



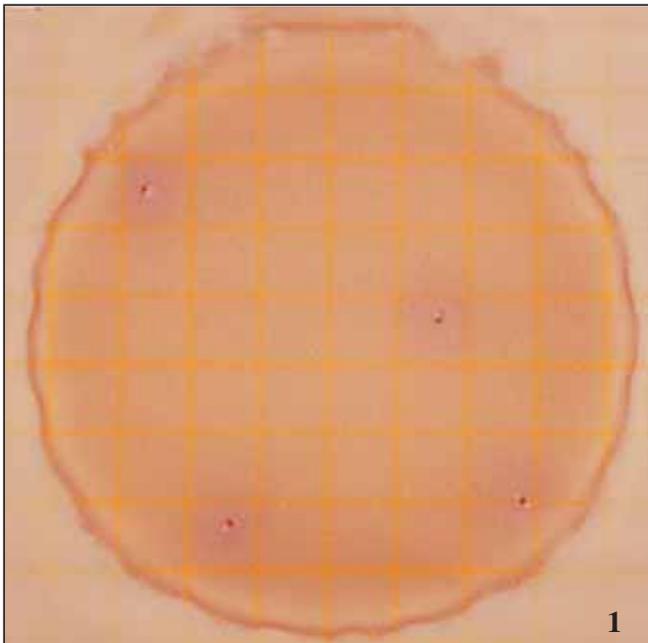
Petrifilm™

HSCC – geringe Mengen Coliforme

Dieser Leitfaden soll sie mit der Auswertung von Ergebnissen auf 3M™ Petrifilm™ HSCC – geringe Mengen Coliforme (HSCC) vertraut machen. Für zusätzliche Informationen wenden sie sich bitte an den, für ihre Region zuständigen, Ansprechpartner für 3M Mikrobiologie Produkte.

Petrifilm HSCC enthält modifizierte, sofort einsetzbare, selektive VRB - Nährmedien, ein kaltwasserlösliches Gel und einen Tetrazolium Indikator, um die Auszählung zu erleichtern. Im Deckfilm wird das, durch die lactosefermentierenden Coliformen, produzierte Gas eingeschlossen. Abhängig von der gewählten Methode ändern sich Zeit und Temperatur der Inkubation sowie die jeweilige Auswertung der Petrifilm HSCC - Platten.

- **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 HSCC - Platten werden diese säureproduzierenden Coliformen durch rote Kolonien, mit oder ohne Gas angezeigt (Abstand zwischen Kolonie und Gasblase ca. 1 Koloniedurchmesser). **ISO - Methode 4831**, Zählung von Coliformen mit einer Methode der höchswahrscheinlichen Anzahl (MPN), definiert Coliforme durch ihre Fähigkeit der Gasproduktion aus Laktose in einer selektiven Nährlösung. Auf Petrifilm HSCC - Platten werden diese Coliformen durch rote Kolonien, mit Gas angezeigt. (Abstand zwischen Kolonie und Gasblase ca. 1 Koloniedurchmesser).
- **AOAC International** und das **U.S. FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM)** definieren Coliforme als gramnegative Stäbchen die durch metabolische Laktosefermentation Säure und Gas produzieren. Coliforme Kolonien, die auf den Petrifilm HSCC - Platten wachsen, produzieren Säure, durch die sich, aufgrund des pH - Indikators, die Gelfarbe verdunkelt. Rund um die Coliformen Kolonien eingeschlossenes Gas zeigt bestätigt Coliforme Keime an (Abstand zwischen Kolonie und Gasblase ca. 1 Koloniedurchmesser).



