

# Interpretación microbiana manual vs. interpretación automatizada con el Neogen® Petrifilm® Lector Avanzado de Placas

## Descripción general

Contar visualmente las colonias en una placa es una labor que requiere mucho tiempo y que ha convertido a los contadores de placas automatizados en una herramienta valiosa para los laboratorios de microbiología. El Neogen® Petrifilm® Lector Avanzado de Placas automatiza la enumeración de nueve Neogen® Petrifilm® Placas, además del Neogen® Petrifilm® Disco exprés para estafilococos para ayudar a los analistas de laboratorio en la realización de esta tarea .

El siguiente estudio se llevó a cabo para demostrar la precisión del Neogen® Petrifilm® Lector Avanzado de Placas en comparación con los resultados obtenidos mediante el recuento manual. Se evaluaron las siguientes Placas Neogen® Petrifilm®: Placa para recuento de *E. coli*/ coliformes (EC/CC), Placa para recuento rápido de *E. coli*/ coliformes (REC), Placa para recuento de coliformes (CC), Placa para recuento selectivo de *E. coli* (SEC), Placa para recuento exprés de estafilococos (STX), disco exprés para estafilococos (disco STX), Placa para recuento de *Enterobacteriaceae* (EB), Placa para recuento de aerobios (AC) e Placa para recuento rápido de aerobios (RAC).

## Métodos

### Estudio de diluyentes

Se aislaron cepas puras de cultivos de bacterias a partir de cultivos madre comprados o cultivos madre congelados de Neogen®. Cada cepa se subcultivó en un caldo no selectivo y se incubó durante 18 a 24 horas antes de diluir el cultivo en cada diluyente enumerado en las instrucciones del producto correspondiente. Se obtuvieron diferentes concentraciones de cada uno de los microorganismos enumerados en la Tabla 1 para tener recuentos en los rangos bajo, medio y alto del rango contable de cada placa Neogen® Petrifilm® (p. ej., el valor objetivo de UFC/ml para una placa con un rango contable de 0-300 fue 0-75 (bajo), 75-175 (medio) y 175-300 (alto)). Se sembró un ml de cada dilución en las Neogen® Petrifilm® Placas correspondientes conforme a la Tabla 1. Luego se incubaron las Neogen® Petrifilm® Placas de acuerdo con sus instrucciones de uso correspondientes. Después de la incubación, las placas Neogen® Petrifilm® se pasaron por el Neogen® Petrifilm® Lector avanzado de placas y, posteriormente, un microbiólogo las contó manualmente para obtener los recuentos de colonias para comparar.

**Tabla 1.** Microorganismos utilizados para cada Placa Neogen® Petrifilm®

Microorganismos	Placa Neogen® Petrifilm®
<i>Bacillus atropheus</i> ATCC 9372	STX, disco STX, RAC
<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633	AC, RAC
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	REC, SEC
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	EC/CC, REC, CC, EB, RAC
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	REC
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 14506	EB
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51816	EC/CC, REC, CC, EB
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51818	EC/CC, REC, CC, EB
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	EC/CC, SEC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	EC/CC, CC, SEC, STX, disco STX, EB, AC, RAC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	EC/CC, CC, SEC, AC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	REC, CC, SEC, EB, AC, RAC
<i>Escherichia coli</i> 3M-FR8	SEC
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13216	REC, SEC
<i>Escherichia coli</i> REC1	REC, SEC
Espécie <i>Flavobacterium</i> ATCC 51823	AC
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 51815	EC/CC, CC

Microorganismos	Placa Neogen® Petrifilm®
<i>Korcuria varians</i> ATCC 51820	AC
<i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 51817	EC/CC, REC, CC
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 19257	AC, RAC
<i>Microbacterium testaceum</i> ATCC 15829	AC
Espécie <i>Micrococcus</i> ATCC 51819	AC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	EC/CC, CC, RAC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554	EB
<i>Pseudomonas spp</i> ATCC 51821	AC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCIMB 12469	RAC
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 51812	EC/CC, REC, CC, EB
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	EB
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	STX, disco STX, AC, RAC
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49476	STX, disco STX
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	STX, disco STX, AC, RAC
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	STX, disco STX
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	STX, disco STX
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 27965	AC

