



700006972 | NCM1017A  
700006973 | NCM1017B  
700006974 | NCM1017C  
700006975 | NCM1017D

## Product Instructions

-  **(EN)** One Plate Yeast and Mould (OP-YM)
-  **(FR)** One Plate Levures et moisissures (OP-YM)
-  **(DE)** One Plate Hefe- und Schimmelpilze (OP-YM)
-  **(ES)** One Plate One Plate Levaduras y mohos (OP-YM)
-  **(PT)** One Plate Fermento e mofo (OP-YM)
-  **(JA)** One Plate 酵母・カビ (OP-YM)
-  **(ZH)** One Plate 酵母菌和霉菌 (OP-YM)
-  **(KO)** One Plate 효모 및 곰팡이(OP-YM)

## Product Instructions

# One Plate Yeast and Mould (OP-YM)

### Intended Use

One Plate Yeast and Mould (OP-YM) offers a rapid method for the enumeration of yeast and mould using traditional culture methodology regardless of the water activity ( $a_w$ ).

### Product Summary and Explanation

Fungi are divided into two main groups: yeasts and moulds. Yeasts are single-cell organisms, whereas moulds grow as multicellular filaments containing multiple identical nuclei. Fungi are a leading cause of spoilage in foodstuffs and potentially produce harmful toxins. Both yeasts and moulds cause various degrees of deterioration and decomposition of foods. They can contaminate any type of food and invade crops such as grains, nuts, beans, and fruits in fields at any time, from the field to the store. Processed foods and food mixtures can also be affected.

One Plate Yeast and Mould is a selective and differential agar for the enumeration of yeasts and moulds in a broad range of foods. It can permit a quantitative result for yeast and mould in a minimum of 54 hours for all food products (all water activities), using only one plate versus 2 or more as described in ISO 21527-1, ISO 21527-2, and ISO 7218.

The product is composed of an agar base, providing all the required growth agents to permit rapid enumeration of yeast and mould from any sample type regardless of water activity. The selective agents prevent bacterial growth from interfering with fungal count. Glycerol is added to the base pre-sterilisation and is used regardless of sample type. A supplement is then added to the molten agar post-sterilisation, which primarily produces diagnostic colouration of yeast species.

### Intended User

The method is designed for use by qualified personnel with appropriate training.

### Product Codes

NOTE: Please refer to ISO 6887 parts 1–5 for suitable sample specific diluents.

| Product Name                                    | Format                  | Pack Size                                | SKU        |            |
|-------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------|------------|------------|
| One Plate Yeast and Mould Agar                  | DCM                     | 500 g                                    | 700006972  | NCM1017A   |
|                                                 |                         | 5 kg                                     | 700006973  | NCM1017B   |
|                                                 |                         | 10 kg                                    | 700006974  | NCM1017C   |
|                                                 |                         | 25 kg                                    | 700006975  | NCM1017D   |
| One Plate Yeast and Mould Diagnostic Supplement | Liquid-Ready Supplement | 1 x 100 mL bottle (for up to 50 L media) | 700006976  | NCM4088-50 |
| One Plate Yeast and Mould Agar                  | Prepared Agar Plates*   | 20 x 90 mm Agar Plates                   | On Request |            |
|                                                 |                         | 100 x 90 mm Agar Plates                  | On Request |            |
| One Plate Yeast and Mould Agar                  | Ready to Re-melt Agar** | 1 x 250 mL bottle                        | On Request |            |

\*Prepared Agar Plates do not require supplementation.

\*\*Ready to Re-melt Agar should be melted in a steaming water bath (refer to ISO 7218 for further guidance). Media should be supplemented after tempering.

## Typical Composition

Formulation may be adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

|                     |          |
|---------------------|----------|
| Peptones & Extracts | 5.25 g/L |
| Growth Enhancers    | 12.0 g/L |
| Buffer Mix          | 4.0 g/L  |
| Selective Mix       | 0.1 g/L  |
| Agar                | 11.0 g/L |

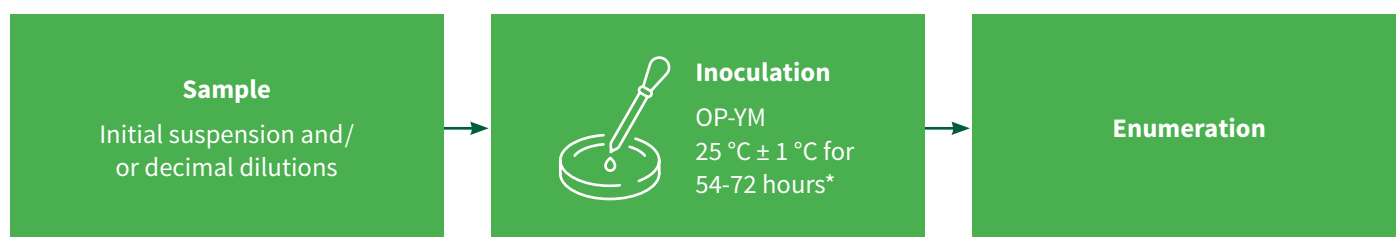
pH of the prepared media at 25 °C: pH 5.6 ± 0.2.

## Preparation

Suspend 32.35 grams of the medium in 960 mL of purified water and add 40 grams of glycerol (CAS 56-81-5.) Agitate frequently to completely dissolve the medium. Autoclave at 121 °C for 15 minutes. Cool to 45–50 °C. Aseptically add 2.0 mL of the One Plate Yeast and Mould diagnostic supplement (NCM4088-50), swirl to mix, and pour into Petri dishes.

NOTE: The One Plate Yeast and Mould diagnostic supplement does not contribute any growth requirements. If the supplement is not added, yeast colonies present as their natural straw/white colouration.

## OP-YM Flow Diagram



\* Plates can be incubated for up to 72 hours for convenience.

## Sample Preparation

Follow the specifications of ISO 6887 or the specific international standard appropriate to the product concerned for the initial suspension and dilutions.

## Surface Inoculation

1. Transfer 0.1 mL of the suspension, or any serial dilutions, onto the surface of **ONE** single plate of prepared or pre-poured OP-YM agar plate.
2. Spread the inoculum on the surface with the aid of a sterile spreader.

NOTES: Automatic spiral plating deposition techniques can be used for surface inoculation. Decimal dilutions could be required if typical contamination range is unknown. To estimate small numbers, spread 1 mL of the primary dilution over the surface of 3 prepared plates as described in ISO 7218.

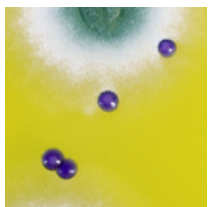
## Pour Plate Inoculation

1. Transfer 1 mL of the sample if liquid, or 1 mL of the suspension in the case of other products, or any serial dilutions, into **ONE** empty, sterile Petri dish.
2. Pour approximately 15–20 mL of molten OP-YM into the plate. Homogenize well by swirling, and let solidify on a cool surface.

NOTE: Overlays are not required.

## Incubation

Invert the prepared plate and incubate at 25 ± 1 °C for 54–72 hours.



### Interpretation

Yeast interacts with the substrate in the diagnostic supplement to produce lilac to purple colonies. Mould will present their natural pigmentation but may acquire colour from the substrate in later stages of growth. Yeast produces matte or shiny colonies, whereas mould produces flat or fluffy spreading propagules or colonies, often with colored fruiting or sporing structures. Using this morphological difference, yeast and mould can be counted separately if desired.

### Counting Colony-forming Units

Select the plate containing 10–150 colonies/propagules/germs for accurate enumeration. Refer to the ISO 7218 when the results are outside the limits. Apply the dilution factors, eliminating the need for two successive dilutions or duplicates.

Different yeast species produce different levels of colouration from the substrate, but a combination of morphology and colour observation will allow for total yeast count. Mould present various different colors but can be better differentiated by morphology. To enumerate total yeast and mould, count all colonies regardless of colour or morphology.

Spreading colonies are considered single colonies. If less than one quarter of the dish is overgrown by spreading, count the colonies on the unaffected part and extrapolate for the theoretical total count of the dish.

Confirmation is not required for fungal enumerations.

### Dilute to Specifications Results

Dilutions are made according to the specification, and a calculated amount of the appropriate dilution is added to the plate.

Examples of specification dilutions:

| Dilution | Inoculation                         | Specifications                                                |
|----------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 1/10     | 1 mL pour plate                     | Negative result <10 CFU/mL<br>Positive result ≥ 10 CFU/mL     |
| 1/10     | 0.1 mL surface or pour plate        | Negative result <100 CFU/mL<br>Positive result ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/10     | 0.01 mL surface (loop) streak plate | Negative result <1000 CFU/mL<br>Positive result ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/100    | 1 mL pour plate                     | Negative result <100 CFU/mL<br>Positive result ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/100    | 0.1 mL surface or pour plate        | Negative result <1000 CFU/mL<br>Positive result ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/1000   | 1 mL pour plate                     | Negative result <1000 CFU/mL<br>Positive result ≥ 1000 CFU/mL |

## Quality Control

**Appearance of dehydrated media:** Beige, homogeneous, free-flowing powder

**Appearance of prepared media (after supplement addition):** Fluorescent to yellow gel

Typical cultural response when incubated aerobically at  $25 \pm 1$  °C and examined for growth at 54–72 hours:

| Microorganism                   | WDCM  | Approx. Inoculum (CFU) | Expected Results            |
|---------------------------------|-------|------------------------|-----------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 00058 | 50–200                 | >50% Recovery, Iliac/purple |
| <i>Candida albicans</i>         | 00054 | 50–200                 | >50% Recovery, Iliac/purple |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 00053 | 50–300                 | >50% Recovery               |
| <i>Eurotium rubrum</i>          | 00184 | 50–300                 | >50% Recovery               |
| <i>Escherichia coli</i>         | 00012 | $>10^4$                | Complete Inhibition         |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | 00003 | $>10^4$                | Complete Inhibition         |

## Precautions and Limitations of the Method

1. Use good microbiology laboratory practices as per ISO 7218, except mandatory duplicate plating for enumeration, as the One Plate method requires only one Petri dish.
2. Whilst yeast and mould can be differentiated on morphology, there are some intermediate forms, thus enhanced examination may be required using a binocular magnifier or microscope.
3. Colony counts in excess of 150 CFU per plate can lead to poorer definition of the diagnostic reactions; it is advised that a higher dilution be used to accurately enumerate higher levels of contamination.
4. Both the limit of detection and quantification are dictated by the subculture volume.
5. An inoculation of 0.1 mL (spread plate) of a 1/10 dilution has a limit of detection of 100 CFU/g and permits the user to quantify (enumerate)  $> 1000$  CFU/g.
6. An inoculation of 1.0 mL (pour plate) of a 1/10 dilution has a limit of detection of 10 CFU/g and permits the user to quantify (enumerate)  $> 100$  CFU/g.
7. If a plate count results in less than 10 colonies counted, an estimated number should be expressed, e.g., report  $>10$  CFU/g or  $>100$  CFU/g (depending on the inoculation volume).
8. Enumeration, especially of mould, can be imprecise because of the mix of mycelium and asexual or sexual spores. Final count will depend on degree of fragmentation of mycelium, but risk can be minimized by proper sample homogenization.
9. Care should be taken when handling Petri dishes with mould growth, as spores can contaminate the environment.

## Verification

Method verification should be done following the protocols described in ISO 16140:3:2021. The user laboratory should follow experimental design and acceptance criteria as described in chapter 6, 'Quantitative methods — Technical protocol for verification'.

## Validations

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate Yeast and Mould has been certified by MicroVal as an alternative to the reference ISO 21527-1:2008 Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95 and ISO 21527-2:2008 horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95, according to the reference standard ISO 16140-2:2016 with the scope of enumeration of yeast and moulds in a broad range of foods. Refer to the MicroVal certificate for more information.

## Safety

Refer to the relevant product safety data sheet (SDS). Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection, and suitable respiratory protection. The dehydrated agar base contains chloramphenicol, which is a carcinogen and a serious health hazard in its powdered/dust format.

## Storage

Store dehydrated culture media at 2–30 °C away from direct sunlight. Once it is opened and recapped, place the container in a low-humidity environment at the same storage temperature. Protect from moisture and light by keeping container tightly closed.

Prepared media and/or supplements should be stored at 2–8 °C. Do not freeze. Supplement may be stored at room temperature for up to 5 days.

## Expiration

Refer to expiration date stamped on the container. The dehydrated medium should be discarded if not free-flowing, or if appearance has changed from the original colour. Expiry applies to medium in its intact container when stored as directed.

## Disposal

Cultures should be disposed of appropriately as biohazard waste. The preferred method of treatment for biohazard waste is autoclaving. Items that cannot be autoclaved may be disinfected with bleach solution. Consult with the safety advisor for your facility for detailed instructions.

