

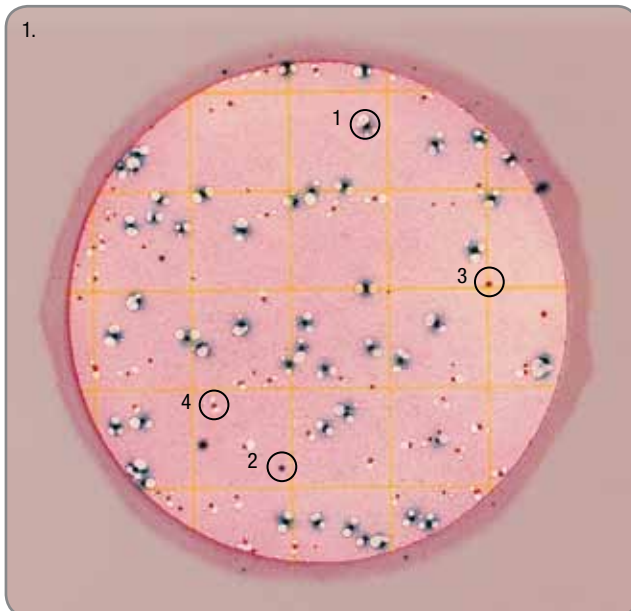
3M™ Petrifilm™

Interpretationshilfe

3M™ Petrifilm™ *E. coli* und Coliforme Zählplatte (ECC)

Dieser Leitfaden soll sie mit der Auswertung von Ergebnissen auf 3M™ Petrifilm™ *E. coli* und Coliforme Zählplatte (ECC) vertraut machen. Für zusätzliche Informationen wenden sie sich bitte an den, für ihre Region zuständigen, Ansprechpartner für 3M Mikrobiologie Produkte.

Petrifilm ECC Platten enthalten VRBG - Nährmedien, ein kaltwasserlösliches Gel sowie einen BCIG - Indikator zum Nachweis der Glucuronidase Aktivität und einen Tetrazolium Indikator, um die Auszählung zu erleichtern. Im Deckfilm wird das, durch die Lactose fermentierenden Coliformen und *E. coli*, produzierte Gas eingeschlossen.



- Abhängig von der gewählten Methode ändern sich Zeit und Temperatur der Inkubation sowie die jeweilige Auswertung. Dies kann, unter Umständen, zu leichten Unterschieden in den Ergebnissen führen.
- Kolonien, die trotz des fehlenden selektiven Einflusses des Nährmediums, auf dem Schaumdamm wachsen, werden nicht ausgezählt.
- Inkubieren sie den Petrifilm ECC zu der in ihrem Labor üblichen Temperatur und Dauer. Folgende Temperaturen werden für gewöhnlich verwendet: 35°C, 37°C, 42°C oder 44°C für 24 h bzw. 48 h.

***E. coli*:**

E. coli können auf Medien wachsen die VRB - Nährstoffe enthalten. Die meisten *E. coli* (ca. 97%) produzieren Betaglucuronidase. Diese reagiert mit dem, in trifilm ECC - Platten enthaltenen, BCIG - Indikatorfarbstoff und verfärbt die Kolonie blau bis rötlich - blau. Ca. 95 % der *E. coli* produzieren Gas aus Lactose. Dies wird durch Kolonien angezeigt, die mit eingeschlossenen Gasblasen in Verbindung stehen (innerhalb eines Koloniedurchmessers). Siehe Kreis 1. *E. coli* Kolonien erscheinen blau bis rötlich - blau und produzieren Gas. Blaue bis rötlich - blaue Kolonien ohne Gas bitte weiter bestätigen. Siehe Kreis 2. In einigen Zulassungsverfahren wurde diese Auswertung modifiziert. Folgende Organisationen haben den Einsatz der *E. coli* und Coliformen Platte unter speziellen Umständen zugelassen oder beurteilt; AOAC, NMKL und EMMAS. Siehe Seite 2 & 3 dieser Interpretationshilfe.

Anmerkung:

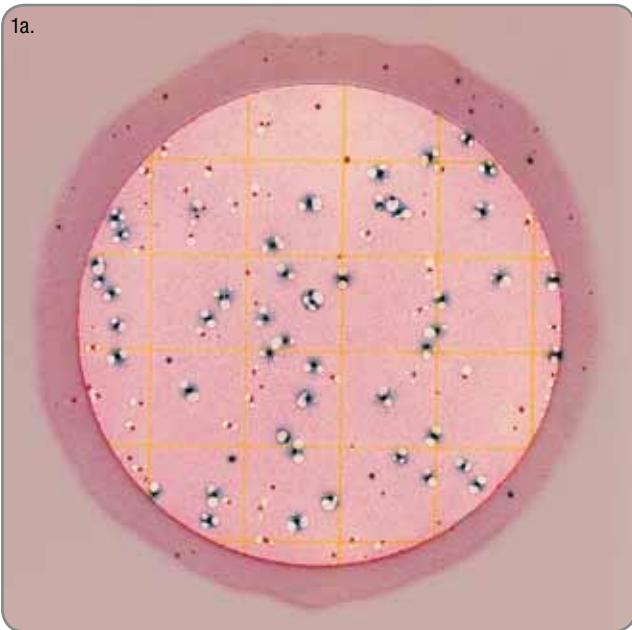
Bedingt durch atypische Merkmale der meisten *E. coli* 0157: H7 - Stämme; wachsen nicht bei Temperaturen < 44,5°C; sind Glucuronidase negativ und produzieren keine blauen Niederschläge; erscheinen sie als nicht - *E. coli* (rot mit Gas).

