

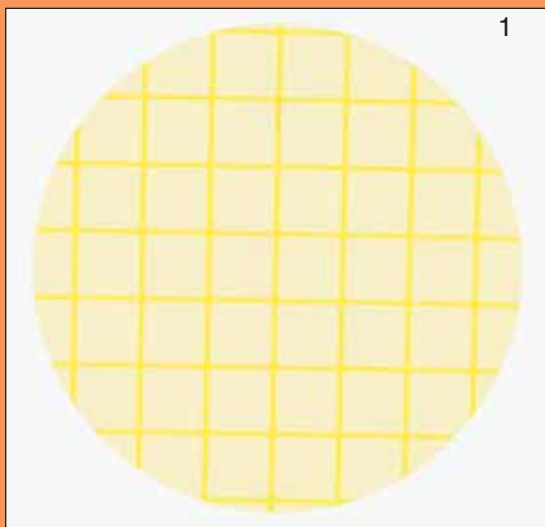
Petrifilm™

Placa para control ambiental de *Listeria*

Este guía le familiarizará con los resultados de las placas 3M™ Petrifilm™ para control ambiental de *Listeria*. Para mayor información, por favor contacte con su proveedor de productos 3M Microbiología.

Las placas Petrifilm para control ambiental de *Listeria* (EL) consisten en un medio de cultivo listo para usar que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador cromogénico que facilita la detección de colonias de *Listeria*. Las placas Petrifilm EL han sido diseñadas para análisis ambiental y constituyen una ayuda para el control de la eficiencia de las operaciones de limpieza y desinfección en las plantas. La presencia de microorganismos tipo *Listeria* tales como *Listeria innocua* aporta evidencia de que las condiciones ambientales son propicias para la ocurrencia de *Listeria monocytogenes*. La placa Petrifilm EL detecta la mayoría de las especies de *Listeria* presentes en el ambiente tales como *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* y *Listeria welshimeri*.(*)

Las condiciones de limpieza o sanitización pueden dañar los microorganismos. Se emplea agua de peptona tamponada (BPW) como caldo de reparación en combinación con las placas Petrifilm al objeto de revivificar colonias dañadas o estresadas de *Listeria* sin alterar el recuento. Este proceso se considera una fase de reparación y **no** de enriquecimiento.

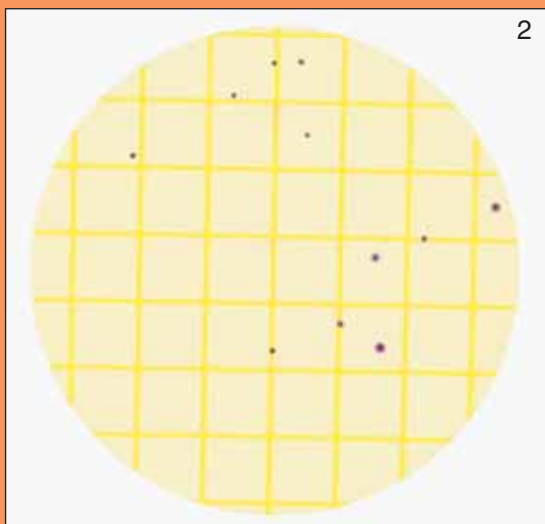


1. Esta placa de Petrifilm EL no muestra colonias después de 28 h de incubación. Dar por concluido el ensayo.

Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* en esta placa: <1. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* no detectada



2. Esta placa de Petrifilm EL muestra SOLAMENTE colonias de color rojo-violeta intenso después de 28 h de incubación. Dar por concluido el ensayo.

Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* en esta placa: **11** Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

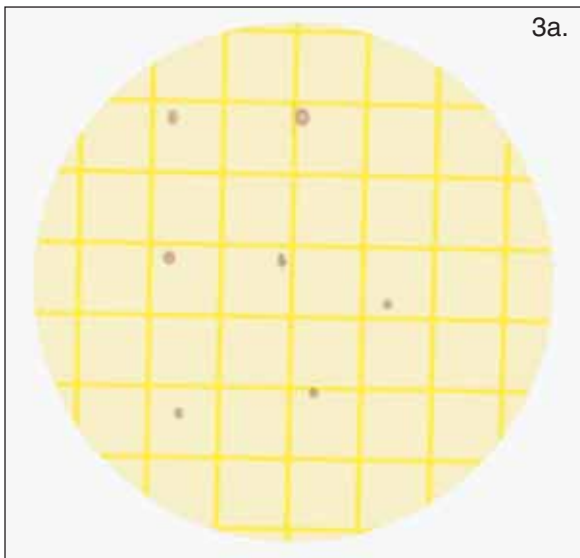
Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* detectada

* Para información adicional acerca de la prevalencia de las especies de *Listeria*, por favor, contactar con 3M Microbiología. *L. ivanovii*, *L. grayi/murrayi* y *L. seeligeri* crecen en esta placa pero no forman colonias típicas.