Gasproduzierende Kolonien : 4

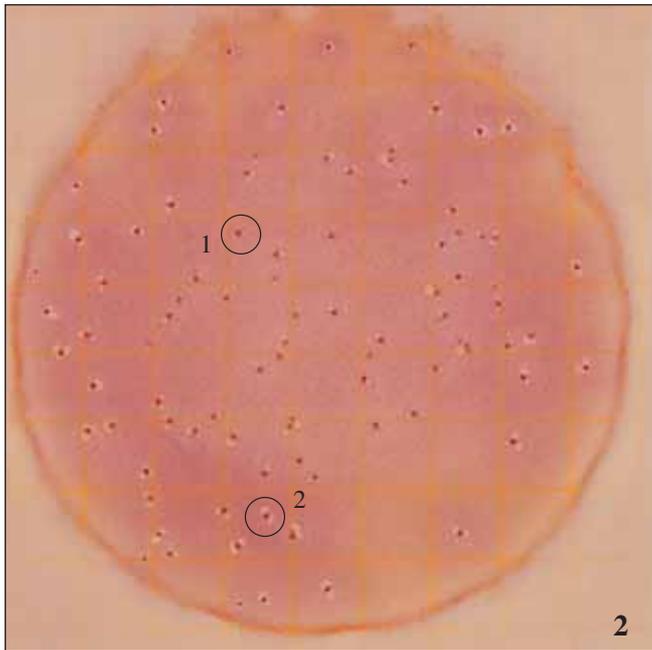
Petrifilm HSCC – Platten sind sowohl für den Nachweis der Gesamtcoliformen als auch der thermotoleranten (fäkal) Coliformen geeignet.

Petrifilm HSCC – Platten eignen sich besonders für den Nachweis geringer Mengen Coliforme in allen Lebensmitteln.

AFNOR hat den Gebrauch von Petrifilm HSCC - Platten unter unterschiedlichsten Konditionen validiert.
(Siehe Interpretationshilfe)

3M™ Petrifilm™ HSCC – geringe Mengen Coliforme

Beachten sie den Wechsel der Gelfarbe in den Abbildungen 1 bis 5. Mit dem Anstieg des Coliformen Wachstums und der damit verbundenen Säureproduktion verändert sich die Gelfarbe von hellorange in ein leuchtendes pink – rot.

