





Instrucciones del Producto

Placa para recuento de mohos y levaduras

Descripción del producto y uso previsto

La Placa Neogen® Petrifilm® para Recuento de Mohos y Levaduras es un sistema de medios de cultivo listo para muestras que contiene nutrientes complementados con antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de mohos y levaduras. Las Placas Neogen Petrifilm YM se usan para la enumeración de mohos y levaduras en las industrias de agua embotellada, alimentos y bebidas. Los componentes de la Placa Neogen Petrifilm YM están descontaminados, pero no están esterilizados. Las Placas Neogen® Petrifilm® se fabrican en un sitio certificado por la norma ISO (Organización Internacional de Normalización) 9001.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones de la Placa Neogen Petrifilm YM. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

△ ADVERTENCIA Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves o daños en la propiedad.

A ADVERTENCIA

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a riesgos biológicos y la contaminación ambiental:

 Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos de riesgo biológico.

Para reducir los riesgos asociados con la diseminación de productos contaminados:

- Use las Placas Neogen Petrifilm YM para pruebas de muestras de alimentos y bebidas que haya validado.
- Siga todas las instrucciones de almacenamiento del producto que se incluyen en las instrucciones de uso.
- No use el producto después de la fecha de vencimiento.

Para reducir los riesgos asociados con la infección bacteriana y la contaminación del lugar de trabajo:

- Realice pruebas con la Placa Neogen Petrifilm YM en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de un microbiólogo capacitado.
- El usuario debe capacitar a su personal en las técnicas de evaluación adecuadas. Por ejemplo, Buenas Prácticas de Laboratorio¹, la norma ISO 7218⁴ o la norma ISO 17025⁵.

Para reducir los riesgos asociados con la interpretación incorrecta de resultados:

- Las Placas Neogen Petrifilm YM no distinguen una cepa de moho o levadura de otra.
- Neogen no ha documentado el uso de las Placas Neogen Petrifilm YM en industrias que no sean de alimentos y bebidas, incluida el agua embotellada. Por ejemplo, Neogen no ha documentado Neogen Petrifilm YM para probar productos farmacéuticos ni cosméticos. Neogen no ha documentado las Placas Neogen Petrifilm YM para probar aguas superficiales y municipales, o aguas que se usan en las industrias farmacéutica o cosmética.
- El uso de Placas Neogen Petrifilm YM para probar muestras de agua en conformidad con las regulaciones locales de pruebas de agua se hace a absoluta discreción y responsabilidad del usuario final. Las Placas Neogen Petrifilm YM no han sido probadas con todas las muestras posibles de agua embotellada, protocolos de prueba ni con todas las posibles cepas de microorganismos.
- No use las Placas Neogen Petrifilm YM para diagnosticar afecciones de humanos ni de animales.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Para obtener más información sobre la documentación del desempeño del producto, visite nuestro sitio web en www. neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en **www.neogen.com** o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos, tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio, pueden afectar los resultados.

Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar un número suficiente de muestras con retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a Neogen en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen si tuviera cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento

Almacene las bolsas cerradas de la Placa Neogen Petrifilm YM refrigeradas o congeladas a temperaturas menores o iguales a 8 °C. Antes de usar, deje que las bolsas cerradas alcancen una temperatura ambiente antes de abrirlas (20 °C-25 °C / <60% de humedad relativa). Vuelva a colocar las Placas Neogen Petrifilm YM sin usar en la bolsa. Selle la bolsa plegando el extremo y colocando cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas.** Almacene las bolsas reselladas en un lugar fresco y seco (20 °C-25 °C / <60% de humedad relativa) durante no más de 4 semanas. Se recomienda que las bolsas reselladas de las Placas Neogen Petrifilm YM se almacenen en un congelador (vea a continuación) si la temperatura del laboratorio excede los 25 °C (77 °F) o el laboratorio se encuentra en una región con una humedad relativa que supera el 50% (excepto en instalaciones con aire acondicionado).

Para almacenar las bolsas abiertas en un congelador, coloque las Placas Neogen Petrifilm YM en un recipiente hermético. Para retirar las Placas Neogen Petrifilm YM congeladas para su uso, abra el recipiente, retire las placas necesarias e inmediatamente devuelva las placas restantes al congelador en el recipiente sellado durante el resto de la vida útil. Las Placas Neogen Petrifilm YM no deben usarse pasada su fecha de vencimiento. El congelador que se utiliza para el almacenamiento de bolsas abiertas no debe tener un ciclo de descongelación automático, ya que esto expondría repetidamente las placas a la humedad, lo que puede dañarlas.

