

Instrucciones del Producto

Placa para recuento de *Enterobacterias*

Descripción del producto y uso previsto

Las Placas Petrifilm® para Recuento de *Enterobacterias* (EB) Neogen® son un sistema con medio de cultivo listo para muestrear que contiene nutrientes Glucosa bilis rojo violeta (VRBG) modificados, un agente gelificante soluble en agua fría, y un indicador tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. Las Placas Petrifilm EB Neogen se usan para la enumeración de *Enterobacterias* en la industria de los alimentos, las bebidas y del agua embotellada. *Las Enterobacterias* son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos que fermentan la glucosa para producir ácido y/o gas. En las Placas Petrifilm EB Neogen, las *Enterobacterias* aparecerán como colonias de color rojo con zonas amarillas, colonias de color rojo con burbujas de gas o colonias de color rojo con zonas amarillas y burbujas de gas. Los componentes de la Placa Petrifilm EB Neogen están descontaminados, pero no esterilizados. El diseño y la fabricación de Neogen Food Safety cuentan con la certificación correspondiente de la Organización Internacional de Normalización (ISO) 9001. Las Placas Petrifilm EB Neogen no han sido evaluadas con todos los posibles productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de prueba, ni con todas las cepas de *Enterobacterias* u otras bacterias.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones de la Placa Petrifilm EB Neogen. Guarde las instrucciones de seguridad para consulta en el futuro.

⚠ ADVERTENCIA: Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, y/o daños materiales.

⚠ 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:

- Siga todas las instrucciones de almacenamiento del producto que se incluyen en las Instrucciones de uso.
- Utilizar antes 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 Petrifilm EB Neogen en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de un microbiólogo capacitado.
- El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de análisis actuales adecuadas: por ejemplo, las Buenas prácticas de laboratorio¹, ISO/EIC 17025² o ISO 7218³.

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

- Neogen no ha documentado el uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para otras industrias que no sean de alimentos o bebidas, incluida la del agua embotellada. Por ejemplo, Neogen no ha documentado el uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para realizar análisis de productos farmacéuticos o cosméticos. Neogen no ha documentado las placas Petrifilm EB Neogen para realizar pruebas en aguas superficiales y municipales o en aguas utilizadas por las industrias farmacéutica y cosmética.
- El uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para analizar las muestras de agua en cumplimiento de las reglamentaciones locales para el análisis del agua queda bajo el exclusivo criterio y responsabilidad del usuario final. Las Placas Petrifilm EB Neogen no se han evaluado con todas las posibles muestras de agua embotellada, los protocolos de prueba o con todas las posibles cepas de microorganismos.
- No use las Placas Petrifilm EB Neogen para diagnosticar enfermedades en seres humanos o animales.
- Las Placas Petrifilm EB Neogen no diferencian ninguna cepa de *Enterobacterias* de otra.

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

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 Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones y la 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 qué 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 exposiciones microbianas y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios que este estipule.

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 garantías/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA 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 FORTUITOS O IMPREVISTOS, 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

Guarde las bolsas de la Placa Petrifilm EB Neogen sin abrir refrigeradas o congeladas a temperaturas de 8 °C (46 °F) o inferiores. Justo antes de usarlas, espere que las bolsas de la Placa Petrifilm EB Neogen sin abrir alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Vuelva a colocar las Placas Petrifilm EB Neogen que no haya usado en la bolsa. Selle la bolsa plegando el extremo y colocando cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigerue las bolsas abiertas.** Guarde las bolsas de Placa Petrifilm EB Neogen reselladas en un lugar fresco y seco durante un período máximo de cuatro semanas. Se recomienda que las bolsas reselladas de las de Placas Petrifilm EB Neogen se guarden en un congelador (vea a continuación) si la temperatura del laboratorio excede los 25 °C (77 °F) y/o el laboratorio se encuentra en una región con humedad relativa que supera el 50 % (excepto en instalaciones con aire acondicionado).

Para guardar bolsas abiertas en un congelador, coloque las Placas Petrifilm EB Neogen en un recipiente hermético. Para retirar las Placas Petrifilm EB Neogen 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. El congelador que se usa para el almacenamiento de las bolsas abiertas no debe tener un ciclo de descongelación automática dado que esto puede dañar las placas debido a una reiterada exposición a la humedad.