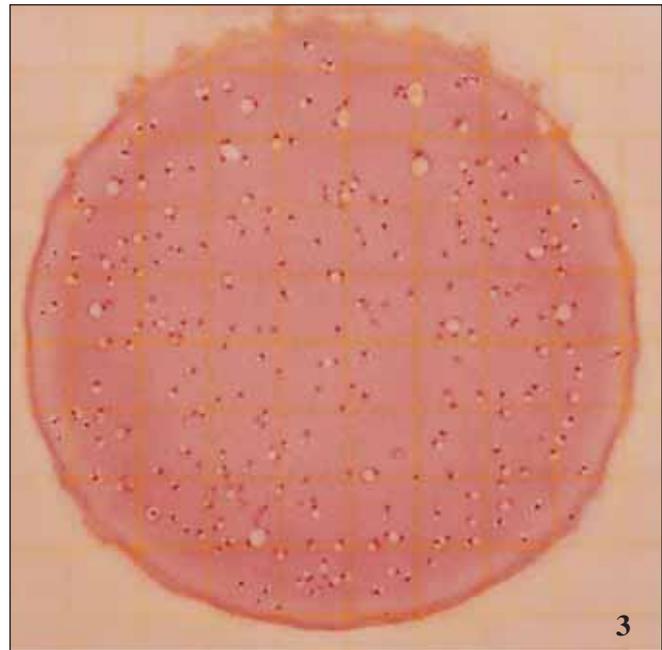


Gasproduzierende Kolonien : 82

Nicht – gasproduzierende Kolonien : 8

Gesamtzählung : 90

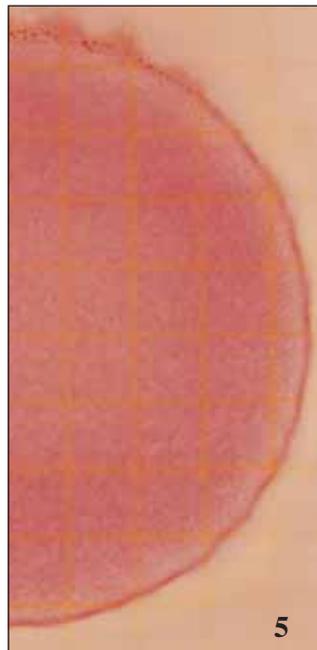
Gasblasen können sehr unterschiedlich geformt sein. Manchmal können Gasblasen die Kolonie auch “zerreißen”. Die Kolonie umrandet dann die Blase (siehe Kreis 1 und 2).



Geschätzte Gesamtkoloniezahl : 320

Der kreisförmige Wachstumsbereich ist ca. 60 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 HSCC - Platte zu erhalten.

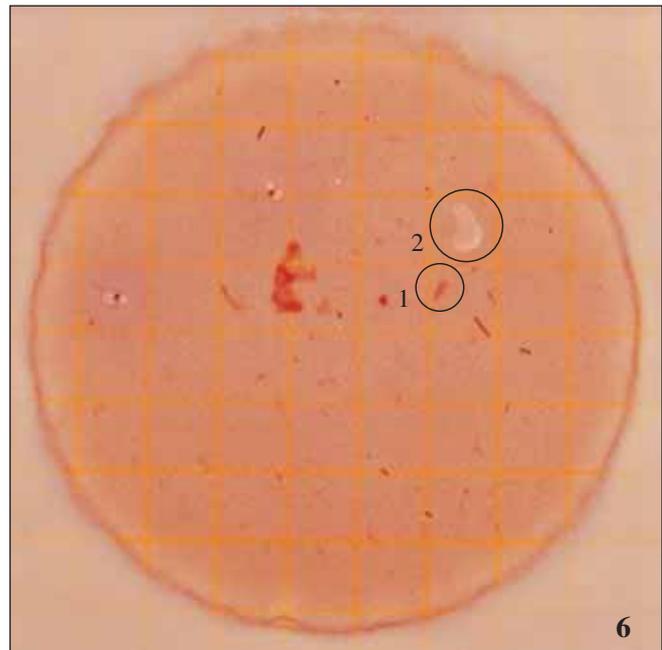
Verdünnen sie die Probe weiter, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.



Nicht auswertbares Ergebnis

Petrifilm HSCC - Platten mit nicht auswertbarem Wachstum haben eines oder mehrere der folgenden Merkmale : sehr viele kleine Kolonien, viele Gasblasen und / oder eine Verdunkelung der Gelfarbe.

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



Gasproduzierende Kolonien : 2

Probenpartikel sind ungleichmäßig geformt und stehen in keinem Kontakt mit Gasblasen. (Siehe Kreis 1).

Künstliche Gasblasen können durch unsachgemäßes Beimpfen der Petrifilm HSCC - Platte oder durch, in der Probe eingeschlossene, Luft entstehen. Sie sind unregelmäßig geformt und stehen nicht mit Kolonien in Verbindung (siehe Kreis 2).

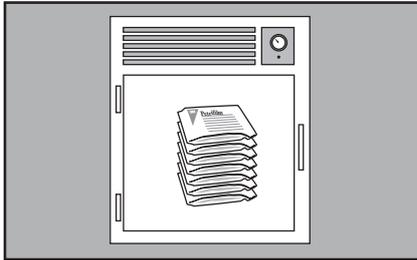
3M™ Petrifilm™ HSCC – geringe Mengen Coliforme

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

Gebrauchsanweisung



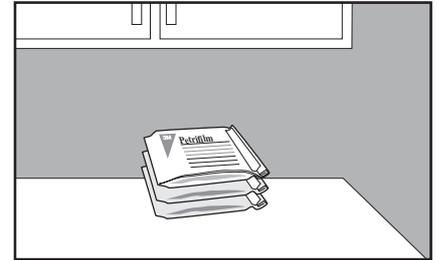
Lagerung



1 Ungeöffnete Packungen bei $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$) lagern. Vor Ablauf des Verfallsdatums verbrauchen. In Bereichen mit hoher Luftfeuchtigkeit die Packungen vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen um Kondenswasserbildung zu vermeiden.

