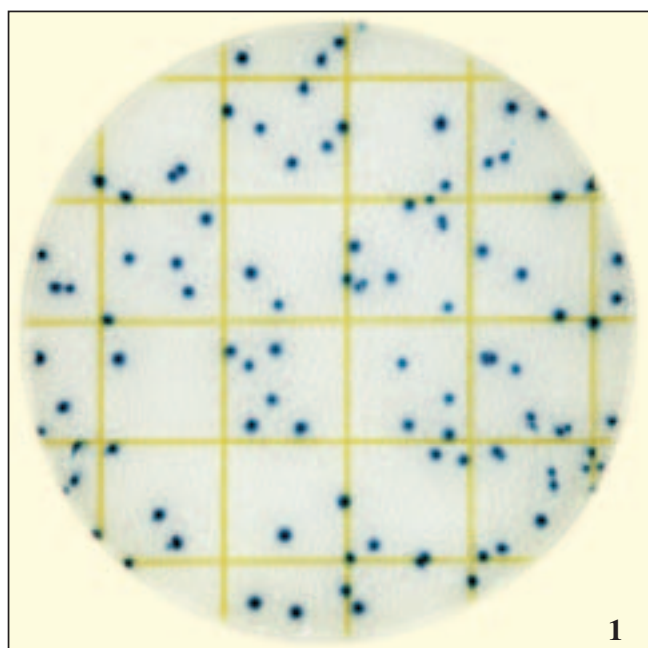




Petrifilm™

Piastra per il conteggio selettivo di E.coli

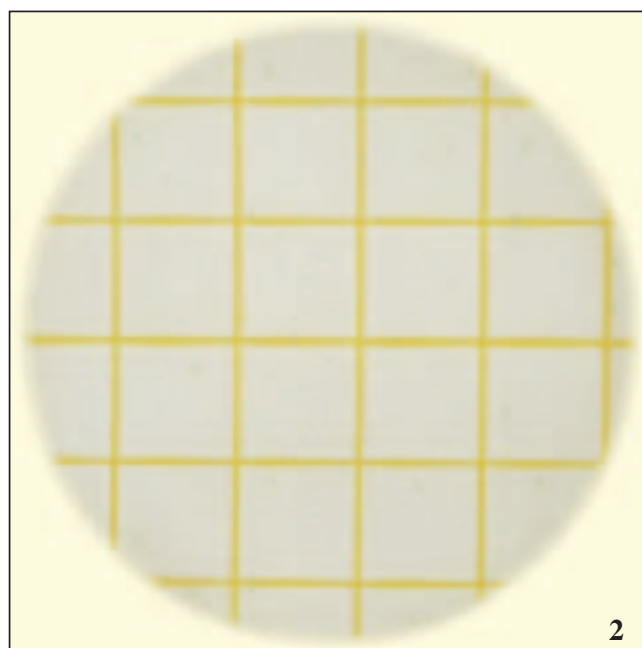
La presente guida serve per familiarizzare con i risultati delle piastre 3M™ Petrifilm™ per il conteggio selettivo di E. coli (SEC). Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante ufficiale di zona di 3M Prodotti per Microbiologia.



Numero di colonie *E. coli* = 97

Le piastre 3M Petrifilm per il conteggio selettivo di *E. coli* consentono la specifica identificazione di *E. coli*. Circa il 97% dei ceppi di *E. coli* produce β -glucuronidasi che reagisce con un indicatore di colore presente nella piastra che produce una colorazione delle colonie da verde scuro a verde-blu.

***E. coli* O 157 non può essere identificato nella piastra Petrifilm SEC perché la maggior parte degli *E. coli* O 157 sono glucuronidasi negativi.**



