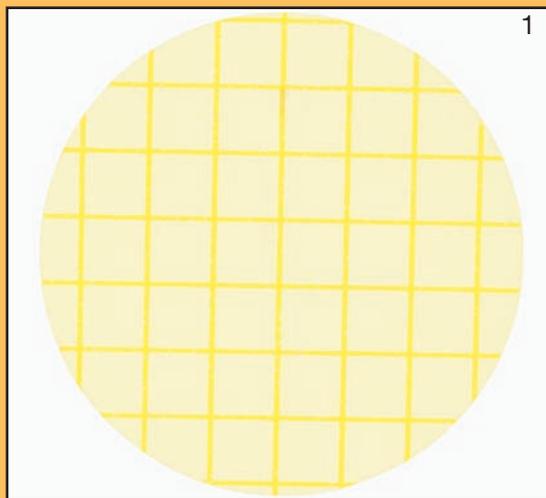


Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm™ 3M™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes y Superficies. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Microbiología más cercano.

Las Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes y Superficies (*Environmental Listeria EL*), son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría, y un indicador cromogénico que facilita la detección de especies de *Listeria spp.* Las Placas Petrifilm EL, diseñadas para analizar muestras ambientales y para ayudar a incrementar la eficiencia del monitoreo de la higiene de las plantas, detectan las especies de *Listeria* de mayor incidencia en ambientes: *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* y *Listeria welshimeri*.* La presencia de otras especies de *Listeria*, como *Listeria innocua*, proporciona evidencia de que las condiciones ambientales son adecuadas para el desarrollo de *Listeria monocytogenes*.

Las condiciones ambientales o los sanitizantes pueden estresar y/o dañar a los microorganismos. El agua de peptona buferada (BPW) se usa como caldo de reparación en conjunto con la Placa Petrifilm EL para reparar la *Listeria* estresada sin incrementar su número. La reparación en BPW **no** es un paso de enriquecimiento.

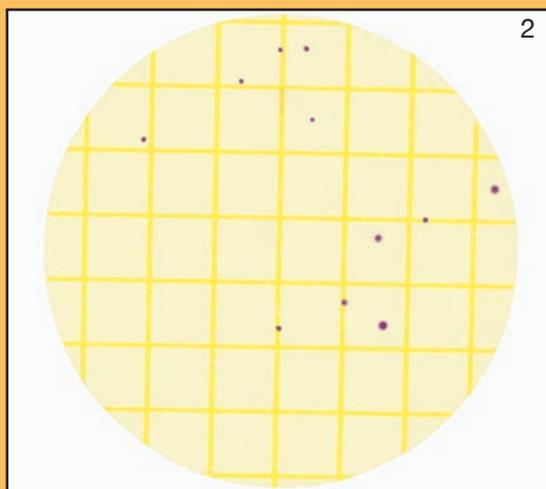


1. Esta Placa Petrifilm EL **NO** tiene colonias después de 28 h de incubación. La prueba está completa.

Interpretación Cuantitativa: Número de colonias de *Listeria* en esta placa: **<1**. Consulte la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

Interpretación Semi-Cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: No se detectó *Listeria*.



2. Esta Placa Petrifilm EL **SÓLO** tiene colonias rojo-violeta después de 28 h de incubación. La prueba está completa.

Interpretación Cuantitativa: Número de colonias de *Listeria* en esta placa: **11**. Consulte la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

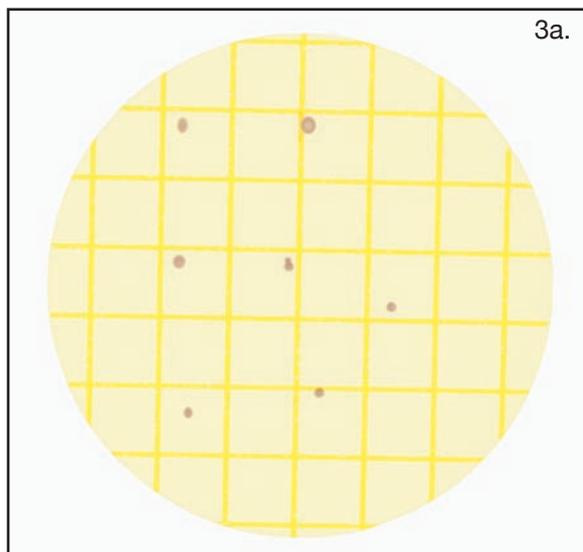
Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: Se detectó *Listeria*.