## Customer Service

Neogen Customer Services and Technical Services can be reached by using the following contact information:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

## Terms and Conditions

For full terms and conditions, please visit <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

## Warranty

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.



## Instructions sur les produits

# One Plate Levures et moisissures (OP-YM)

### Utilisation prévue

One Plate Levures et moisissures (OP-YM) offre une méthode rapide pour le dénombrement des levures et des moisissures en utilisant la méthodologie de culture traditionnelle, quelle que soit l'activité de l'eau ( $a_w$ ).

### Résumé et explication du produit

Les champignons sont divisés en deux grands groupes : levures et moisissures. Les levures sont des organismes unicellulaires. Les moisissures se développent sous forme de filaments multicellulaires contenant plusieurs noyaux identiques. Les champignons sont l'une des principales causes de détérioration des denrées alimentaires et peuvent produire des toxines nocives. Les levures et les moisissures provoquent divers degrés de détérioration et de décomposition des aliments. Ils peuvent contaminer n'importe quel type d'aliment et envahir les cultures telles que les céréales, les noix, les fèves et les fruits dans les champs à tout moment, de l'exploitation jusqu'au point de vente. Les aliments transformés et les mélanges d'aliments peuvent également être affectés.

One Plate Levures et moisissures est une gélose sélective et différentielle pour le dénombrement des levures et des moisissures dans divers aliments. Elle permet d'obtenir un résultat quantitatif pour les levures et les moisissures en un minimum de 54 heures pour tous les produits alimentaires (toutes les activités de l'eau) avec une seule plaque, conformément aux normes ISO 21527-1, ISO 21527-2 et ISO 7218.

Le produit se compose d'une base gélosée qui fournit tous les agents de croissance nécessaires pour permettre le dénombrement rapide des levures et des moisissures à partir de n'importe quel type d'échantillon, quelle que soit l'activité de l'eau. Les agents sélectifs empêchent la croissance bactérienne d'interférer avec le nombre de champignons. Le glycérol est ajouté à la pré-stérilisation de base et utilisé quel que soit le type d'échantillon. Un supplément est ensuite ajouté à la gélose fondue après stérilisation, ce qui produit principalement une coloration diagnostique des espèces de levure.

### Utilisateurs visés

La méthode est conçue pour être utilisée par du personnel qualifié et formé de manière appropriée.

### Codes produit

REMARQUE : se reporter aux parties 1 à 5 de la norme ISO 6887 pour connaître les diluants spécifiques aux échantillons appropriés.

| Nom du produit                                                  | Format                       | Taille de l'emballage                                     | UGS         |            |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------|------------|
| One Plate Gélose pour levures et moisissures                    | DCM                          | 500 g                                                     | 700006972   | NCM1017A   |
|                                                                 |                              | 5 kg                                                      | 700006973   | NCM1017B   |
|                                                                 |                              | 10 kg                                                     | 700006974   | NCM1017C   |
|                                                                 |                              | 25 kg                                                     | 700006975   | NCM1017D   |
| One Plate Supplément pour diagnostic des levures et moisissures | Supplément prêt à l'emploi   | 1 flacon de 100 ml (pour des milieux allant jusqu'à 50 L) | 700006976   | NCM4088-50 |
| One Plate Gélose pour levures et moisissures                    | Plaques de gélose préparées* | Plaques de gélose de 20 x 90 mm                           | Sur demande |            |
|                                                                 |                              | Plaques de gélose de 100 x 90 mm                          | Sur demande |            |
| One Plate Gélose pour levures et moisissures                    | Gélose prête à refondre**    | 1 flacon de 250 mL                                        | Sur demande |            |

\*Les plaques de gélose préparées ne nécessitent pas de supplémentation.

\*\*La gélose prête à refondre doit être fondue dans un bain-marie à vapeur (se reporter à la norme ISO 7218 pour plus d'informations). Il convient de supplémenter le milieu après la trempe.

## Composition typique

La formulation peut être ajustée et/ou complétée au besoin pour répondre aux caractéristiques de performance.

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| Peptones et extraits      | 5,25 g/L |
| Activateurs de croissance | 12,0 g/L |
| Mélange tampon            | 4,0 g/L  |
| Mélange sélectif          | 0,1 g/L  |
| Gélose                    | 11,0 g/L |

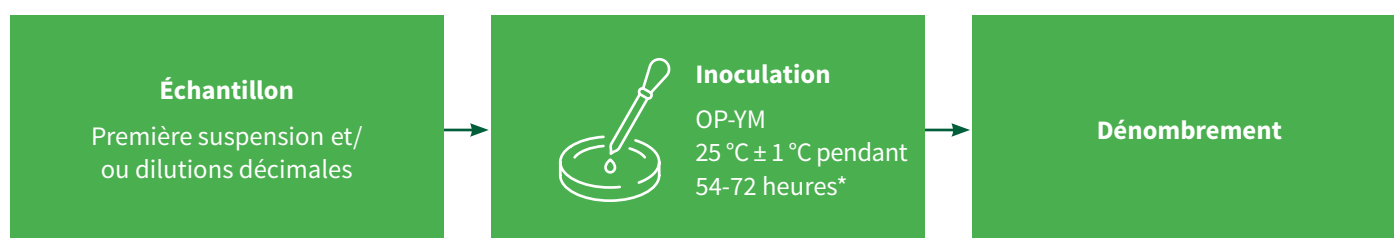
pH du milieu préparé à 25 °C : pH 5,6 ± 0,2.

## Préparation

Mettre en suspension 32,35 g de milieu dans 960 ml d'eau purifiée et ajouter 40 g de glycérol (CAS 56-81-5.) Agiter fréquemment pour dissoudre complètement le milieu. Stériliser en autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45–50 °C. Ajouter dans des conditions aseptiques 2,0 ml du One Plate Supplément pour diagnostic de levures et moisissures (NCM4088-50), agiter pour mélanger et verser dans des boîtes de Petri.

REMARQUE : le One Plate Supplément pour diagnostic de levures et moisissures ne contribue pas aux exigences de croissance. En l'absence de supplément, les colonies de levure se présentent dans leur coloration naturelle paille/blanche.

## Diagramme du flux OP-YM



\* Les plaques peuvent être incubées jusqu'à 72 heures pour des raisons pratiques.

## Préparation d'échantillon

Respecter les indications de la norme ISO 6887 ou de la norme internationale spécifique au produit concerné pour la première suspension et les dilutions.

## Inoculation en surface

1. Transférer 0,1 ml de la suspension ou de toute dilution séquentielle sur la surface d'**UNE** plaque de gélose OP-YM préparée ou coulée à l'avance.
2. Répartir l'inoculum sur la surface à l'aide d'un épandeur stérile.

REMARQUES : des techniques de dépôt automatique en spirale peuvent être utilisées pour l'inoculation en surface. Des dilutions décimales pourraient être nécessaires si la plage de contamination typique est inconnue. pour estimer de petits nombres, étaler 1 mL de la dilution primaire sur la surface de 3 plaques préparées conformément à la norme ISO 7218.

## Inoculation de la plaque de coulée

1. Transférer 1 ml de l'échantillon s'il est liquide, ou 1 ml de la suspension dans le cas d'autres produits, ou toute dilution séquentielle, dans **UNE** boîte de Pétri vide et stérile.
2. Verser environ 15 à 20 ml d'OP-YM fondu dans la plaque. Bien homogénéiser en agitant et laisser solidifier sur une surface froide.

REMARQUE : les recouvrements ne sont pas nécessaires.

## Incubation

Retourner la plaque préparée et incubé à 25 ± 1 °C pendant 54 à 72 heures.



## Interprétation

La levure interagit avec le substrat dans le supplément pour diagnostic afin de produire des colonies de couleur lilas à violet. Les moisissures présentent une pigmentation naturelle, mais peuvent prendre la couleur du substrat à des stades ultérieurs de leur croissance. Les levures produisent des colonies mates ou luisantes. Les moisissures, quant à elles, produisent des propagules ou des colonies plates ou duveteuses, souvent accompagnées de structures de fructification ou de sporulation colorées. À l'aide de cette différence morphologique, les levures et les moisissures peuvent être comptées séparément si vous le souhaitez.

## Dénombrement des unités formant des colonies

Sélectionner la plaque contenant 10 à 150 colonies/propagules/germes pour réaliser un dénombrement précis. Se reporter à la norme ISO 7218 si les résultats sortent des limites. Appliquer les facteurs de dilution afin de ne pas avoir à procéder à deux dilutions successives ou à des doublons.

Les différentes espèces de levures produisent différents niveaux de coloration du substrat, mais en combinant l'observation de la morphologie et de la couleur, il est possible de dénombrer l'ensemble des levures. Les moisissures présentent différentes couleurs mais peuvent être mieux différenciées par leur morphologie. Pour dénombrer le nombre total de levures et de moisissures, compter toutes les colonies, quelle que soit leur couleur ou leur morphologie.

Les colonies en expansion sont considérées comme des colonies isolées. Si moins d'un quart de la boîte est envahie par l'expansion, dénombrer les colonies sur la partie non affectée et extrapoler pour obtenir le nombre total théorique de la boîte.

Aucune confirmation n'est nécessaire pour les dénombrements fongiques.

## Diluer selon les spécifications Résultats

Les dilutions sont effectuées conformément aux spécifications et une quantité calculée de la dilution appropriée est ajoutée à la plaque.

Exemples de dilutions selon spécification :

| Dilution | Inoculation                                     | Caractéristiques                                                 |
|----------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 1/10     | 1 ml de plaque de coulée                        | Résultat négatif < 10 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 10 UFC/mL     |
| 1/10     | 0,1 ml de surface ou de plaque de coulée        | Résultat négatif < 100 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 100 UFC/mL   |
| 1/10     | Plaque de stries de surface (boucle) de 0,01 mL | Résultat négatif < 1000 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL |
| 1/100    | 1 ml de plaque de coulée                        | Résultat négatif < 100 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 100 UFC/mL   |
| 1/100    | 0,1 ml de surface ou de plaque de coulée        | Résultat négatif < 1000 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL |
| 1/1000   | 1 ml de plaque de coulée                        | Résultat négatif < 1000 CFU/mL<br>Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL |

## Contrôle qualité

**Aspect du milieu déshydraté :** poudre beige, homogène et fluide

**Aspect du milieu préparé (après ajout du supplément) :** gel fluorescent à jaune

Réponse culturale typique lors de l'incubation aérobie à  $25 \pm 1$  °C et de l'examen de la croissance à 54–72 heures :

| Micro-organisme                 | WDCM  | Inoculum approximatif (UFC) | Résultats attendus                  |
|---------------------------------|-------|-----------------------------|-------------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 00058 | 50–200                      | > 50 % de récupération, lilas/mauve |
| <i>Candida albicans</i>         | 00054 | 50–200                      | > 50 % de récupération, lilas/mauve |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 00053 | 50–300                      | > 50 % de récupération              |
| <i>Eurotium rubrum</i>          | 00184 | 50–300                      | > 50 % de récupération              |
| <i>Escherichia coli</i>         | 00012 | >10 <sup>4</sup>            | Inhibition complète                 |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | 00003 | >10 <sup>4</sup>            | Inhibition complète                 |

## Précautions et limites de la méthode

1. Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire de microbiologie conformément à la norme ISO 7218, à l'exception du placage en double obligatoire pour le dénombrement, car la méthode à une seule plaque ne nécessite qu'une seule boîte de Pétri.
2. Bien que les levures et les moisissures puissent être différenciées en fonction de leur morphologie, il existe des formes intermédiaires. Aussi, un examen plus poussé peut se révéler nécessaire à l'aide d'une loupe binoculaire ou d'un microscope.
3. Un nombre de colonies supérieur à 150 UFC par plaque peut conduire à une mauvaise définition des réactions diagnostiques ; il est conseillé d'utiliser une dilution plus élevée pour dénombrer avec précision les niveaux de contamination plus élevés.
4. La limite de détection et la quantification sont déterminées par le volume de la sous-culture.
5. Une inoculation de 0,1 mL (plaque d'expansion) d'une dilution de 1/10 a une limite de détection de 100 UFC/g et permet à l'utilisateur de quantifier (dénombrer) > 1000 UFC/g.
6. Une inoculation de 1,0 mL (plaque de coulée) d'une dilution de 1/10 a une limite de détection de 10 UFC/g et permet à l'utilisateur de quantifier (dénombrer) > 100 UFC/g.
7. Si le dénombrement sur plaque donne lieu à moins de 10 colonies, il faut exprimer une estimation du nombre, p. ex., indiquer >10 UFC/g ou >100 UFC/g (selon le volume d'inoculation).
8. Le dénombrement, en particulier des moisissures, peut être imprécis en raison du mélange de mycélium et de spores asexuées ou sexuées. La numération finale dépend du degré de fragmentation du mycélium, mais le risque peut être minimisé par une homogénéisation adéquate de l'échantillon.
9. Des précautions doivent être prises lors de la manipulation de boîtes de Pétri avec des moisissures, car les spores peuvent contaminer l'environnement.