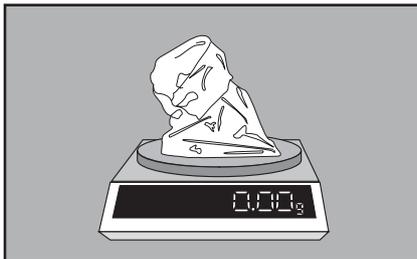


2 Geöffnetes Ende einer nicht verbrauchte Packung umfalten und mit Klebeband verschließen.

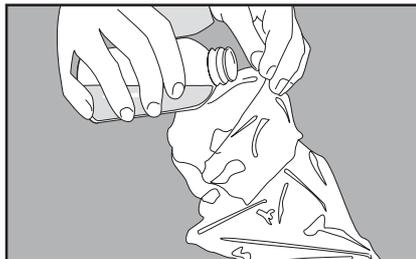


3 Wiederverschlossene Packungen bei $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ($\leq 77^{\circ}\text{F}$) und $\leq 50\%$ relativer Luftfeuchtigkeit lagern. **Geöffnete Packungen nicht gekühlt lagern** und innerhalb eines Monats verbrauchen.

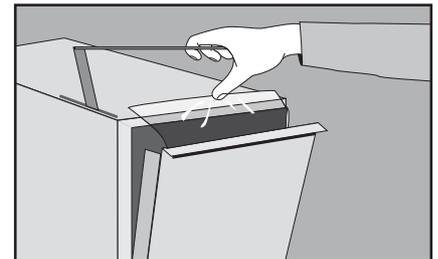
Vorbereitung



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



5 Geeignete **sterile** Verdünnungsflüssigkeit verwenden : Peptonsalzlösung (ISO - Methode 6887) (oder Maximum Recovery Diluent), Butterfield Phosphat Puffer (IDF Phosphat Puffer - KH_2PO_4 bei 0,0425g/L - eingestellt auf einen pH - Wert von 7,2), 0,1 % Peptonwasser, Peptonsalzlösung (ISO - Methode 6887), 0,85 - 0,90 % -ige Kochsalzlösung, Bisulfitfreie Lethen Bouillon oder destilliertes Wasser.



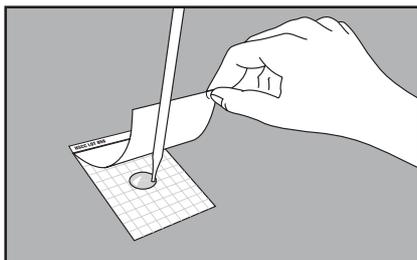
6 Vermischen oder homogenisieren der Probe nach anerkannten Methoden.

pH - Wert der verdünnten Probe auf 6,6 bis 7,2 angleichen :

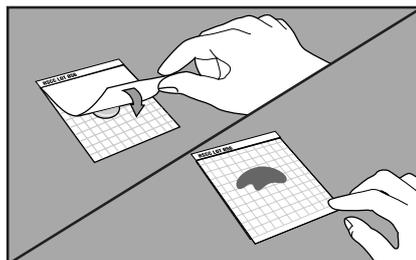
- für saure Produkte mit 1N NaOH
- für alkalische Produkte mit 1N HC

Keine Citrat-, Bisulfit- oder Thiosulfathaltige Puffer verwenden. Diese können das Wachstum hemmen.