* Para mayor información sobre la prevalencia de especies de *Listeria*, favor de contactar al representante autorizado de productos de 3M Microbiología. Puede haber crecimiento de *L. ivanovii*, *L. grayi/murrayi* y *L. seeligeri*, pero sin formación de colonias típicas.

3M™ Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

Varios factores influyen la tasa en la cual el indicador cromogénico cambia a rojo-violeta intenso, entre otros la cepa, la naturaleza y el grado de estrés al cual ha sido expuesto el organismo.

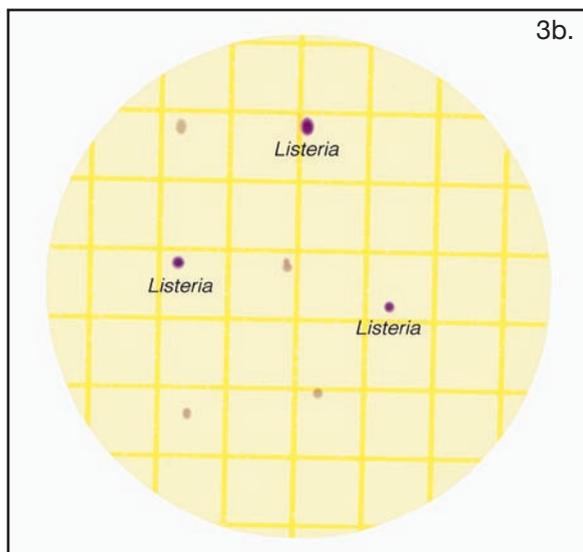


3a. Antes de completar la incubación de 30 horas, si se presenta alguna colonia, pero **no es** rojo-violeta intenso (por ejemplo, gris o rosa pálido, como se muestra en 3a), continúe con la incubación hasta 30 horas. Las colonias que no sean rojo-violeta intenso en el tiempo máximo de incubación de 30 horas (colonias que aún permanecen color gris o rosa pálido, como se muestra en 3a) **no** deben interpretarse como *Listeria*.

Interpretación Cuantitativa: Número de colonias de *Listeria* en esta placa: **<1**. Consulte la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: No se detectó *Listeria*.



3b. Las colonias que eran gris o rosa pálido y **que cambiaron** a rojo-violeta intenso en el tiempo máximo de incubación de 30 horas (como se muestra en 3b) deben interpretarse como *Listeria*.

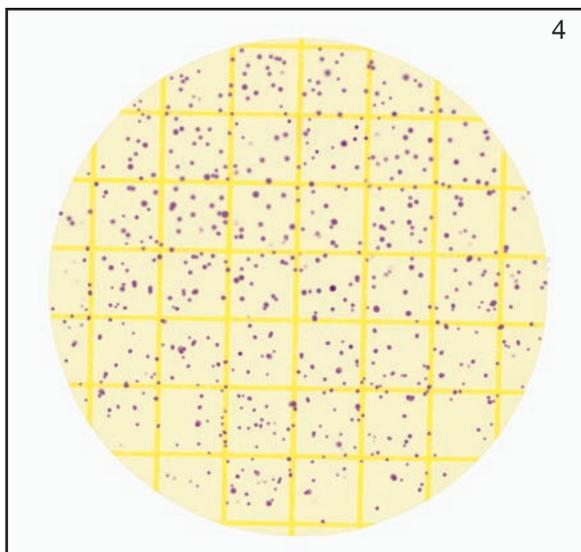
Interpretación Cuantitativa: Número de colonias de *Listeria* en esta placa: **3**. Consulte la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: Se detectó *Listeria*.

Nota: No considere o cuente las colonias sobre el hule espuma, ya que han sido removidas de la influencia selectiva del medio.