## Vérification

La vérification de la méthode doit être effectuée selon les protocoles décrits dans la norme ISO 16140:3:2021.

Le laboratoire utilisateur doit suivre les critères de conception expérimentale et d'acceptation décrits au chapitre 5, « Méthodes quantitatives — Protocole technique de vérification ».

## Validations

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate Levures et moisissures a été certifié par MicroVal comme alternative à la méthode horizontale de référence ISO 21527-1:2008 pour le dénombrement des levures et des moisissures — Partie 1 : Technique de dénombrement des colonies dans les produits dont l'activité de l'eau est supérieure à 0,95 et méthode horizontale ISO 21527-2:2008 pour le dénombrement des levures et des moisissures — Partie 2 : Technique de dénombrement des colonies dans les produits dont l'activité de l'eau est inférieure ou égale à 0,95, selon la norme de référence ISO 16140-2:2016 avec étendue du dénombrement des levures et des moisissures dans divers aliments. Se reporter au certificat MicroVal pour plus d'informations.

## Sécurité

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) du produit concerné. Porter des gants de protection, des vêtements de protection, des lunettes de protection, une protection faciale et une protection respiratoire adéquate. La base de gélose déshydratée contient du chloramphénicol. Ce dernier cancérigène et présente un grave danger pour la santé sous forme de poudre/poussière.

## Stockage

Conserver les milieux de culture déshydratés à une température comprise entre 2 et 30 °C, à l'abri de la lumière directe du soleil. Une fois qu'il est ouvert et rebouché, placer le récipient dans un environnement à faible humidité à la même température de stockage. Protéger contre l'humidité et la lumière en gardant le récipient hermétiquement fermé.

Les milieux préparés et/ou les suppléments doivent être conservés à une température de 2 à 8 °C. Ne le congeler pas. Le supplément peut être conservé à température ambiante jusqu'à 5 jours.

## Expiration

Se reporter à la date de péremption indiquée sur le contenant. Le milieu déshydraté doit être éliminé s'il ne s'écoule pas librement ou si l'aspect a changé par rapport à la couleur d'origine. La date de péremption s'applique au milieu dans son contenant intact s'il a été stocké selon les consignes.

## Mise au rebut

Les cultures doivent être éliminées selon la réglementation en tant que déchets à risque biologique. La méthode privilégiée de traitement des déchets à risque biologique est l'autoclavage. Les composants qui ne peuvent pas être autoclavés peuvent être désinfectés avec une solution d'eau de Javel. S'adresser au conseiller en sécurité de votre établissement pour obtenir des consignes détaillées.

## Service clientèle

Les services à la clientèle et les services techniques de Neogen sont joignables aux coordonnées suivantes :

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Écosse Royaume-Uni  
+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

Une formation sur ce produit, ainsi que sur tous les kits de test Neogen, est disponible.

## Conditions générales

Pour connaître l'ensemble des conditions générales, veuillez consulter la page <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>.

## Garantie

Neogen Corporation n'offre aucune garantie d'aucune sorte, expresse ou implicite, sauf que les matériaux à partir desquels ses produits sont fabriqués sont de qualité standard. Si des matériaux sont défectueux, Neogen fournira un remplacement du produit. L'acheteur assume tous les risques et responsabilités résultant de l'utilisation de ce produit. Il n'existe aucune garantie de qualité marchande de ce produit ou de l'adéquation du produit à un usage quelconque. Neogen ne peut être tenu responsable de tout dommage, y compris les dommages spéciaux ou consécutifs, ou des dépenses découlant directement ou indirectement de l'utilisation de ce produit.



## Produktanweisungen

# One Plate Hefe- und Schimmelpilze (OP-YM)

### Verwendungszweck

One Plate Hefe- und Schimmelpilze (OP-YM) bietet eine schnelle Methode zur Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen unter Verwendung traditioneller Kulturmethode, unabhängig von der Wasseraktivität ( $a_w$ ).

### Produktzusammenfassung und Erklärung

Pilze werden in zwei Hauptgruppen unterteilt: Hefe- und Schimmelpilze. Hefepilze sind einzellige Organismen, während Schimmelpilze als mehrzellige Filamente wachsen, die mehrere identische Kerne enthalten. Pilze sind eine der Hauptursachen für den Verderb von Lebensmitteln und produzieren potenziell schädliche Giftstoffe. Sowohl Hefe- als auch Schimmelpilze verursachen unterschiedliche Grade der Verschlechterung und Zersetzung von Lebensmitteln. Sie können jede Art von Lebensmitteln kontaminieren und jederzeit in Nutzpflanzen wie Getreide, Nüsse, Bohnen und Früchte auf den Feldern eindringen, vom Feld bis zum Laden. Auch verarbeitete Lebensmittel und Lebensmittelmischungen können betroffen sein.

One Plate Hefe- und Schimmelpilze ist ein selektiver und differenzieller Agar für die Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen in einer Vielzahl von Lebensmitteln. Es kann ein quantitatives Ergebnis für Hefe- und Schimmelpilze in mindestens 54 Stunden für alle Lebensmittelprodukte (alle Wasseraktivitäten) ermöglichen, wobei nur eine Platte anstelle von 2 oder mehr verwendet wird, wie in ISO 21527-1, ISO 21527-2 und ISO 7218 beschrieben.

Das Produkt besteht aus einer Agarbasis, die alle erforderlichen Wachstumsmittel enthält, um eine schnelle Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen aus jedem Probenotyp unabhängig von der Wasseraktivität zu ermöglichen. Die selektiven Wirkstoffe verhindern, dass das Bakterienwachstum die Pilzzahl beeinträchtigt. Glycerin wird der Basis vor der Sterilisation zugesetzt und wird unabhängig von der Art der Probe verwendet. Nach der Sterilisation wird dem geschmolzenen Agar dann ein Supplement hinzugegeben, das in erster Linie eine diagnostische Färbung der Hefearten bewirkt.

### Vorgesehene Anwender

Die Methode ist für die Anwendung durch qualifiziertes Personal mit entsprechender Ausbildung konzipiert.

### Produktcodes

HINWEIS: Bitte beachten Sie ISO 6887 Teile 1–5 für geeignete probenspezifische Verdünnungsmittel.

| Produktname                                           | Format                       | Packungsgröße                               | SKU         |            |
|-------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|-------------|------------|
| One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Agar                | Trockennährmedien (DCM)      | 500 g                                       | 700006972   | NCM1017A   |
|                                                       |                              | 5 kg                                        | 700006973   | NCM1017B   |
|                                                       |                              | 10 kg                                       | 700006974   | NCM1017C   |
|                                                       |                              | 25 kg                                       | 700006975   | NCM1017D   |
| One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Diagnose-Supplement | Verflüssigtes Supplement     | 1 x 100-ml-Flasche (für bis zu 50 l Medien) | 700006976   | NCM4088-50 |
| One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Agar                | Vorbereitete Agar-Platten*   | 20 x 90-mm-Agarplatten                      | Auf Anfrage |            |
|                                                       |                              | 100 x 90-mm-Agarplatten                     | Auf Anfrage |            |
| One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Agar                | Wiederaufschmelzbarer Agar** | 1 x 250-ml-Flasche                          | Auf Anfrage |            |

\* Vorbereitete Agarplatten erfordern keine Supplementierung.

\*\* Wiederaufschmelzbarer Agar sollte in einem dampfenden Wasserbad geschmolzen werden (siehe ISO 7218 für weitere Anleitungen). Medien sollten nach der Temperierung supplementiert werden.

## Typische Zusammensetzung

Die Formulierung kann bei Bedarf angepasst und/oder ergänzt werden, um die Leistungsspezifikationen zu erfüllen.

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| Peptone und Extrakte      | 5,25 g/l |
| Wachstumsfördernde Mittel | 12,0 g/l |
| Puffer-Mischung           | 4,0 g/l  |
| Selektive Mischung        | 0,1 g/l  |
| Agar                      | 11,0 g/l |

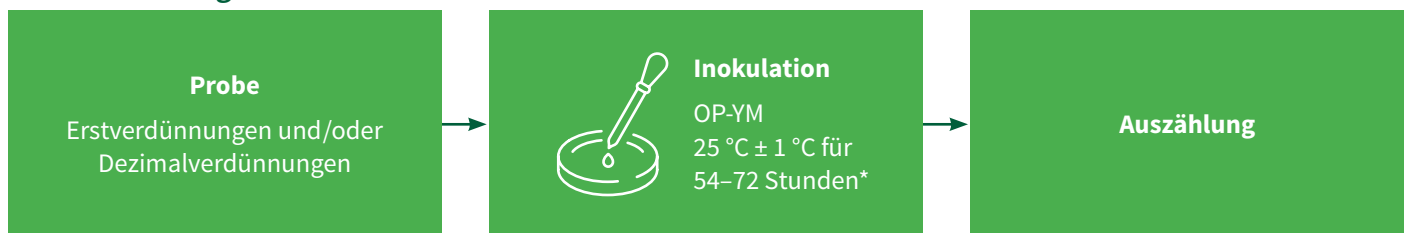
pH-Wert des vorbereiteten Mediums bei 25 °C: pH 5,6 ± 0,2.

## Vorbereitung

32,35 Gramm des Mediums in 960 ml gereinigtem Wasser suspendieren und 40 Gramm Glycerin (CAS 56-81-5.) hinzugeben. Häufig rühren, um das Medium vollständig aufzulösen. 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Auf 45–50 °C abkühlen lassen. Aseptisch 2,0 ml des One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Diagnose-Supplements (NCM4088-50) hinzugeben, es schwenken um es zu vermischen, und in Petrischalen gießen.

HINWEIS: Das One Plate Hefe- und Schimmelpilze-Diagnose-Supplement stellt keine weiteren Wachstumsanforderungen. Wenn das Supplement nicht hinzugegeben wird, zeigen sich die Hefekolonien in ihrer natürlichen Stroh-/Weiß-Färbung.

## OP-YM Flussdiagramm



\* Platten können praktischerweise bis zu 72 Stunden inkubiert werden.

## Probenvorbereitung

Für Erstverdünnungen und weitere Verdünnungen die Spezifikationen von ISO 6887 oder der spezifischen, für das betreffende Produkt geeigneten internationalen Norm befolgen.

## Oberflächen-Inokulation

1. 0,1 ml der Suspension oder serielle Verdünnungen auf die Oberfläche einer einzelnen vorbereiteter oder vorgegossener **ONE** Plate OP-YM-Agarplatte überführen.
2. Das Inokulum mit Hilfe eines sterilen Spatels auf der Oberfläche verteilen.

HINWEISE: Für die Oberflächeninokulation können automatische Spiralbeschichtungstechniken verwendet werden. Dezimalverdünnungen können erforderlich sein, wenn der typische Kontaminationsbereich unbekannt ist. Um kleine Zahlen abzuschätzen, 1 ml der primären Verdünnung auf der Oberfläche von 3 vorbereiteten Platten verteilen, wie in ISO 7218 beschrieben.

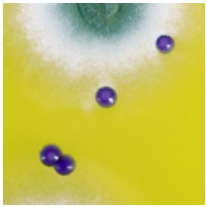
## Gießplatten-Inokulation

1. 1 ml der Probe, wenn diese flüssig ist, oder 1 ml der Suspension im Falle anderer Produkte oder etwaige serielle Verdünnungen in **EINE** leere, sterile Petrischale überführen.
2. Ca. 15–20 ml geschmolzenes OP-YM in die Platte gießen. Durch Schwenken gut homogenisieren und auf einer kühlen Oberfläche fest werden lassen.

HINWEIS: Overlays sind nicht erforderlich.

## Inkubation

Die vorbereitete Platte umdrehen und 54–72 Stunden bei 25 ± 1 °C inkubieren.



### Interpretation

Hefe interagiert mit dem Substrat im Diagnose-Supplement, um lila bis violette Kolonien zu erzeugen. Schimmelpilze zeigen ihre natürliche Pigmentierung, können aber in späteren Wachstumsstadien die Farbe des Substrats annehmen. Hefepilze erzeugen matte oder glänzende Kolonien, während Schimmelpilze flache oder flauschige sich ausbreitende Vermehrungen oder Kolonien erzeugen, oft mit farbigen Frucht- oder Sporenstrukturen. Anhand dieses morphologischen Unterschieds können Hefe und Schimmelpilze auf Wunsch getrennt gezählt werden.

