



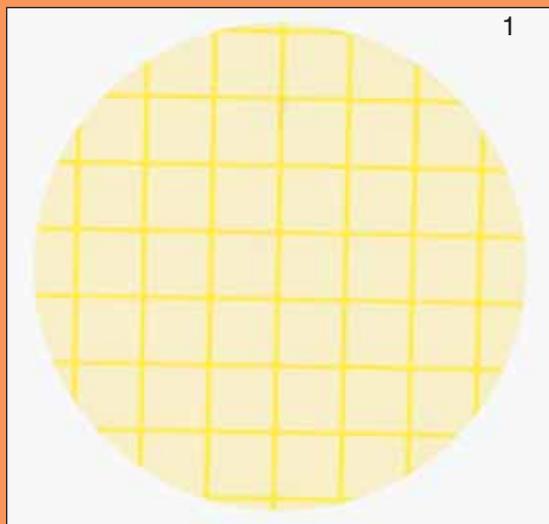
Piastre Petrifilm™

Listeria Ambientale

Questa guida ha lo scopo di familiarizzare l'utilizzatore ai risultati che si possono ottenere con le piastre 3M™ Petrifilm™ Listeria Ambientale. Per ulteriori informazioni contattare il rappresentante 3M Microbiologia più vicino.

La piastra Petrifilm Listeria ambientale (EL) è un terreno di coltura pronto all'uso contenente agenti selettivi, nutrienti, un agente gelificante solubile a freddo, e un indicatore cromogenico che facilita la rilevazione delle colonie di *Listeria*. Le piastre Petrifilm EL sono state progettate per l'analisi ambientale e per contribuire ad aumentare l'efficienza del monitoraggio delle condizioni igieniche degli impianti. La presenza di un indicatore quale *Listeria*, per es. *Listeria innocua* fornisce l'informazione che le condizioni ambientali sono compatibili con la presenza di *Listeria monocytogenes*. Petrifilm EL rileva la maggior parte dei ceppi di *Listeria* ambientale quali: *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* e *Listeria welshimeri*.*

Molti microrganismi presenti nell'ambiente possono essere stressati da particolari condizioni ambientali o dalla presenza di sanitizzanti. Si utilizza quindi Acqua Peptonata Tamponata (BPW) quale brodo di recupero, unitamente al Petrifilm EL, per rivitalizzare i ceppi di *Listeria* stressati, senza tuttavia provocare un aumento del numero degli stessi. Il passaggio di recupero in BPW **NON** è un passaggio di arricchimento.

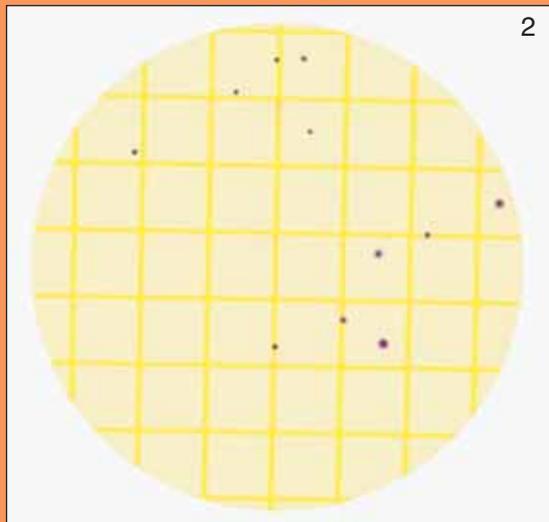


1. Questa piastra Petrifilm EL non presenta colonie dopo 28 h. Il test è completo.

Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* su questa piastra: <1. Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es. : bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* non rilevata



2. Questa piastra Petrifilm EL presenta SOLAMENTE colonie rosso-violacee dopo 28 ore di incubazione. L'analisi è da considerarsi conclusa.

Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* su questa piastra: 11. Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

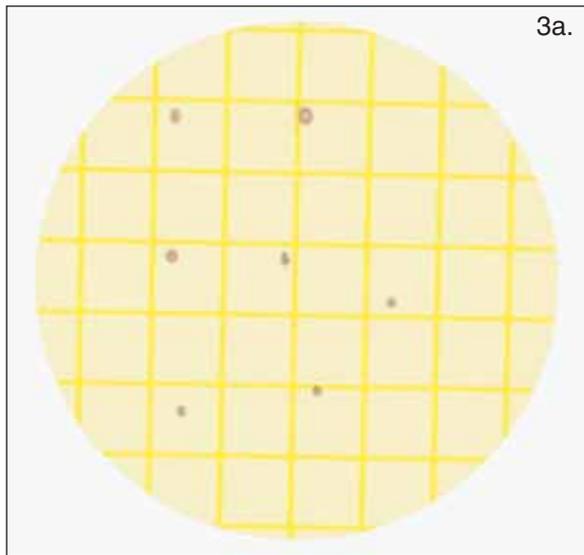
Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es.: bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitative: *Listeria* rilevata.

* Per ulteriori informazioni sulla prevalenza di specie di *Listeria*, contattare il rappresentante ufficiale 3M Microbiologia più vicino. *Listeria ivanovii*, *Listeria grayi/murrayi* e *Listeria seeligeri* crescono ma non formano colonie tipiche.

Piastre 3M™ Petrifilm™ *Listeria* Ambientale

Svariati fattori, tra cui il ceppo batterico, la tipologia e l'intensità dello stress cui l'organismo è stato sottoposto, influenzano il viraggio di colore dell'indicatore cromogenico verso il colore rosso-violaceo intenso.

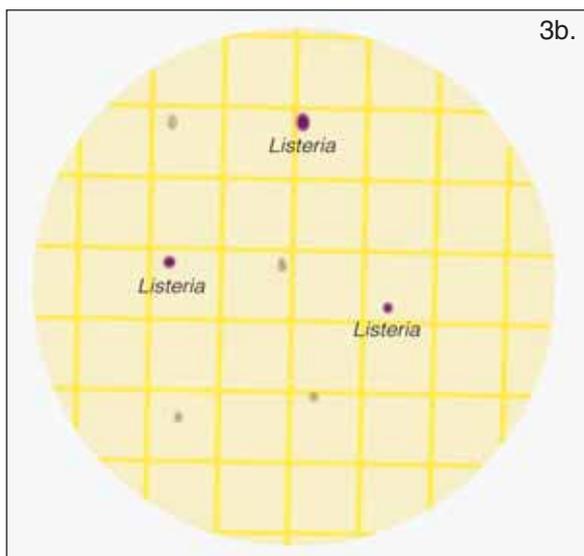


3a. Se prima del termine delle 30 ore di incubazione sono presenti colonie che non sono di colore rosso-violaceo intenso (ad esempio colonie rosa chiaro come indicato in 3a), continuare ad incubare fino a 30 ore. Al termine dell'incubazione di 30 ore le colonie che non sono diventate di colore rosso-violaceo (colonie rimaste grigie o rosa chiaro, come indicato in 3a), non devono essere considerate come *Listeria*.

Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* su questa piastra: <1. Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es. : bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* non rilevata



3b. Al termine dell'incubazione di 30 ore le colonie che da grigie o rosa chiaro sono diventate di colore rosso-violaceo intenso durante l'incubazione (come indicato in 3b), devono essere considerate come *Listeria*.