Coliforme:

Die *E. coli* und Coliformen Platte kann auch zum Nachweis von Coliformen verwendet werden.

- ISO definiert Coliforme durch ihrer Fähigkeit in einem methodenspezifischen, selektiven Medium zu wachsen.
ISO - Methode 4832, Zählung von Coliformen durch Koloniezählung, definiert Coliforme durch ihre Größe und die Säureproduktion auf VRB mit Lactose (VRBL) Agar. Auf Petrifilm ECC - Platten werden diese säureproduzierenden Coliformen durch rote Kolonien, mit oder ohne Gas (innerhalb eines Koloniedurchmessers), angezeigt. Siehe Kreis 3.
ISO - Methode 4831, Zählung von Coliformen mit einer Methode der höchstwahrscheinlichen Anzahl (MPN), definiert Coliforme durch ihre Fähigkeit der Gasproduktion aus Lactose in einer selektiven Nährlösung. Auf Petrifilm ECC - Platten werden diese Coliformen durch rote Kolonien, mit Gas (innerhalb eines Koloniedurchmessers), angezeigt. Siehe Kreis 4.
- AOAC INTERNATIONAL und das U.S. FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM) definieren Coliforme als gramnegative Stäbchen, die durch metabolische Lactosefermentation Säure und Gas produzieren. Coliforme Kolonien, die auf den Petrifilm ECC - Platten wachsen, produzieren Säure durch die sich die Gel Farbe verdunkelt. Rund um die Coliformen Kolonien eingeschlossenes Gas (innerhalb eines Koloniedurchmessers) zeigt bestätigt Coliforme Keime an. Siehe Kreis 4.

Interpretation von 3M™ Petrifilm™ ECC-Platte



= 53 *E. coli* Kolonien

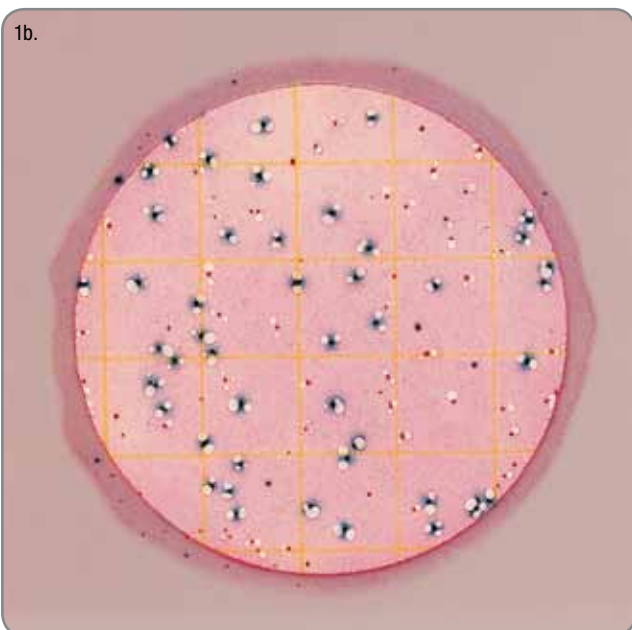
Empfohlene Methode in Frankreich

Inkubation:

- 24h +/- 2h at 42°C +/- 1°C

Auswertung:

- *E. coli*: Alle blauen Kolonien mit und ohne Gas.



= 47 *E. coli*, Offizielle Methode **AOAC**.

= 87 bestätigte Coliforme, Offizielle Methode **AOAC**.

Auswertung nach AOAC International für alle Lebensmittel (Methode 991.14)

Inkubation:

- Coliforme in allen Lebensmitteln : 24 h +/- 2 h bei 35°C +/- 1°C.
- Auszählung von *E. coli* in allen Lebensmitteln, mit Ausnahme der unten aufgeführten: 48 h +/- 2 h bei 35°C +/- 1°C.

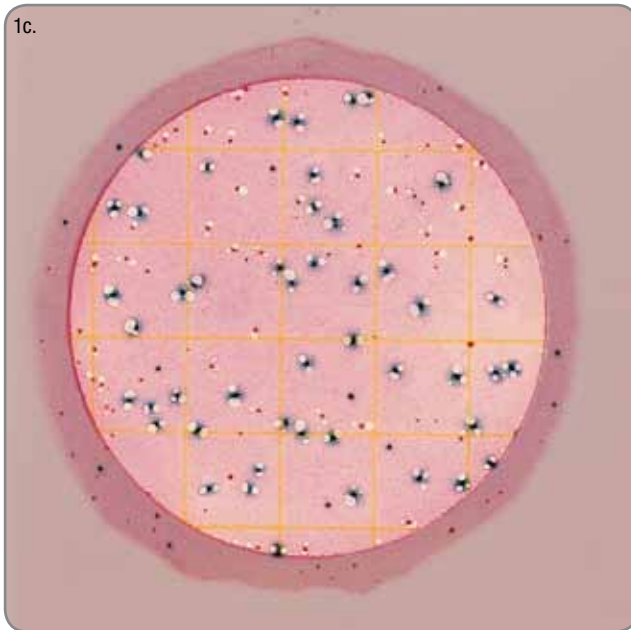
Auswertung nach AOAC International für Fleisch, Geflügel und Meeresfrüchte (Methode 998.08)

Inkubation:

- Auszählung von *E. coli* in Fleisch, Geflügel und Meeresfrüchten;
von Coliformen in allen Lebensmitteln: 24 h +/- 2 h. bei 35°C +/- 1°C

Auswertung (Methoden 991.14 und 998.08)

- *E. coli*: Blaue Kolonien mit Gas.
- Bestätigte Coliforme: Alle Kolonien mit Gas (blau und rot).