3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de *Listeria*

Factores tales como el tipo de cepa, la naturaleza y el grado de estrés al que pueden haberse sometido los microorganismos, influyen en la velocidad a la cual el indicador cromogénico vira a un color rojo-violeta intenso.

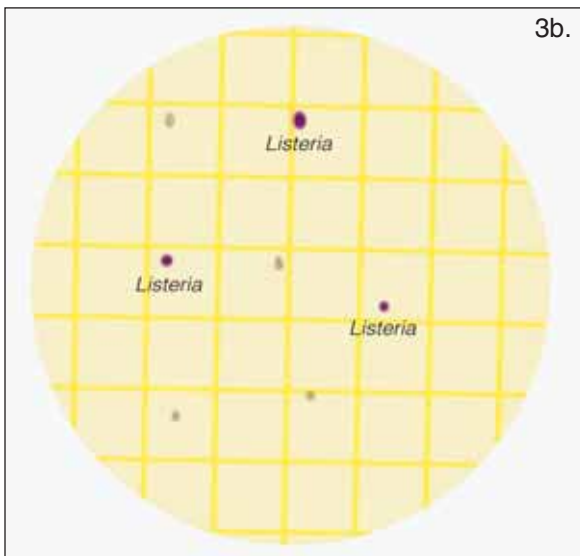


3a. Antes de las 30 horas de incubación, si hay colonias presentes pero no son de color rojo-violeta intenso (por ejemplo, gris o rosa suave como se muestra en 3a), continuar en este caso la incubación hasta 30 horas. Las colonias que no hayan virado al rojo-violeta intenso después del período de incubación máximo de 30 h (las colonias permanecen de color gris o rosa suave como se muestra en 3a), no deben de interpretarse como *Listeria*.

Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* en esta placa: <1. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* no detectada



3b. Una vez transcurrido el período de incubación máximo de 30 horas, las colonias que aparecían de color gris o rosa suave y han virado a color rojo-violeta intenso a las 30 horas (como se muestra en 3b), deben de interpretarse como *Listeria*.

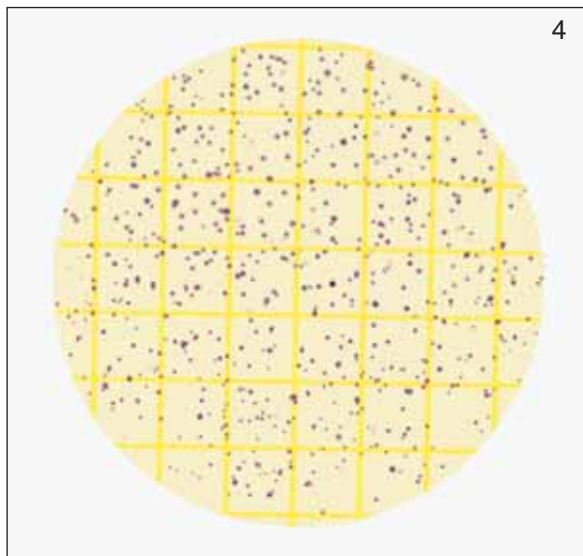
Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* en esta placa: 3. Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* detectada

Nota: No contar las colonias que pudieran aparecer sobre la espuma blanca puesto que están fuera de la influencia del medio.