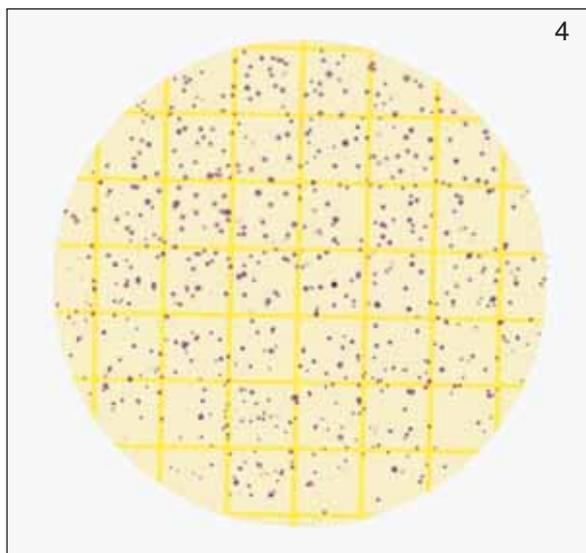
Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* su questa piastra: 3. Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es. : bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* rilevata

Nota: Non considerare o contare colonie sul supporto di schiuma in quanto non soggette all'influenza selettiva del terreno.

Piastre 3M™ Petrifilm™ Listeria Ambientale

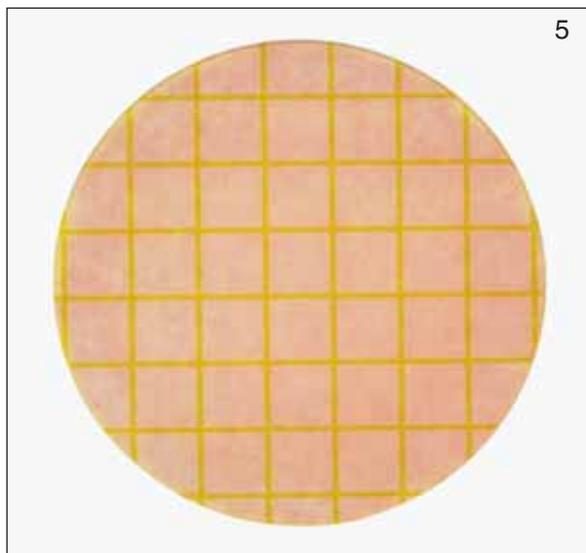


4. Poiché le piastre Petrifilm EL possono essere interpretate in tre modi, non viene suggerito alcun intervallo di conta. Quando le colonie si presentano affollate, interpretare il risultato (qualitativo o semi-quantitativo) oppure stimare la conta (quantitativa) come descritto di seguito.

Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* stimate su questa piastra: **600**. Quando è presente un elevato numero di colonie di *Listeria*, effettuare una stima contando le colonie presenti in uno, due o più quadretti rappresentativi, farne una media e moltiplicare il valore per 42. L'area inocolata delle piastre è di circa 42 cm².

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es.: bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* rilevata

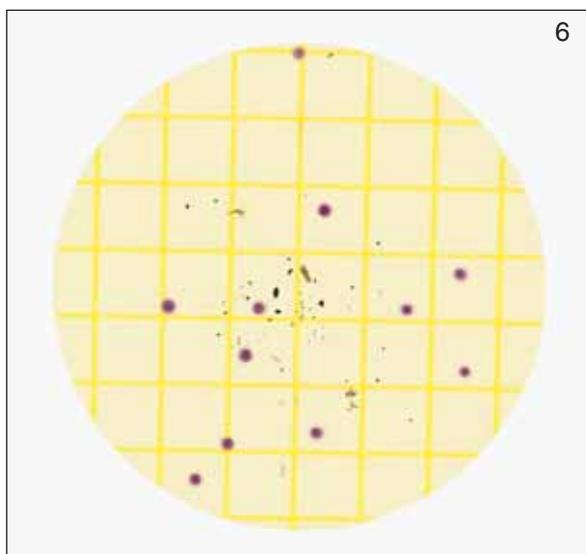


5. Quando è presente un elevato numero di colonie, le piastre Petrifilm EL possono presentare molte colonie piccole e indistinte e/o una colorazione di fondo rosa-marrone.