### Zählung koloniebildender Einheiten

Wählen Sie für eine genaue Auszählung die Platte mit 10–150 Kolonien/Vermehrungen/Keimen aus. Beziehen Sie sich auf ISO 7218, wenn die Ergebnisse außerhalb der Grenzwerte liegen. Wenden Sie die Verdünnungsfaktoren an, wodurch die Notwendigkeit von zwei aufeinanderfolgenden Verdünnungen oder Duplikaten entfällt.

Verschiedene Hefearten erzeugen unterschiedliche Färbegrade des Substrats, aber eine kombinierte Beobachtung von Morphologie und Farbe ermöglicht die Bestimmung der Gesamthezezahl. Schimmelpilze weisen verschiedene Farben auf, können aber anhand der Morphologie besser unterschieden werden. Um die Gesamtzahl der Hefe- und Schimmelpilze zu bestimmen, zählen Sie alle Kolonien unabhängig von Farbe oder Morphologie.

Sich ausbreitende Kolonien werden als einzelne Kolonien betrachtet. Wenn weniger als ein Viertel der Schale durch Ausbreitung bewachsen ist, zählt man die Kolonien auf dem nicht betroffenen Teil und extrapoliert die theoretische Gesamtzahl der Schale.

Für Pilz-Auszählungen ist keine Bestätigung erforderlich.

### Ergebnisse bei Verdünnung nach Spezifikationen

Verdünnungen werden gemäß der Spezifikation vorgenommen, und eine berechnete Menge der entsprechenden Verdünnung wird der Platte zugegeben.

Beispiele für Verdünnungen nach Spezifikation:

| Verdünnung | Inokulation                                   | Spezifikationen                                                      |
|------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 1/10       | 1-ml-Gießplatte                               | Negatives Ergebnis < 10 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 10 KbE/ml     |
| 1/10       | 0,1 ml Oberfläche oder Gießplatte             | Negatives Ergebnis < 100 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 100 KbE/ml   |
| 1/10       | 0,01 ml Oberflächen-Streifenplatte (Schlaufe) | Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml |
| 1/100      | 1-ml-Gießplatte                               | Negatives Ergebnis < 100 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 100 KbE/ml   |
| 1/100      | 0,1 ml Oberfläche oder Gießplatte             | Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml |
| 1/1000     | 1-ml-Gießplatte                               | Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml<br>Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml |

## Qualitätskontrolle

**Aussehen dehydrierter Medien:** Beiges, homogenes, frei fließendes Pulver

**Aussehen vorbereiteter Medien (nach Zugabe von Supplement):** Fluoreszierendes bis gelbes Gel

Typische kulturelle Reaktion bei aerober Inkubation bei  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  und Untersuchung des Wachstums nach 54–72 Stunden:

| Mikroorganismen                 | WDCM  | Ungefähres Inokulum (KbE) | Erwartete Ergebnisse              |
|---------------------------------|-------|---------------------------|-----------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 00058 | 50–200                    | >50 % Rückgewinnung, Lila/Violett |
| <i>Candida albicans</i>         | 00054 | 50–200                    | >50 % Rückgewinnung, Lila/Violett |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 00053 | 50–300                    | >50 % Rückgewinnung               |
| <i>Eurotium rubrum</i>          | 00184 | 50–300                    | >50 % Rückgewinnung               |
| <i>Escherichia coli</i>         | 00012 | $> 10^4$                  | Vollständige Hemmung              |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | 00003 | $> 10^4$                  | Vollständige Hemmung              |

## Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen der Methode

1. Verwenden Sie gute mikrobiologische Laborpraktiken gemäß ISO 7218, mit Ausnahme der obligatorischen doppelten Beschichtung für die Auszählung, da die Ein-Platten-Methode nur eine Petrischale erfordert.
2. Während Hefe- und Schimmelpilze anhand der Morphologie unterschieden werden können, gibt es einige Zwischenformen, sodass eine erweiterte Untersuchung mit einer binokularen Lupe oder einem Mikroskop erforderlich sein kann.
3. Koloniezahlen von mehr als 150 KbE pro Platte können zu einer schlechteren Definition der diagnostischen Reaktionen führen. Es wird empfohlen, eine höhere Verdünnung zu verwenden, um höhere Kontaminationsgrade genau aufzuzählen.
4. Sowohl die Nachweisgrenze als auch die Quantifizierung werden durch das Subkulturvolumen bestimmt.
5. Eine Inokulation von 0,1 ml (Streuplatte) einer 1/10-Verdünnung hat eine Nachweisgrenze von 100 KbE/g und ermöglicht es dem Anwender,  $> 1000$  KbE/g zu quantifizieren (aufzuzählen).
6. Eine Inokulation von 1,0 ml (Gießplatte) einer 1/10-Verdünnung hat eine Nachweisgrenze von 10 KbE/g und ermöglicht es dem Anwender,  $> 100$  KbE/g zu quantifizieren (aufzuzählen).
7. Wenn eine Keimzahlbestimmung ergibt, dass weniger als 10 Kolonien gezählt werden, sollte eine geschätzte Anzahl angegeben werden, z. B.  $> 10$  KbE/g oder  $> 100$  KBE/g (je nach Impfvolumen).
8. Die Auszählung, insbesondere von Schimmelpilzen, kann aufgrund der Mischung aus Myzel und ungeschlechtlichen oder geschlechtlichen Sporen ungenau sein. Die endgültige Zählung hängt vom Grad der Fragmentierung des Myzels ab, aber das Risiko kann durch eine ordnungsgemäße Homogenisierung der Proben minimiert werden.
9. Beim Umgang mit Petrischalen mit Schimmelbildung ist Vorsicht geboten, da Sporen die Umgebung kontaminieren können.

## Verifizierung

Die Methodenüberprüfung sollte nach den in ISO 16140:3:2021 beschriebenen Protokollen erfolgen. Das Labor des Anwenders sollte die in Kapitel 5 „Quantitative Methoden – Technisches Prüfprotokoll“ beschriebene Versuchsplanung und Akzeptanzkriterien befolgen.

## Bestätigungen

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate Hefe- und Schimmelpilze wurde von MicroVal als Alternative zur Referenzmethode ISO 21527-1:2008 „Horizontales Verfahren zur Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen – Teil 1: Koloniezählverfahren in Produkten mit einer Wasseraktivität größer als 0,95“ und ISO 21527-2:2008 „Horizontales Verfahren zur Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen – Teil 2: Koloniezählverfahren in Produkten mit einer Wasseraktivität kleiner oder gleich 0,95“, gemäß der Referenznorm ISO 16140-2:2016 mit dem Anwendungsbereich der Auszählung von Hefe- und Schimmelpilzen in einer breiten Palette von Lebensmitteln zertifiziert. Weitere Informationen finden Sie im MicroVal-Zertifikat.

## Sicherheit

Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Produktsicherheitsdatenblatt (SDB). Tragen Sie Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz und einen geeigneten Atemschutz. Die dehydrierte Agar-Basis enthält Chloramphenicol, das in seiner Pulver-/Staubform krebserregend und gesundheitsgefährdend ist.

## Lagerung

Dehydrierte Nährmedien bei 2–30 °C geschützt vor direkter Sonneneinstrahlung lagern. Geöffnete und wieder verschlossene Behälter in eine Umgebung mit niedriger Luftfeuchtigkeit und gleichbleibender Lagertemperatur platzieren. Vor Feuchtigkeit und Licht schützen, indem der Behälter fest verschlossen gehalten wird.

Vorbereitete Medien und/oder Supplements sollten bei 2–8 °C gelagert werden. Nicht einfrieren. Das Supplement kann bis zu 5 Tage bei Raumtemperatur gelagert werden.

## Ablauf

Das auf dem Behälter eingeprägte Verfallsdatum ist zu beachten. Das dehydrierte Medium sollte verworfen werden, wenn es nicht fließfähig ist oder wenn sich das Aussehen gegenüber der ursprünglichen Farbe verändert hat. Das Verfallsdatum gilt für das Medium in seinem intakten Behälter, wenn es wie angegeben gelagert wird.

## Entsorgung

Kulturen sollten ordnungsgemäß als biologischer Abfall entsorgt werden. Die bevorzugte Behandlungsmethode für biologisch gefährliche Abfälle ist das Autoklavieren. Gegenstände, die nicht autoklaviert werden können, können mit Bleichlösung desinfiziert werden. Wenden Sie sich an den Sicherheitsberater Ihrer Einrichtung, um detaillierte Anweisungen zu erhalten.

## Kundenservice

Der Kundendienst und der technische Service von Neogen können über die folgenden Kontaktinformationen erreicht werden:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Schottland Vereinigtes Königreich  
+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

Schulungen zu diesem Produkt und allen Neogen-Testkits sind verfügbar.

## Bedingungen

Vollständige Bestimmungen und Bedingungen finden Sie unter <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

## Garantie

Die Neogen Corporation übernimmt keinerlei Garantie, weder ausdrücklich noch stillschweigend, außer dass die Materialien, aus denen ihre Produkte hergestellt werden, von Standardqualität sind. Bei Materialfehlern stellt Neogen einen Ersatz für das Produkt zur Verfügung. Der Käufer übernimmt alle Risiken und Haftungen, die sich aus der Verwendung dieses Produkts ergeben. Es wird keine Garantie für die Marktgängigkeit dieses Produkts oder die Eignung des Produkts für einen bestimmten Zweck übernommen. Neogen haftet nicht für Schäden, einschließlich besonderer Schäden oder Folgeschäden, oder für Kosten, die direkt oder indirekt durch die Verwendung dieses Produkts entstehen.



## Instrucciones del producto

# One Plate Levaduras y mohos (OP-YM)

### Uso previsto

La solución One Plate Levaduras y mohos (OP-YM) ofrece un método rápido para determinar el recuento de levaduras y mohos mediante la aplicación de un método de cultivo convencional, más allá de la actividad de agua ( $a_w$ ).

### Resumen y explicación del producto

Los hongos se clasifican en dos grupos principales: levaduras y mohos. Las levaduras son organismos unicelulares, mientras que los mohos crecen como filamentos multicelulares con múltiples núcleos idénticos. Los hongos representan una de las principales causas de deterioro de los alimentos; además, tienen la capacidad de producir toxinas nocivas. Tanto las levaduras como los mohos pueden provocar el deterioro y la descomposición de los alimentos en diversos grados. Además, pueden contaminar cualquier tipo de alimento o atacar los cultivos agrícolas, como cereales, frutos secos, alubias y frutas, en cualquier momento: desde el campo hasta la tienda. Los alimentos procesados y las mezclas de alimentos también pueden verse afectados por la acción de estos microorganismos.

La solución One Plate Levaduras y mohos es un agar selectivo y diferencial para el recuento de levaduras y mohos en una amplia gama de alimentos. El uso de este producto permite la obtención de resultados cuantitativos para levaduras y mohos en un plazo mínimo de 54 horas para todos los productos alimenticios (en el caso de todas las actividades de agua). Además, este resultado es posible con el uso de solo una placa, y no dos o más, conforme a lo establecido en las normas ISO 21527-1, ISO 21527-2 e ISO 7218.

El producto se compone de una base de agar, que proporciona todos los agentes de cultivo necesarios para permitir un recuento rápido de levaduras y mohos en cualquier tipo de muestra, más allá de la actividad de agua. La acción de los agentes selectivos evita que el crecimiento bacteriano interfiera con el recuento de hongos. El glicerol se añade a la base antes de la esterilización; este agente se aplica más allá del tipo de muestra en cuestión. Después de la esterilización, se añade un suplemento al agar fundido. Este suplemento es el principal responsable del tinte de diagnóstico para las especies de levadura.

### Usuario previsto

El diseño del método prevé su aplicación solo por parte de personal calificado y con una formación adecuada.

### Códigos de producto

NOTA: A fin de conocer los diluyentes específicos para muestras adecuadas, consulte la norma ISO 6887, partes 1 a 5.

| Nombre del producto                                                  | Presentación                      | Tamaño del envase                                         | SKU       |            |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------|------------|
| Agar de la solución One Plate Levaduras y mohos                      | DCM                               | 500 g                                                     | 700006972 | NCM1017A   |
|                                                                      |                                   | 5 kg                                                      | 700006973 | NCM1017B   |
|                                                                      |                                   | 10 kg                                                     | 700006974 | NCM1017C   |
|                                                                      |                                   | 25 kg                                                     | 700006975 | NCM1017D   |
| Suplemento de diagnóstico de la solución One Plate Levaduras y mohos | Suplemento listo para líquidos    | 1 frasco de 100 ml (para medios de cultivo de hasta 50 l) | 700006976 | NCM4088-50 |
| Agar de la solución One Plate Levaduras y mohos                      | Placas de agar preparado*         | Placas de 20 x 90 mm de agar                              | A demanda |            |
|                                                                      |                                   | Placas de 100 x 90 mm de agar                             | A demanda |            |
| Agar de la solución One Plate Levaduras y mohos                      | Agar listo para volver a fundir** | 1 frasco de 250 ml                                        | A demanda |            |

\* Las placas de agar preparado no requieren suplementación de ningún tipo. \*\* El agar listo para volver a fundir se debe recuperar con un baño de vapor de agua (si desea obtener más información, consulte la norma ISO 7218). Los medios de cultivo se deben suplementar después del temple.

