



Petrifilm™ Serie 2000

Piastre per il conteggio rapido dei coliformi

La presente guida serve per familiarizzare con i risultati delle piastre per il conteggio rapido dei coliformi Petrifilm™ Serie 2000 secondo i tre metodi di conteggio dei coliformi più diffusi. Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante ufficiale di zona di 3M™ Prodotti per Microbiologia.

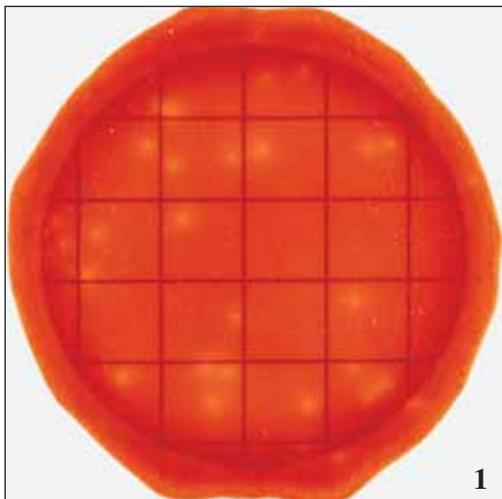
AOAC INTERNATIONAL e U.S. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual (BAM) definiscono i coliformi come microrganismi gram-negativi che producono acido e gas dal lattosio durante la fermentazione metabolica.

Le colonie che crescono sulla piastra Petrifilm RCC producono acido e fanno quindi cambiare il colore dell'indicatore di pH nella piastra da rosso-arancio a giallo, fornendo indicazioni presuntive sui coliformi. Il gas intrappolato intorno alle colonie di coliformi indica i coliformi confermati.

L'ISO definisce i coliformi per la loro capacità di crescere in mezzi selettivi secondo metodi specifici.

Il metodo ISO 4832, enumerazione dei coliformi con la tecnica del conteggio delle colonie, definisce i coliformi per le dimensioni della colonia e la produzione di acido su VRB agar con lattosio (VRBL). Sulle piastre Petrifilm RCC, questi coliformi che producono acido sono indicati da zone gialle acide o da colonie rosse con o senza gas.

Il metodo ISO 4831, enumerazione dei coliformi con il metodo del numero più probabile (Most Probable Number - MPN), definisce i coliformi per la loro capacità di crescere e produrre gas dal lattosio in un brodo selettivo. Sulle piastre Petrifilm RCC questi coliformi sono indicati da colonie rosse associate a gas. L'AFNOR ha convalidato le piastre Petrifilm RCC come metodo confrontato al metodo ISO 4831 e al metodo ISO 4832.



(A 6 ore di incubazione)

Conteggio dei coliformi per zone acide (6-14 h)

Le zone gialle acide possono iniziare a comparire dopo 6 ore. Se i coliformi sono presenti, le zone gialle compariranno e si diffonderanno durante tutta l'incubazione.

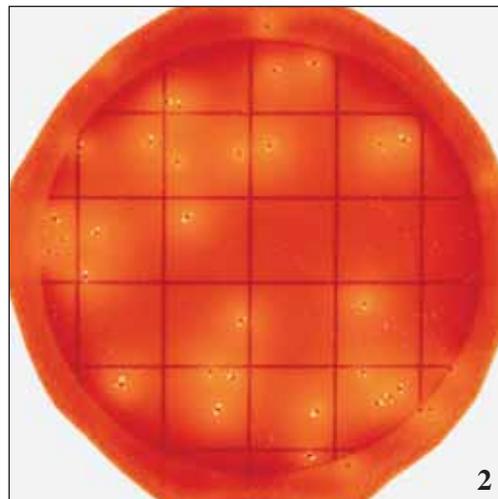
• Interpretazione in riferimento ai metodi AOAC/BAM :

Contare le zone gialle acide con o senza centri rossi come coliformi presuntivi.

• Interpretazione in riferimento al metodo ISO 4832 (VRBL) :

Contare le zone gialle acide con o senza centri rossi come coliformi.

Risultati finali a 14 ore (convalida AFNOR).



(A 14 ore di incubazione)

Conteggio delle colonie di coliformi (8-24 h)

Le colonie rosse con o senza gas possono iniziare a comparire dopo 8 ore e continuare a crescere durante tutta l'incubazione.

• Interpretazione in riferimento ai metodi AOAC/BAM :

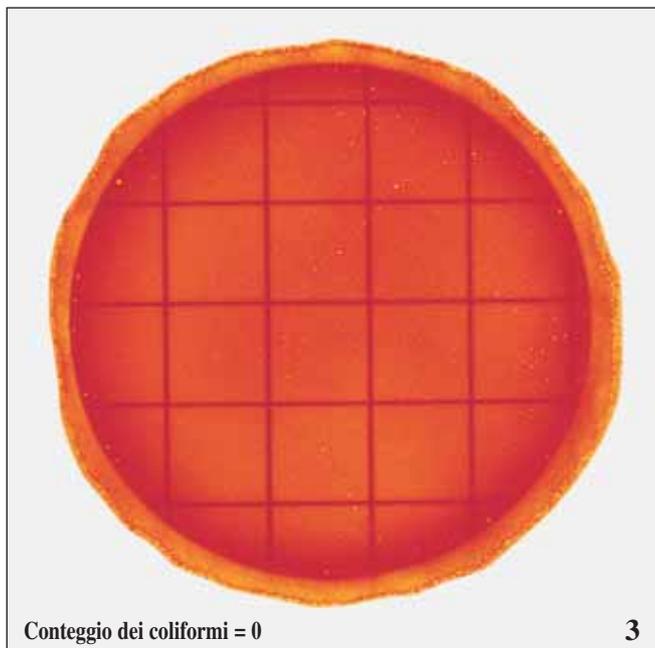
Contare le zone rosse associate a gas come coliformi confermati in qualsiasi momento esse compaiano.