3M™ Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

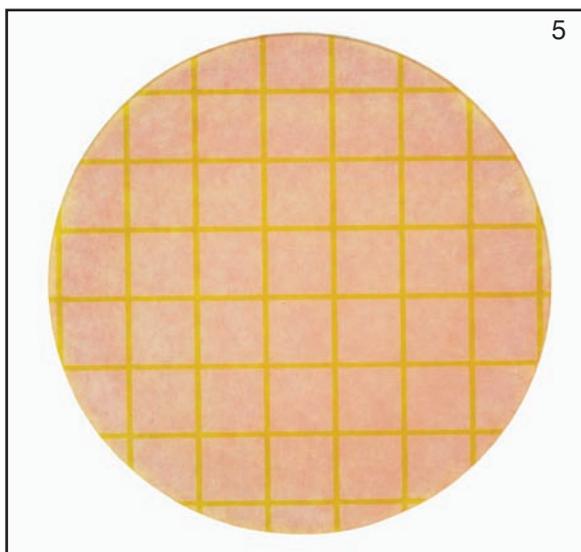


4. Debido a que la Placa Petrifilm EL puede interpretarse en tres formas, no se sugiere ningún rango de cuenta. Cuando el número de colonias es abundante, interprete el resultado (cualitativo o semi-cuantitativo) o calcule la cuenta (cuantitativa) como se describe a continuación.

Interpretación Cuantitativa: El recuento estimado de colonias de *Listeria* en esta placa es: **600 est.** Cuando se presentan grandes cantidades de *Listeria*, calcule el número realizando el recuento de 2 o más cuadros representativos por cuadrícula. Determine el promedio por cuadro y multiplique este valor por 42. El área inoculada de la placa mide aproximadamente 42 cm².

Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: Se detectó *Listeria*.

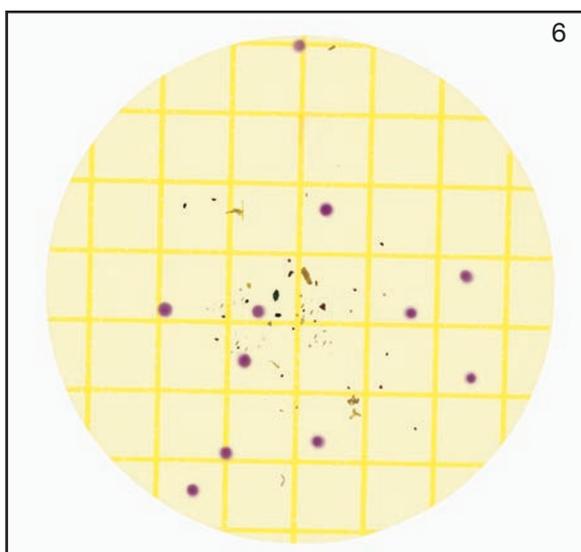


5. Cuando haya presencia de una gran cantidad de colonias, la Placa Petrifilm EL puede mostrar muchas colonias pequeñas, indistintas y/o un color café rosado en toda la placa.

Interpretación Cuantitativa: *Listeria* en esta placa es muy numerosa para contar (MNPC, aproximadamente 10⁴ se muestra en esta imagen).

Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

Interpretación Cualitativa: Se detectó *Listeria*.



6. El color del fondo puede variar dependiendo de la presencia de polvo, tierra, arenilla u otros sedimentos provenientes de la muestra recolectada, del dispositivo de toma de muestra y/o de la marca del agua de peptona buferada (caldo de reparación). Interprete o cuente las colonias rojo-violeta intenso como *Listeria*.

Interpretación Cuantitativa: Número de colonias de *Listeria* en esta placa: **11.** Consulte la sección “Muestreo Cuantitativo” de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

Interpretación Semi-cuantitativa: El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

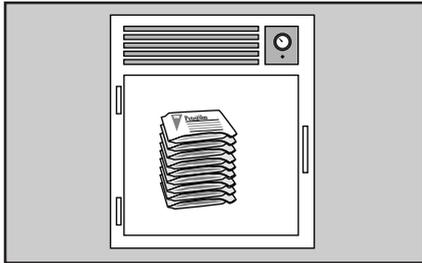
Interpretación Cualitativa: Se detectó *Listeria*.