No use placas que presenten decoloración. La fecha de vencimiento y el número de lote figuran en cada paquete de las Placas Neogen Petrifilm. El número de lote también aparece en cada una de las placas.

△ Desecho

Después de usarlas, las Placas Neogen Petrifilm YM pueden contener microorganismos que pueden representar un potencial riesgo biológico. Siga las normas actuales de la industria para su desecho.

Para obtener información acerca de los posibles riesgos biológicos, consulte Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6.ª edición, sección VIII-B: Fungal Agents or equivalent.





Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

Preparación e incubación de las muestras (a excepción del agua embotellada)

Preparación de la muestra

1. Prepare la dilución apropiada de la muestra según sea necesario.

Utilice diluyentes estériles apropiados:

Agua de dilución de fosfatos de Butterfield², 0,1 % de agua de peptona, diluyente de sal de peptona³, solución salina (0,85 – 0,90 %), neutralizador de amplio espectro Neogen®, caldo de Letheen sin bisulfito o agua destilada. **No use diluyentes que contengan citrato, bisulfito ni tiosulfato con las Placas Neogen Petrifilm**; pueden inhibir el crecimiento. Si se indica una solución de caldo de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyala por una de las soluciones de caldo que figuran más arriba, calentada a 40 °C-45 °C.

2. Mezcle u homogeneice la muestra.

Inoculación de las placas

- 1. Coloque la Placa Neogen Petrifilm YM sobre una superficie nivelada y plana.
- 2. Levante la película superior y vierta 1 mL de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior.
- 3. Desenrolle la película superior sobre la muestra.
- 4. Coloque el Neogen® Petrifilm® YM Difusor plástico en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir la muestra de manera uniforme. Esparza el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa Neogen Petrifilm YM antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
- 5. Quite el difusor y deje la placa quieta durante al menos un minuto para permitir que se forme gel.

Incubación

Incube las Placas Neogen Petrifilm YM a 20 °C-25 °C durante 5 días en posición horizontal, con el lado claro hacia arriba, en pilas de hasta 20.

Consulte la sección "Instrucciones específicas para métodos validados" para obtener requisitos específicos.

Preparación e incubación de muestras de agua embotellada

Filtración de agua e incubación de placas

- 1. Según los procedimientos estándar para el análisis del agua, filtre con membrana la muestra de agua con una membranade filtro de éster de celulosa mixta (MCE) de 47 mm con un tamaño de poros de 0,45 micrones.
- 2. Levante con cuidado la película superior de la Placa Neogen Petrifilm YM. Evite tocar el área circular de crecimiento. Coloque el filtro en el centro de la placa.
- 3. Hidrate la Placa Neogen Petrifilm YM colocando 1 mL de un diluyente de hidratación estéril adecuado en el centro del filtro. Los diluyentes de hidratación estéril adecuados incluyen agua destilada, agua desionizada (DI) y agua de ósmosis inversa (RO).
- 4. Enrolle lentamente la película superior en el filtro. Minimice las burbujas de aire atrapadas y la formación de huecos entre el filtro y la Placa Neogen Petrifilm YM. Aplique presión suavemente usando el difusor de la Placa Neogen Petrifilm YM.
- 5. Incube las Placas Neogen Petrifilm YM a 20 °C-25 °C durante 3 a 5 días⁶ en posición horizontal con el lado claro hacia arriba en pilas de hasta 20.

Interpretación

- 1. Las Placas Neogen Petrifilm YM pueden contarse usando un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. Las cuadrículas se ven con luz de fondo que ayuda con la enumeración estimada.
- 2. Para diferenciar las colonias de mohos y levaduras en la Placa Neogen Petrifilm YM, busque una o más de las siguientes características:

Levaduras	Mohos
Colonias pequeñas	Colonias grandes
Las colonias tienen límites definidos	Las colonias tienen límites difusos
Tienen un color de rosa/tostado a azul/verde	Color variable
Las colonias se ven elevadas (3 dimensiones)	Las colonias se ven planas
Las colonias tienen un color uniforme	Las colonias tienen un centro oscuro*

^{*}Las colonias de mohos en la superficie de un filtro pueden no mostrar un centro oscuro.