= 53 *E. coli* Kolonien 53 *E. coli*, **NMKL** Methode.
= 95 Gesamt Coliforme, **NMKL** Methode.

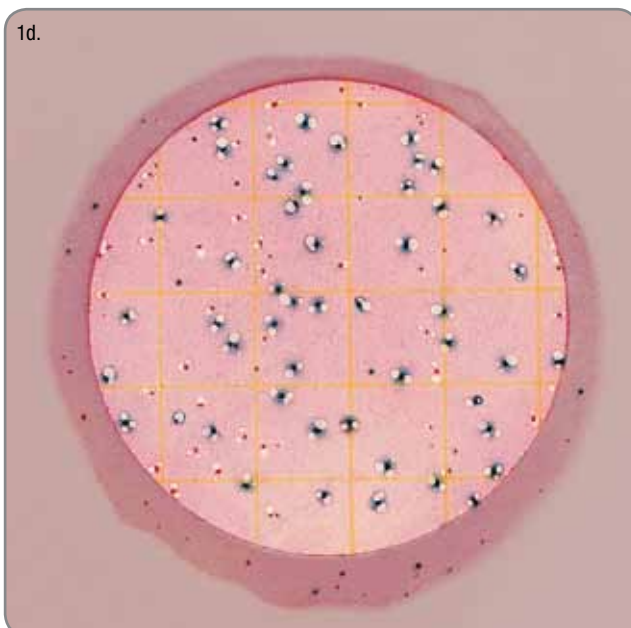
Auswertung nach NMKL (Methode 147.1993)

Inkubation:

- 37°C +/- 1°C

Auswertung:

- *E. coli*: Alle blauen Kolonien, mit und ohne Gas, nach 48 h +/- 2 h Inkubation.
- Coliforme: Alle roten Kolonien mit Gas und alle blauen Kolonien mit oder ohne Gas, nach 24 h +/- 2 h Inkubation.



= 53 *E. coli*, nach **EMMAS**.

Auswertung nach EMMAS

Inkubation:

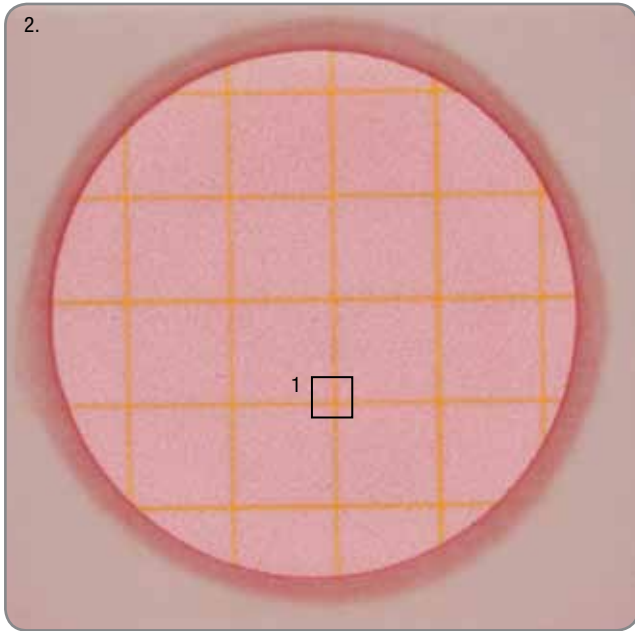
- 48h +/- 2h at 37°C +/- 1°C

Auswertung:

- *E. coli*: Alle blauen Kolonien, mit und ohne Gas.
Es wird empfohlen, blaue Kolonien ohne Gas zu bestätigen.
Besonders wenn diese in hoher Anzahl vorhanden sind.

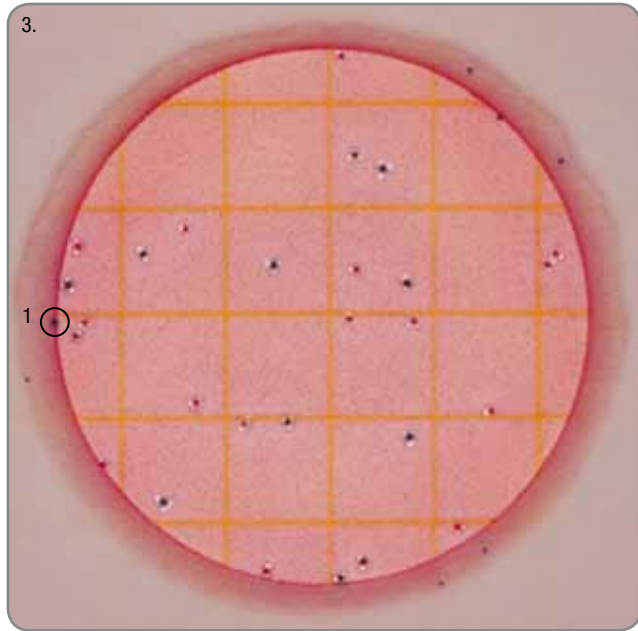
3M™ Petrifilm™ *E. coli* und Coliforme (ECC)

Beachten sie den Wechsel der Gelfarbe in den Abbildungen 2 bis 8. Mit dem Anstieg von *E. coli* oder Coliformen verändert sich die Gelfarbe in dunkelrot bis violett - blau.