3M™ Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

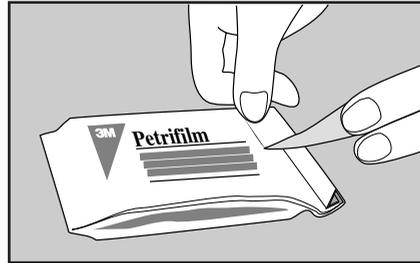
Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

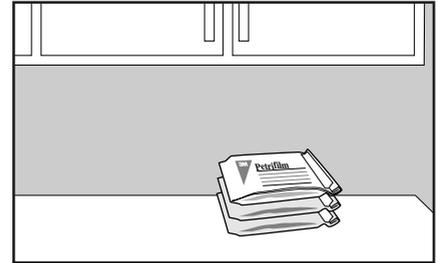
Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura de $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen a la temperatura ambiente antes de abrirlos. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

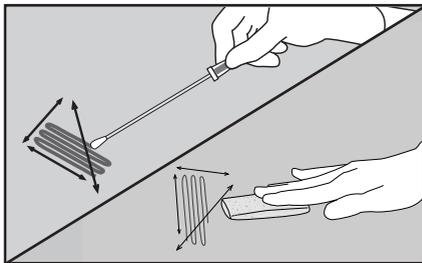


2 Para sellar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.



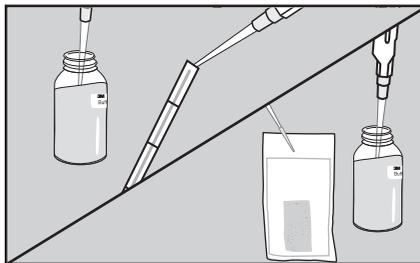
3 Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere los paquetes abiertos. Almacene los paquetes resellados en un lugar fresco y seco por un plazo no mayor a un mes. Evite exponer las placas a temperaturas $>25^{\circ}\text{C}$ ($>77^{\circ}\text{F}$) y/o humedad relativa $>50\%$.

Preparación de la muestra



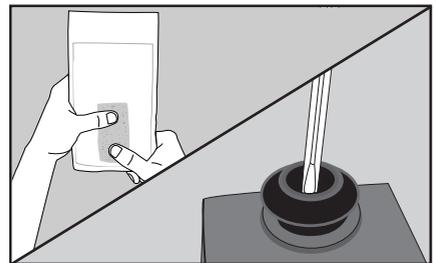
4 Tome las muestras de la superficie o ambiente utilizando un hisopo Quick Swab 3M™ o equivalente, esponja u otro dispositivo de toma de muestra húmeda.

El agente humectante debe ser ≤ 10 mL de agua de peptona buferada estéril (BPW), o si hay sanitizantes se recomienda el uso de caldo Lethen o caldo neutralizante.



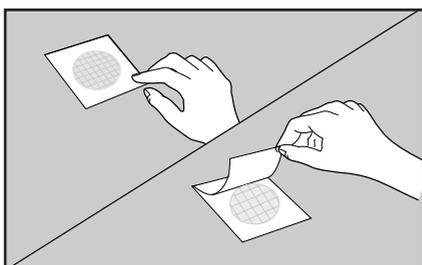
5 Adicione asepticamente a la muestra 2 mL (hisopo) ó 5 mL (esponja) de agua de peptona buferada estéril (caldo de reparación) a $20-30^{\circ}\text{C}$ ($68^{\circ}\text{F}-86^{\circ}\text{F}$).

No utilice la Placa Petrifilm para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes con medio de la Universidad de Vermont (UVM), con caldo de enriquecimiento de *Listeria* (LEB) o con caldo buferado de enriquecimiento de *Listeria* (BLEB).

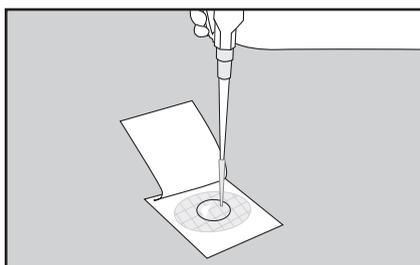


6 Mezcle vigorosamente u homogenice la muestra con BPW por cerca de un minuto. Permita que la muestra permanezca a **temperatura ambiente, $20^{\circ}\text{C}-30^{\circ}\text{C}$ ($68^{\circ}\text{F}-86^{\circ}\text{F}$), por 1 hora hasta un máximo de 1.5 horas; después mezcle vigorosamente de nuevo.** Este paso es requerido para la reparación de *Listeria* dañadas.