## Composición genérica

La formulación se puede ajustar o complementar a fin de satisfacer el cumplimiento de las especificaciones de rendimiento.

|                                 |          |
|---------------------------------|----------|
| Peptonas y extractos            | 5.25 g/l |
| Potenciadores de cultivo        | 12.0 g/l |
| Mezcla de la solución de tampón | 4.0 g/l  |
| Mezcla de selección             | 0.1 g/l  |
| Agar                            | 11.0 g/l |

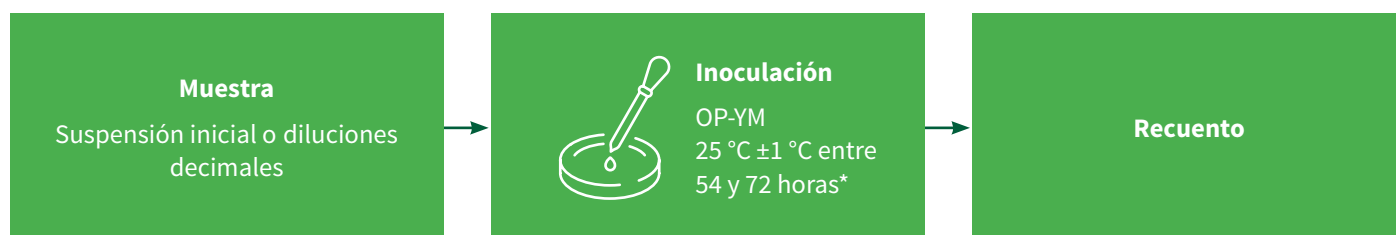
pH del medio de cultivo preparado a 25 °C: pH 5.6 ±0.2.

## Preparación del medio de cultivo

Suspenda 32.35 gramos del medio de cultivo en 960 ml de agua purificada. Luego, añada 40 gramos de glicerol (núm. CAS 56-81-5). Agite de forma permanente para que el medio de cultivo se disuelva por completo. Coloque la placa en un sistema de autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Refrigere entre 45 °C y 50 °C. En condiciones asépticas, añada 2.0 ml del suplemento de diagnóstico One Plate Levaduras y mohos (NCM4088-50); revuelva para mezclar y, por último, vierta en placas de Petri.

NOTA: El suplemento de diagnóstico One Plate Levaduras y mohos no contribuye a ningún requisito de cultivo. Si el suplemento no se añade, las colonias de levadura presentarán una coloración natural de color amarillo claro o blanco.

## Diagrama de flujo de la solución OP-YM



\* Las placas se pueden incubar hasta por 72 horas para mayor practicidad.

## Preparación de la muestra

En relación con la suspensión inicial y las diluciones, respete las especificaciones que se detallan en la norma ISO 6887, o bien en la norma internacional específica pertinente, para el producto en cuestión.

## Inoculación en superficie

1. Transfiera 1 ml de la suspensión, o cualquier dilución en serie, sobre la superficie de **UNA** sola placa de agar preparado o previamente vertido con la solución OP-YM.
2. Con la ayuda de un esparcidor estéril, extienda el inóculo sobre la superficie.

NOTAS: Para la inoculación en superficies, es posible aplicar técnicas automáticas de sembrado de placas en espiral. En el caso de que se desconozca el índice de contaminación genérico, podría ser necesario el uso de diluciones decimales. A fin de calcular cifras pequeñas, esparza 1 ml de la dilución primaria sobre la superficie de tres placas preparadas, como se describe en la norma ISO 7218.

## Inoculación en placa de vertido

1. Transfiera 1 ml de la muestra —si es líquida—, 1 ml de la suspensión —en el caso de otros productos— o cualquier dilución en serie a **UNA** placa de Petri vacía y estéril.
2. Vierta entre 15 y 20 ml de la solución OP-YM fundida en la placa. Revuelva hasta lograr una mezcla homogénea y deje solidificar sobre una superficie fría.

NOTA: No es obligatorio que realice ningún recubrimiento.

## Incubación

Invierta la placa preparada y colóquela en incubación a 25 °C ±1 °C entre 54 y 72 horas.



## Interpretación

La levadura interactúa con el sustrato en el suplemento de diagnóstico a fin de producir colonias con una coloración de lila a púrpura. El moho presenta su pigmentación natural, pero puede tomar el color del sustrato en etapas posteriores de cultivo. La levadura produce colonias de tono mate o brillante, mientras que el moho produce propágulos o colonias de tipo plano o esponjoso que, a menudo, crecen con estructuras de fructificación o esporas de color. Gracias a esta diferencia morfológica, en la levadura y el moho se puede realizar un recuento independiente si se desea.

## Recuento de unidades formadoras de colonias

Seleccione la placa que presente entre 10 y 150 colonias, propágulos o gérmenes para lograr un recuento más preciso. Si los resultados arrojan valores fuera de los límites establecidos, consulte la norma ISO 7218. Aplique los factores de dilución. Al hacerlo, se elimina la necesidad de tener que contar con dos diluciones sucesivas o duplicadas.

Cada especie de levadura produce diferentes niveles de coloración en el sustrato; sin embargo, una combinación de morfología y la observación del color permiten realizar un recuento total de levaduras. El moho presenta varios colores diferentes, pero las características morfológicas permiten lograr una mejor diferenciación. A fin de realizar un recuento total de levaduras y mohos, cuente todas las colonias, más allá del color o la morfología.

Cualquier crecimiento de colonias se considera como una colonia individual. En el caso de que una cuarta parte de la placa presente un cultivo excesivo debido a la propagación, cuente las colonias que se encuentren en la parte no afectada y, a continuación, extrapole ese valor para el recuento total teórico de la placa.

En relación con el recuento de hongos, no es necesario que se implemente un método de confirmación.

## Resultados de dilución según especificaciones

Las diluciones se efectúan en función de las especificaciones; a continuación, se añade la cantidad calculada de esa dilución a la placa.

A continuación, se presentan algunos ejemplos de diluciones según cada especificación:

| Dilución | Inoculación                                        | Especificaciones                                                   |
|----------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1/10     | 1 ml en placa de vertido                           | Resultado negativo <10 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥10 UFC/ml     |
| 1/10     | 0.1 ml en superficie o placa de vertido            | Resultado negativo <100 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥100 UFC/ml   |
| 1/10     | 0.01 ml en superficie (bucle) de placa por estrías | Resultado negativo <1000 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥1000 UFC/ml |
| 1/100    | 1 ml en placa de vertido                           | Resultado negativo <100 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥100 UFC/ml   |
| 1/100    | 0.1 ml en superficie o placa de vertido            | Resultado negativo <1000 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥1000 UFC/ml |
| 1/1000   | 1 ml en placa de vertido                           | Resultado negativo <1000 UFC/ml<br>Resultado positivo ≥1000 UFC/ml |

## Control de calidad

**Aspecto del medio de cultivo deshidratado:** polvo color beige, homogéneo y fluido

**Aspecto del medio de cultivo preparado (tras la adición del suplemento):** gel de color fosforescente a amarillo

Respuesta genérica del cultivo cuando se incubaba en condiciones aeróbicas a 25 °C ±1 °C; el crecimiento se examina entre 54 y 72 horas:

| Microorganismo                  | WDCM  | Inóculo apróx. (UFC) | Resultados esperados                        |
|---------------------------------|-------|----------------------|---------------------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 00058 | 50–200               | >50 % de la recuperación, de lila a púrpura |
| <i>Candida albicans</i>         | 00054 | 50–200               | >50 % de la recuperación, de lila a púrpura |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 00053 | 50–300               | >50 % de la recuperación                    |
| <i>Eurotium rubrum</i>          | 00184 | 50–300               | >50 % de la recuperación                    |
| <i>Escherichia coli</i>         | 00012 | >10 <sup>4</sup>     | Inhibición completa                         |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | 00003 | >10 <sup>4</sup>     | Inhibición completa                         |

## Precauciones y limitaciones relacionadas con el método

1. Siga las buenas prácticas de laboratorio de microbiología que se mencionan en la norma ISO 7218. Esta indicación no rige para la duplicación obligatoria de placas para fines de recuento, ya que el método One Plate solo requiere el uso de una placa de Petri.
2. Si bien la levadura y el moho se pueden diferenciar por características morfológicas, existen algunas formas intermedias; por este motivo, es posible que se deba realizar un examen más detallado con la ayuda de lentes binoculares o un microscopio.
3. Los recuentos de colonias superiores a 150 UFC por placa pueden dar lugar a una definición bastante inferior de las reacciones diagnósticas; se aconseja utilizar una dilución más alta para lograr un recuento preciso en niveles más altos de contaminación.
4. El volumen del cultivo secundario determina tanto el límite de detección como el de cuantificación.
5. Una inoculación de 0.1 ml (placa de crecimiento) de una dilución con una relación 1/10 tiene un límite de detección de 100 UFC/g; además, permite que el usuario cuantifique (recuento) a >1000 UFC/g.
6. Una inoculación de 1.0 ml (placa de vertido) de una dilución con una relación 1/10 tiene un límite de detección de 10 UFC/g; además, permite que el usuario cuantifique (recuento) a >100 UFC/g.
7. Si algún recuento en placa arroja un resultado inferior a 10 colonias contadas, se debe expresar con un número estimado; por ejemplo, se debe informar >10 UFC/g o >100 UFC/g (según el volumen de inoculación).
8. El recuento, en especial de mohos, puede ser impreciso debido a la mezcla de micelio y esporas asexuales o sexuales. El recuento final dependerá del grado de fragmentación del micelio; sin embargo, el riesgo se puede reducir al mínimo mediante una homogeneización adecuada de la muestra.
9. Al manipular placas de Petri con crecimiento de moho, se debe tener cuidado, ya que las esporas pueden contaminar el medioambiente.

## Comprobación

La comprobación del método se debe realizar conforme a los protocolos descritos en la norma ISO 16140:3:2021.

El laboratorio usuario debe seguir los criterios de diseño experimental y de aceptación que se describen en el capítulo 5, «Métodos cuantitativos. Protocolo técnico de comprobación».

## Validaciones

### MicroVal (norma ISO 16140-2:2016)

MicroVal ha emitido un certificado para la solución One Plate Levaduras y mohos como alternativa a la norma de referencia ISO 21527-1:2008, «Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos. Parte 1: Técnica de recuento de colonias para productos con una actividad de agua superior a 0.95», así como para norma ISO 21527-2:2008, «Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos. Parte 2: Técnica de recuento de colonias para productos con una actividad de agua de 0.95 o menos», según la norma de referencia ISO 16140-2:2016. Alcance de recuento de levaduras y mohos en una amplia gama de alimentos. Para obtener más información, consulte el certificado extendido por MicroVal.

## Seguridad

Consulte la ficha de datos de seguridad (FDS) del producto pertinente. Use guantes y ropa de protección, así como gafas de protección ocular y una máscara de protección facial y respiratoria adecuadas. La base de agar deshidratado contiene cloranfenicol, que es un carcinógeno y un grave peligro para la salud en la presentación en polvo.

## Almacenamiento

Almacene los medios de cultivo deshidratados a una temperatura de entre 2 °C y 30 °C. Mantenga los medios de cultivo alejados de la luz solar directa. Una vez abierto y vuelto a tapar, coloque el recipiente en un entorno con baja humedad y que esté a la misma temperatura de almacenamiento. Para proteger el medio de cultivo de la humedad y la exposición a la luz, mantenga el recipiente bien cerrado.

Los medios de cultivos preparados o los suplementos se deben almacenar a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No se debe congelar. El suplemento se puede almacenar a temperatura ambiente hasta por cinco días.

## Vencimiento

Consulte la fecha de vencimiento que se encuentra indicada en el envase. El medio de cultivo deshidratado se debe desechar siempre que no tenga un flujo suelto o si ha cambiado la apariencia con respecto al color original. La fecha de vencimiento se aplica al medio de cultivo en el recipiente sin abrir y siempre que se almacene según las indicaciones.

## Desecho

Los cultivos se deben desechar de forma adecuada como residuos de riesgo biológico. El método de tratamiento de preferencia para los residuos de riesgo biológico es el uso de un autoclave. Aquellos elementos que no se pueden esterilizar en autoclave se pueden desinfectar con una solución de lejía. Para obtener instrucciones detalladas al respecto, consulte con el responsable de seguridad del centro designado.

## Servicio de atención al cliente

Si necesita ponerse en contacto con el servicio de atención al cliente o con el servicio técnico de Neogen, utilice la información de contacto a continuación:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Escocia, RU  
+44 (0) 1292 525600

**infoUK@neogen.com**

Se ofrecen sesiones de capacitación sobre el uso de este producto, así como para todos los kits de prueba de Neogen.