Kein Wachstum
***E. coli* Zählung = 0**

Hintergrundblasen sind charakteristisch für das Gel, nicht das Ergebnis von *E. coli* oder Coliformen Wachstum. Hintergrundblasen sind sehr klein (pin point), gleichmäßig geformt und stehen nicht mit Kolonien in Verbindung. Siehe Kreis 1.



***E. coli* Zählung = 13**
Gasproduzierende Coliforme = 28

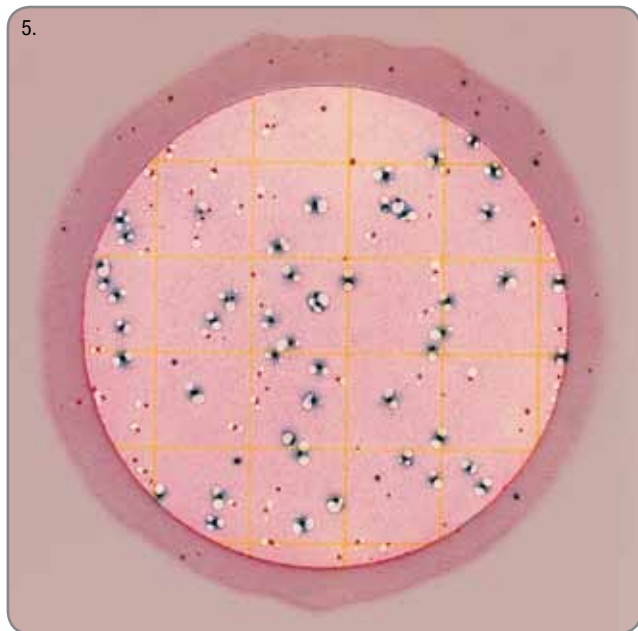
Der auszählbare Bereich der Petrifilm ECC - Platten liegt, wie bei VRB - Agarschalen, zwischen 15 und 150 (Gesamtkoloniezahl). Kolonien, die trotz des fehlenden selektiven Einflusses des Nährmediums auf dem Schaumdamm wachsen, werden nicht ausgezählt. Siehe Kreis 1.



***E. coli* Zählung = 3**

Jede Blaufärbung innerhalb einer Kolonie (blau bis rötlich - blau) weist auf die Anwesenheit von *E. coli* hin. Vordergrundbeleuchtung kann den Nachweis des, durch die Kolonie erzeugten, blauen Niederschlags erleichtern.

- Kreis 1 zeigt eine rötlich - blaue Kolonie mit Hintergrundbeleuchtung.
- Kreis 2 zeigt dieselbe Kolonie bei Vordergrundbeleuchtung. In diesem Fall ist der blaue Niederschlag wesentlich deutlicher zu erkennen.

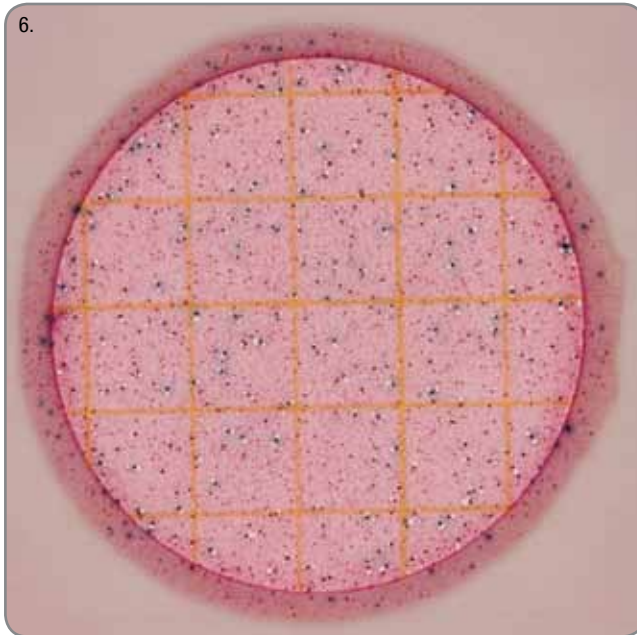


***E. coli* Zählung = 20**
Geschätzte Gesamtkolonieanzahl = 150

Der kreisförmige Wachstumsbereich der Petrifilm ECC - Platte ist ca. 20 cm² groß. Bei Platten die mehr als 150 Kolonien enthalten kann, durch Auswerten eines oder mehrerer repräsentativer Quadrate und die Ermittlung der durchschnittliche Kolonieanzahl pro Quadrat, eine geschätzte Zählung durchgeführt werden. Multiplizieren sie die durchschnittliche Kolonieanzahl mit 20 um die geschätzte Zählung der Petrifilm ECC - Platte zu erhalten.