Interpretazione quantitativa: le colonie di *Listeria* su questa piastra sono troppo numerose per essere contate (TNTC, circa 10⁴ come mostrato in questa immagine)

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es.: bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* rilevata



6. Il colore dello sfondo può variare in funzione della presenza di polvere, terriccio, particolato, o altri sedimenti dovuti al campionamento ambientale, o al tipo di strumento utilizzato per il campionamento e/o in funzione del tipo di acqua peptonata tamponata (brodo di recupero). Interpretare o contare come *Listeria* le colonie di colore rosso-viola intenso.

Interpretazione quantitativa: colonie di *Listeria* su questa piastra: **11** Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

Interpretazione semi-quantitativa: i livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es. : bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

Interpretazione qualitativa: *Listeria* rilevata

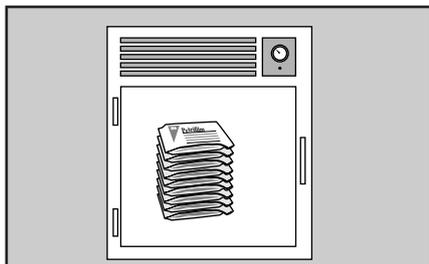
Piastre 3M™ Petrifilm™ Listeria Ambientale

Per Avvertenze, Precauzioni, Garanzia, Rimedi Limitati, Limitazioni della responsabilità di 3M, Stoccaggio, Smaltimento e Istruzioni per l'uso, vedere le note informative all'interno della confezione.

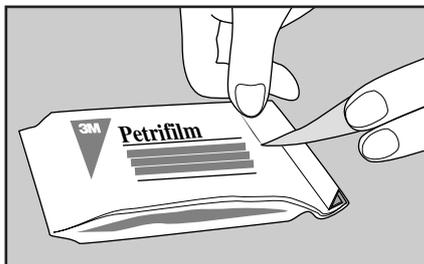
Guida
all'utilizzo



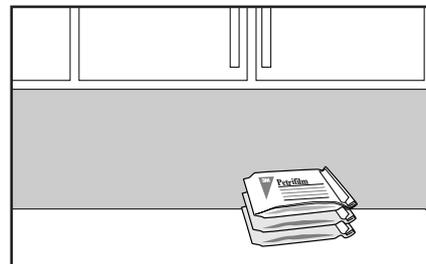
Stoccaggio



1 Conservare le confezioni chiuse ad una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Utilizzare le piastre entro la data di scadenza indicata sulla confezione. Se Petrifilm viene conservato in ambienti con umidità elevata dove è possibile la formazione di condensa, le confezioni devono essere riportate a temperatura ambiente prima dell'apertura.

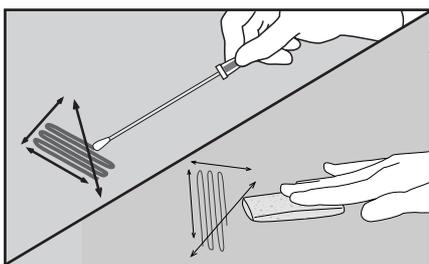


2 Per sigillare le confezioni aperte, ripiegare l'apertura e sigillarla con nastro adesivo.



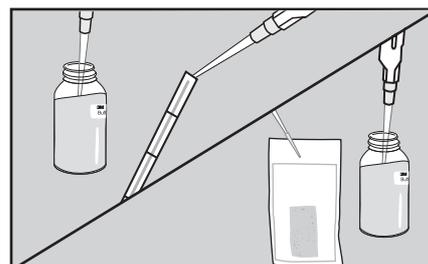
3 Per evitare l'esposizione all'umidità non refrigerare le buste aperte. Conservare le confezioni ri chiuse in luogo fresco e asciutto per non più di un mese. Evitare di esporre le piastre a temperature $> 25^{\circ}\text{C}$ ($> 77^{\circ}\text{F}$) e/o umidità relativa $> 50\%$

Preparazione del campione



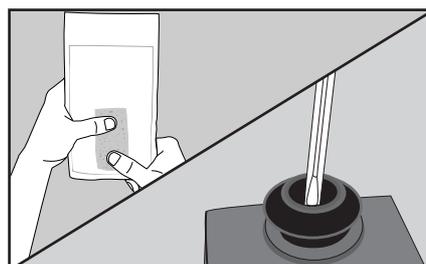
4 Raccogliere campioni ambientali utilizzando swab, spugne o altri sistemi di campionamento umidificati.