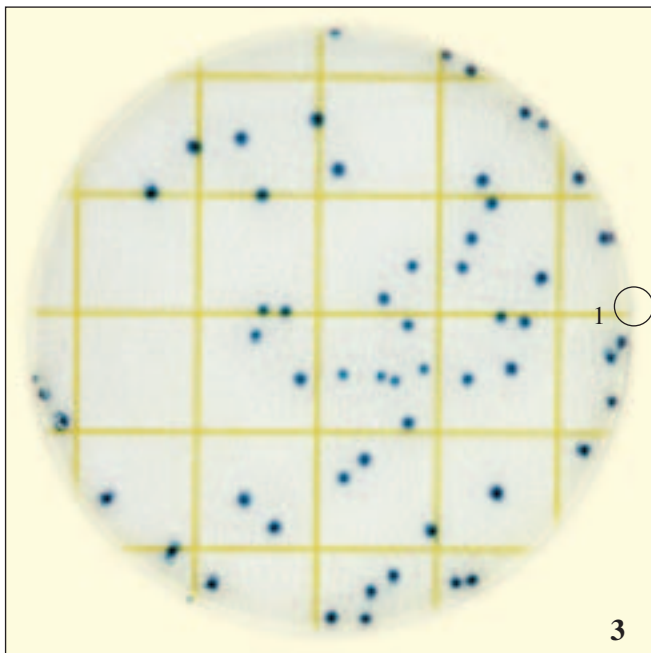
Numero di colonie *E. coli* = 0

Altre colonie non *E. coli* sono difficilmente visibili perché non colorate o di colore grigio-beige.

Piastre 3M™ Petrifilm™ per il conteggio selettivo di *E. coli*

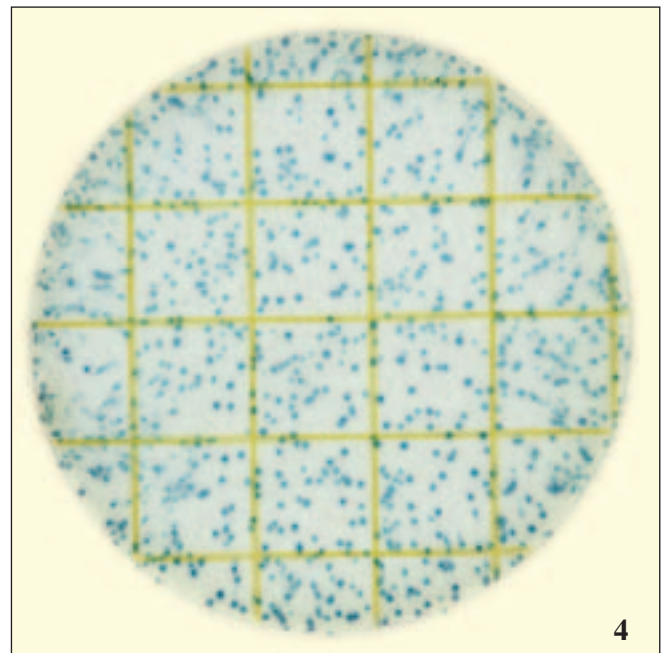
Range di lettura:

La lettura ottimale delle piastre 3M Petrifilm per il conteggio selettivo di *E. coli* si ha quando il numero di colonie in piastra è tra 15 e 150. Per conte maggiori di 150 colonie può essere effettuata una stima o si può classificare il risultato come troppo elevato per l'enumerazione (TNTC – too numerous to count). *Per ottenere un conteggio accurato, diluire ulteriormente il campione*



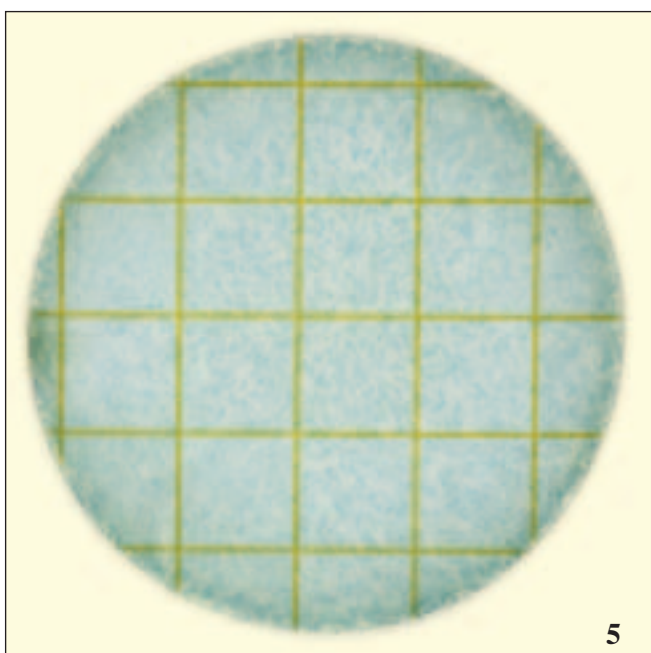
Numero di colonie *E. coli* = 56

Non contare le colonie che appaiono sulla barriera di schiuma, dato che sono eliminate dall'influenza selettiva del terreno di coltura (vedere il cerchio 1).