• Interpretazione in riferimento al metodo ISO 4831(MPN) :

Contare le zone rosse associate a gas come coliformi. Risultati finali a 24 ± 2 ore (convalida AFNOR), tranne per la carne di maiale lavorata.

• Interpretazione in riferimento al metodo ISO 4832(VRBL) :

Contare le colonie rosse con o senza gas come coliformi. Risultati finali a 24 ± 2 h (convalida AFNOR).



Conteggio dei coliformi = 0

3

La rapidità della crescita batterica sulle coliformi Petrifilm Serie 2000 (misurata dipende dal tipo di batteri, dal loro stato

Conteggio delle zone acide (6-14 h) :

Si notino i cambiamenti del gel nella sequenza dalla figura 3 alla figura 10. La produzione acida dovuta alla crescita dei coliformi cambia il colore del gel da rosso-arancio ad arancio-giallo.

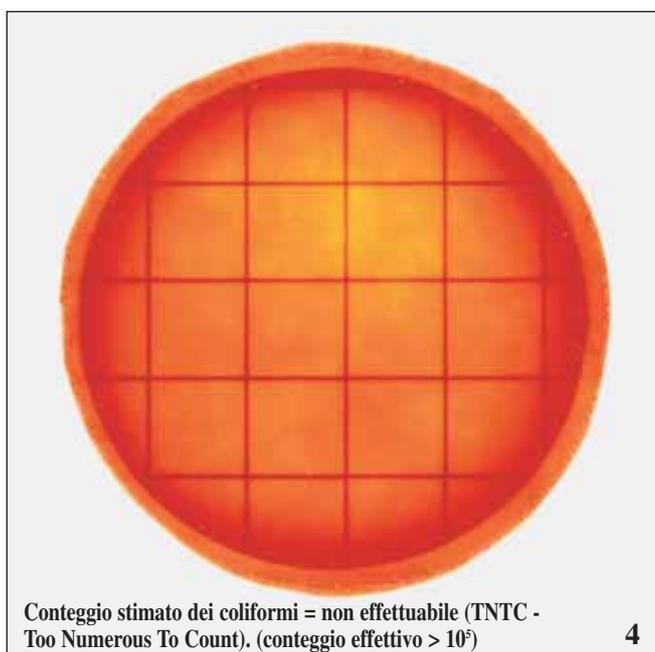
Le concentrazioni elevate di coliformi (>1000 colonie / piastra) possono causare il viraggio al colore giallo dell'intera area di crescita dopo 4 ore di incubazione.

Vedere figura 4. Quando ciò accade, per ottenere un conteggio accurato può essere necessario diluire ulteriormente il campione.

Alcuni coliformi producono quantità elevate di acido. Per questi organismi, la fusione delle zone acide potrebbe verificarsi anche con sole 20 colonie per piastra. Si possono fare stime su piastre contenenti più di 50 zone acide.

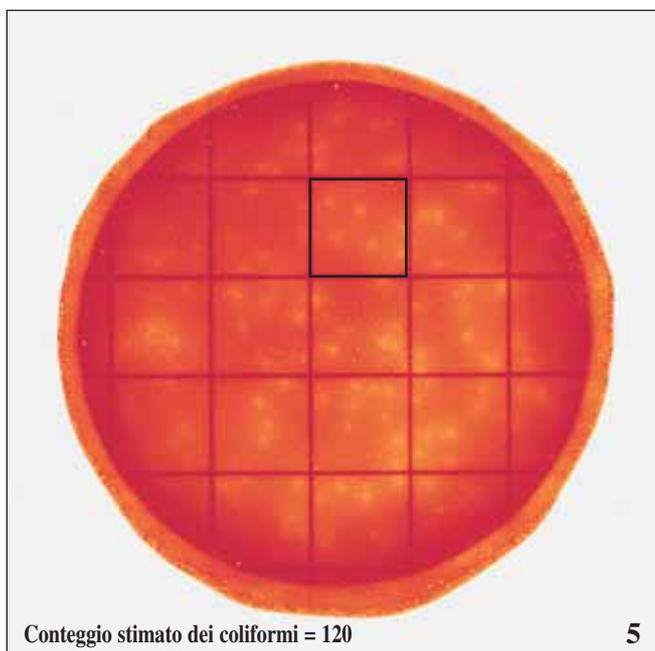
L'area di crescita circolare su una piastra Petrifilm RCC è di circa 20 cm². Si possono fare stime determinando il numero medio di zone acide in un quadrato rappresentativo e moltiplicarlo per 20. Nel quadrato evidenziato nella figura 5 ci sono 6 zone acide.

La continua crescita dei coliformi provocherà la formazione di colonie rosse nelle zone acide. Vedere figura 6.