3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de *Listeria*

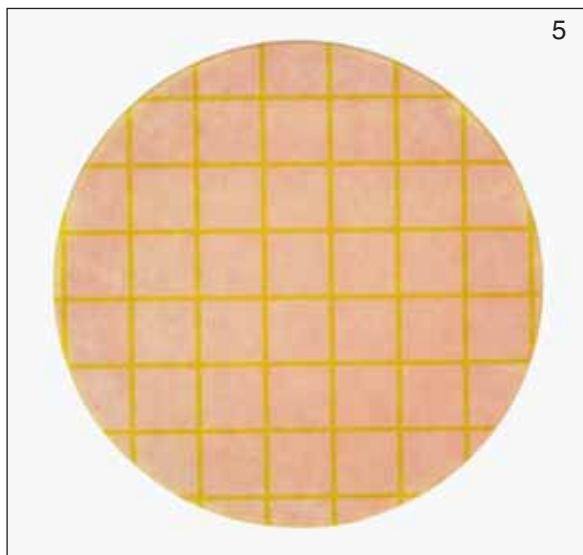


4. Puesto que la placa Petrifilm EL puede ser interpretada de tres maneras no se recomienda ningún rango de recuento en concreto. Interpretar el resultado (cualitativo o semi-cuantitativo) o estimar el recuento (cuantitativo) de la manera que se indica a continuación:

Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* estimadas en esta placa: **600 est.** Cuando aparece un gran número de colonias de *Listeria*, estimar el resultado calculando la media del recuento de dos o más cuadrículas representativas. Determinar la media por cuadrícula y multiplicar por 42. La superficie de inóculo de la placa es de 42 cm² aproximadamente.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* detectada

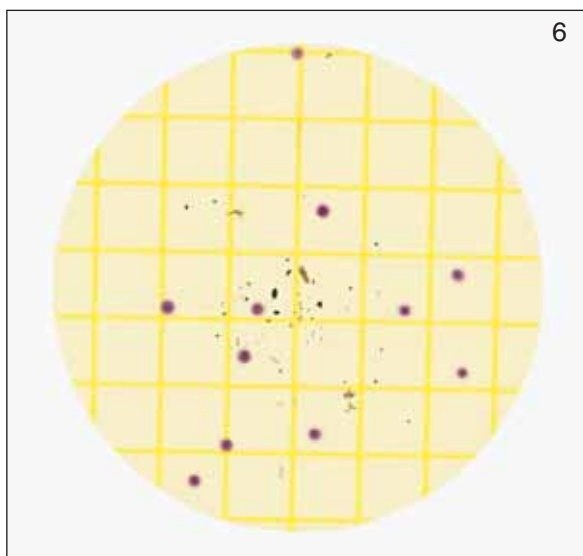


5. Cuando las colonias están presentes en gran cantidad, la placa Petrifilm EL puede mostrar muchas colonias pequeñas difíciles de distinguir o un color de tono rosa-marrón en toda la placa.

Interpretación Cuantitativa: El resultado es un incontable para *Listeria* (10000 ufc en esta imagen aproximadamente).

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Interpretación Cualitativa: *Listeria* detectada



6. El color de fondo puede variar debido a la presencia de polvo, partículas y otros sedimentos de la muestra ambiental, del tipo de sistema usado en la toma de la muestra o incluso del tipo de agua de peptona tamponada empleado. Interpretar o contar como *Listeria* las colonias rojo-violeta intensas.

Interpretación Cuantitativa: Colonias de *Listeria* en esta placa: **11** Hacer referencia a la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para el cálculo del recuento de *Listeria* por muestra ambiental.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

Qualitative Interpretation: *Listeria* detectada

3M™ Petrifilm™

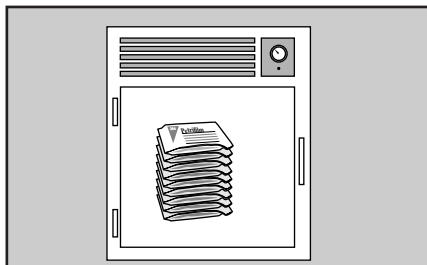
Placa para control ambiental de Listeria

Para detalles acerca de Advertencias, Precauciones, Garantías, Responsabilidades de 3M, Almacenamiento, Eliminación de Residuos, e Instrucciones de Empleo, ver folleto del producto.