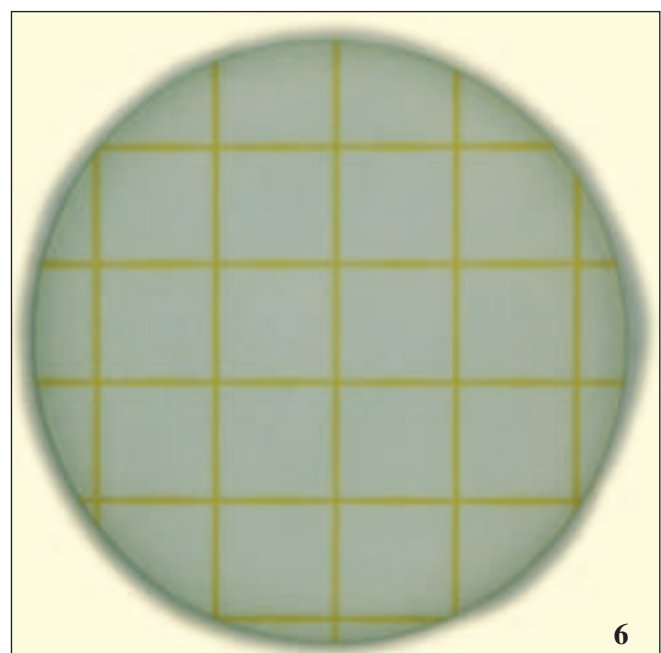
Numero stimato di colonie *E. coli* ≈ 740

Quando il numero di colonie è superiore a 150 si possono effettuare delle stime. Contare il numero di colonie in uno o più quadrati rappresentativi e moltiplicare il numero medio per 20 per determinare il numero stimato per ciascuna piastra. Stime possono essere effettuate anche con piastre con conte superiori a 150 volte la diluizione.



Numero di colonie *E. coli* = incontabile

Quando presenti in numero elevato, le colonie di *E. coli* possono apparire piccole, indistinte.



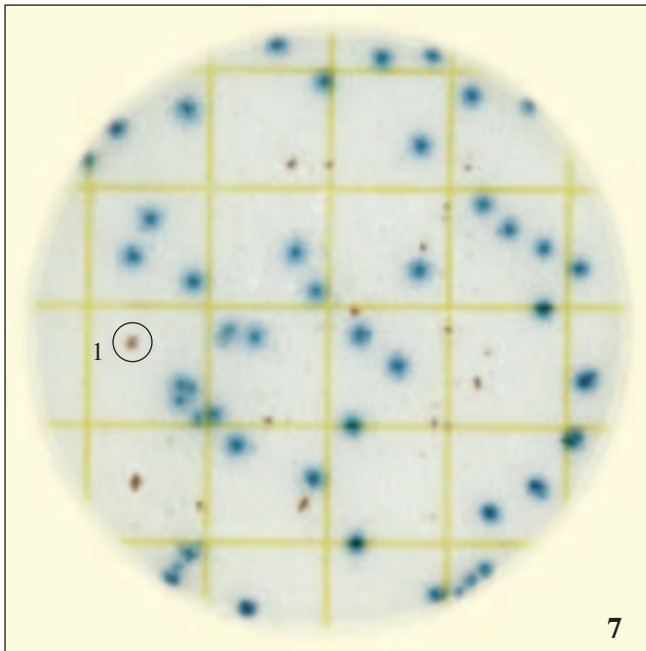
Numero di colonie *E. coli* = incontabile

Un'elevata concentrazione di *E. coli* può causare il viraggio dell'intera area di crescita al blu-verde.