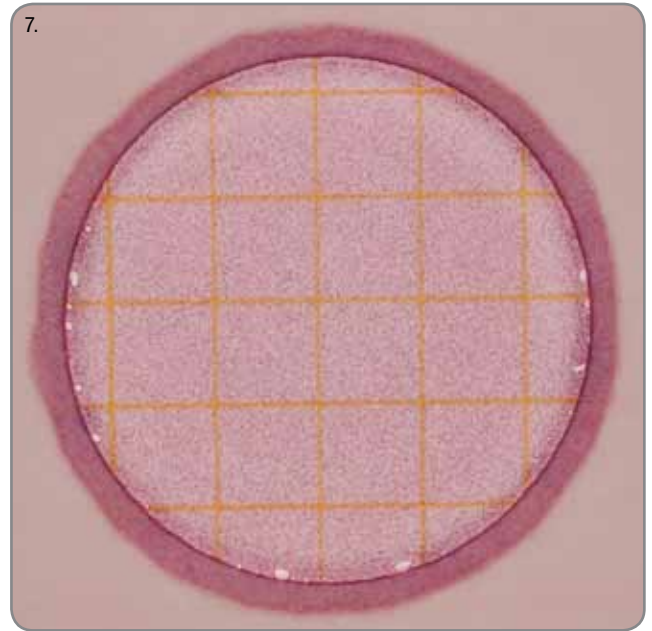
Nicht auswertbare bzw. überwachsene Platten

Verdünnen sie die Probe weiter, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.



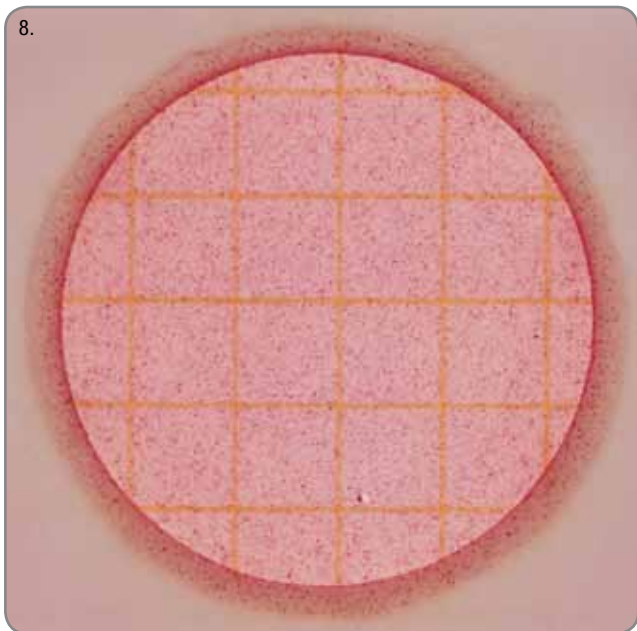
Tatsächliche Zählung ~ 10⁸

Petrifilm ECC - Platten mit nicht auswertbarem Wachstum haben eines oder mehrere der folgenden Merkmale: sehr viele kleine Kolonien, viele Gasblasen und / oder eine Verfärbung des Gels von rot nach blauviolett.



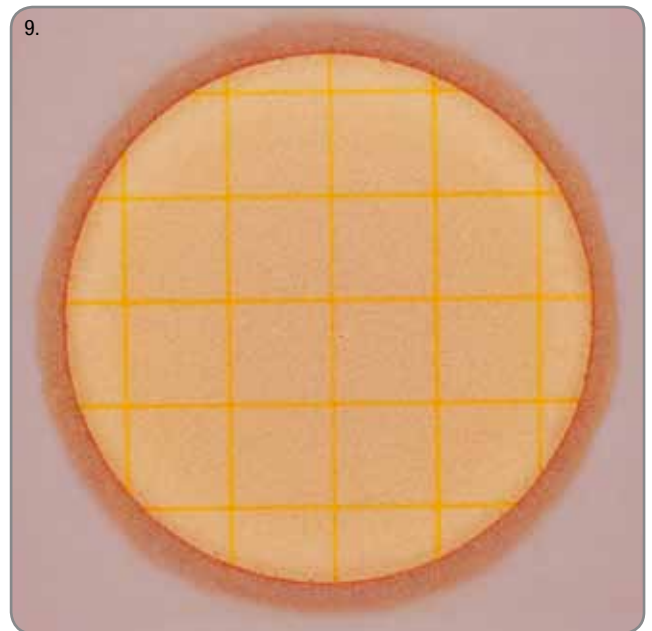
Tatsächliche Zählung ~ 10⁸

Eine hohe Anzahl von *E. coli* Kolonien führt zu einer blauvioletten Verfärbung des Wachstumsbereichs.



