

RECuento DE AEROBIOS CON PETRIFILM

1. ALCANCE

Establecer una metodología para el recuento de aerobios totales en aguas, así como la aplicación de las normas de seguridad y salud en el trabajo y medio ambiente establecidas para desarrollar esta actividad libre de peligros y riesgos para los ejecutores

2. OBJETIVOS

La monitorización microbiana en sistemas de enfriamiento es necesario para proporcionar una evaluación de la presencia y cantidad de crecimiento microbiano y nos permita identificar oportunamente un ensuciamiento microbiano que, de no corregirse puede conducir a la reducción de rendimiento del equipo.

3. EQUIPOS, MATERIALES REQUERIDOS

- Petrifilm AC Marca 3M
- Agua estéril
- Vasos desechables
- Jeringas de 1ml y 10 ml
- Dispensor o esparcidor 3M
- Incubadora



4. PROCEDIMIENTO

Almacenamiento de las placas Petrifilm:

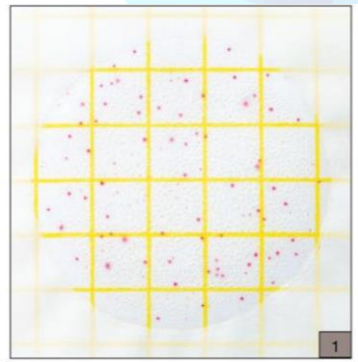
Conserve las bolsas de placas Petrifilm sin abrir a $\pm 8^{\circ}\text{C}$, pero dejando que las bolsas lleguen a temperatura ambiente antes de abrirlas. Las placas sin usar las devuelve a la bolsa, pero teniendo en cuenta cerrar las bolsas antes de refrigerarlas. No refrigera las bolsas abiertas, a fin de evitar exponerlas a la humedad. La exposición de las placas a temperaturas $> 25^{\circ}\text{C}$ y/o humedades relativas a 50 % pueden afectar el funcionamiento de las placas. No utiliza placas que presenten coloración anaranjada o marrón. La fecha de caducidad aparece en cada paquete de placas Petrifilm.

- a) Prepara una dilución de por lo menos 1:10 de la muestra en agua estéril. En caso de que se esperen valores altos de conteos microbiológicos, se recomienda diluir la muestra para obtener valores más exactos. Para no contaminar las muestras se recomienda usar la jeringa de 10 ml para la toma del agua esterilizada y la jeringa de 1 ml para la muestra. Nota: en caso de realizar varias muestras se debe cambiar la jeringa de 1 ml por cada muestra analizada.
- b) Toma una placa de petrifilm marcándola con la fecha de

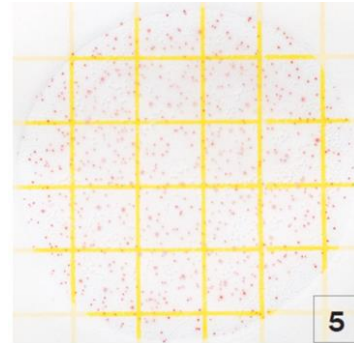
- incubación, muestra sembrada y dilución usada.
- Coloca la placa de petrifilm en una superficie plana, seca y nivelada.
 - Abre la placa de petrifilm y agregar 1 ml de la muestra con la dilución preparada.
 - Cierra la placa y con el lado rugoso hacia abajo colocar el difusor o esparcidor sobre la película superior cubriendo totalmente la muestra.
 - Presiona suavemente el difusor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire o deslice el dispersor.
 - Incubar la muestra a una temperatura entre 31 y 33 °C por 48 ± 3 horas.
 - Interpreta los resultados.

5. INTERPRETACIÓN DE LA LECTURA

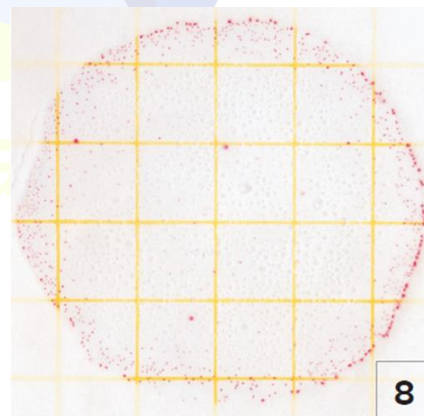
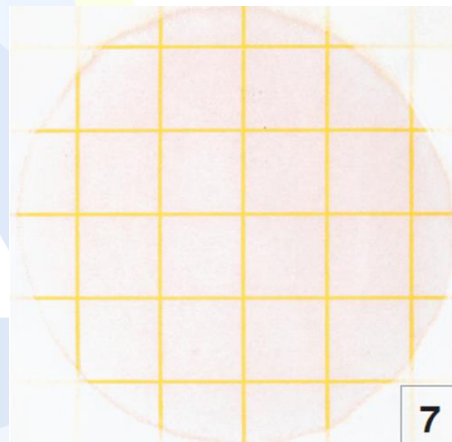
Cuente todas las colonias rojas sin importar su tamaño o intensidad del color. El rango recomendado de recuento en la placa petrifilm AC está entre 25 y 250. En caso de esperar un valor superior se puede repetir el análisis o reportar el valor estimado.



Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se puede observar en la figura 5), por su excesivo crecimiento, los recuentos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en 3 cuadrados (1 cm²) y multiplíquelo por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de inoculación de Petrifilm AC es de 20 cm².



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

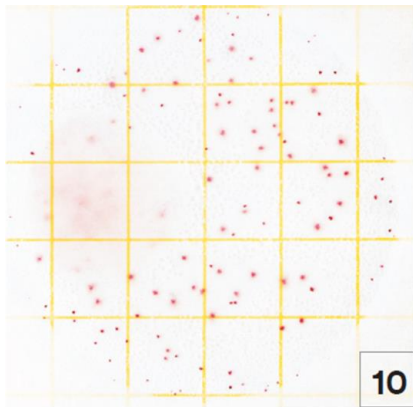


Con recuentos muy altos, el área total de crecimiento puede virar o colorearse de rosa, como se muestra en la figura 7, o aparecer

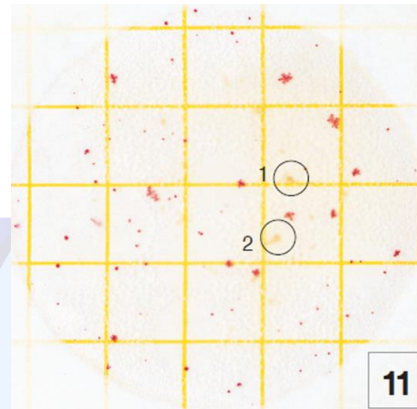
de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8.

Usted podría observar colonias individuales solo en el filo o borde del área de crecimiento. Registre estos recuentos como muy numeroso para contar (MNPC).

Licuefacción del gel y partículas de productos



en los cuadros no afectados y estime el resultado.



Algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las placas petrifilm AC. Cuando esto ocurra, determine el promedio

Debido a que en las Placas Petrifilm AC las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