L'agente umidificante dovrebbe essere ≤ 10 mL di acqua sterile, acqua peptonata tamponata (BPW) o, in presenza di sanificanti, sono raccomandati tamponi neutralizzanti quali Lethen Broth o Neutralizing Broth.



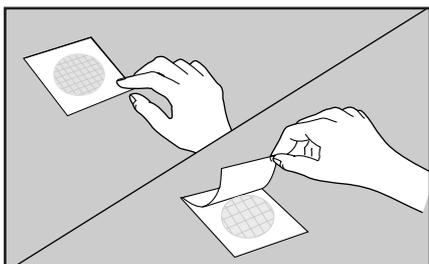
5 Aggiungere asepticamente 2 mL (se si utilizza un tampono) o 5 mL (se si utilizza una spugna) di acqua peptonata tamponata sterile alla temperatura di $20-30^{\circ}\text{C}$ (brodo di recupero) al campione

Non utilizzare brodi di arricchimento su questa piastra.

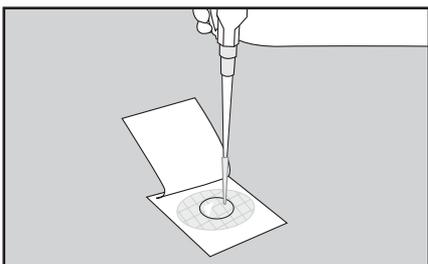


6 Miscelare con vigore, trattare con Stomacher o Vortex il campione raccolto unitamente all'acqua peptonata tamponata (BPW) per circa 1 minuto. Lasciare il campione a **temperatura ambiente $20-30^{\circ}\text{C}$ ($68-86^{\circ}\text{F}$) per minimo 1 ora massimo 1,5 ore , poi miscelare ancora**. Questo passaggio è richiesto per il recupero dei ceppi di Listeria danneggiati.

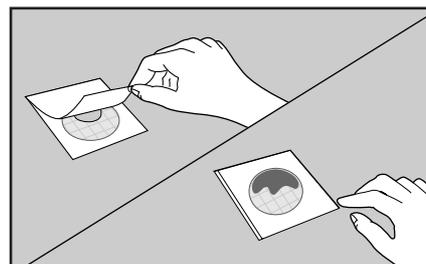
Inoculo



7 Posizionare la piastra Petrifilm EL su una superficie piana. Sollevare il film superiore.

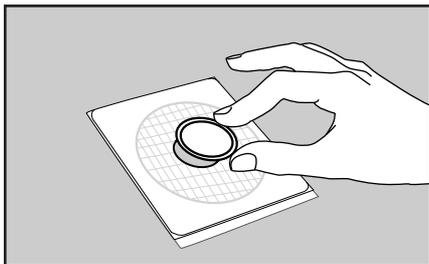


8 Con la Pipette Elettronica 3M™ o un'equivalente pipettrice tenuta perpendicolare sulla piastra Petrifilm EL, seminare **3 mL** di campione nel centro del film inferiore.

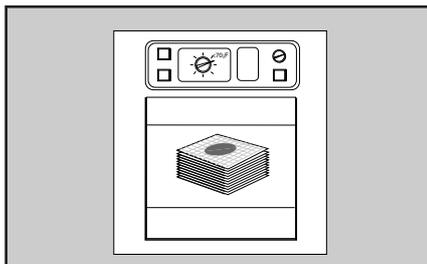


9 Srotolare il film superiore sul campione.

Incubazione

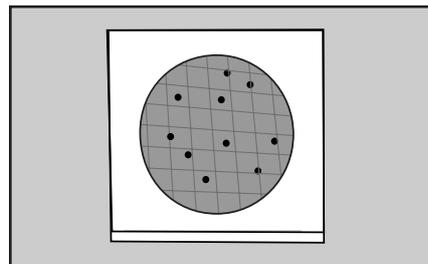


- 10** Posizionare **con delicatezza** il diffusore in plastica sul film superiore, sopra l'inoculo. **Non esercitare eccessiva pressione**, non ruotare o strisciare il diffusore. Sollevare il diffusore. Attendere almeno **10 minuti** per permettere la formazione del gel.
Nota: se l'inoculo si distribuisce da solo, il diffusore non è necessario.