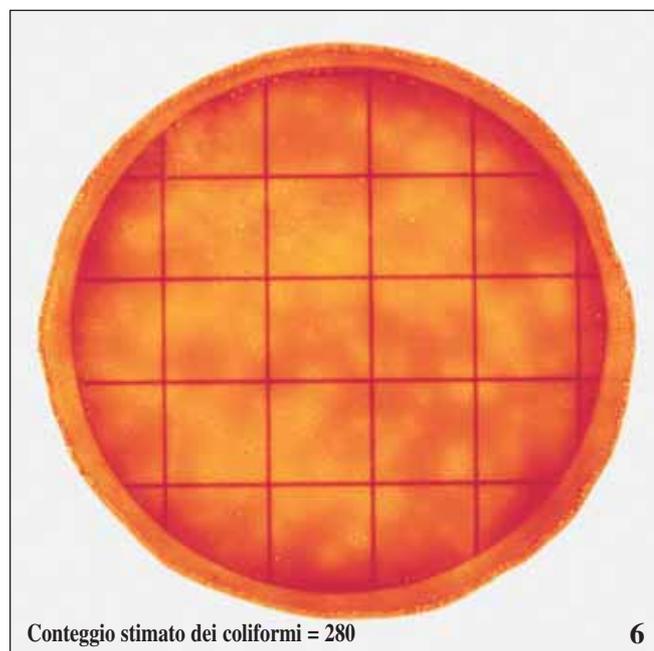
Conteggio stimato dei coliformi = non effettuabile (TNTC - Too Numerous To Count). (conteggio effettivo > 10⁶)

4



Conteggio stimato dei coliformi = 120

5



Conteggio stimato dei coliformi = 280

6

*piastre per il conteggio rapido dei
con la produzione di acido e di gas)
metabolico e dalla loro concentrazione.*

Conteggio delle colonie e gas (8-24 h) :

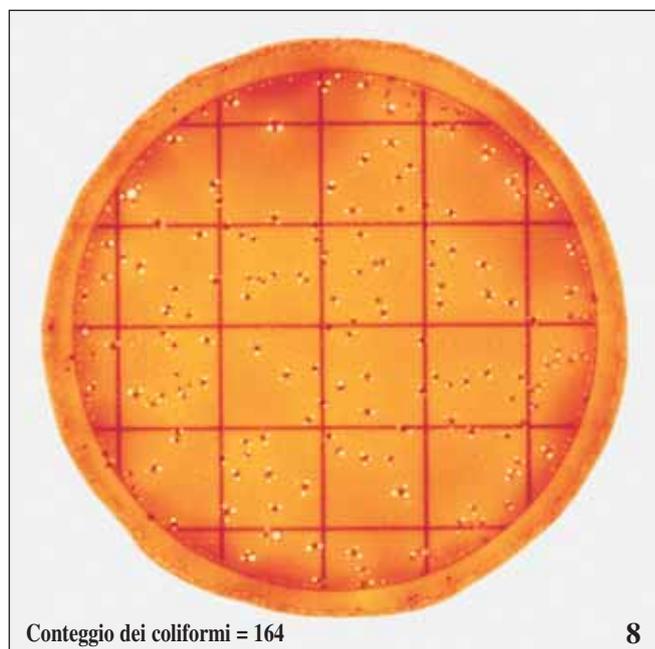
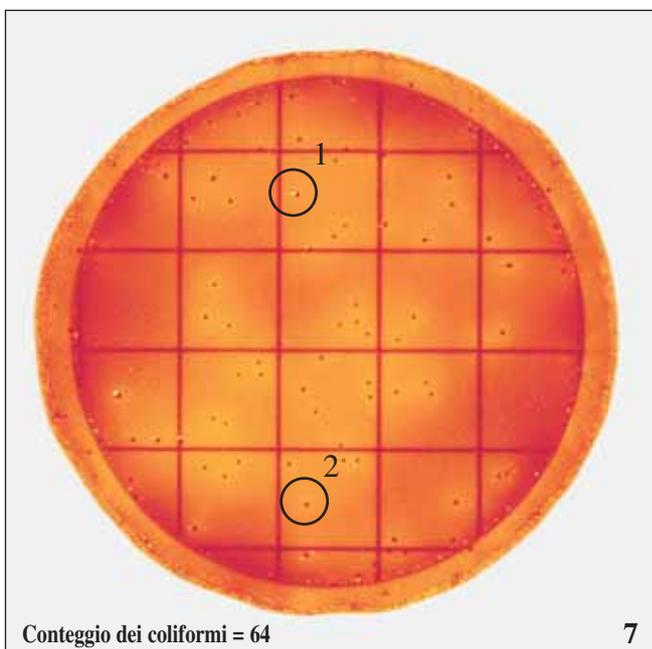
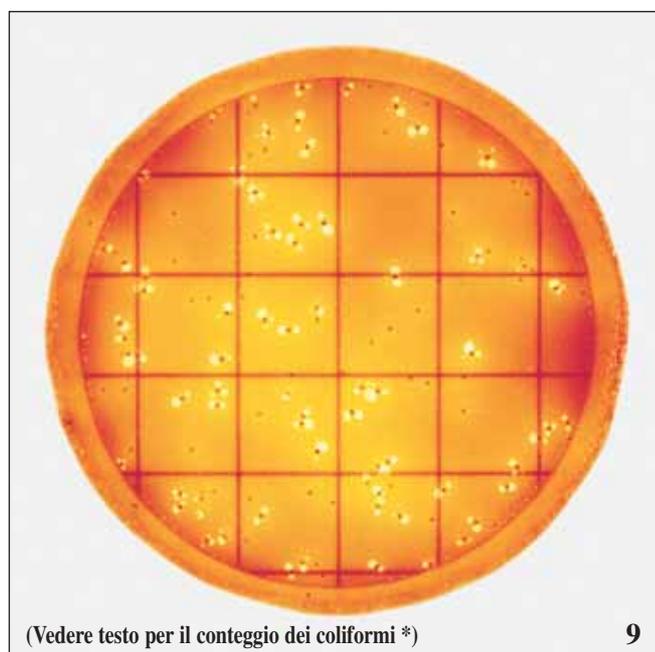
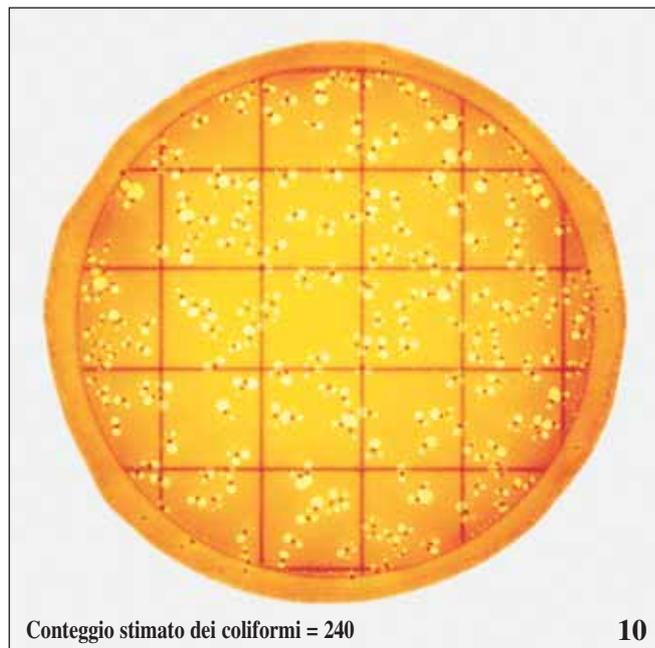
Le figure 7 e 8 mostrano i risultati provenienti dalla stessa concentrazione di diversi organismi incubati per la stessa quantità di tempo. Colonie rosse con zone acide appaiono distintamente su entrambe le piastre. I microrganismi in figura 8 appaiono capaci di fermentare il lattosio con produzione di gas più rapidamente di quelli in figura 7.

