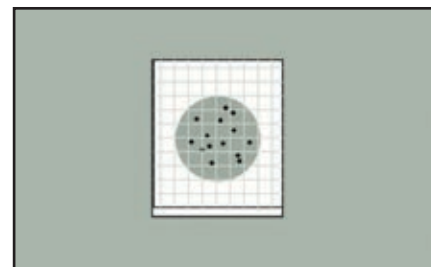
- 4** Con la Pipeta Electronica 3M™, o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, de acuerdo con las instrucciones en el inserto.

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^a 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 ^a (2-7 días) |
| Heterofermentativos obligados: (Estos organismos producen gas) | | |
| <i>Lactobacillus fermentum</i> (2 cepas) | + | + |
| <i>Lactobacillus buchneri</i> | + | + |
| <i>Lactobacillus brevis</i> | + | + |
| Heterofermentativos facultativos (Éstos pueden o no producir gas) | | |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> (10 cepas) | + | +/- ^b |
| <i>Lactobacillus casei</i> (2 cepas) | + | - |
| <i>Lactobacillus curvatus</i> (3 cepas) | + | - |
| Homofermentativos obligados (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
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección 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

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

3M Argentina

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



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