- 11** Incubare le piastre con il lato trasparente verso l'alto in pile di massimo 10 piastre per **28h±2h** a 35°C±1°C oppure 37°C ±1°C. **Non eccedere le 30 ore. Un' incubazione prolungata oltre le 30 ore può portare a risultati ambigui.**

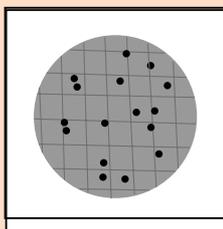
Interpretazione



- 12** Le piastre Petrifilm EL possono essere contate o interpretate utilizzando un conta colonie standard o un altro tipo di ingranditore. Non considerare o contare le colonie sviluppatesi sul supporto di schiuma in quanto non soggette all'influenza selettiva del terreno.

Il metodo 3M™ Petrifilm™ Listeria Ambientale può essere utilizzato come test quantitativo, semiquantitativo o qualitativo.

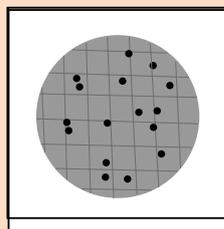
- 13** Per un test **quantitativo**, contare e registrare tutte le colonie di colore rosso-viola intenso. Si può optare per il test quantitativo se, in funzione del numero di colonie riscontrate, devono essere intraprese azioni diverse.



Colonie di *Listeria* su questa piastra: 16

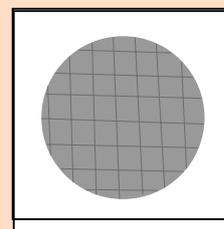
Fare riferimento alla sezione "Campionamento Quantitativo" di questa guida per calcolare la quantità di *Listeria* per campione ambientale.

- 14** Per un test **semi-quantitativo**, registrare i risultati basandosi su un **grado relativo** di intensità rosso-viola delle colonie presenti. Si può optare per il test semiquantitativo se, in funzione del numero relativo di colonie riscontrate, devono essere intraprese azioni diverse e se la registrazione del numero effettivo non è richiesta.

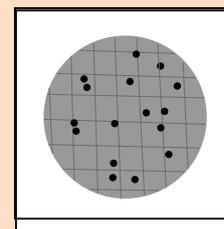


I livelli di *Listeria* dovrebbero essere registrati come classi significative in funzione dell'area campionata e in funzione degli standard previsti per l'impianto (per es. : bassa, media, alta contaminazione, oppure accettabile/NON accettabile)

- 15** Per un test **qualitativo**, registrare i risultati della piastra come colonie **RILEVATE** o **NON RILEVATE** in funzione della presenza o assenza di colonie di colore rosso-viola intenso.



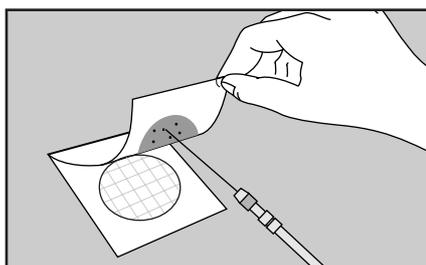
Non rilevata



Rilevata

Opzionale

- 16** Le colonie possono essere isolate per un'ulteriore identificazione. Sollevare il film superiore e prelevare la colonia dal gel.