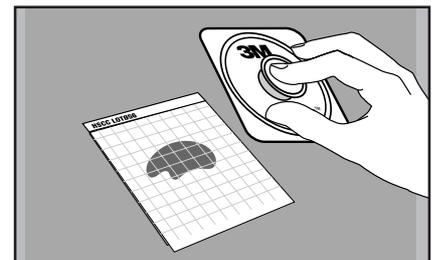
Beimpfung



7 Petrifilm auf **ebene** Oberfläche legen. Deckfilm anheben. Mit **senkrecht** gehaltener Pipette, 1 ml. der Probe in die Mitte der unteren Folie pipettieren.

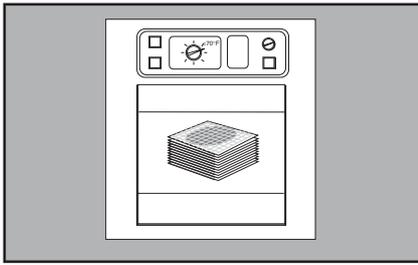


8 Deckfilm **vorsichtig abrollen** um Luft einschließen zu vermeiden. Deckfilm **nicht** einfach fallenlassen.



9 HSCC - Probenverteiler mit **glatter** Seite nach unten auf die Probe unter dem Deckfilm legen. Verteilen der Probe auf dem kreisförmigen Wachstumsbereich durch **leichten Druck** auf den Probenverteiler. Probenverteiler nicht verschieben oder hin und her bewegen. Probenverteiler abheben. Platte zur Gelverfestigung **2 - 5 Minute** liegenlassen.

Inkubation



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

Allgemein gebräuchliche, zugelassene Methoden / Europa :
AFNOR validierte Methode 3M 01 / 7 – 03 / 99 :

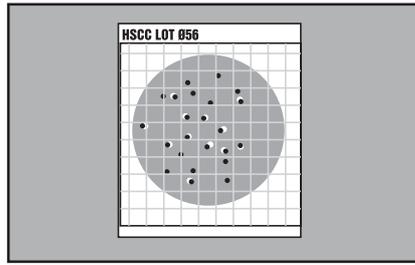
- Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 30°C +/- 1°C oder bei 37°C +/- 1°C, für Gesamtcoliforme.
- Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 44°C +/- 1°C, für thermotolerante Coliforme. Der Inkubator muß während der Bebrütungsdauer befeuchtet werden um den eventuell entstehenden Feuchtigkeitsverlust bei dieser erhöhten Temperatur zu minimieren.

Allgemein gebräuchliche, zugelassene Methoden / USA :

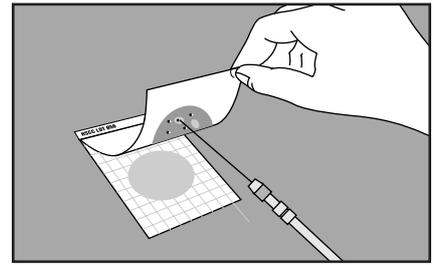
- Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 32°C +/- 1° C (Milchprodukte).
- Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 35°C +/- 1° C (alle Lebensmittel außer Milchprodukten).

*Siehe Packungsbeilage.

Interpretation



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



12 Kolonien können zur weiteren Identifikation isoliert werden. Deckfilm anheben und die Kolonie vom Gel nehmen.

Verdünnungen

Empfohlene Verdünnungen

- Für fermentierte Milchprodukte, Butter und Trockenmilchprodukte wird eine 1:10 Verdünnung empfohlen. Dies ermöglicht eine Sensitivität von 2 Coliformen / Gramm.
 - Für Sahne, Eiscreme, Schokoladenmilch und fermentierte Sahne wird eine 1:5 Verdünnung empfohlen. Dies ermöglicht eine Sensitivität von 1 Coliformen / Gramm.
- Rohe, pasteurisierte und Magermilch können direkt beimpft werden.

Referenz

Datum	Version
Ma1 1999	1.0

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

3M

3M Medica
Abt. Mikrobiologie

Postfach 1462
D- 46322 Borken
Telefon : 0049 2861 95 4424
Telefon : 0049 2861 95 4432