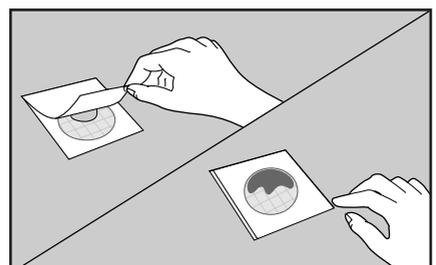
Inoculación



7 Coloque la Placa Petrifilm EL en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.

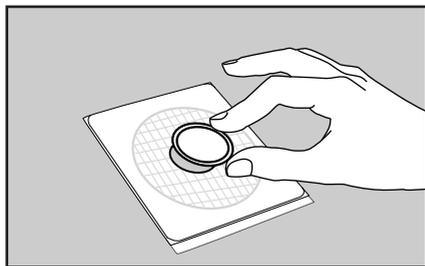


8 Con el Pipetor Electrónico 3M™ o una pipeta equivalente, perpendicular a la Placa Petrifilm EL, coloque 3 mL de la muestra en el centro de la película inferior.

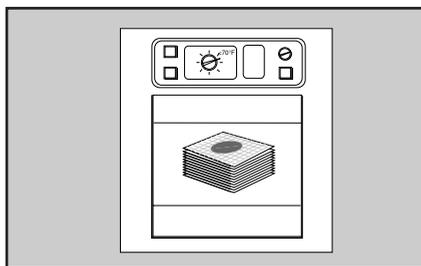


9 Deslice la película superior sobre la muestra.

Incubación

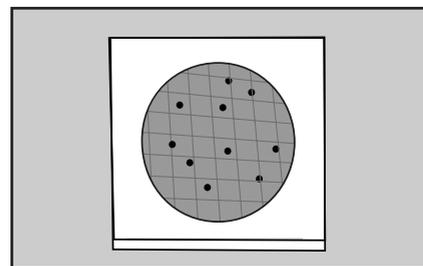


- 10 Suavemente coloque el dispensador plástico en la lámina superior sobre el inóculo. **No presione**, ni gire, ni deslice el dispensador. Levante el dispensador. Espere al menos 10 minutos para permitir que el gel se forme. Nota: Si el inóculo se dispersa solo, no es necesario usar el dispensador.



- 11 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 10 piezas durante **28 h ± 2 h** a 35 °C ± 1 °C ó 37 °C ± 1 °C. **No exceder las 30 horas. La incubación por más tiempo del recomendado puede producir resultados ambiguos.**

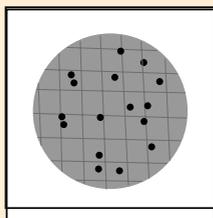
Interpretación



- 12 La interpretación o el recuento de las Placas Petrifilm EL puede realizarse con un contador de colonias estándar o una lupa con luz. No cuente las colonias sobre el hule espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo.

La Placa Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes puede ser utilizada como una prueba cuantitativa, semi-cuantitativa o cualitativa.

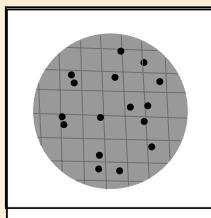
- 13 Para una prueba **cuantitativa**, cuente y registre todas las colonias rojo-violeta intenso.



Número de colonias de *Listeria* en esta placa: 16

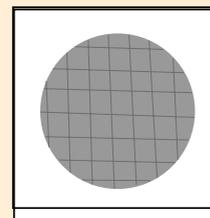
Usted puede elegir utilizar esta prueba como cuantitativa si toma acciones diferentes con base en el número presente. Consulte la sección "Muestreo Cuantitativo" de esta guía para calcular la cantidad de *Listeria* por muestra de ambiente.

- 14 Para una prueba **semi-cuantitativa**, registre los resultados con base en el **nivel relativo** de colonias rojo-violeta intenso presentes.

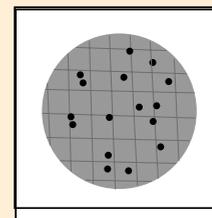


Usted puede elegir utilizar una prueba semi-cuantitativa si toma acciones diferentes según el nivel relativo presente, y si no requiere registrar el número de colonias. El nivel de *Listeria* debe registrarse con categorías significativas para las áreas de muestreo y los estándares individuales de su planta (por ejemplo: grado bajo, mediano, alto; aceptable o inaceptable).

- 15 Para una prueba **cualitativa**, cuente y registre los resultados de la placa como detectados o no detectados con base en la presencia o ausencia de colonias rojo-violeta intenso.