Campionamento Quantitativo & Interpretazione

Se l'azienda sceglie di utilizzare le piastre Petrifilm Listeria ambientale per un'analisi quantitativa, fare riferimento all'insero, quindi calcolare le unità formanti colonia (ufc) per superficie come mostrato di seguito:

- La congruenza è la chiave per ottenere informazioni utili da un programma di monitoraggio ambientale. Utilizzare una procedura congruente ogni volta che si effettua un campionamento. Idealmente, utilizzare sempre lo stesso tipo di attrezzatura e la stessa tecnica.
- Le dimensioni dell'area da campionare possono essere dettate dalla legislazione, da standard interni, e/o dal tipo di area da controllare, per es. può essere necessario campionare un'area più grande per un settore dove si trovano prodotti finiti perché prevedibilmente il numero di batteri sarà basso.
- Ulteriori informazioni sul campionamento ambientale possono essere trovati consultando le referenze elencate di seguito, oltre che la brochure 3M relativa alle procedure per il monitoraggio ambientale.

Per poter determinare la quantità di *Listeria* per superficie campionata occorre conoscere:

- 1) le dimensioni dell'area campionata
- 2) il volume del liquido di idratazione presente nel sistema di campionamento
- 3) il volume di acqua peptonata tamponata aggiunto
- 4) il volume inoculato
- 5) il numero di colonie contato

Applicare la seguente equazione o un foglio di calcolo per determinare le ufc/superficie campionata. Esempi sono forniti nelle pagine successive. Vedere Insero e Guida all'utilizzo per tutti i dettagli del metodo.

E' possibile anche determinare il risultato riferito direttamente al campione, per es. ufc / tombino

$$\text{Ufc/area} = [\text{numero di colonie} \times (\text{mL liquido di idratazione} + \text{mL BPW}) / 3 \text{ mL}] / \text{area campionata}$$

oppure

A. Numero totale di mL di BPW + liquido di idratazione	_____	A
B. Numero di mL piastrati	3 mL _____	B
C. Dividere A / B	_____	C
D. Numero di colonie contate (se il numero di colonie è zero, inserire "<1" al punto D)	_____	D
E. Moltiplicare C x D	_____	E
F. Area campionata	_____	F
G. Dividere E / F	_____	G

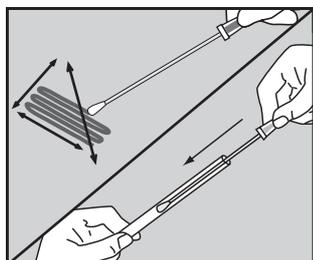
Il valore di G rappresenta le ufc / area

Il campionamento quantitative ambientale è congruente con le seguenti referenze:

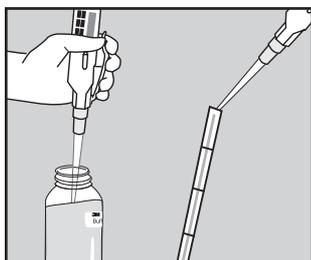
- Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Section 3.7D, American Public Health Association, Washington D.C., 1992.
- Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Section 3.512 and 3.521, American Public Health Association, Washington D.C., 2001.

Interpretazione quantitativa

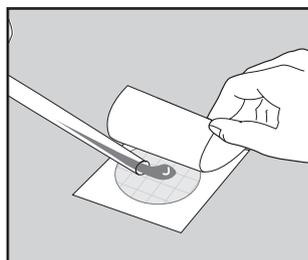
Esempio: Metodo per contatto swab



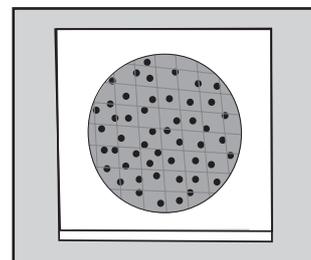
1 utilizzando un swab (o equivalente) umidificato con **1 mL** di liquido di idratazione (vedere linea A), campionare l'area. Per questo esempio l'area è di **50 cm²** (vedere linea F). Rimettere il swab nel contenitore sterile.



