

Instruções do produto

Placa para Contagem de *E. coli* / Coliformes

Descrição e Finalidade do Produto

A Placa 3M™ Petrifilm™ para Contagem de *E. coli* / Coliformes (EC) é um sistema de amostragem pronto de meio de cultura que contém nutrientes Vermelho Violeta Bile (VBR) modificados, um agente geleificante solúvel em água fria, um indicador de atividade de glucuronidase, 5-bromo-4-cloro-3-indolil-D-glucuronida (BCIG), e um indicador de tetrazólio que facilita a enumeração das colônias. As Placas 3M Petrifilm EC são utilizadas para a enumeração de *Escherichia coli* (*E. coli*) e coliformes nas indústrias de alimentos e bebidas. Os componentes da Placa 3M Petrifilm EC são descontaminados, mas não esterilizados. A 3M Food Safety é certificada pela International Standards Organization (ISO) 9001 para projeto e fabricação. A Placa 3M Petrifilm EC não foi avaliada com todos os possíveis produtos e/ou processos alimentícios, protocolos de teste ou com todas as linhagens de micro-organismos possíveis.

Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança contidas nas instruções da Placa 3M Petrifilm EC. Guarde as instruções de segurança para consulta posterior.

⚠ AVISO: Indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos materiais.

⚠ AVISO

Não utilize esta placa para a detecção de *E. coli* O157. Devido ao fato de a maior parte das cepas de *E. coli* O157 serem atípicas - por exemplo, elas são negativas para glucuronidase e não produzem uma cor azul - elas não serão detectadas nas Placas 3M Petrifilm EC.

Para reduzir os riscos associados à exposição a agentes nocivos biológicos e contaminação ambiental:

- Siga as normas atuais do setor e os regulamentos locais para o descarte de resíduos com risco biológico.

Para reduzir os riscos associados à liberação de produtos contaminados:

- Siga todas as instruções de armazenamento do produto, contidas nas instruções de uso.
- Não utilize após a data de validade.

Para reduzir os riscos associados a infecções bacterianas e contaminações no local de trabalho:

- Execute testes com as Placa 3M Petrifilm EC em um laboratório devidamente equipado, sob a supervisão de um microbiologista qualificado.
- O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de testes apropriadas atuais: por exemplo, Boa Práticas de Laboratório¹, ISO 17025² ou ISO 7218³.

Para reduzir os riscos associados à interpretação incorreta dos resultados:

- A 3M não documentou as Placas 3M Petrifilm EC para uso em outras indústrias além do setor alimentício e de bebidas. Por exemplo, a 3M não documentou as Placas 3M Petrifilm EC para teste de água, produtos farmacêuticos ou cosméticos.
- Não utilize as Placas 3M Petrifilm EC para o diagnóstico de problemas em seres humanos ou animais.
- As Placas 3M Petrifilm EC não diferenciam uma linhagem de micro-organismos da outra.

Consulte a Folha de dados de segurança (FISPQ) para obter mais informações.

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite nosso site web em www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local da 3M.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as instruções e informações do produto. Visite nosso website em www.3M.com/foodsafety, ou contate o seu representante ou distribuidor 3M local para obter mais informações.

Ao selecionar qualquer método de teste, é importante considerar que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manipulação e a técnica de laboratório utilizada, podem influenciar nos resultados.

É de responsabilidade do usuário, ao selecionar qualquer método de teste ou produto, avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e testes microbiológicos que permitam assegurar que os método escolhido satisfaça os critérios por ele estabelecidos.

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados satisfazem as exigências de seus clientes ou fornecedores.

Como em qualquer outro método, os resultados obtidos com qualquer produto da 3M Food Safety não constituem uma garantia da qualidade das matrizes ou processos com eles testados.

Limitações da Garantia

A 3M REJEITA TODOS OS TERMOS EXPRESSOS E IMPLÍCITOS DE GARANTIA, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU DE ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da 3M Food Safety encontra-se defeituoso, a 3M ou seu distribuidor autorizado procederá, ao seu critério, à respectiva substituição ou restituição do dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A 3M deverá ser prontamente notificada, dentro de sessenta dias da descoberta de qualquer defeito suspeito no produto e o mesmo deverá ser devolvido à 3M. Telefone para o Linha Aberta (0800-0132333) ou para o seu representante oficial da 3M Food Safety, a fim de obter uma Autorização de Devolução de Mercadoria.