No detectado

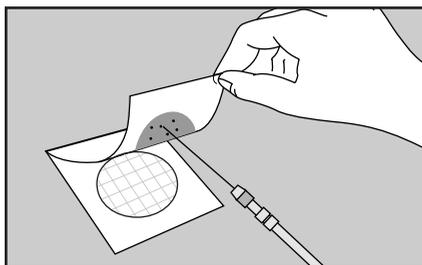


Detectado

Usted puede elegir utilizar una prueba cualitativa si una respuesta positiva/negativa (sí/no) es suficiente y adecuada para su reporte.

Opcional

- 16 Las colonias pueden ser aisladas para su identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.



Tiempos y Temperaturas

• AOAC-RI Método Oficial No. 030601

Muestra en Reparación:

1-1.5 h a 20-30 °C

Incubación de la Placa:

28 h ± 2 h a 35 ± 1 °C ó 37 ± 1 °C

Muestreo Cuantitativo e Interpretación

Si su planta ha elegido utilizar la Placa Petrifilm para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes como método cuantitativo, por favor remítase al inserto del paquete del producto y luego calcule las unidades formadoras de colonias (UFC) por área, como se muestra a continuación. Es probable que usted también desee considerar los siguientes puntos:

- La consistencia es la clave para obtener información útil acerca de su programa de monitoreo ambiental. Utilice un procedimiento consistente cada vez que tome muestras. Idealmente, utilice el mismo tipo de dispositivo y las mismas técnicas para toma de muestra.
- El tamaño del área de muestreo deberá basarse en regulaciones, estándares internos, y/o ubicación de la toma de muestra. Por ejemplo, usted puede necesitar hacer un muestreo a un área más grande en una línea de producto terminado debido a que el número de bacterias que se espera encontrar es bajo.
- Puede encontrar más información sobre muestreo ambiental en las referencias enlistadas a continuación y también en el folleto de Procedimientos de Monitoreo en Ambientes con Placas Petrifilm™.

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

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

APLIQUE la siguiente ecuación u hoja de cálculo para determinar las UFC/área muestreada. En las hojas siguientes encontrará ejemplos. Revise el inserto del paquete y las Recomendaciones de uso para obtener detalles completos del método.

Usted también puede determinar el resultado por muestra; por ejemplo, UFC/drenaje.

$$\text{UFC/área} = (\text{Número de colonias} \times [\text{mL de solución de hidratación} + \text{mL de agua peptonada buferada BPW}] \div 3 \text{ mL}) \div \text{área muestreada}$$

0

A. Número total de mL de agua peptonada buferada BPW + solución de hidratación:	_____	A
B. Número de mL inoculados en la placa:	3 mL	B
C. Dividir línea A entre línea B:	_____	C
D. Número de colonias contadas: (Si el número de colonias es cero, inserte "<1" en la línea "D")	_____	D
E. Multiplicar línea C por línea D:	_____	E
F. Área muestreada:	_____	F
G. Dividir línea E entre línea F:	_____	G
La línea G es igual a UFC/área		

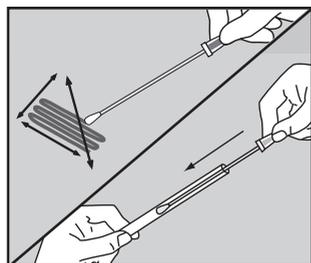
El muestreo cuantitativo de ambientes es consistente con las siguientes referencias:

- *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.

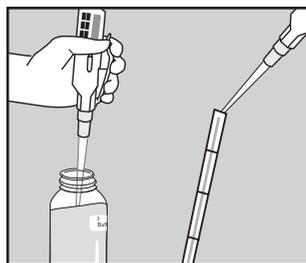
3M™ Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

Interpretación Cuantitativa

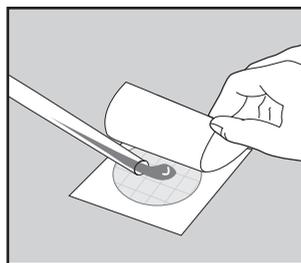
Ejemplo: Método de Contacto con Quick Swab 3M™



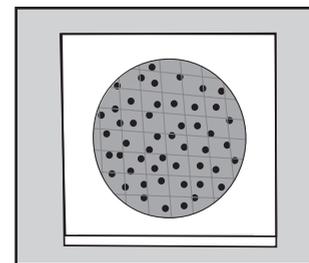
1 Con un hisopo Quick Swab 3M (o equivalente) húmedo con 1 mL de fluido de hidratación (ver línea A) muestree el área. Para este ejemplo el área es de cincuenta centímetros cuadrados (50 cm²) (ver línea F). Regrese el Quick Swab 3M al contenedor estéril.