2 Aggiungere **2 mL** di acqua peptonata tamponata (vedere linea A)



3 Dopo il passaggio di recupero, inoculare **3 mL** sulla piastra Petrifilm Listeria ambientale (vedere linea B).



4 Dopo incubazione, contare le colonie. Per questo esempio ipotizziamo di contare **cinquanta (50)** colonie (vedere linea D).

A. Numero totale di mL di BPW + liquido di idratazione

$$1 + 2 = 3$$

A

B. Numero di mL piastrati

$$3$$

B

C. Dividere A / B

$$1$$

C

D. Numero di colonie contate

$$50$$

D

E. Moltiplicare C x D

$$50$$

E

F. Area campionata

$$50 \text{ cm}^2$$

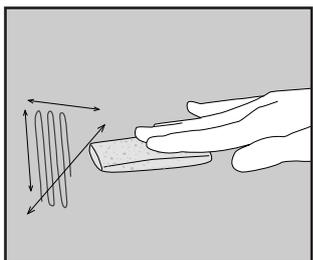
F

G. Dividere E / F

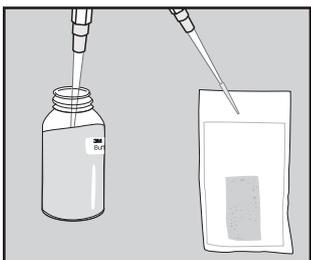
$$1 \text{ CFU/cm}^2$$

G

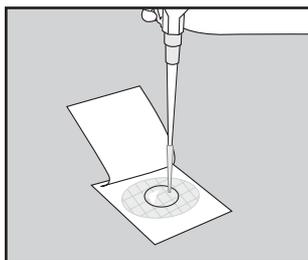
Esempio: Metodo per contatto con spugna



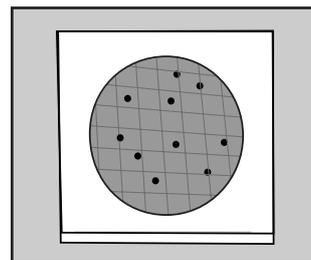
1 Utilizzando una spugna umidificata con **10 mL** di liquido di idratazione, campionare un'area (vedere linea A). Per questo esempio l'area è un piede quadrato (**50 cm²**) (vedere linea F).



2 Riportare la spugna nel contenitore sterile e aggiungere **5 mL** di acqua peptonata tamponata (vedere linea A)



3 Dopo il passaggio di recupero, inoculare **3 mL** sulla piastra 3M Petrifilm Listeria Ambientale (vedere linea B).



4 Dopo incubazione, contare le colonie. Per questo esempio ipotizziamo di aver contato **dieci (10)** colonie (vedere linea D).

A. Numero totale di mL di BPW + liquido di idratazione

$$10 + 5 = 15$$

A

B. Numero di mL piastrati

$$3$$

B

C. Divide line A by line B:

$$5$$

C

D. Numero di colonie contate

$$10$$

D

E. Moltiplicare C x D

$$50$$

E

F. Area campionata

$$50 \text{ cm}^2$$

F

G. Dividere E / F

$$1 \text{ CFU/cm}^2$$

G

Piastre 3M™ Petrifilm™ Listeria Ambientale

Commenti Aggiuntivi

La 3M Microbiologia offre una gamma completa di prodotti per effettuare svariati test microbiologici.

Per ulteriori informazioni sui prodotti visitare:

www.3M/microbiology

Riferimento del documento

<i>Data</i>	<i>Versione</i>
Ottobre 2005	1.0



**Prodotti per la microbiologia
3M Italia Spa**

Via San Bovio 3,
Loc. San Felice
20090 Segrate - MI
Tel: 02 70353335
Fax: 02 70352049

**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

Distributore

SACCO SRL

Via Manzoni 29A
22071 Cadorago - CO

Tel: 031 8866611
Fax: 031 904596
e-mail: labo@saccosrl.it