Piastre 3M™ Petrifilm™ per il conteggio selettivo di *E. coli*

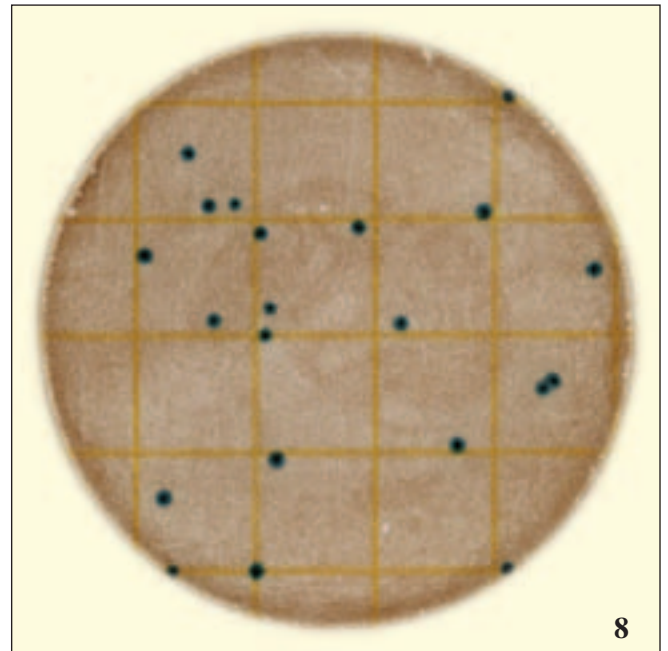
Interferenze di alcuni prodotti alimentari:

Le piastre 3M Petrifilm per il conteggio selettivo di *E. coli* sono state valutate utilizzando campioni di molti tipi di alimenti, ma non di tutti. Gli alimenti analizzati includono alcune carni fresche e surgelate, verdure e pesce; piatti pronti surgelati; e latticini freschi, fermentati e secchi. In alcuni casi limitati, come per il fegato, l'alimento può interferire con l'enumerazione. Per contenere questa interferenza dell'alimento, diluire ulteriormente il campione.



Numero di colonie *E. coli* = 42

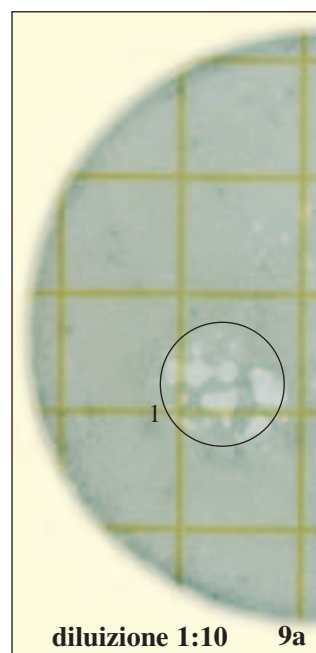
Le colonie *E. coli* possono essere facilmente distinte da pezzetti di prodotto alimentare che sono spesso di forma irregolare e di dimensioni e colore variabili. Il cerchio 1 mostra pezzetti di nocciola.



Numero di colonie *E. coli* = 21

Alcuni prodotti alimentari scuri possono produrre una colorazione dello sfondo dell'area di crescita che rende le colonie *E. coli* meno visibili. Ulteriori diluizioni consentono di schiarire lo sfondo e contare le colonie *E. coli* più facilmente.

La figura 8 mostra polvere di cacao diluita 1:50.