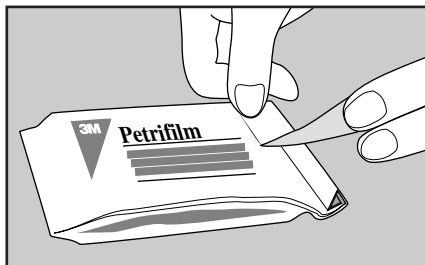
Instrucciones de uso



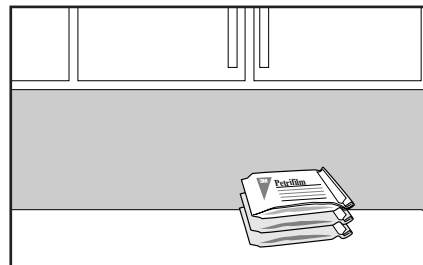
Almacenamiento



- 1 Conservar las bolsas cerradas a $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje. En zonas de humedad alta en donde pueden producirse condensaciones, acondicionar las bolsas hasta alcanzar la temperatura ambiente antes de abrirlas.

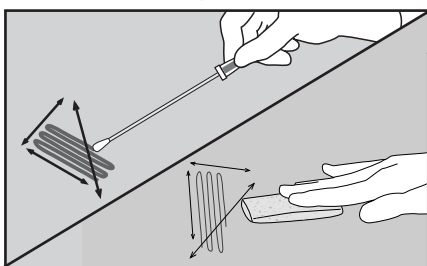


- 2 Cerrar las bolsas ya abiertas que se estén utilizando, doblando el borde abierto y aplicando cinta adhesiva como muestra el dibujo.



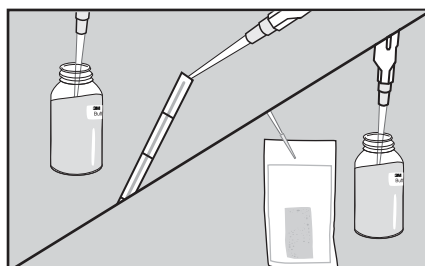
- 3 **No refrigerar las bolsas abiertas para evitar exposiciones a la humedad.** Mantener las bolsas abiertas a temp. ambiente en lugar fresco y seco y durante no más de 1 mes desde la apertura. Evitar la exposición de las bolsas abiertas a temp. o humedades ambientales elevadas ($>25^{\circ}\text{C}$, $>50\%$ H.R.).

Preparación de la muestra



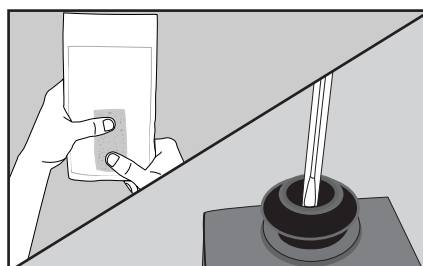
- 4 Tomar las muestras ambientales usando un hisopo swab o equivalente, esponjas o cualquier otro dispositivo previamente humedecido.

Usar ≤ 10 ml de humedecedor. El agente humedecedor puede ser agua estéril, agua de peptona tamponada o caldo neutralizante tal como caldo letheen (sobre todo si existieran restos de agentes de limpieza).



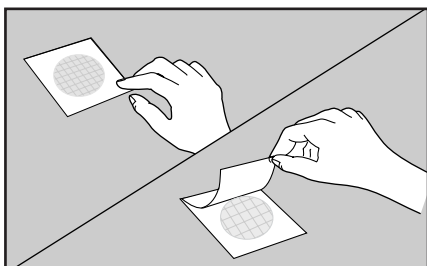
- 5 Añadir 2 ml (hisopo) o 5 ml (esponja) de agua de peptona tamponada estéril (caldo de reparación) a la muestra en condiciones asépticas. Mantener el agua de peptona tamponada a $20-30^{\circ}\text{C}$.

No emplear ningún tipo de caldo de enriquecimiento para Listeria con esta placa.

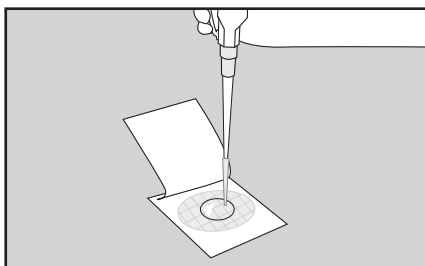


- 6 Mezclar y homogeneizar la muestra mediante stomacher o vortex durante 1 minuto aprox. Mantener la muestra a **temp. amb. ($20-30^{\circ}\text{C}$) durante 1 h., máximo 1,5 h. Mezclar nuevamente a continuación.** Esta etapa es necesaria para la reparación de las *Listeria* dañadas.