## Términos y condiciones

Para consultar los términos y condiciones completos, visite <https://www.neogen.com/terms-and-conditions> (en inglés).

## Garantía

Neogen no otorga garantías de ningún tipo, ya sean expresas o implícitas, excepto el hecho de que los materiales de sus productos están fabricados con calidad estándar. Si hay materiales defectuosos, Neogen reemplazará el producto. El comprador asume todos los riesgos y responsabilidades que surjan del uso de este producto. No existe garantía de comercialización de este producto o de la idoneidad de este producto para cualquier objetivo. Neogen no será responsable por los daños de ningún tipo, incluidos daños especiales o mediatos, o gastos que surjan directa o indirectamente del uso de este producto.



## Instruções do produto

# One Plate Fermento e mofo (OP-YM)

### Uso previsto

O One Plate Fermento e mofo (OP-YM) oferece um método rápido para a contagem de leveduras e fungos usando metodologia de cultura tradicional, independentemente da atividade de água ( $a_w$ ).

### Resumo e explicação do produto

Os fungos são divididos em dois grupos principais: leveduras e fungos. As leveduras são organismos unicelulares, enquanto os fungos crescem como filamentos multicelulares contendo vários núcleos idênticos. Os fungos são uma das principais causas de deterioração nos alimentos e podem produzir toxinas nocivas. Tanto as leveduras quanto os fungos causam vários graus de deterioração e decomposição dos alimentos. Eles podem contaminar qualquer tipo de alimento e invadir culturas como grãos, castanhas, feijões e frutas nos campos a qualquer momento, do campo à loja. Alimentos processados e misturas de alimentos também podem ser afetados.

O One Plate Fermento e mofo é um ágar seletivo e diferencial para a contagem de leveduras e fungos em uma ampla gama de alimentos. Ele pode permitir um resultado quantitativo para levedura e fungo em um mínimo de 54 horas para todos os produtos alimentícios (todas as atividades de água), usando apenas uma placa versus duas ou mais, conforme descrito nas normas ISO 21527-1, ISO 21527-2 e ISO 7218.

O produto é composto por uma base de ágar, fornecendo todos os agentes de crescimento necessários para permitir a rápida contagem de leveduras e fungos de qualquer tipo de amostra, independentemente da atividade de água. Os agentes seletivos impedem que o crescimento bacteriano interfira na contagem de fungos. O glicerol é adicionado à pré-esterilização da base e utilizado independentemente do tipo de amostra. Um suplemento é adicionado ao ágar fundido pós-esterilização, que produz principalmente coloração diagnóstica de espécies de leveduras.

### Uso previsto

O método é projetado para uso por pessoal qualificado com treinamento apropriado.

### Códigos de produto

OBSERVAÇÃO: consulte a norma ISO 6887 partes 1 a 5 para obter diluentes específicos de amostra adequados.

| Nome do produto                                     | Formato                         | Tamanho do pacote                          | SKU          |            |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|--------------|------------|
| One Plate Fermento e mofo Agar                      | DCM                             | 500 g                                      | 700006972    | NCM1017A   |
|                                                     |                                 | 5 kg                                       | 700006973    | NCM1017B   |
|                                                     |                                 | 10 kg                                      | 700006974    | NCM1017C   |
|                                                     |                                 | 25 kg                                      | 700006975    | NCM1017D   |
| Suplemento de diagnóstico One Plate Fermento e mofo | Suplemento pronto para líquidos | 1 frasco de 100 mL (para até 50 L de meio) | 700006976    | NCM4088-50 |
| One Plate Fermento e mofo Agar                      | Placas de ágar preparadas*      | Placas de ágar 20 x 90 mm                  | Sob consulta |            |
|                                                     |                                 | Placas de ágar 100 x 90 mm                 | Sob consulta |            |
| One Plate Fermento e mofo Agar                      | Ágar pronto para refundir**     | 1 frasco de 250 mL                         | Sob consulta |            |

\*As placas de ágar preparadas não precisam de suplementação.

\*\*O ágar pronto para refundir deve ser derretido em banho-maria fumegante (consulte a norma ISO 7218 para obter mais orientações). Os meios devem ser suplementados após a têmpera.

## Composição típica

A formulação pode ser ajustada e/ou complementada conforme necessário para satisfazer as especificações de desempenho.

|                              |          |
|------------------------------|----------|
| Peptonas e extratos          | 5,25 g/L |
| Catalisadores de crescimento | 12,0 g/L |
| Mistura de tampão            | 4,0 g/L  |
| Mix seletivo                 | 0,1 g/L  |
| Ágar                         | 11,0 g/L |

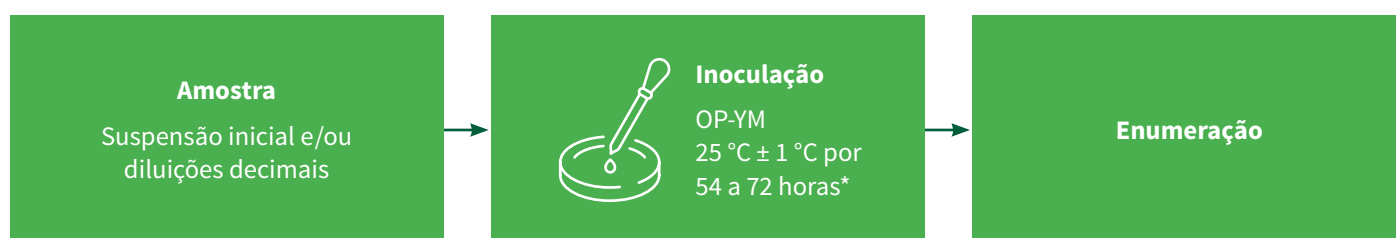
pH do meio preparado a 25 °C: pH 5,6 ± 0,2.

## Preparação

Suspenda 32,35 gramas do meio em 960 mL de água purificada e adicione 40 gramas de glicerol (CAS 56-81-5). Agite com frequência para dissolver completamente o meio. Autoclave a 121 °C por 15 minutos. Resfrie até 45 °C a 50 °C. Adicione assepticamente 2,0 mL do suplemento de diagnóstico One Plate Fermento e mofo (NCM4088-50), agite para misturar e despeje em placas de Petri.

OBSERVAÇÃO: o suplemento de diagnóstico One Plate Fermento e mofo não contribui com nenhum requisito de crescimento. Se o suplemento não for adicionado, as colônias de levedura ficarão na coloração natural de palha/branco.

## Fluxograma de OP-YM



\* As placas podem ser incubadas por até 72 horas por praticidade.

## Preparo da amostra

Siga as especificações da norma ISO 6887 ou da norma internacional específica adequada ao produto em questão para a suspensão inicial e diluições.

## Inoculação de superfície

1. Transfira 0,1 mL da suspensão, ou qualquer diluição em série, para a superfície de **UMA** única placa de ágar OP-YM preparada ou pré-derramada.
2. Espalhe o inóculo na superfície com o auxílio de um espalhador estéril.

OBSERVAÇÕES: técnicas de deposição em espiral automática podem ser usadas para inoculação de superfície. Poderão ser necessárias diluições decimais se a gama de contaminação típica for desconhecida. Para estimar pequenos números, espalhe 1 mL da diluição primária sobre a superfície de 3 placas preparadas, conforme descrito na norma ISO 7218.

## Inoculação em placas de derramamento

1. Transfira 1 mL da amostra se for líquida ou 1 mL da suspensão no caso de outros produtos, ou quaisquer diluições em série, em **UMA** placa de Petri vazia e estéril.
2. Despeje aproximadamente 15 a 20 mL de OP-YM fundido na placa. Homogeneize bem girando e deixe solidificar em uma superfície fria.

OBSERVAÇÃO: sobreposições não são necessárias.

## Incubação

Inverta a placa preparada e incube a 25 ± 1 °C durante 54 a 72 horas.



## Interpretação

A levedura interage com o substrato no suplemento de diagnóstico para produzir colônias lilases a roxas. O fungo apresentará a pigmentação natural, mas poderá adquirir cor do substrato em estágios posteriores de crescimento. A levedura produz colônias foscas ou brilhantes, enquanto o fungo produz propágulos ou colônias planas ou fofas, muitas vezes com estruturas de frutificação ou esporos coloridos. Com essa diferença morfológica, levedura e fungo podem ser contados separadamente, se desejado.

## Contagem de unidades de formação de colônia

Selecione a placa contendo de 10 a 150 colônias/propágulos/germes para uma contagem precisa. Consulte a norma ISO 7218 quando os resultados estiverem fora dos limites. Aplique os fatores de diluição, eliminando a necessidade de duas diluições sucessivas ou duplicatas.

Diferentes espécies de leveduras produzem diferentes níveis de coloração a partir do substrato, mas uma combinação de morfologia e observação de cor permitirá a contagem total de leveduras. O fungo apresenta várias cores diferentes, mas pode ser melhor diferenciado pela morfologia. Para enumerar o total de leveduras e fungos, conte todas as colônias, independentemente da cor ou morfologia.

As colônias espalhadoras são consideradas colônias únicas. Se menos de um quarto da placa estiver coberta por propagação, conte as colônias na parte não afetada e extrapole para a contagem total teórica da placa.

A confirmação não é necessária para enumerações fúngicas.

## Dilua de acordo com os resultados das especificações

As diluições são feitas de acordo com a especificação e uma quantidade calculada da diluição apropriada é adicionada à placa.

Exemplos de diluições de especificação:

| Diluição | Inoculação                                    | Especificações                                                      |
|----------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| 1/10     | 1 mL de placa de derramamento                 | Resultado negativo <10 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 10 CFU/mL     |
| 1/10     | 0,1 mL de placa de superfície ou derramamento | Resultado negativo <100 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/10     | Placa de raia de superfície (alça) de 0,01 mL | Resultado negativo <1000 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/100    | 1 mL de placa de derramamento                 | Resultado negativo <100 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/100    | 0,1 mL de placa de superfície ou derramamento | Resultado negativo <1000 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/1000   | 1 mL de placa de derramamento                 | Resultado negativo <1000 CFU/mL<br>Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL |

## Controle de qualidade

**Aparência de meio desidratado:** pó bege, homogêneo e de fluxo livre

**Aparência de meio preparado (após a adição do suplemento):** gel fluorescente a amarelo

Resposta cultural típica quando incubada de modo aeróbio a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e examinada quanto ao crescimento entre 54 e 72 horas:

| Microrganismo                   | WDCM  | Inóculo aprox. (CFU) | Resultados esperados          |
|---------------------------------|-------|----------------------|-------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 00058 | 50–200               | >50% recuperação, ilíaca/roxa |
| <i>Candida albicans</i>         | 00054 | 50–200               | >50% recuperação, ilíaca/roxa |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> | 00053 | 50–300               | >50% de recuperação           |
| <i>Eurotium rubrum</i>          | 00184 | 50–300               | >50% de recuperação           |
| <i>Escherichia coli</i>         | 00012 | $>10^4$              | Inibição completa             |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | 00003 | $>10^4$              | Inibição completa             |

## Precauções e limitações do método

1. Use boas práticas laboratoriais de microbiologia de acordo com a norma ISO 7218, exceto o revestimento duplicado obrigatório para enumeração, pois o método do One Plate requer apenas uma placa de Petri.
2. Embora levedura e fungo possam ser diferenciados na morfologia, existem algumas formas intermediárias, portanto, um exame aprimorado pode ser necessário usando uma lupa binocular ou microscópio.
3. Contagens de colônias superiores a 150 CFU por placa podem levar a uma pior definição das reações diagnósticas. Recomenda-se que uma diluição mais alta seja usada para enumerar com precisão níveis mais altos de contaminação.
4. Tanto o limite de detecção quanto o limite de quantificação são ditados pelo volume da subcultura.
5. Uma inoculação de 0,1 mL (placa de dispersão) de uma diluição de 1/10 tem um limite de detecção de 100 CFU/g e permite ao usuário quantificar (enumerar)  $> 1000$  CFU/g.
6. Uma inoculação de 1,0 mL (placa de derramamento) de uma diluição de 1/10 tem um limite de detecção de 10 CFU/g e permite ao usuário quantificar (enumerar)  $> 100$  CFU/g.
7. Se uma contagem de placas resultar em menos de 10 colônias contadas, um número estimado deverá ser expresso, por exemplo, relatar  $>10$  CFU/g ou  $>100$  CFU/g (dependendo do volume de inoculação).
8. A contagem, especialmente de fungos, pode ser imprecisa por causa da mistura de micélio e esporos assexuados ou sexuados. A contagem final dependerá do grau de fragmentação do micélio, mas o risco pode ser minimizado pela homogeneização adequada da amostra.
9. Deve-se ter cuidado ao manusear placas de Petri com crescimento de fungos, pois os esporos podem contaminar o ambiente.