diluizione 1:10 9a



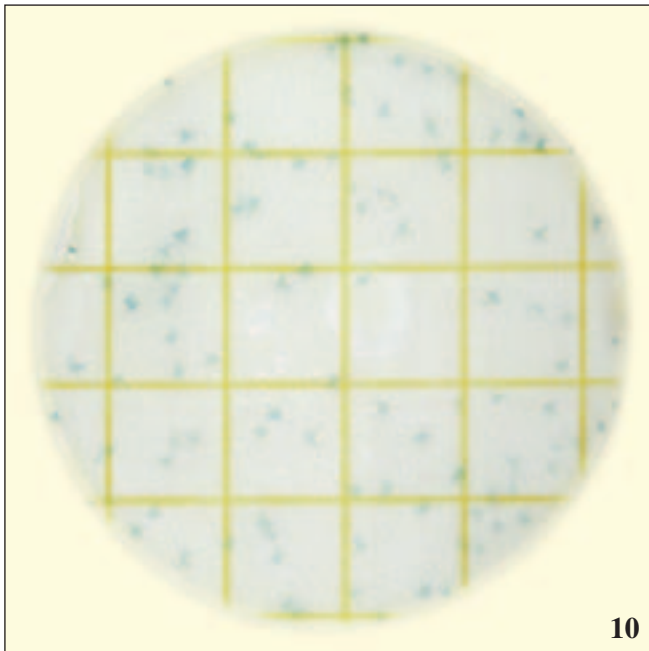
diluizione 1:100 9b

Il fegato crudo contiene β -glucuronidasi che produce una colorazione blu-verde dello sfondo dell'area di crescita delle piastre rendendo poco visibili le colonie di *E. coli*. Ulteriori diluizioni consentono di schiarire lo sfondo e rendono più facile il conteggio delle colonie *E. coli* e aiutano inoltre a distinguere l'interferenza di prodotti alimentari da piastre con numero di colonie troppo elevato in cui spesso più colonie confluiscono (vedere figura 6). Bolle artefatte possono essere provocate da un inoculo non corretto o da aria intrappolata nel campione. Vedere cerchio 1.

Piastre 3M™ Petrifilm™ per il conteggio selettivo di *E. coli*

Variabilità dell'aspetto delle colonie *E. coli*:

Le colonie *E. coli* glucuronidasi-positivo possono variare in dimensioni, intensità di colore e forma, a seconda della specie stessa, del campione e dell'influenza di fattori esterni come il protocollo d'analisi. Le colonie *E. coli* blu-verdi possono avere bolle di gas associate.

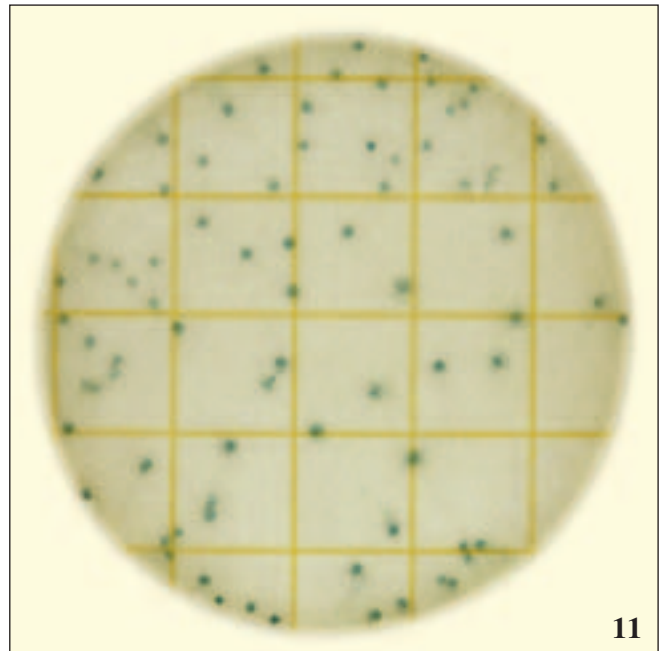


10

Numero di colonie *E. coli* = 92

Il colore verde pallido delle colonie può essere dovuto a *E. coli* deboli produttori di glucuronidasi o all'interazione con alimenti molto acidi o con un alto contenuto di zucchero.

La figura 10 mostra una piastra con un latticino fermentato molto acido.