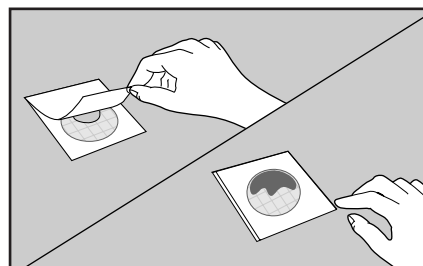
Inoculación



- 7 Colocar la placa Petrifilm EL sobre una superficie plana y nivelada. Levantar la película superior.

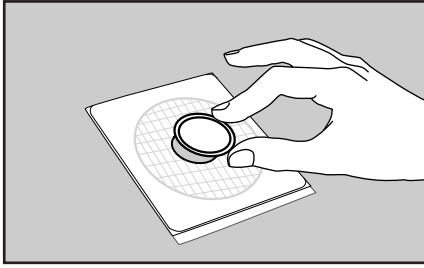


- 8 Pipetear con la Pipeta Electrónica 3M o equivalente unos **3 ml** de la muestra en el centro de la película inferior. Pipetear en posición perpendicular a la placa Petrifilm EL.

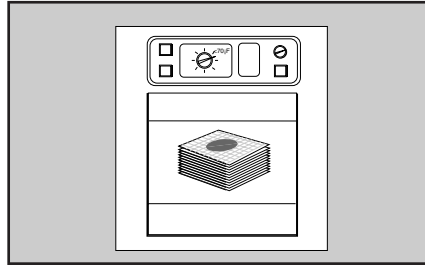


- 9 Dejar caer la película superior sobre la muestra.

Incubación

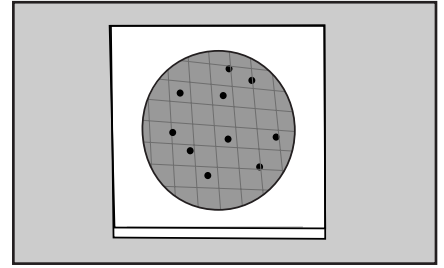


10 Colocar **suavemente** el aplicador plástico sobre la película superior cubriendo el inóculo. **No presionar**, ni girar ni desplazar el aplicador. Levantar y retirar el aplicador. Esperar al menos **10 minutos** para permitir la formación del gel. Nota: En caso de que el inóculo se extienda por sí mismo, no resulta necesario el uso del aplicador.



11 Incubar las placas cara arriba en grupos de 10 máximo durante **28 h +/- 2 h**, a **35°C +/-1°C** o **37°C +/-1°C**. **No exceder el período de incubación más de 30 h**. **Períodos de incubación superiores a 30 h, pueden dar lugar a resultados confusos.**

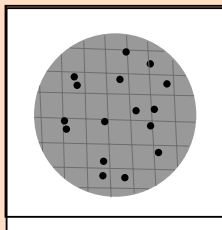
Interpretación



12 Contar o interpretar las placas de Petrifilm EL usando un contador de colonias o una lupa con luz. No contar las colonias que aparezcan en la zona de la espuma blanca ya que están fuera de la zona de influencia del medio selectivo.

La placa 3M™ Petrifilm™ para control ambiental de Listeria puede usarse como método de análisis cuantitativo, semi-cuantitativo o cualitativo.

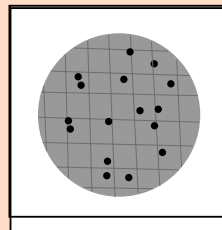
13 Para resultados **cuantitativos**, **contar** y registrar todas las colonias de color rojo-violeta intenso. Elegir este método cuantitativo en caso de que la toma de decisión esté basada en el número de colonias presentes.



Colonias de *Listeria* en esta placa: 16

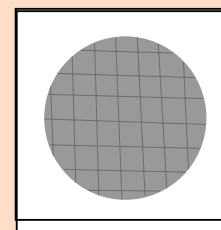
Hacer referencia a la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para el cálculo de la cantidad de *Listeria* por muestra ambiental.

14 Para resultados **semi-cuantitativos**, registrar resultados basados en el **nivel relativo** de colonias rojo-violeta presentes. Elegir este método semi-cuantitativo en caso de que la toma de decisión se base en el nivel relativo presente y no se requiera reportar un número de recuento concreto.