## Verificação

A verificação do método deve ser feita seguindo os protocolos descritos na norma ISO 16140:3:2021. O laboratório do usuário deve seguir os critérios de concepção experimental e de aceitação descritos no capítulo 5, "Métodos quantitativos — Protocolo técnico de verificação".

## Validações

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

O One Plate Fermento e mofo foi certificado pela MicroVal como alternativa à referência da ISO 21527-1:2008 Método horizontal para a enumeração de leveduras e fungos — Parte 1: Técnica de contagem de colônias em produtos com atividade de água superior a 0,95 e método horizontal da norma ISO 21527-2:2008 para a enumeração de leveduras e fungos — Parte 2: Técnica de contagem de colônias em produtos com atividade de água menor ou igual a 0,95, de acordo com a norma de referência ISO 16140-2:2016 com o escopo de enumeração de leveduras e fungos em uma ampla gama de alimentos. Consulte o certificado da MicroVal para obter mais informações.

## Segurança

Consulte a ficha de dados de segurança do produto (SDS) relevante. Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial e proteção respiratória adequada. A base de ágar desidratada contém cloranfenicol, que é cancerígeno e um grave risco para a saúde no formato de pó/poeira.

## Armazenamento

Armazene meios de cultura desidratados a 2 a 30 °C longe da luz solar direta. Depois de aberto e reencapado, coloque o recipiente em um ambiente de baixa umidade na mesma temperatura de armazenamento. Proteja da umidade e da luz mantendo o recipiente bem fechado.

Os meios preparados e/ou suplementos devem ser armazenados a 2 a 8 °C. Não congele. O suplemento pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 5 dias.

## Expiração

Consulte a data de validade estampada no recipiente. O meio desidratado deverá ser eliminado se não fluir livremente ou se a aparência tiver mudado em relação à cor original. A expiração aplica-se ao meio no recipiente intacto quando armazenado conforme indicado.

## Descarte

As culturas devem ser descartadas adequadamente como resíduos de risco biológico. O método preferido de tratamento para resíduos de risco biológico é a autoclave. Os itens que não podem ser autoclavados podem ser desinfetados com solução de água sanitária. Consulte o consultor de segurança da sua instalação para obter instruções detalhadas.

## Atendimento ao cliente

Os serviços técnicos e os serviços ao cliente da Neogen podem ser contatados usando as seguintes informações:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Escócia Reino Unido

+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

O treinamento sobre este produto e todos os kits de teste da Neogen está disponível.

## Termos e Condições

Para obter os termos e condições completos, acesse <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

## Garantia

A Neogen Corporation não oferece nenhum tipo de garantia, expressa ou implícita, exceto que os materiais a partir dos quais seus produtos são feitos são de qualidade padrão. Se algum material estiver com defeito, a Neogen providenciará a substituição do produto. O comprador assume todos os riscos e responsabilidades resultantes da utilização deste produto. Não há garantia de comercialização deste produto ou da adequação do produto para qualquer finalidade. A Neogen não será responsável por danos, incluindo danos especiais ou consequenciais, ou despesas decorrentes direta ou indiretamente do uso deste produto.



## 製品説明

# One Plate 酵母・カビ (OP-YM)

## 使用目的

One Plate 酵母・カビ (OP-YM) は従来の培養法を利用して、水分活性 ( $a_w$ ) にかかわらず酵母およびカビの総数を迅速に計数する方法です。

## 製品概要と説明

菌類は、酵母とカビの2つのグループに大別されます。酵母は単細胞生物であるのに対し、カビは同一の核を複数有する多細胞の菌糸として生長します。菌類は食品の腐敗の主な原因であり、有害な毒素を生成する場合があります。酵母もカビも、さまざまな度合いで食品を劣化・分解させます。また、あらゆる種類の食品を汚染し、畑から店頭に至るまであらゆる時点で、穀物、ナッツ類、豆類、果物などの作物を侵す可能性があります。これは加工食品や食品混合物にも言えることです。

One Plate 酵母・カビは、さまざまな食品中の酵母とカビを計数するための選択性と識別性を備えた寒天培地です。本製品を使用すると、ISO 21527-1、ISO 21527-2 および ISO 7218 に記載の2枚以上のプレートを使用する方法に対して、1枚のプレートのみであらゆる食品 (すべての水分活性) について最短 54 時間で酵母とカビの定量結果を得ることができます。

本製品は寒天ベースの培地で、水分活性に関係なくあらゆる種類の検体から酵母とカビを迅速に計数するために必要な生長剤をすべて含んでいます。選択剤は、細菌増殖が菌類の計数に干渉するのを防ぎます。グリセロールは検体の種類に関係なく使用でき、滅菌前に培地に添加されます。その後、滅菌された溶解済み寒天培地に添加剤を添加し、主に酵母種を診断用に着色します。

## 対象使用者

この方法は適切なトレーニングを受けた有資格者による使用を対象としています。

## 製品コード

注: 各検体に適した希釈液については、ISO 6887 パート 1 ~ 5 を参照してください。

| 製品名                   | 形態                  | パッケージ サイズ                     | SKU       |            |
|-----------------------|---------------------|-------------------------------|-----------|------------|
| One Plate 酵母・カビ寒天培地   | DCM                 | 500 g                         | 700006972 | NCM1017A   |
|                       |                     | 5 kg                          | 700006973 | NCM1017B   |
|                       |                     | 10 kg                         | 700006974 | NCM1017C   |
|                       |                     | 25 kg                         | 700006975 | NCM1017D   |
| One Plate 酵母・カビ診断用添加剤 | Ready-to-Use の液状添加剤 | 100 mL ボトル (最大 50 L の培地) x 1本 | 700006976 | NCM4088-50 |
| One Plate 酵母・カビ寒天培地   | 調製済み寒天プレート*         | 90 mm 寒天プレート x 20 枚           | 要望に応じて提供  |            |
|                       |                     | 90 mm 寒天プレート x 100 枚          | 要望に応じて提供  |            |
| One Plate 酵母・カビ寒天培地   | 再溶解寒天培地**           | 250 mL ボトル x 1 本              | 要望に応じて提供  |            |

\*調製済み寒天プレートには添加剤は不要です。

\*\*再溶解寒天培地は沸騰水浴中で溶解します (詳細については、ISO 7218 を参照してください)。焼き戻し後に培地に添加剤を添加してください。

## 一般的な組成

性能規定を満たすために必要に応じて配合を調整および/または補充できます。

|            |          |
|------------|----------|
| ペプトンおよび抽出物 | 5.25 g/L |
| 生長促進剤      | 12.0 g/L |
| 緩衝液ミックス    | 4.0 g/L  |
| 選択培養剤      | 0.1 g/L  |
| 寒天         | 11.0 g/L |

調製した培地の pH (25°C): pH 5.6 ± 0.2。

## 準備

培地 32.35 グラムを精製水 960 mL に懸濁し、グリセロール (CAS 56-81-5) 40 グラムを加えます。頻繁に攪拌して、培地を完全に溶解させます。121°C で 15 分間オートクレーブします。45 ~ 50°C に冷却します。One Plate 酵母・カビ診断用添加剤 (NCM4088-50) 2.0 mL を滅菌状態で添加し、ぐるぐると混ぜてからシャーレに注ぎます。

注: One Plate 酵母・カビ診断用添加剤は、生長に必要な栄養素は含みません。添加剤を添加しない場合、酵母コロニーは本来の麦わら色/白色として現れます。

## OP-YM の作業工程図



\* プレートは便宜上最大 72 時間インキュベートできます。

## 検体準備

初期懸濁液および希釈液については、ISO 6887 の規定、または該当する製品に適した特定の国際規格に従ってください。

## 表面接種

1. 懸濁液または連続希釈液 0.1 mL を **1 枚** の調製済みまたは注入済みの OP-YM 寒天プレートに滴下します。
2. 滅菌スプレッターを使って接種材料を表面に塗抹します。

注: 表面接種には、自動スパイラル プレーター塗抹法を使用できます。典型的な汚染量の範囲が不明な場合は、10 倍希釈液が必要になることがあります。小数を推定するには、ISO 7218 に記載されているように、一次希釈液 1 mL を 3 枚の調製済みプレートの表面に塗抹します。

## 混釈平板法による接種

1. 検体 (液体の場合) 1 mL または懸濁液 (液体以外の製品の場合) もしくは連続希釈液 1 mL を空の滅菌シャーレ **1 枚** に滴下します。
2. 溶解済み OP-YM 約 15 ~ 20 mL をプレートに注ぎます。ぐるぐると混ぜて十分に均質化し、冷たい台の上で固化させます。

注: 重層は不要です。

## インキュベーション

調製済みのプレートを倒置し、25 ± 1°C で 54 ~ 72 時間インキュベートします。



## 解釈

酵母は診断用添加剤の基質と相互作用し、薄紫色～紫色のコロニーを形成します。カビは自然な色素沈着を呈しますが、生長の後期段階では基質から色を得る可能性があります。酵母のコロニーは光沢がある場合もあればない場合もあります。一方でカビは、平らなまたはふわふわと広がった散布体やコロニーを形成し、多くの場合、色付きの子実体や胞子構造を備えています。この形態学的な違いを利用して、必要に応じて酵母とカビを別々に数えることができます。

## コロニー形成単位の計数

正確な計数のために、10～150個のコロニー/散布体/芽を含むプレートを選びます。結果が限界値を超えている場合は、ISO 7218を参照してください。希釈倍率を適用すると、2回の連続希釈や複製の必要がなくなります。

種の異なる酵母は基質からの発色レベルも異なりますが、形態と色の観察を組み合わせることで酵母の計数が可能になります。カビはさまざまな色を呈しますが、形態によって容易に識別できます。酵母とカビを計数するには、色や形態に関係なくすべてのコロニーを数えます。

拡散コロニーは単一のコロニーと見なします。プレートの4分の1未満が拡散コロニーに覆われている場合は、影響を受けていない部分のコロニーを数え、そのプレートの理論上の合計数を外挿します。

菌類の計数については確認は不要です。

## 規定希釈倍率ごとの結果

規定通りに希釈を行い、計算された適切な量の希釈液をプレートに滴下します。

規定希釈液の例:

| 希釈倍率   | 接種                             | 仕様                                      |
|--------|--------------------------------|-----------------------------------------|
| 1/10   | 1 mL 混釈平板法                     | 陰性結果 <10 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 10 CFU/mL     |
| 1/10   | 0.1 mL 表面塗抹法<br>または混釈平板法       | 陰性結果 <100 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/10   | 0.01 mL 表面 (ループ)<br>ストロークプレート法 | 陰性結果 <1000 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/100  | 1 mL 混釈平板法                     | 陰性結果 <100 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/100  | 0.1 mL 表面塗抹法<br>または混釈平板法       | 陰性結果 <1000 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/1000 | 1 mL 混釈平板法                     | 陰性結果 <1000 CFU/mL<br>陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL |

## 品質管理

**乾燥培地の外観:** ベージュ色、均質、流動性の粉末

**調製済み培地の外観 (添加剤追加後):** 蛍光～黄色のゲル状

25 ± 1°C で好氣的にインキュベートし、54 ～ 72 時間後に発育を調べた場合の典型的な培養反応:

| 微生物                 | WDCM  | 接種量の概算 (CFU)     | 期待される結果         |
|---------------------|-------|------------------|-----------------|
| サッカロマイセス<br>セレビシエ   | 00058 | 50-200           | 回復率 >50%、薄紫色/紫色 |
| カンジダ アルビカンス         | 00054 | 50-200           | 回復率 >50%、薄紫色/紫色 |
| アスペルギルス<br>ブラジリエンシス | 00053 | 50-300           | 回復率 >50%        |
| ユーロチウム ルブラム         | 00184 | 50-300           | 回復率 >50%        |
| 大腸菌                 | 00012 | >10 <sup>4</sup> | 完全阻害            |
| 枯草菌                 | 00003 | >10 <sup>4</sup> | 完全阻害            |