## Estudio de alimentos

Todos los alimentos se examinaron antes del inicio del estudio. No se aumentó artificialmente la carga microbiana de los alimentos que contenían un nivel suficiente de flora anterior natural para cubrir los rangos contables bajo, medio y alto de las Neogen® Petrifilm® Placas. Los alimentos que no contenían un nivel suficiente de flora anterior natural se inocularon con cepas puras de bacterias. Se aislaron cultivos a partir de cultivos madre comprados o cultivos madre congelados de Neogen®. Cada cepa se subcultivó en un caldo no selectivo y se incubó durante 18 a 24 horas antes de diluir el cultivo a los niveles apropiados. Se agregaron diferentes concentraciones de cada uno de los microorganismos enumerados en la Tabla 3 a los alimentos indicados en la Tabla 2. Cada matriz de alimentos se diluyó en proporciones de 1:10, 1:100 y 1:1000, y se aumentó la carga microbiana para lograr los rangos contables bajo, medio y alto de la placa Neogen® Petrifilm®. Se sembró un ml de cada dilución en la placa Neogen® Petrifilm® correspondiente conforme a las Tabla 2 y 3. Luego se incubaron las placas Neogen® Petrifilm® de acuerdo con sus instrucciones de uso correspondientes. Después de la incubación, las placas Neogen® Petrifilm® se pasaron por el Neogen® Petrifilm® Lector avanzado de placas y, posteriormente, un microbiólogo las contó manualmente para obtener los recuentos de colonias para comparar.

**Tabla 2.** Alimentos testados para cada Placa Neogen® Petrifilm®

Matriz	Placa Neogen® Petrifilm®
Carne molida cruda	EC/CC, REC, CC, SEC, EB
Leche crudo	EC/CC, REC, CC, SEC, STX, disco STX, AC, RAC
Coco	EC/CC, REC, CC, SEC, EB
Pollo crudo	EC/CC, REC, CC, SEC, EB
Helado	EC/CC, REC, CC, SEC
Hummus con pimiento rojo	EC/CC, REC, CC, SEC
Germinado de alfafa	EC/CC, REC, CC
Offal's	SEC
Salchicha cruda	STX, disco STX
Huevo líquido	STX, disco STX, EB
Torta de chocolate con relleno de crema pastelera	STX, disco STX
Ensalado de papa	STX, disco STX
Empanaditas orientales de vegetales congelados	STX, disco STX
Trocitos de pollo empanizados	EB
Leche chocolatada	EB
Pizza suprema congelada	EB
Crema de leche	AC, RAC
Atún aleta amarilla	AC, RAC
Suero de leche en polvo	AC, RAC
Queso pasteurizado	AC, RAC
Platillo de espagueti congelado	AC, RAC
Espinacas congeladas	AC, RAC
Jamón processado para untar	AC, RAC
Pavo molido	RAC
Agua de enjuague tomates	RAC
Galleta de chocolate con relleno cremoso	RAC

**Tabla 3.** Microorganismos utilizados para aumentar la carga microbiana de los alimentos para cada Placa Neogen® Petrifilm®

Microorganismos	Placa Neogen® Petrifilm®
<i>Bacillus atropheus</i> ATCC 9372	STX, disco STX
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51818	EC/CC, REC, CC, SEC, EB
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	EC/CC, REC, CC, SEC, AC, RAC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	EC/CC, REC, CC, SEC
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 51815	EB
<i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 51817	REC, SEC
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	RAC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	AC, RAC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554	EB
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 51812	EC/CC, REC, CC, SEC
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	STX, disco STX, AC, RAC
<i>Staphylococcus cohnii</i> ATCC 35662	STX, disco STX
<i>Shigella sonnei</i> U8	EC/CC, REC, CC, SEC, EB

Los datos que se obtuvieron de los estudios de diluyentes y alimentos se analizaron con base en las tres afirmaciones siguientes utilizando placas Neogen® Petrifilm® dentro del rango contable, como se describe en las instrucciones del producto. El porcentaje de placas Neogen® Petrifilm® que cumplieron con estos criterios se muestra en la Tabla 4 y la Tabla 5 para el estudio de diluyentes y el estudio de alimentos, respectivamente.

1. El valor logarítmico del recuento del lector está dentro de  $\pm 10\%$  del valor logarítmico del recuento humano, bajo el supuesto de que la placa tiene más de 10 colonias.
2. El número total de falsos positivos y falsos negativos no puede exceder del 10% de logaritmo del recuento humano.
3. La diferencia entre el recuento humano y el recuento con lector no puede exceder de 2 colonias para placas que contienen de 0 a 10 colonias, incluidos 2 falsos positivos y falsos negativos en total.

## Resultados del Estudio de diluyentes

Se analizaron 11 diluyentes en total, lo que dio como resultado la realización de pruebas en 1.705 placas que incluyeron los 9 tipos de placas Neogen® Petrifilm® más el disco para recuento exprés de estafilococos Neogen® Petrifilm®. En la Tabla 4 se resume el porcentaje de placas en las que el Neogen® Petrifilm® Lector avanzado de placas cumplió con los criterios establecidos.