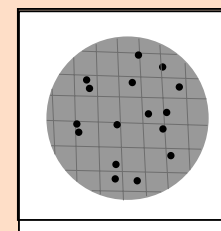


El nivel de *Listeria* debe de registrarse en forma de niveles o categorías establecidos para la zona de muestreo y requerimientos de la planta. Por ejemplo, bajo, medio, alto o aceptable, no-aceptable.

15 Para resultados **cualitativos**, registrar resultados como **detectado** o **no detectado** basados en la presencia o ausencia de colonias rojo-violeta intensas. Elegir este método cualitativo en caso de que este resultado de respuesta sea adecuado para los requerimientos establecidos.



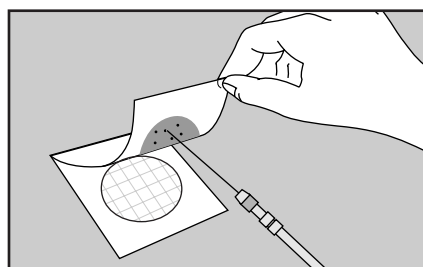
No detectado



Detectado

Opcional

16 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar la película superior y seleccionar la colonia del gel.



3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de Listeria

Muestreo Cuantitativo e Interpretación

En el caso de que el método de muestreo elegido con la Placa Petrifilm para control ambiental de Listeria sea el método cuantitativo, hacer referencia al folleto de producto, y calcular las unidades formadoras de colonias (ufc) por área, tal y como se indica a continuación. Tomar en consideración los siguientes aspectos:

- La consistencia es la clave para obtener información útil acerca del programa de muestreo ambiental establecido. Utilizar un procedimiento consistente cada vez que se tomen muestras. Utilizar siempre el mismo sistema, dispositivo y accesorios para las tomas de muestra.
- Definir de manera coherente el área de muestreo en función de legislación, estándares internos o ubicación de la zona a muestrear. Por ejemplo, muestrear un área más grande en líneas de producto terminado puesto que el número de bacterias que pueden aparecer será presumiblemente bajo.
- Puede encontrarse más información sobre muestreo ambiental en las referencias que se citan a continuación y también en el folleto Placas 3M Petrifilm Control ambiental y de superficies.

PARA DETERMINAR la cantidad de Listeria por área muestreada, registrar:

- 1) Tamaño del área muestreada
- 2) Volumen del líquido de hidratación en el método de muestreo
- 3) Volumen de agua de peptona tamponada adicionada
- 4) Volumen inoculado
- 5) Número de colonias contadas

APLICAR la siguiente ecuación u hoja de cálculo para determinar las ufc/área muestreada. Ver ejemplos en páginas siguientes. Ver Folleto de Producto e Instrucciones de Uso para detalles completos del método.

Puede determinarse el resultado por muestra, por ejemplo ufc/drenaje

$$\text{ufc/área} = (\text{Número de colonias} \times (\text{ml de solución de hidratación} + \text{ml de agua de peptona tamponada}) / 3 \text{ ml}) / \text{área muestreada}$$

o usar la tabla siguiente:

A. Total ml de agua de peptona tamponada + solución de hidratación	_____	A
B. Total ml inoculados	3 mL _____	B
C. Dividir A por B	_____	C
D. Número de colonias contadas (si el número de colonias es 0, insertar "<1" en línea "D")	_____	D
E. Multiplicar C por D	_____	E
F. Area muestreada	_____	F
G. Dividir E por F	_____	G

La línea G es igual a ufc/área

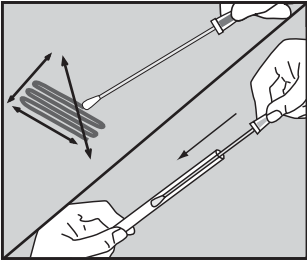
El muestreo cuantitativo de ambientes es consistente con las siguientes referencias:

- Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Section 3.7D, American Public Health Association, Washington D.C., 1992
- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Section 3.512 and 3.521, American Public Health Association, Washington D.C., 2001.