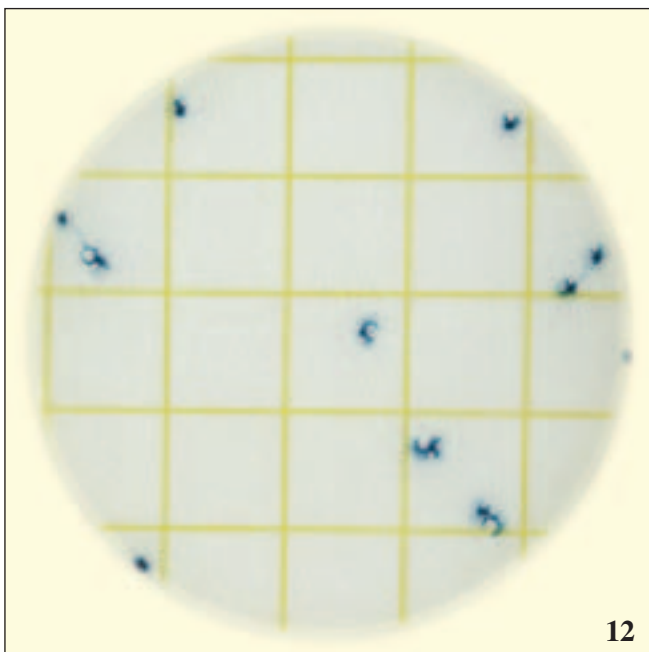


11

Numero di colonie *E. coli* = 75

Una colorazione verdastro-marrone può comparire con alcuni alimenti.

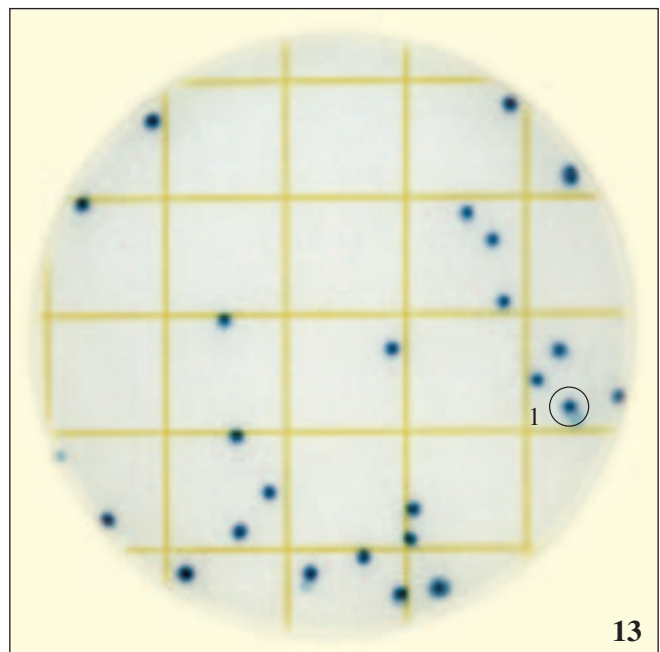
La figura 11 mostra un campione di rognone.



12

Numero di colonie *E. coli* = 10

Le colonie *E. coli* possono essere associate a bolla di gas a seconda della specie di *E. coli* e del campione. Contare tutte le colonie con o senza bolla di gas.



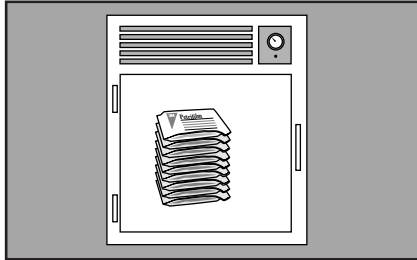
13

Numero di colonie *E. coli* = 25

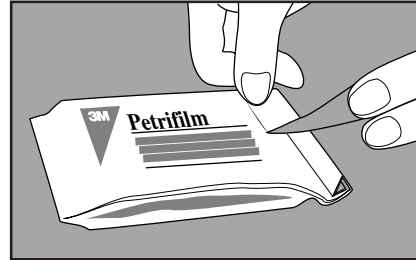
Le colonie possono apparire "spalmate". Vedere il cerchio 1. Per minimizzare questo effetto diffondere immediatamente dopo l'inoculo esercitando una leggera pressione sul centro del diffusore plastico.