Contare le colonie con o senza gas dipende dal metodo di riferimento scelto. Una colonia è associata ad una bolla di gas se questa è ad una distanza massima pari al diametro di una colonia o in una figura ad anello intorno alla colonia. Vedere i cerchi 1 e 2 rispettivamente nella figura 7.

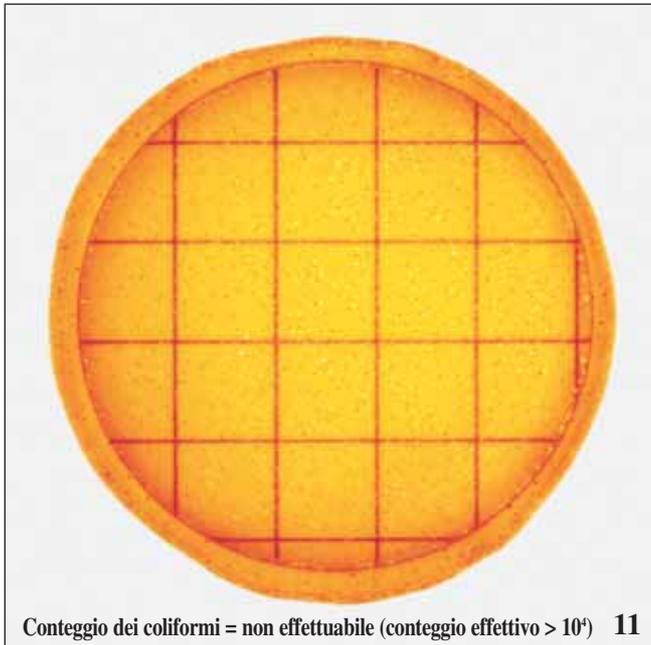
*La figura 9 è un altro esempio di conteggio di colonie con o senza bolle di gas. Il conteggio dipende dal metodo di riferimento scelto.

- Rispetto ai metodi AOAC/BAM, colonie di coliformi confermati con gas = 72.
- Rispetto al metodo ISO 4831, i coliformi sono colonie con gas = 72.
- Rispetto al metodo ISO 4832, i coliformi sono colonie con e senza gas = 128