Tatsächliche Zählung ~ 10⁸

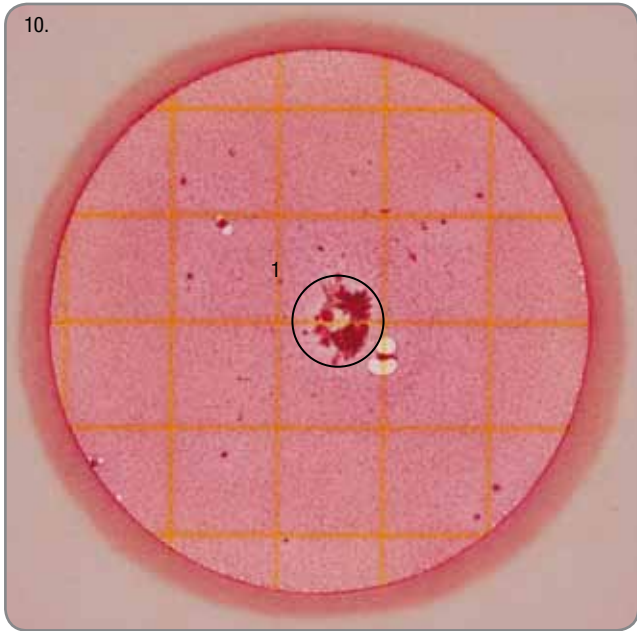
Eine hohe Anzahl von Coliformen (Nicht *E. coli*) führt zu einer dunkelroten Verfärbung des Wachstumsbereichs. Um eventuell vorhandene *E. coli* nachzuweisen, sind zusätzliche Verdünnungen notwendig.



Tatsächliche Zählung ~ 10⁸

Eine hohe Anzahl anderer, nicht - Coliformer Organismen (z. B. *Pseudomonas*) auf Petrifilm ECC - Platten kann zu einer Gelbfärbung des Gels führen.

Gasblasen



Probenpartikel sind ungleichmäßig geformt und stehen in keinem Kontakt mit Gasblasen. Siehe Abbildung 10.

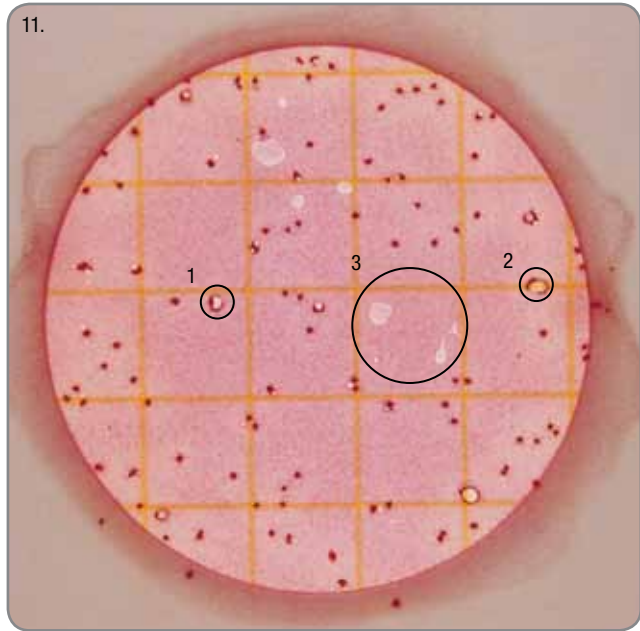
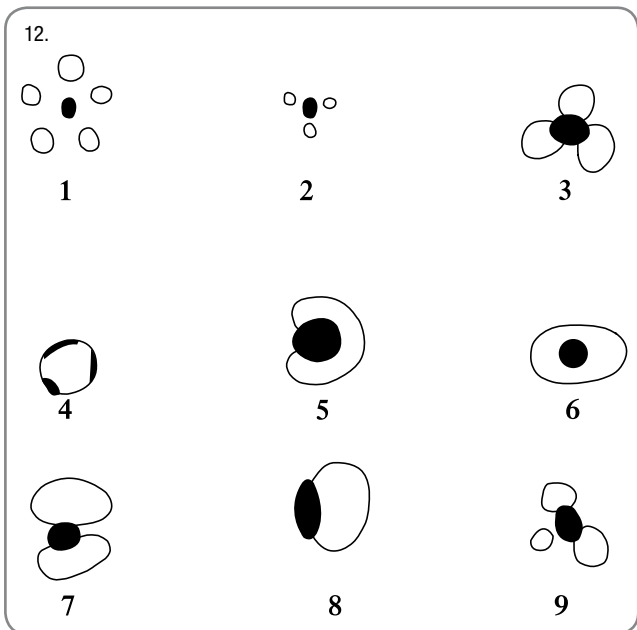


Abbildung 11 zeigt wie unterschiedlich Gasblasen geformt sein können. Manchmal können Gasblasen die Kolonie auch „zerreißen“. Die Kolonie umrandet dann die Blase. Siehe Kreis 1 + 2.

Künstliche Gasblasen können durch unsachgemäßes Beimpfen der Petrifilm ECC - Platte oder durch, in der Probe eingeschlossene, Luft entstehen. Sie sind unregelmäßig geformt und stehen nicht mit Kolonien in Verbindung. Siehe Kreis 3.

Kolonien, die trotz des fehlenden selektiven Einflusses des Nährmediums auf dem Schaumdamm wachsen, werden nicht ausgezählt.



Die folgenden Beispiele zeigen weitere, mögliche Erscheinungsformen von, mit Kolonien in Verbindung stehenden, Gasblasen. Sie sollten alle bei der Auszählung berücksichtigt werden.