2 Agregue 2 mL de agua de peptona buferada (ver línea A).



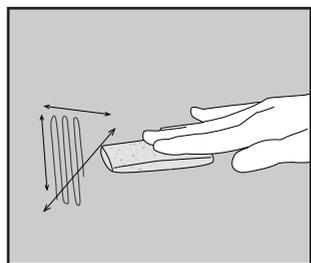
3 Después del paso de reparación, inocule 3 mL en la Placa Petrifilm para Monitoreo de *Listeria* en ambientes (ver línea B).



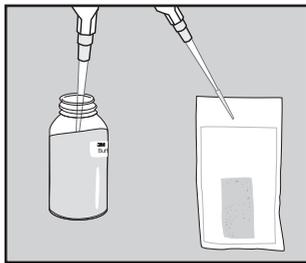
4 Después de la incubación, cuente las colonias. Para este ejemplo, suponga que ha contado cincuenta (50) colonias (ver línea D).

A. Número total de mL de BPW + solución de hidratación:	$2 + 1 = 3$	A
B. Número de mL en placa:	3	B
C. Dividir línea A entre línea B:	1	C
D. Número de colonias contadas:	50	D
E. Multiplicar línea C por línea D:	50	E
F. Área muestreada:	50 cm ²	F
G. Dividir línea E entre línea F:	1 UFC/cm²	G

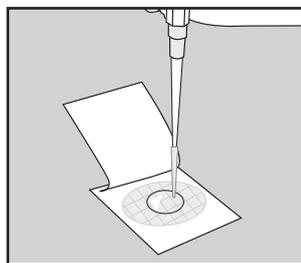
Ejemplo: Método de Contacto con Esponja



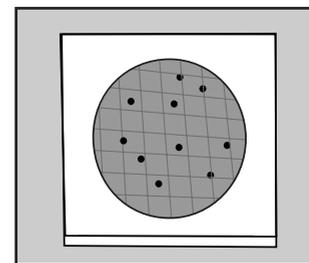
1 Con una esponja húmeda con 10 mL de fluido de hidratación muestree un área (ver línea A). Para este ejemplo el área es de cincuenta centímetros cuadrados (50 cm²) (ver línea F).



2 Regrese la esponja al contenedor estéril y agregue 5 mL de agua de peptona buferada (ver línea A).



3 Después del paso de reparación, inocule 3 mL en la Placa Petrifilm para Monitoreo de *Listeria* en ambientes (ver línea B).



4 Después de la incubación, cuente las colonias. Para este ejemplo suponga que ha contado diez (10) colonias (ver línea D).

A. Número total de mL de BPW + solución de hidratación:	$5 + 10 = 15$	A
B. Número de mL en placa:	3	B
C. Dividir línea A entre línea B:	5	C
D. Número de colonias contadas:	10	D
E. Multiplicar línea C por línea D:	50	E
F. Área muestreada:	50 cm ²	F
G. Dividir línea E entre línea F:	1 UFC/cm²	G

3M™ Placas Petrifilm™ para Monitoreo de *Listeria* en Ambientes

Comentarios adicionales

- Para contactar localmente a 3M Microbiología en su país en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: www.3M.com/microbiology
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección serviciotecnicomicro@mmm.com o llame al 5255 5270 2223.



3M Microbiología
3M Center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
EUA
1-800-328-6553
microbiology@mmm.com

3M México
Avenida Santa Fe 190
Col. Santa Fe C.P. 01210
México, D.F.
Tel. (52-55) 5270-0454
microbiologiamx@mmm.com

3M Argentina
Olga Cossettinni 1031
Buenos Aires CP C1107CEA
Argentina
Tel. (54-11) 4339-2400
microbiologia-ar@mmm.com

Petrifilm y 3M son marcas registradas de 3M Company.
© 3M 2006.
Impreso en México.
Referencia 70-2009-6322-4.
Revisión: 2006-08.