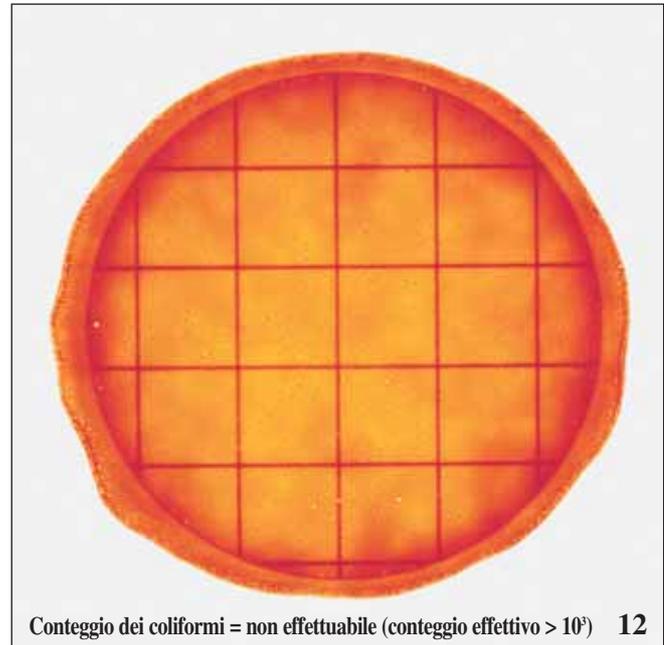
Quando il numero delle colonie è maggiore di 150 per piastra, stimare il conteggio. Non contare le colonie cresciute nella schiuma perché non sono più sottoposte all'azione degli agenti selettivi Vedere figura 7 - 10.



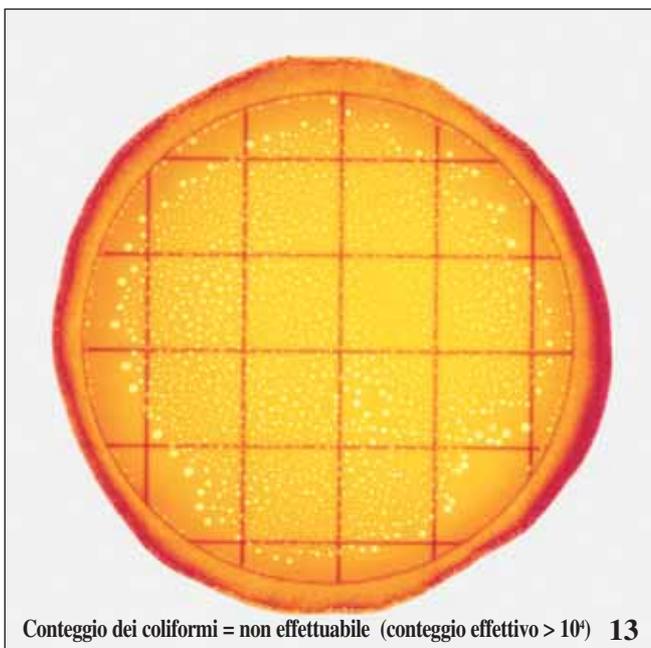
Tests 3M Petrifilm RCC Conteggio non effettuabile (>1000 colonie/piastra)



Quando il numero di colonie è troppo elevato, le piastre Petrifilm RCC hanno una o più delle seguenti caratteristiche: cambiamento del colore del gel da rosso-arancio ad arancio-giallo, numerose colonie piccole, molte bolle di gas.



La piastra Petrifilm RCC in figura 12 ha due caratteristiche che indicano che il conteggio non è effettuabile: cambiamento del colore del gel e numerose colonie piccole.



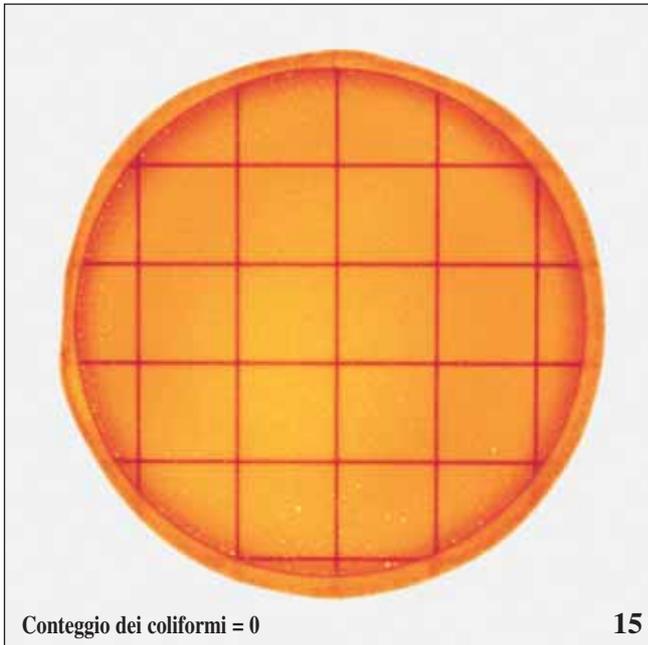
In figura 13, il numero delle colonie è così alto che non è possibile distinguerle singolarmente. Il gel divenuto giallo e le numerose bolle di gas indicano che il conteggio non è effettuabile.