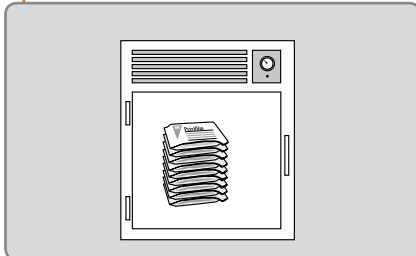
3M™ Petrifilm™ *E. coli* und Coliforme Zählplatte (ECC)

Für detaillierte Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen, Garantiebeschränkungen, Haftungsbeschränkungen, Lagerung, Entsorgung und weitere Gebrauchshinweise siehe Packungsbeilage.

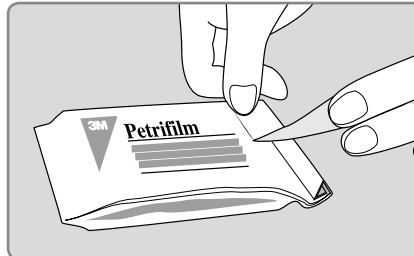


Gebrauchsanweisung

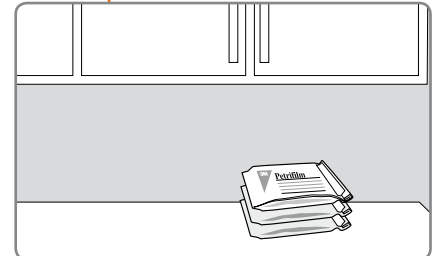
Lagerung



1 Ungeöffnete Packungen bei 8°C lagern. Vor Ablauf des Verfallsdatums verbrauchen.



2 Geöffnetes Ende einer nicht verbrauchte Packung umfalten und mit Klebeband verschließen.

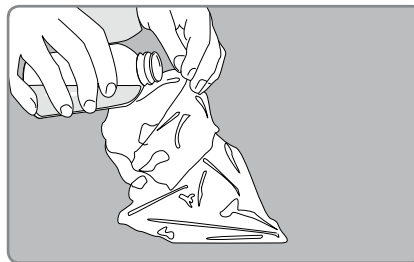


3 Wiederverschlossene Packungen bei 25°C und 50 % relativer Luftfeuchtigkeit lagern. Geöffnete Packungen nicht gekühlt lagern und innerhalb eines Monats verbrauchen.

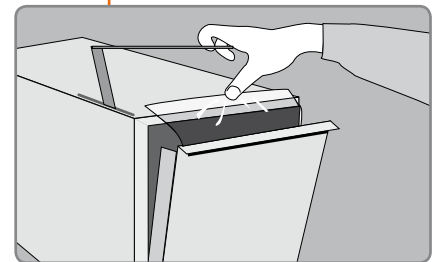
Vorbereitung



4 Probe in geeignetes, steriles Gefäß (z.B. Stomacher Beutel, Verdünnungsflasche, Whirl - Pak® Beutel oder andere geeignete Gefäße) einwiegen oder pipettieren.



5 Geeignete Menge einer geeigneten Verdünnungsflüssigkeit z. B. 0,1 % Peptonwasser, Peptonsalzlösung (ISO - Methode 6887), 0,85 - 0,90 %-ige Kochsalzlösung, destilliertes Wasser oder Butterfield Phosphat Puffer (IDF Phosphat Puffer - KH_2PO_4 bei 0.0425g/L - eingestellt auf einen pH - Wert von 7.2) hinzufügen.

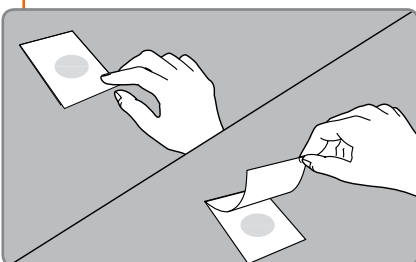


6 Vermischen oder homogenisieren der Probe nach anerkannten Methoden.

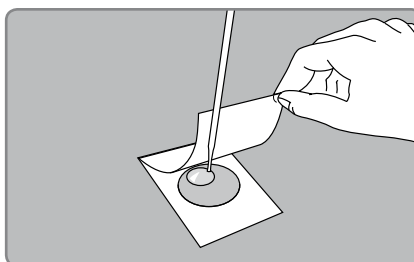
Keine Citrat-, Bisulfit- oder Thiosulfathaltige Puffer verwenden. pH - Wert der verdünnten Probe auf 6,6 bis 7,2 angleichen:

- für saure Produkte mit 1N NaOH,
- für alkalische Produkte mit 1N HCl.