Limitações de Responsabilidade da 3M

A 3M NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQÜENTES, INCLUINDO, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, A PERDA DE LUCROS. Exceto quando for proibido por lei, em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de que teoria jurídica for, deverá a responsabilidade da 3M exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

Armazenamento

Armazene os sacos de Placas 3M Petrifilm EC fechadas, refrigeradas ou congeladas a uma temperatura igual ou inferior a 8°C (46°F). Momentos antes do uso, deixe os sacos atingirem a temperatura ambiente antes de abri-los. Coloque de volta nos sacos as Placas 3M Petrifilm EC não utilizadas. Lacre, dobrando a extremidade aberta do saco e colando com fita adesiva. **Não refrigere os sacos que tenham sido abertos, para evitar exposição à umidade.** Armazene os sacos que foram lacrados novamente em local fresco e seco pelo período máximo de quatro semanas. Recomenda-se que os sacos de Placas 3M Petrifilm EC lacrados novamente sejam armazenadas em um freezer (veja abaixo), caso a temperatura do laboratório exceda 25°C (77°F) e/ou o laboratório esteja localizado em uma região onde a umidade relativa do ar ultrapasse 50% (com a exceção de locais refrigerados).

Para armazenar sacos abertos em um freezer, coloque as Placas 3M Petrifilm EC em um recipiente que possa ser lacrado. Para retirar as Placas 3M Petrifilm EC congeladas para sua utilização, abra o recipiente, retire as placas necessárias e coloque as placas restantes imediatamente de volta no freezer, dentro do recipiente lacrado. As Placas 3M Petrifilm EC não devem ser utilizadas após sua data de validade. O freezer usado para armazenar os sacos abertos não deve ter um ciclo de degelo automático (frost free), pois isso iria expor repetidamente as placas à umidade, correndo o risco de danificá-las.

Não utilize Placas 3M Petrifilm EC que apresentarem descoloração. A data de validade e o número do lote estão indicados em cada uma das embalagens das Placas 3M Petrifilm EC. O número do lote vem também impresso em cada Placa 3M Petrifilm EC.

⚠ Descarte

Após serem utilizadas, as Placas 3M Petrifilm EC podem conter micro-organismos representando um possível risco biológico. Siga as normas industriais vigentes para descarte.

Instruções de Uso

Preparo da amostra

1. Use diluentes estéreis adequados:

Água de diluição tamponada de fosfato de Butterfield⁴, água peptonada a 0,1%, diluente de sal peptonado, solução de Ringer com um quarto de concentração, solução salina (0,85 – 0,90%), caldo Letheen sem bissulfito ou água destilada.

Não utilize diluentes que contenham citrato, bissulfito ou tiosulfato com as Placas 3M Petrifilm EC; eles podem inibir o crescimento. Se o tampão de citrato for indicado no procedimento padrão, substitua por um dos tampões listados acima, aquecido a 40 - 45°C.

2. Misturar ou homogeneizar amostra.
3. Para um crescimento ideal e recuperação dos micro-organismos, ajuste o pH da suspensão da amostra para 6,6 a 7,2. Para produtos ácidos, ajuste o pH com 1N NaOH. Para produtos alcalinos, ajuste o pH com 1N HCl.

Plaqueamento

1. Coloque a Placa 3M Petrifilm EC sobre uma superfície nivelada e plana.
2. Levante a película superior e, com a pipeta perpendicular à área de inoculação, despeje 1 mL da suspensão da amostra no centro da película inferior.
3. Role o filme superior para baixo para a amostra, para evitar o aprisionamento de bolhas de ar.
4. Coloque o Difusor 3M™ Petrifilm™ com sua superfície plana voltada para baixo, no centro da placa. Pressione delicadamente o centro do Difusor 3M Petrifilm para distribuir a amostra uniformemente. Espalhe o inóculo sobre toda a área de crescimento da Placa 3M Petrifilm EC antes que o gel se forme. Não arraste o Difusor 3M Petrifilm sobre o filme.



5. Remova o Difusor 3M Petrifilm e deixe a Placa 3M Petrifilm EC imóvel por pelo menos um minuto para permitir a formação do gel.