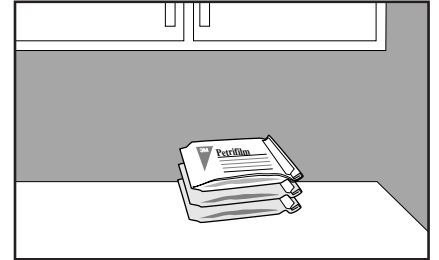
Stoccaggio



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

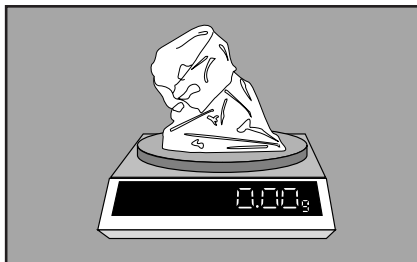


2 Per sigillare le confezioni aperte, ripiegare l'apertura e sigillarla con nastro adesivo.

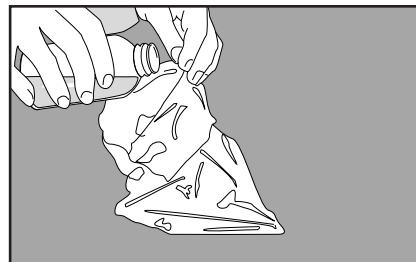


3 Conservare le confezioni così richiuse in un ambiente fresco e secco per non più di un mese. **Non conservare in frigorifero le confezioni aperte.** Conservare le confezioni richiuse in congelatore se la temperatura del laboratorio supera i 25°C e/o il laboratorio è situato in un'area dove l'umidità è spesso superiore al 50%.

Preparazione

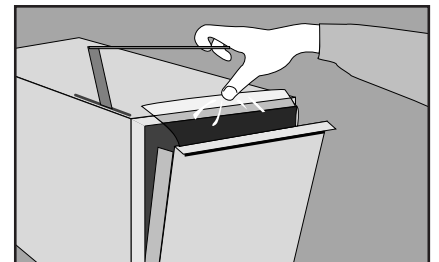


4 Inserire il prodotto in un contenitore sterile adeguato come un sacchetto da stomacher, un flacone per diluizioni, un sacchetto Whirl-Pak®.



5 Aggiungere l'appropriata quantità di uno dei seguenti diluenti sterili: acqua peptonata tamponata (ISO 6887), diluente al sale peptonato (ISO 6887) or MRD, acqua peptonata 0.1%, K_2HPO_4 (IDF 122B), tampone fosfato Butterfield's (IDF 122B tampone fosfato, KH_2PO_4 a 0.0425 g/L, regolato a pH 7.2), brodo di Lethen senza bisolfito, soluzione di Ringer (IDF 122B), soluzione salina (0.85-0.90%), o acqua distillata.

Non usare tamponi contenenti citrato, bisolfito o tiosolfato. Possono inibire la crescita.

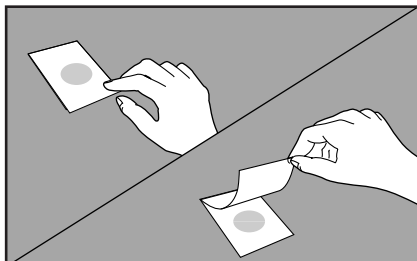


6 Miscelare od omogeneizzare il campione secondo le procedure correnti.

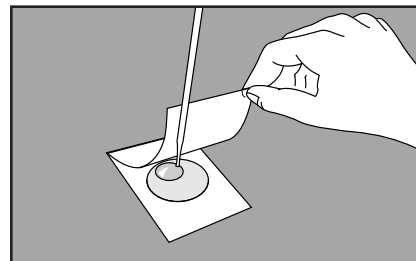
Regolare il pH del campione diluito tra 6,5 e 7,5:

- per i prodotti acidi, usare NaOH 1N,
- per i prodotti alcalini, usare HCl 1N.

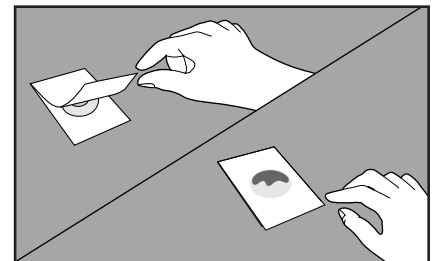
Inoculo



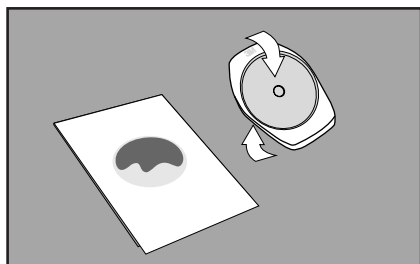
7 Posizionare la piastra Petrifilm su una superficie **piana**. Sollevare il film superiore.