No use las Placas Petrifilm EB Neogen que presenten decoloración. En cada bolsa de Placas Neogen Petrifilm EB se indican su fecha de vencimiento y número de lote. El número de lote también aparece en cada Placa Petrifilm EB Neogen. No se deben usar Placas Petrifilm EB Neogen que hayan excedido su fecha de vencimiento.

⚠ Desecho

Después del uso, las Placas Petrifilm EB Neogen pueden contener microorganismos que pueden ser un posible riesgo biológico. Siga las normas actuales de la industria para su desecho.

Instrucciones de uso

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

Preparación e incubación de muestras de las industrias de alimentos y bebidas (excepto agua embotellada) incluidas muestras ambientales**Preparación de la muestra**

1. Utilice diluyentes estériles apropiados:

Agua de dilución de fosfatos de Butterfield⁴, diluyente de sal de peptona⁵, 0,1 % de agua de peptona⁴, agua con peptona tamponada⁵, solución de hidrogenofosfato dipotásico⁵, solución salina (0,85 – 0,90 %), neutralizador de amplio espectro Neogen®, caldo de Lethen sin bisulfato o agua destilada. Consulte la sección “**Instrucciones específicas para métodos validados**” para conocer los requisitos específicos.

No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato en Placas Petrifilm EB Neogen; ya que estos pueden inhibir el crecimiento. Si se indica solución de tampón de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyala por una de las soluciones tamponadas mencionadas más arriba, calentada a una temperatura de entre 40-45 °C (104-113 °F).

2. Mezcle u homogeneice la muestra.
3. Para un crecimiento y recuperación óptimos de los microorganismos, ajuste el pH de la suspensión de la muestra a 6,5-7,5. Para productos ácidos, ajuste el pH con NaOH 1N. Para productos alcalinos, ajuste el pH con HCl 1N.

Inoculación de las placas

1. Coloque la Placa Petrifilm EB Neogen sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y con la pipeta perpendicular a la zona de inoculación distribuya 1 ml de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior.
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar que queden burbujas de aire atrapadas.
4. Coloque el Difusor Petrifilm® Neogen® con la cara plana hacia abajo en el centro de la Placa Petrifilm EB Neogen. Presione ligeramente el centro del Difusor Petrifilm Neogen para distribuir la muestra de manera uniforme. Esparza el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa Petrifilm EB Neogen antes de que se forme el gel. No deslice el Difusor Petrifilm Neogen a través de la película.
5. Retire el Difusor Petrifilm Neogen y deje la Placa Petrifilm EB Neogen quieta por al menos un minuto para permitir que se forme el gel.

Incubación

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen en posición horizontal, con la parte transparente hacia arriba, en pilas de no más de 20 Placas Petrifilm EB Neogen. Incube las Placas Petrifilm EB Neogen 24 horas ± 2 horas. Se pueden emplear distintos tiempos y temperaturas de incubación según los métodos de referencia locales actuales, algunos de los cuales se enumeran en la sección que figura a continuación y se titula "**Instrucciones específicas para métodos validados**".

Preparación e incubación de las muestras de agua embotellada**Hidratación de la Placa Petrifilm EB Neogen**

1. Coloque la Placa Petrifilm EB Neogen sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y distribuya 1 ml de un diluyente estéril de hidratación adecuado en el centro de la película inferior. Entre los diluyentes estériles de hidratación adecuados se incluyen el agua destilada, el agua desionizada (DI) y el agua por ósmosis inversa (OI).
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar que queden burbujas de aire atrapadas.
4. Coloque el Difusor Petrifilm Neogen con la cara plana hacia abajo sobre el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Esparza el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa Petrifilm Neogen antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
5. Retire el Difusor Petrifilm Neogen y deje que las placas queden cerradas durante una hora como mínimo antes del uso.
6. Almacene las Placas Petrifilm EB Neogen hidratadas en una bolsa sellada o en una bolsa de plástico. Proteja las placas de la luz y congélelas a 2-8 °C (36-46 °F) por hasta 7 días.

Filtración de agua e incubación de la placa

1. Siguiendo los procedimientos estándar para el análisis de agua, filtre la muestra de agua con una membrana que tenga un filtro de 47 mm, con poros de 0,45 micras de una mezcla de éster de celulosa (MCE).
2. Levante la película superior de la placa Petrifilm EB Neogen con cuidado. Evite tocar el área circular de desarrollo. Coloque el filtro en el centro del área hidratada.
3. Lentamente vuelva a colocar la película superior sobre el filtro de la membrana. Minimice las burbujas de aire atrapado y la formación de huecos entre el filtro y la placa Petrifilm EB Neogen.