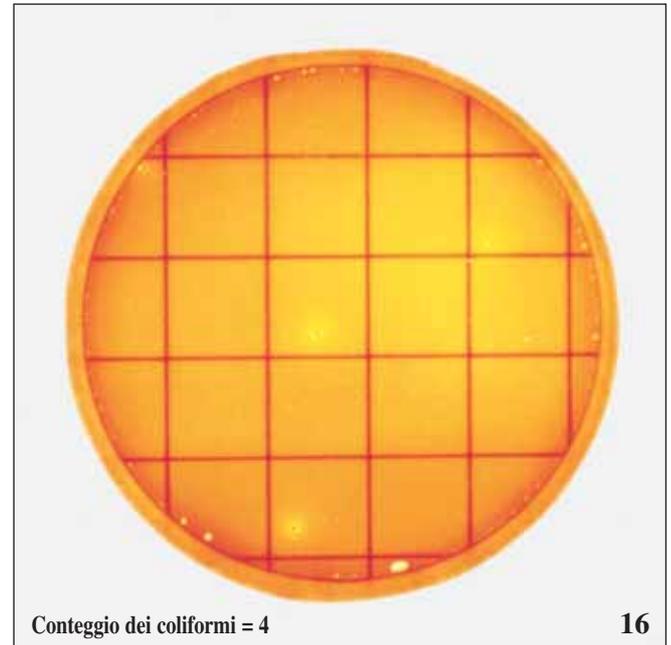
La figura 14 mostra una piastra Petrifilm RCC con un numero elevato di batteri non-coliformi gram-negativi. Quando è presente un numero elevato di organismi che non fermentano il lattosio, il gel può essere rosso scuro.

pH : La maggior parte dei batteri cresce in modo ottimale con pH intorno a 7,0.
Le diluizioni di prodotti a pH basso richiedono la regolazione del pH a 6,5 - 7,5 prima della semina sulle piastre Petrifilm.

Le figure 15 e 16 mostrano esempi di yogurt fresco seminato su piastra dopo la regolazione del pH. Gli agenti inibitori nel terreno impediscono la crescita di starters gram-positivi, ma l'acido prodotto dalla coltura starter può ancora cambiare il colore di base del gel da rosso-arancio ad arancio-giallo, simulando un conteggio non effettuabile. Monitorare le piastre contenenti colture di yogurt fresco durante l'incubazione per ottenere ulteriori indicazioni di conteggio non effettuabile.

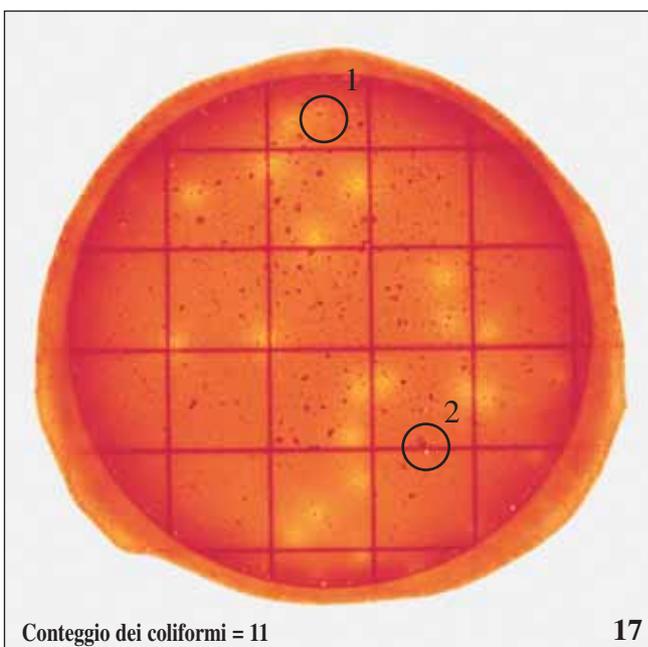


Confrontare la piastra in figura 15 in cui non sono presenti colonie con quelle delle pagine precedenti in cui la conta non è effettuabile. Si noti che nella piastra in figura 15 nessuna colonia o bolla di gas è presente ad indicare un conteggio non effettuabile.

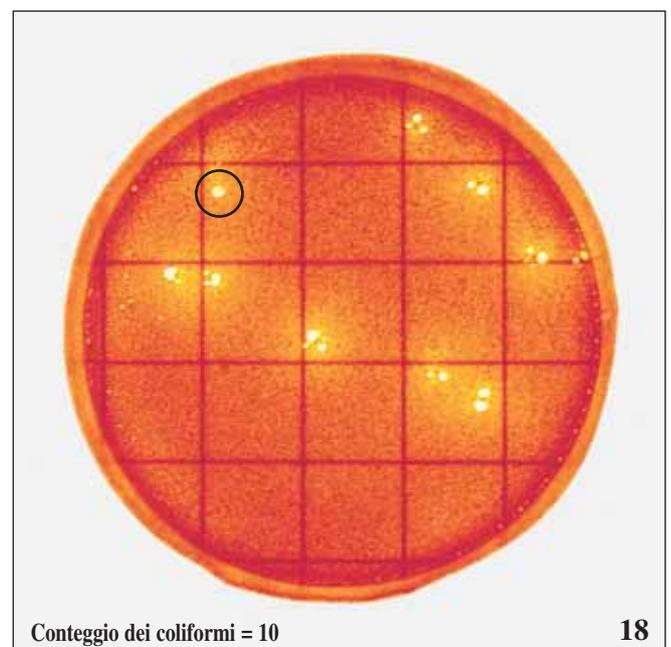


Nonostante il cambiamento di colore del gel, l'acido prodotto dai coliformi è ancora facilmente visibile, come illustrato nella figura 16.

Prodotto: Spesso le particelle di prodotto alimentare hanno una forma irregolare e non sono associate a bolle di gas.



La figura 17 mostra una prima lettura di una diluizione di paprica. Il cerchio 1 mostra una zona acida intorno ad una particella di prodotto rossa dalla forma irregolare. Alcuni prodotti alimentari possono contenere particelle acide che reagiscono con l'indicatore di pH. Il cerchio 2 mostra una bolla vicino ad una particella rossa di forma irregolare, ma nessuna zona acida è presente. Nessuna di esse deve essere contata come una colonia.