**Tabla 4.** Porcentaje de recuentos realizados con el Neogen® Petrifilm® Lector Avanzado de Placas que cumplieron con los criterios para el estudio de diluyentes.

Método	Tipos de colônias contados	Resultado de la Placa Neogen® Petrifilm®	Número de placas	Precisión del Lector #1 (%)	Precisión del Lector #2 (%)
EC/CC	1. Rojo con gas y azul con gas	Recuento total de coliformes	156	96	97
	2. Azul con gaz	Recuento total de <i>E. coli</i>		99	99
	3. Azul com e sem gás	N/A		100	99
REC	1. Todas las colonias rojas con gas y todas las colonias azules	Recuento total de coliformes (Método FDA - BAM)	165	100	99
REC	2. Todas las colonias rojas y todas las colonias azules con o sin gas	Recuento total de coliformes	165	100	100
	3. Todas las colonias azules	Recuento total de <i>E. coli</i>			
CC	1. Todas las colonias rojas con gas	Recuento total de coliformes (Método FDA - BAM)	165	98	100
	2. Todas las colonias rojas con y sin gas	Recuento total de coliformes		98	100
SEC	Todas las colonias de color azul verdoso	Recuento total de <i>E. coli</i>	186	99	98
STX	Todas las colonias de color rojo violeta	Recuento total de <i>S. aureus</i>	104	100	100
Disco STX	Todas las zonas de color rosado	Recuento total de <i>S. aureus</i>	101	97	100
EB	Todas las colonias que producen ácido y/ o gas	Recuento total de <i>Enterobacteriaceae</i>	181	100	99
AC	Todas las colonias	Recuento total de aerobios	272	97	96
RAC	Todas las colonias	Recuento total de aerobios	210	94	97

## Resultados - Estudio de matrices de alimentos

No total, 26 alimentos foram testados, resultando em 1.503 placas testadas nas 8 Placas Neogen® Petrifilm® mais o Neogen® Petrifilm® Disco STX Staph Express. A porcentagem de placas para as quais a Leitora Avançada de Placas Neogen® Petrifilm® atendeu aos critérios descritos está resumida na Tabela 5.

**Tabela 5.** Porcentagem das contagens da Leitora Avançada de Placas Neogen® Petrifilm® que atendem aos critérios após os estudos de alimentos.

Método	Tipos de colônias contados	Resultado de la Placa Neogen® Petrifilm®	Número de placas	Precisión del Lector #1 (%)	Precisión del Lector #2 (%)
EC/CC	1. Rojo con gas y azul con gas	Recuento total de coliformes	195	98	98
	2. Azul con gaz	Recuento total de <i>E. coli</i>		96	96
	3. Azul com e sem gás	N/A		97	95
REC	1. Todas las colonias rojas con gas y todas las colonias azules	Recuento total de coliformes (Método FDA - BAM)	123	98	99
REC	2. Todas las colonias rojas y todas las colonias azules con o sin gas	Recuento total de coliformes	123	96	96
	3. Todas las colonias azules	Recuento total de <i>E. coli</i>		98	99
CC	1. Todas las colonias rojas con gas	Recuento total de coliformes (Método FDA - BAM)	126	98	99
	2. Todas las colonias rojas con y sin gas	Recuento total de coliformes		98	98
SEC	Todas las colonias de color azul verdoso	Recuento total de <i>E. coli</i>	151	97	93
STX	Todas las colonias de color rojo violeta	Recuento total de <i>S. aureus</i>	149	97	95
Disco STX	Todas las zonas de color rosado	Recuento total de <i>S. aureus</i>	154	95	90
EB	Todas las colonias que producen ácido y/o gas	Recuento total de <i>Enterobacteriaceae</i>	140	96	93
AC	Todas las colonias	Recuento total de aerobios	204	95	93
RAC	Todas las colonias	Recuento total de aerobios	261	95	96

## Conclusión

De las placas Neogen® Petrifilm® que se analizaron con 7 a 13 cepas aisladas distintas en el estudio de diluyentes, en todas se logró una precisión de cuando menos un 94 % en el Lector 1 y del 96 % en el Lector 2. De forma similar, las placas Neogen® Petrifilm® que se analizaron a lo largo de 6 a 8 matrices representativas de alimentos lograron una precisión de cuando menos un 95 % en el Lector 1 y del 90 % en el Lector 2.

México

✉ InfoLAC@neogen.com 📞 +52 55 5254 8235