Incubação

Incube as Placas 3M Petrifilm EC em posição horizontal, com a superfície limpa voltada para cima, em pilhas de até 20 placas. Diversos tempos e temperaturas de incubação podem ser utilizados, dependendo dos métodos de consulta locais, alguns dos quais estão listados na seção “Instruções Específicas para Métodos Validados”.

Interpretação

1. As Placas 3M Petrifilm EC podem ser contadas usando um contador de colônias padrão ou qualquer outro amplificador iluminado. Não conte as colônias presentes na espuma, pois elas não estão sob a ação dos agentes de seletividade do meio. Não conte bolhas artificiais que possam estar presentes.

A interpretação de colônias de *E. coli* na Placa 3M Petrifilm EC é como se segue:

AOAC Official Methods (998.08 e 991.14) – enumerar colônias azul a azul-avermelhado associadas com gás retido, independentemente do tamanho ou da intensidade da cor, como confirmado para *E. coli*. Colônias azuis sem gás não são contadas como *E. coli*.

Outras colônias de coliformes são vermelhas e bem associadas ao gás formado (dentro do diâmetro de uma colônia). As colônias não associadas ao gás (distância maior do que uma colônia de diâmetro entre a colônia e a bolha de gás) não contam como coliformes. A contagem total de coliformes consiste em ambas as colônias vermelhas e azuis com gás associado em 24 horas. A qualquer momento dentro do período de incubação do método validado que surgir uma colônia azul com gás associado, a amostra estará confirmada para *E. coli*.

▲ AVISO

Não utilize esta placa para a detecção de *E. coli* O157. Devido ao fato de a maior parte das cepas de *E. coli* O157 serem atípicas - por exemplo, elas são negativas para glucuronidase e não produzem uma cor azul - elas não serão interpretadas como *E. coli* nas Placas 3M Petrifilm EC.

2. A área de crescimento circular tem aproximadamente 20 cm². Em placas que contenham mais de 150 colônias, as contagens podem ser estimadas contando-se o número de colônias em um ou mais quadrados representativos e determinando o número médio por quadrado. Multiplicar o número médio por 20, para determinar a contagem estimada por placa.
3. Quando presentes em grandes números, as Placas 3M Petrifilm EC podem ter uma ou mais das seguintes características: um aprofundamento da cor do gel com muitas colônias pequenas e indistintas; e muitas bolhas de gás. Altas concentrações de *E. coli* farão com que a área de crescimento fique azul, enquanto altas concentrações de coliformes (diferentes de *E. coli*) farão com que a área de crescimento fique vermelho escuro. Quando isto ocorre, registre os resultados como incontáveis (INC). Quando uma contagem real for necessária, plaqueie em uma diluição maior.
4. Se necessário, as colônias podem ser isoladas para melhor identificação. Levante o filme superior com técnica de testagem apropriada e colete a colônia do gel. Faça o teste utilizando procedimentos padrão.
5. Se as placas não puderem ser contadas até 1 hora após a remoção da estufa, elas podem ser armazenadas para enumeração posterior, através do congelamento em recipiente que possa ser lacrado, em temperaturas iguais ou inferiores a -15°C por uma semana, no máximo.

Para obter mais informações, consulte o “Guia de interpretação da Placa 3M™ Petrifilm™ para Contagem de *E. coli* / Coliformes”. Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite nosso site em www.3M.com/foodsafety ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local da 3M.

Instruções Específicas para Métodos Validados

AOAC® Official MethodsSM (998.08 Confirmed *Escherichia coli* Counts in Poultry, Meats and Seafood, Dry Rehydratable Film Method)

Incube as Placas 3M Petrifilm EC durante 24 horas (± 2 horas) a 35°C (± 1°C).

AOAC® Official MethodsSM (991.14 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Para obter resultados de coliformes, incube as Placas 3M Petrifilm EC durante 24 horas (± 2 horas) a 35°C (± 1°C).

Para obter resultados de *E. coli*, incube as Placas 3M Petrifilm EC durante mais 24 horas (± 2 horas) (total de 48 horas ± 4 horas) a 35°C ± 1°C.



Referências

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.

Explicação dos Símbolos

www.3M.com/foodsafety/symbols

AOAC é uma marca registrada da AOAC INTERNATIONAL

Official Methods é uma marca de serviço da AOAC INTERNATIONAL