La figura 18 mostra una diluizione di cioccolato. Le zone di acido associate a colonie continueranno ad espandersi durante l'incubazione. Le bolle di gas associate a colonie sono un altro criterio che può aiutare ad identificare i coliformi. Le bolle di gas possono delineare la colonia come mostrato nel cerchio. Il conteggio con o senza gas dipende dal metodo di riferimento scelto.

3M™ Petrifilm™

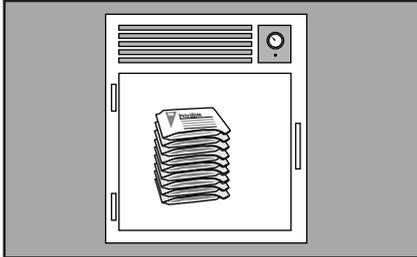
Piastre per il conteggio rapido dei coliformi serie 2000

Per le Avvertenze, le Precauzioni, la Garanzia, i Rimedi Limitati, lo Stoccaggio e lo Smaltimento e le Istruzioni per l'uso, vedere le note informative all'interno della confezione.

Guida
all'utilizzo



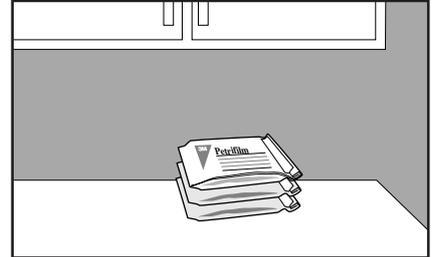
Stoccaggio



1 **Conservare** le confezioni chiuse ad una temperatura di $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Utilizzare le piastre entro la data di scadenza indicata sulla confezione.

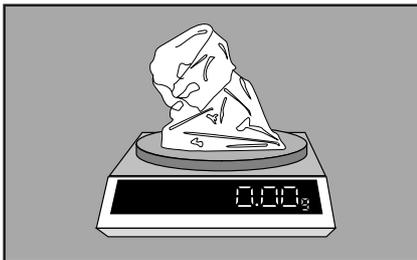


2 Per sigillare le confezioni aperte, ripiegare l'apertura e sigillarla con nastro adesivo.

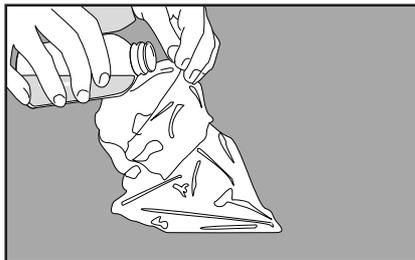


3 Conservare le confezioni così richiuse a $\leq 25^{\circ}\text{C}$ e $\leq 50\% \text{RH}$. **Non conservare in frigorifero le confezioni aperte.** Usare le piastre Petrifilm entro un mese dall'apertura.

Preparazione del campione

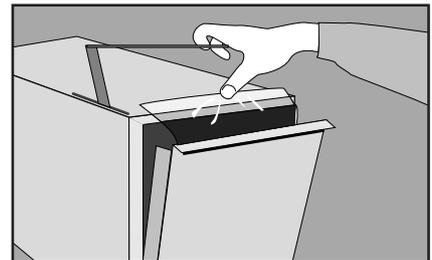


4 Il latte intero e a basso contenuto di grassi può essere seminato direttamente. Per gli altri alimenti e i latticini, preparare almeno una diluizione 1:10 del campione. Inserire il prodotto in un contenitore sterile adeguato come un sacchetto da stomacher, flacone per diluizioni, un sacchetto Whirl-Pak® o altri contenitori sterili appositi.



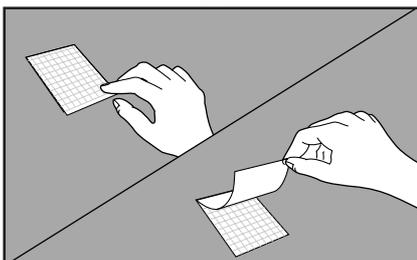
5 Usare i diluenti sterili appropriati: diluente al sale peptonato (metodo ISO 6887) (o Diluente Maximum Recovery), tampone fosfato Butterfield's (KH_2PO_4 a 0,0425 g/L, regolato a pH 7,2), 0,1% acqua peptonata, soluzione salina (0,85 - 0,90%) o acqua distillata.

Non usare tamponi contenenti citrato, bisolfito o tiosolfato.
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 N.1N.

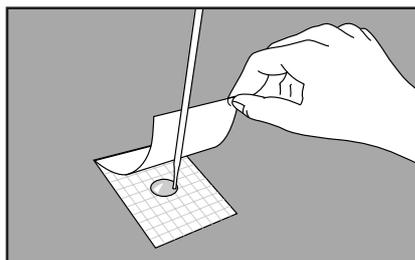


6 Miscelare o omogeneizzare il campione secondo le procedure correnti.

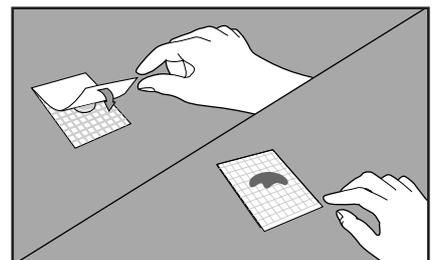
Inoculo



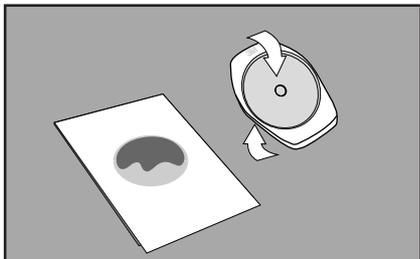
7 Posizionare la piastra Petrifilm su una superficie **piana**. Sollevare il film superiore.