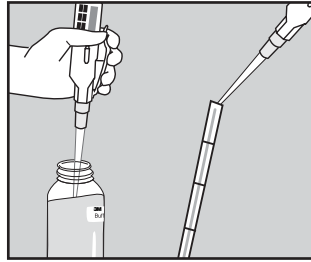
3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de Listeria

Interpretación Cuantitativa

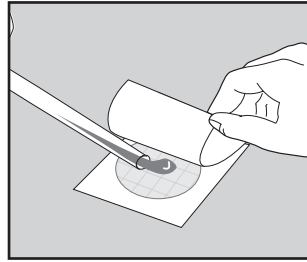
Ejemplo: Método de contacto con hisopo swab



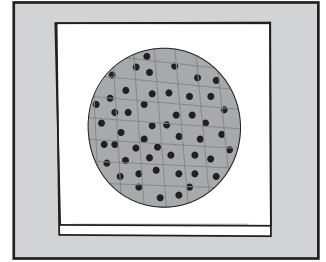
1 Usar un hisopo swab (o equivalente) humedecido con **1 ml** de líquido de hidratación, muestrear el área (ver línea A). En este caso el área muestreada es de **50 cm²** (ver línea F). Retornar el swab al dispositivo estéril del hisopo.



2 Añadir **2 ml** de agua de peptona tamponada (ver línea A).



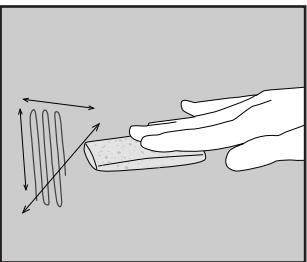
3 Inocular **3 ml** en la placa Petrifilm para control ambiental de Listeria después de la fase de reparación (ver línea B).



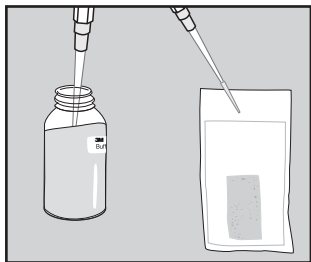
4 Contar las colonias después de la incubación. Para este ejemplo, se asume un recuento de **50 colonias** (ver línea D)

A. Total ml de agua de peptona tamponada + fluido de hidratación	$1 + 2 = 3$	A
B. Total ml inoculados	3	B
C. Dividir A por B	1	C
D. Número de colonias contadas	50	D
E. Multiplicar C por D	50	E
F. Área muestreada	50 cm ²	F
G. Dividir E por F	1 CFU/cm²	G

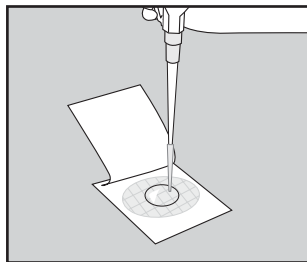
Ejemplo: Método de contacto con esponja



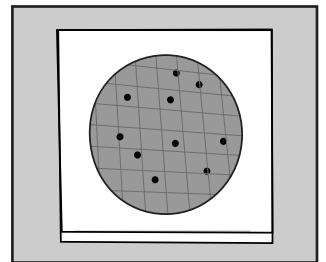
1 Usar una esponja humedecida en **10 ml** de líquido de hidratación y muestrear el área (ver línea A). Para este ejemplo el área es de 1 pie cuadrado (**50 cm²**). (Ver línea F).



2 Retornar la esponja al recipiente estéril y añadir **5 ml** de agua de peptona tamponada (ver línea A).



3 Inocular **3 ml** en la placa Petrifilm para control ambiental de Listeria después de la fase de reparación (ver línea B).



4 Contar las colonias después de la incubación. Para este ejemplo, se asume un recuento de **10 colonias** (ver línea D)

A. Total ml de agua de peptona tamponada + fluido de hidratación	$10 + 5 = 15$	A
B. Total ml inoculados	3	B
C. Dividir A por B	5	C
D. Número de colonias contadas	10	D
E. Multiplicar C por D	50	E
F. Área muestreada	50 cm ²	F
G. Dividir E por F	1 CFU/cm²	G

3M™ Petrifilm™ Placa para control ambiental de Listeria

Comentarios Adicionales

Para mayor información de producto, **visitar nuestra dirección web:**
www.3M.com/microbiology.

Referencia del documento

<i>Fecha</i>	<i>Versión</i>
Octubre 2005	1.0



Departamento de Microbiología
3M España, S.A.

Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25
28027 Madrid
SPAIN

Tel.: +34 913216246
Fax.: +34 913216328

Europe
Laboratoires 3M Santé

Boulevard de l'Oise
95029 Cergy Pontoise Cedex
France

Tel: +33 (0) 1 30 31 85 71
Fax: +33 (0) 1 30 31 85 78

Sello del distribuidor