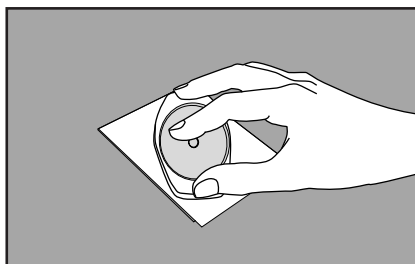
8 Tenendo una pipetta **perpendicolare** alla piastra Petrifilm, seminare 1 ml di campione nella parte centrale del film basale.



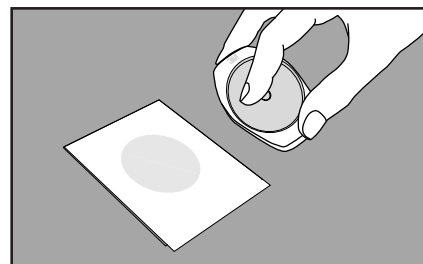
9 **Arrotolare attentamente** il film superiore per evitare di intrappolare bolle d'aria. **Non** lasciar cadere il film superiore.



10 Posizionare il diffusore di plastica, tenendo il lato piatto rivolto verso il basso, sul film superiore sopra il campione seminato.

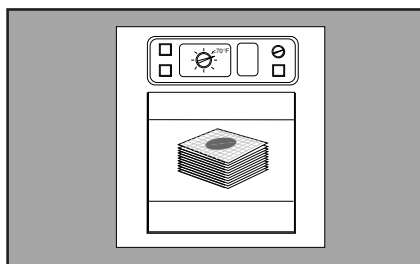


11 Esercitare una **leggera** pressione sul diffusore per distribuire lungo l'area circolare. Non torcere o far scivolare il diffusore.



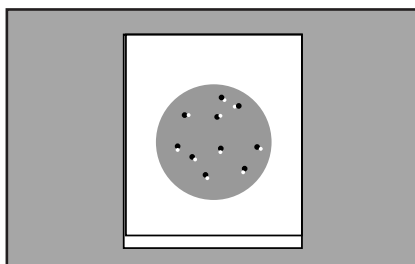
12 Sollevare il diffusore. Attendere almeno un minuto per consentire al gel di solidificare.

Incubazione

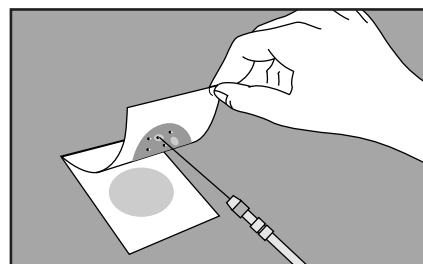


13 Incubare le piastre con il lato trasparente verso l'alto, in pile di massimo 20 piastre. Incubare 24 ore \pm 2 ore a $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ o $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Potrebbe essere necessario umidificare l'incubatore.

Interpretazione



14 Il conteggio delle colonie sulle piastre Petrifilm può essere fatto con un conta-colonie standard o con un qualsiasi altro tipo di ingranditore. Per la lettura dei risultati, consultare la sezione Guida all'interpretazione.



15 Le colonie possono essere isolate per un'identificazione successiva. Sollevare il film di copertura e prelevare la colonia dal gel. Analizzare seguendo le procedure standard.

Document reference

| Date | Version |
|----------------|---------|
| September 2000 | 1.0 |

3M

Prodotti per Microbiologia
3M Italia Spa

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

Europa
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
www.3M.com/microbiology

Distribuito da:

SACCO SRL
Via Manzoni, 29/A
22071 Cadorago - CO
tel.: 031 8866611 - fax: 031 904596
e-mail: sacolab@tin.it

3M e Petrifilm sono marchi registrati della 3M Co.
Whirl-Pak è un marchio registrato della Nasco