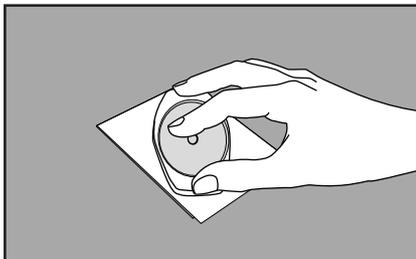
8 Tenendo una pipetta **perpendicolare** alla piastra Petrifilm, seminare 1 mL di campione nella parte centrale del film basale.



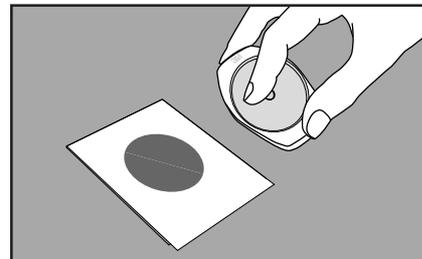
9 **Arrotolare attentamente** il film superiore per evitare di intrappolare bolle d'aria. **Non** lasciar cadere il film superiore.



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

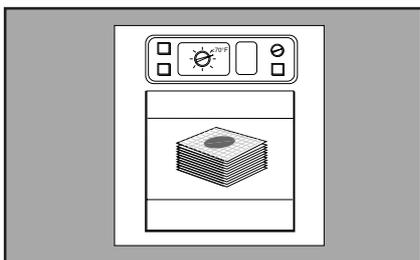


11 Esercitare una **leggera** pressione sul diffusore per distribuire lungo l'area circolare. Non torcere o far scivolare il diffusore.



12 Sollevare la spatola. Attendere almeno un minuto perché il gel solidifichi.

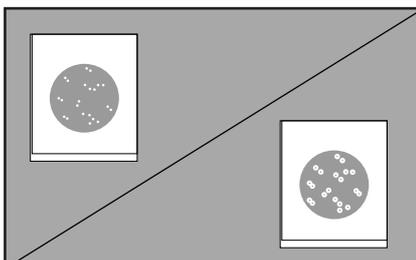
Incubazione



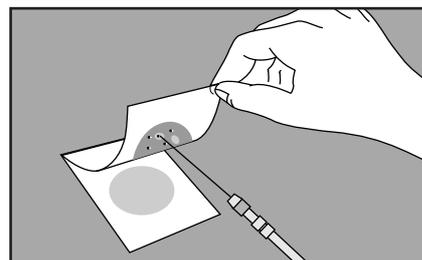
13 Incubare le piastre con il lato trasparente verso l'alto, in pile di massimo 20 piastre ad una temperatura di $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}^*$ per $24\text{h} \pm 2\text{h}$, esaminando le piastre ad intervalli regolari a seconda delle informazioni richieste (vedere documentazione allegata).

* Vedere la documentazione allegata al prodotto per la temperatura di incubazione AFNOR per la carne di maiale lavorata.

Interpretazione



14 Leggere le piastre Petrifilm usando la luce indiretta per una individuazione più rapida. Le piastre Petrifilm possono essere conteggiate 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 una identificazione successiva. Sollevare il film di copertura e prendere la colonia dal gel.

Commenti aggiuntivi

L'interpretazione delle colonie di coliformi sulle piastre per il conteggio rapido dei coliformi Petrifilm Serie 2000 varia a seconda del metodo di riferimento scelto: consultare le note informative all'interno della confezione.

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per la conta aerobica totale.

- Cod. : 06400 / 100 Unità
- Cod. : 06406 / 1000 Unità

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per il conteggio delle
Enterobacteriaceae

- Cod. : 06420 / 50 Unità
- Cod. : 06421 / 1000 Unità

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per il conteggio dei Coliformi

- Cod. : 06410 / 50 Unità
- Cod. : 06416 / 1000 Unità

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per il conteggio dei Coliformi ad alta
sensibilità

- Cod. : 06405 / 50 Unità
- Cod. : 06415 / 500 Unità

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per il conteggio di *Escherichia coli*
e di Coliformi

- Cod. : 06404 / 50 Unità
- Cod. : 06414 / 500 Unità

- **3M™ Petrifilm™**

Piastre per il conteggio di lieviti e muffe

- Cod. . : 06407 / 100 Unità
- Cod. . : 06417 / 1000 Unità

- **3M™ Petrifilm™ Serie 2000**

Piastre per il conteggio rapido dei Coliformi

- Cod. . : 06402 / 50 Unità
- Cod. . : 06412 / 500 Unità

For Europe, please contact
Laboratoires 3M Santé
Tel. : (33) 1 30 31 85 71 - Fax : (33) 1 30 31 85 78

3M

Prodotti per Microbiologia
3M Italia Spa

Via San Bovio, 1
20090 San Felice Segrate - MI
Tel : 02 70351