- 3. Lea los resultados finales de mohos y levaduras el día 5. Los mohos grandes o de crecimiento rápido pueden oscurecer los resultados en la Placa Neogen Petrifilm YM para el día 5. Revise las placas el día 3 y registre los resultados de las placas con recuentos altos (este recuento se puede registrar directamente en la placa). Si para el día 5 la placa presenta mucho crecimiento, registre el recuento del día 3 como recuento estimado.
 - **Nota:** Durante la hidratación de la Placa Neogen Petrifilm YM con un filtro con membrana, algunas colonias pueden ser eluidas fuera del filtro en el área de inoculación circundante. Cuente todas las colonias en el filtro y el medio circundante.
- 4. Las colonias de mohos pueden propagarse y provocar que toda el área de crecimiento se ponga azul, negra, amarilla, etc. Registre el recuento del día tres como recuento estimado de mohos.
- 5. Altas cantidades de colonias de levaduras pueden provocar que toda el área de crecimiento se ponga azul o aparezca como un crecimiento azul alrededor del borde del área inoculada. Si las Placas Neogen Petrifilm YM parecen no tener crecimiento, levante la película superior y examine el gel que se adhiere a la película superior. Si hay muchas levaduras, podrá ver colonias blancas en el gel. Esto se registra como un recuento de levaduras demasiado numeroso para contar (TNTC).
- 6. El área de crecimiento circular es de aproximadamente 30 cm². Se pueden hacer estimaciones en las placas que contengan más de 150 colonias contando la cantidad de colonias en uno o más cuadrados representativos y determinando la cantidad promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 30 para determinar el recuento estimado por placa.
- 7. Si se requiere un recuento más preciso, vuelva a probar la muestra inoculando en diluciones más altas.
- 8. Las Placas Neogen Petrifilm YM usan un indicador de enzima fosfatasa para ayudar a detectar mohos y levaduras. Todas las células vivientes contienen fosfatasa; por lo tanto, la fosfatasa natural en las muestras puede provocar que el indicador reaccione de una de dos maneras:
 - a) Un color de fondo azul uniforme (a menudo se ve en los organismos que se usan en los productos cultivados).
 - b) Puntos azules intensos (a menudo se ven con productos granulados o especias).
- 9. Una o más de las siguientes técnicas pueden ayudar a distinguir una reacción de color provocada por la fosfatasa natural en un producto de las colonias de mohos y levaduras:
 - a) Diluya más la muestra.
 - b) Deje que las partículas de alimentos se asienten en la muestra y luego inocule el sobrenadante.
 - c) Revise la placa después de 24 a 48 horas de la incubación y observe cualquier color que esté presente; si la intensidad del color no cambia para el día 5 de la incubación, el color puede ser de la reacción de fosfatasa.
- 10. Cuando sea necesario, las colonias se podrán aislar para una mejor identificación. Levante la película superior y recoja la colonia del gel. Si usa filtración por membrana, el filtro se puede adherir a la película superior o a la inferior cuando levante la película superior. Si el filtro se adhiere a la película superior, separe el filtro de la película superior y recoja las colonias. Pruebe usando procedimientos estándar.
- 11. Si las placas no se pueden contar al final del día 5 del período de incubación, almacénelas para enumerarlas luego congelándolas en un recipiente hermético a temperaturas inferiores o iguales a 15 °C negativos durante no más de una semana.

Nota: No se recomienda el recuento retrasado de las Placas Neogen Petrifilm YM con filtros.

Para obtener más información, consulte la "Guía de interpretación de la placa para recuento de mohos y levaduras Neogen® Petrifilm®". Si tiene preguntas sobre aplicaciones o procedimientos específicos, visite nuestro sitio web en www. neogen.com o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Seguridad alimentaria de Neogen.

Instrucciones específicas para métodos validados AOAC® Official Methods of AnalysisSM (OMA) #997.02

En un estudio de Official Methods of Analysis de AOAC, se observó que el método de la Placa Neogen Petrifilm YM era equivalente al promedio de los recuentos del registro del método de referencia de FDA BAM, 7.ª edición, capítulo 18 y de AOAC SMPR 2021.009.

Alcance de la validación:

Enumeración de total de hongos y moho en alimentos y flor de cannabis seca.

Incubación:

Incube las Placas Neogen Petrifilm YM a 20 °C-25 °C durante 5 días.

Interpretación:

Las placas que contengan más de 150 colonias pueden ser estimadas o registradas como un recuento demasiado numeroso para contar (TNTC). Se pueden hacer estimaciones contando la cantidad de colonias en uno o más cuadrados representativos y determinando la cantidad promedio por cuadrado. El número promedio puede multiplicarse por 30 para determinar el recuento estimado por placa. Si se requiere un recuento más preciso, la muestra puede volver a probarse en diluciones más altas.

Referencias

- U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
- 2. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm.
- 3. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
- 4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- 5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs General requirements and guidance for microbiological examinations.
- 6. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9610D.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándares enumerados arriba.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

AOAC es una marca registrada de AOAC INTERNATIONAL

Official Methods of Analysis es una marca de servicio de AOAC INTERNATIONAL

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA www.neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School Auchincruive Ayr, KA6 5HU Scotland, UK

Neogen Ireland

Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98YV29, Ireland