4. Presione suavemente utilizando el Difusor Petrifilm Neogen o deslizando un dedo suavemente por toda el área del disco (incluidos los bordes) para asegurarse de que el contacto entre el filtro y el gel sea uniforme y para eliminar las burbujas de aire.

Incubación

Incube las placas Petrifilm EB Neogen a una temperatura de entre 34 °C a 37 °C durante 24 horas ± 2 horas en posición horizontal, con la parte transparente hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas.

Interpretación

1. Las Placas Petrifilm EB Neogen pueden contarse usando un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. No cuente las colonias que están en el dique de espuma ya que no están dentro de la influencia selectiva del medio. No cuente las burbujas producidas por el usuario que puedan estar presentes.
2. *Las Enterobacterias* son colonias de color rojo con zonas amarillas y/o colonias de color rojo con burbujas de gas, con o sin zonas amarillas. Las colonias no asociadas con gas (una distancia mayor al diámetro de una colonia entre la colonia y la burbuja de gas) y no asociadas con una zona amarilla no se cuentan como *Enterobacterias*.
3. El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm². Puede realizarse un recuento estimado de las Placas Petrifilm EB Neogen que contengan un crecimiento mayor a 100 colonias contando dos o más cuadrículas representativas y determinando un número promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el recuento estimado para cada placa.
4. Cuando las colonias están presentes en grandes cantidades, las Placas Petrifilm EB Neogen tendrán una intensificación en el color del gel o la placa se volverá completamente amarilla, y tendrá alguna o ambas de las siguientes características: muchas colonias pequeñas y poco definidas, y/o muchas burbujas de gas. Cuando esto ocurra, registre los resultados como muy numeroso para contar (MNPC). Cuando se necesite un recuento real, utilice una placa con una dilución mayor.
5. Si fuera necesario, las colonias se podrán aislar para una mejor identificación. Levante la película superior utilizando la técnica adecuada de prueba y recoja la colonia del gel. Realice la prueba según los procedimientos estándar.
6. Si no se pueden contar las Placas Petrifilm EB Neogen en el lapso de 1 hora luego de retirarlas de la incubadora, se pueden guardar para enumerarlas en otro momento congelándolas en un recipiente hermético a una temperatura menor o igual a -15 °C (5 °F) durante un período máximo de una semana.

Nota: No se recomienda realizar un recuento retrasado de las placas Neogen Petrifilm EB con o sin filtros.

Para obtener mayor información, consulte la "Guía de interpretación de Placas Petrifilm® para *Enterobacterias* Neogen®". Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Instrucciones específicas para métodos validados

Official MethodsSM de la asociación AOAC®

Campo de la validación: 2003.01 Enumeración de *Enterobacterias* en alimentos seleccionados

Incubación:

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen durante 24 horas ± 2 horas a 37 °C ± 1 °C.

NF Validation por AFNOR Certification

Método certificado de NF Validation en cumplimiento de la norma ISO 16140-2⁶ comparada con la norma ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 –09/97)

Utilice los siguientes datos al llevar a cabo la implementación de las Instrucciones de uso antes mencionadas:

Campo de la validación: Para la prueba de todos los productos alimenticios para humanos, para animales y muestras ambientales industriales.

Preparación de la muestra: Use exclusivamente diluyentes especificados en las normas ISO⁵.

Incubación:

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen durante 24 horas ± 2 horas a 30 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C

Interpretación:

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba de acuerdo con la norma ISO 7218³ para una placa por dilución. Para el cálculo, tenga en cuenta solo las Placas Petrifilm EB Neogen que contengan hasta 100 colonias. Las estimaciones están fuera del alcance de la certificación de NF Validation (vea el párrafo 3 de la sección "Interpretación"). Consulte la norma EN ISO 7218 sobre inoculación, recuento y cálculo de colonias, y expresión de los resultados.



3M 01/06 – 09/97

MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS PARA LA AGROINDUSTRIA

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Para mayor información acerca de la fecha de finalización de la validez, consulte el certificado de NF VALIDATION disponible en el sitio web mencionado con anterioridad.

Referencias

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at:
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

AOAC es una marca comercial registrada de AOAC INTERNATIONAL

Official Methods es una marca de servicios de AOAC INTERNATIONAL

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

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

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



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

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A