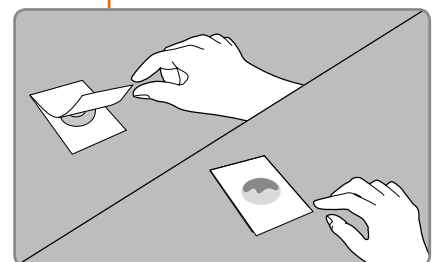
Beimpfung



7 Petrifilm auf ebene Oberfläche legen. Deckfilm anheben.

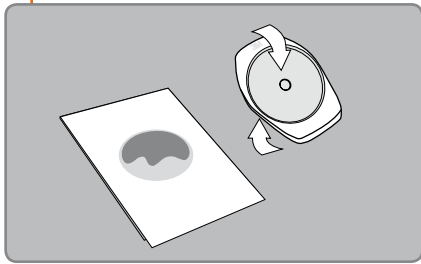


8 Mit senkrecht gehaltener Pipette, 1 ml der Probe in die Mitte der unteren Folie pipettieren.

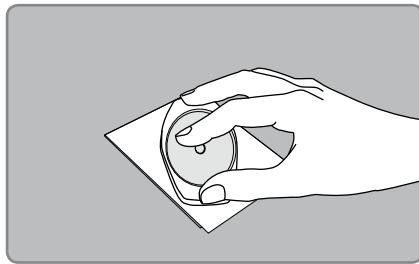


9 Deckfilm vorsichtig abrollen um Luft einschließen zu vermeiden. Deckfilm nicht einfach fallenlassen.

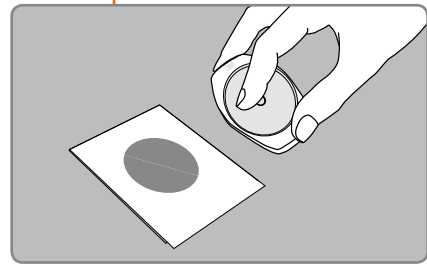
Beimpfen



10 Probenverteiler mit glatter Seite nach unten auf die Probe unter dem Deckfilm legen.

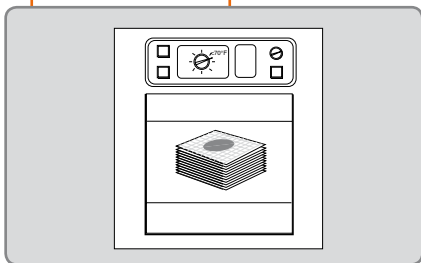


11 Durch leichten Druck auf den Probenverteiler die Probe auf dem kreisförmigen Wachstumsbereich verteilen.



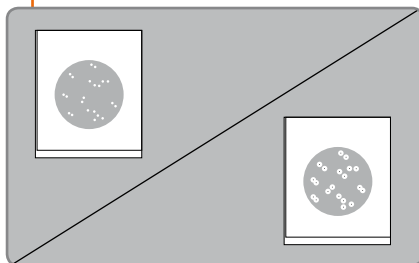
12 Probenverteiler abheben. Platte zur Gelverfestigung mindestens 1 Minute liegenlassen.

Inkubation

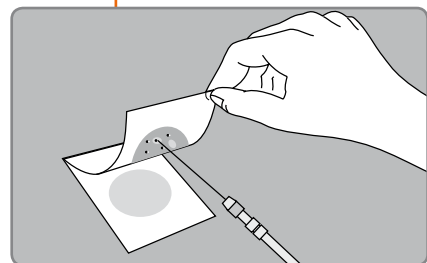


13 Maximal 20 Platten, mit der klaren Seite nach oben, übereinander inkubieren. Inkubationsdauer und -temperatur sind abhängig von der gewählten Methode.

Interpretation



14 Petrifilm Platten können auf handelsüblichen Koloniezählgeräten oder anderen Vergrößerungsquellen ausgezählt werden. Zum Auswerten der Ergebnisse Interpretationshilfe beachten.



15 Kolonien können zur weiteren Identifikation isoliert werden. Deckfilm abheben und die Kolonie vom Gel nehmen.

Allgemein gebräuchliche, zugelassene Methoden:

- Offizielle Methode AOAC 991.14:
Für Coliforme, inkubieren für 24 h \pm 2 h bei 35°C \pm 1°C; für *E. coli*, inkubieren für 48 h \pm 2 h bei 35°C \pm 1°C.
- Offizielle Methode AOAC 998.08:
Für *E. coli* in Fleisch, Geflügel und Meeresfrüchten und Coliforme in allen Lebensmitteln. Inkubieren für 24 h \pm 2 h bei 35°C \pm 1°C.
- NMKL Methode 147.1993: Für Coliforme, inkubieren für 24 h \pm 2 h bei 37°C \pm 1°C; für *E. coli*, inkubieren für 48 h \pm 2 h bei 37°C \pm 1°C.
*Siehe Packungsbeilage.

Zusätzliche Hinweise

- Jede Probe vor dem Beimpfen der nächsten Petrifilm Platte verteilen.
- Inkubationsdauer und -temperatur sind abhängig von der gewählten Methode. Siehe Packungsbeilage.

3M

3M Medica
Zweigniederlassung der
3M Deutschland GmbH
Hammfelddamm 11
41460 Neuss
Tel.: (02131) 14 3000
Fax: (02131) 14 3200
www.3m.com/de/mikrobiologie

3M Österreich GmbH
Brunner Feldstrasse 63
2380 Perchtoldsdorf
Tel.: +43-(0)1-86-686-464
Fax: +43-(0)1-86-686-330
e-mail: medizin-at@mmm.com

3M (Schweiz) AG
Eggstrasse 93
8803 Rüschlikon
Switzerland
Tel.: +41-44-724-90-90
Fax: +41-44-724-94-80

Please recycle. Printed in Germany.
© 3M 2012. All rights reserved.
1385-101-D
3M and Petrifilm are trademarks of the
3M company.