## この方法の注意事項と制限

- ISO 7218 に準拠した適切な微生物検査室の慣行に従います。ただし、One Plate 法はシャーレを 1 枚しか必要としないため、計数に必須のプレート複製は除きます。
- 酵母とカビは形態で識別できますが、中間的な形態もあるため双眼ルーペや顕微鏡を使用した精密な検査が必要になる場合もあります。
- プレートあたりのコロニー数が 150 CFU を超える場合、診断反応の正確性が不十分になる可能性があります。汚染量が高い場合は、希釈倍率を上げて正確な計数を行うことが推奨されます。
- 検出限界および定量限界はいずれも継代培養の量によって決まります。
- 1/10 希釈液を 0.1 mL 接種 (拡散平板法) すると、検出限界は 100 CFU/g となり、1000 CFU/g を超える量を定量 (計数) できます。
- 1/10 希釈液を 1.0 mL 接種 (混濁平板法) すると、検出限界は 10 CFU/g となり、100 CFU/g を超える量を定量 (計数) できます。
- プレート計数の結果コロニーが 10 個未満であった場合は、推定数を表記する必要があります (例: 接種量に応じて、>10 CFU/g または >100 CFU/g と報告します)。
- 特にカビの計数は、菌糸体と無性孢子・有性孢子が混在しているため不正確になる可能性があります。最終的な計数は菌糸体の断片化の程度によって左右されますが、検体を適切に均質化することでリスクを最小限に抑えることができます。
- カビが生えたシャーレを扱う際には、孢子が周囲を汚染する可能性があるため注意が必要です。

## 検証

方法の検証は、ISO 16140:3:2021 に記載のプロトコルに従って行います。この方法を使用する検査室は、第 5 章「定量法—検証のための技術プロトコル」に記載されている実験計画および合否基準に従う必要があります。

## 妥当性確認

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate 酵母・カビは、参照基準 ISO 21527-1:2008 酵母とカビの計数のための水平法 — パート 1: 水分活性が 0.95 を超える製品のコロニー計数法の代替法、および ISO 21527-2:2008 酵母とカビの計数のための水平法 — パート 2: 水分活性 0.95 未満の製品のコロニー計数法の代替法として MicroVal 認定を受けており、さまざまな食品における酵母とカビの計数の範囲において参照基準 ISO 16140-2:2016 に準拠しています。詳細については、MicroVal 証明書を参照してください。

## 安全性

関連する製品安全データシート (SDS) を参照してください。保護手袋/保護服/保護眼鏡/顔面保護具、および適切な呼吸保護具を着用してください。乾燥寒天培地にはクロラムフェニコールが含まれています。これは発がん性物質であり、粉末/粉塵の形態では深刻な健康被害をもたらします。

## 保管

乾燥培地は、直射日光を避けて 2 ~ 30°C で保管してください。開封後に再度蓋を閉めたら、上記の保管温度かつ低湿度の環境で容器を保管します。容器をしっかりと閉めて、湿気や光から保護してください。

調製済みの培地および/または添加剤は、2 ~ 8°C で保管してください。凍らせないでください。添加剤は室温で最大 5 日間保管できます。

## 使用期限

容器に刻印されている使用期限を確認してください。乾燥培地に流動性がない場合、または外観が元の色から変色した場合は廃棄してください。使用期限は、破損していない容器に入った培地を指示どおりに保管した場合に適用されます。

## 廃棄

培養物はバイオハザード廃棄物として適切に廃棄する必要があります。バイオハザード廃棄物の処理方法として、オートクレーブが推奨されます。オートクレーブ処理できないものについては、漂白剤溶液で消毒できます。詳細な手順については、施設の安全アドバイザーに相談してください。

## カスタマーサービス

NEOGEN のカスタマーサービスおよびテクニカルサービスには以下からお問い合わせください。

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

本製品および NEOGEN のすべての検査キットに関するトレーニングをご利用いただけます。

## 利用規約

ご利用規約全文は以下のリンクからご覧いただけます。<https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

## 保証

NEOGEN Corporationは、製品の原材料が標準的な品質であることを除き、明示または黙示を問わずいかなる保証も行いません。材料に欠陥がある場合、NEOGEN は製品を交換いたします。購入者は、本製品の使用に関するすべてのリスクと責任を負うものとします。本製品の商品性、またはいかなる目的に対する製品の適合性も保証しません。NEOGEN は、本製品の使用により直接的または間接的に生じる特別損害もしくは結果的損害、または費用を含むいかなる損害についても責任を負わないものとします。



## 产品说明

# One Plate 酵母菌和霉菌 (OP-YM)

### 预期用途

One Plate 酵母菌和霉菌 (OP-YM) 是一种采用传统培养方法计算酵母菌和霉菌菌落数的快捷方法, 而无论水分活性 ( $a_w$ ) 如何。

### 产品概述和说明

真菌分为两大类: 酵母菌和霉菌。酵母菌是单细胞生物, 而霉菌则以多细胞细丝的形式生长, 当中包含了多个相同细胞核。真菌是食品变质的主要原因, 并可能产生有害毒素。酵母菌和霉菌都会导致食物不同程度的变质和分解。无论是田间还是商店, 它们可以随时污染各种类型的食物, 入侵田间的农作物, 例如谷物、坚果、豆类和水果。加工食品和食品混合物也会受到影响。

One Plate 酵母菌和霉菌是一种选择性和差异性琼脂, 用于计数各种食品中的酵母菌和霉菌。该产品仅使用一张测试片, 就可以在至少 54 小时内对所有食品 (所有水分活性) 得出酵母菌和霉菌的定量结果, 而 ISO 21527-1、ISO 21527-2 和 ISO 7218 中, 则需要 2 张或更多。

该产品由琼脂基质组成, 提供所有必需的生长剂, 无论水分活性如何, 都可以从任一样品类型中快速计数酵母菌和霉菌。选择性试剂可以防止细菌生长, 以免干扰真菌计数。在灭菌前, 将甘油添加到基质中, 无论样品类型如何, 均可使用。灭菌后, 在熔融琼脂中加入补充剂, 这主要产生酵母菌种的诊断性着色。

### 目标用户

该方法旨在供经过适当培训的合格人员使用。

### 产品代码

注: 请参阅 ISO 6887 第 1-5 部分, 了解合适的样品特定稀释剂。

| 产品名称                  | 格式         | 包装大小                          | SKU       |            |
|-----------------------|------------|-------------------------------|-----------|------------|
| One Plate 酵母菌和霉菌琼脂    | DCM        | 500 g                         | 700006972 | NCM1017A   |
|                       |            | 5 kg                          | 700006973 | NCM1017B   |
|                       |            | 10 kg                         | 700006974 | NCM1017C   |
|                       |            | 25 kg                         | 700006975 | NCM1017D   |
| One Plate 酵母菌和霉菌诊断补充剂 | 液体即用补充剂    | 1 x 100 mL 瓶 (最多可容纳 50 L 培养基) | 700006976 | NCM4088-50 |
| One Plate 酵母菌和霉菌琼脂    | 制备的琼脂测试片*  | 20 x 90 mm 琼脂测试片              | 根据要求      |            |
|                       |            | 100 x 90 mm 琼脂测试片             | 根据要求      |            |
| One Plate 酵母菌和霉菌琼脂    | 准备重新熔化琼脂** | 1 x 250 mL 瓶                  | 根据要求      |            |

\*制备的琼脂测试片不需要补充。

\*\*准备重新熔化琼脂应在蒸汽水浴中熔化 (请参阅 ISO 7218 以获取进一步的指导)。回火后, 应补充培养基。

典型成分

可以根据需要，调整和/或补充配方，以满足性能规格。

|         |          |
|---------|----------|
| 蛋白胨和提取物 | 5.25 g/L |
| 生长促进剂   | 12.0 g/L |
| 缓冲液混合物  | 4.0 g/L  |
| 选择性组合   | 0.1 g/L  |
| 琼脂      | 11.0 g/L |

制备培养基在 25°C 时的 pH 值：pH 值 5.6 ± 0.2。

制备

将 32.35 克培养基悬浮在 960 mL 纯化水中，并加入 40 克甘油 (CAS 56-81-5)。频繁搅拌，以便完全溶解培养基。在 121°C 下高压灭菌 15 分钟。冷却至 45-50°C。无菌加入 2.0 mL One Plate 酵母菌和霉菌诊断补充剂 (NCM4088-50)，旋转混合，然后倒入陪替氏培养皿中。

注：One Plate 酵母菌和霉菌诊断补充剂并不增加生长要求。如果不添加补充剂，酵母菌落会呈现为天然稻草/白色。

OP-YM 流程图



\* 为方便起见，测试片可以培育长达 72 小时。

样品制备

遵循 ISO 6887 的规范或适用于相关产品的特定国际标准，进行初始悬浮和稀释。

表面接种

1. 将 0.1 mL 的悬浮液或任意序列稀释液转移到一张制备或预倾倒的 OP-YM 琼脂测试片的表面。
2. 借助无菌撒布器，将接种物铺在表面上。

注：自动螺旋平皿接种沉积技术可用于表面接种。如果典型污染范围未知，则可能需要十进制稀释。要估算较小数量，按照 ISO 7218 中的描述，将 1 mL 初级稀释液涂抹在 3 个制备测试片的表面上。

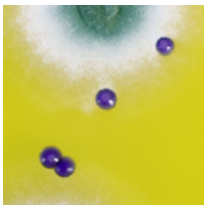
倾倒测试片接种

1. 将 1 mL 样品 (如果是液体) 或 1 mL 悬浮液 (如果是其他产品) 或任意序列稀释液转移到一个空的无菌陪替氏培养皿中。
2. 将大约 15-20 mL 熔融的 OP-YM 倒入测试片中。旋转摇匀，然后在凉爽的表面上凝固。

注：不需要叠加。

培育

将准备好的测试片倒置，并在 25±1°C 下培育 54-72 小时。



解读

酵母菌与诊断补充剂中的底物相互作用，产生淡紫色至紫色菌落。霉菌会呈现出自然色素沉着，但在生长的后期阶段，可能会从底物上获得颜色。酵母菌产生哑光或有光泽的菌落，而霉菌产生扁平或蓬松的扩散繁殖体或菌落，通常具有彩色果实或孢子结构。如有需要，利用这种形态差异，可以分别计数酵母菌和霉菌。

计数菌落形成单位

选择含有 10–150 个菌落/繁殖体/细菌的测试片，完成准确计数。当结果超出限额时，请参阅 ISO 7218。应用稀释因子，无需连续两次稀释或重复稀释。

不同的酵母菌种从底物中产生不同程度的着色，但形态学和颜色观察相结合，可以获得酵母菌总数。霉菌呈现出各种不同的颜色，但从形态上可以更好区分。要计数酵母菌和霉菌总数，请计算所有菌落，无论其颜色或形态如何。

扩散的菌落则视为单个菌落。如果不到四分之一的培养皿因扩散而过度生长，则计算未受影响部分的菌落，并推断出培养皿的理论总数。

真菌计数不需要确认。

稀释至规格结果

根据规格进行稀释，并将适当稀释的计算量添加到测试片中。

规格稀释示例：

| 稀释     | 接种                   | 规格                                      |
|--------|----------------------|-----------------------------------------|
| 1/10   | 1 mL 倾倒测试片           | 阴性结果 <10 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 10 CFU/mL     |
| 1/10   | 0.1 mL 表面或倾倒测试片      | 阴性结果 <100 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/10   | 0.01 mL 表面 (环) 条纹测试片 | 阴性结果 <1000 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/100  | 1 mL 倾倒测试片           | 阴性结果 <100 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 100 CFU/mL   |
| 1/100  | 0.1 mL 表面或倾倒测试片      | 阴性结果 <1000 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL |
| 1/1000 | 1 mL 倾倒测试片           | 阴性结果 <1000 CFU/mL<br>阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL |

## 质量管理

**脱水培养基的表象:**米色、均匀、自由流动的粉末

**制备的培养基的外观(添加了补充剂之后):**荧光至黄色凝胶

在  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  有氧培育并在 54-72 小时检查生长时的典型培养反应:

| 微生物   | WDCM  | 大约接种物 (CFU) | 预计结果             |
|-------|-------|-------------|------------------|
| 酿酒酵母  | 00058 | 50-200      | >50% 回收率, 淡紫色/紫色 |
| 白假丝酵母 | 00054 | 50-200      | >50% 回收率, 淡紫色/紫色 |
| 巴西曲霉  | 00053 | 50-300      | >50% 回收率         |
| 赤散囊菌  | 00184 | 50-300      | >50% 回收率         |
| 大肠杆菌  | 00012 | $>10^4$     | 完全抑制             |
| 枯草杆菌  | 00003 | $>10^4$     | 完全抑制             |

## 该方法的注意事项和局限性

1. 根据 ISO 7218, 运用良好的微生物学实验室规范, 但强制性重复计数除外, 因为 One Plate 片方法只需要一个陪替氏培养皿。
2. 虽然酵母菌和霉菌可以在形态上区分, 但也有一些中间形式, 因此可能需要使用双目放大镜或显微镜来强化检查。
3. 每张测试片的菌落计数超过 150 CFU 会导致难以确定诊断反应; 建议使用较高的稀释度, 以便准确计算较高的污染水平。
4. 检测限值和定量限值均由传代培养体积决定。
5. 接种稀释度为 1/10 的 1.0 mL (扩散测试片), 检测限值为 100 CFU/g, 用户可以量化 (枚举)  $> 1000$  CFU/g。
6. 接种稀释度为 1/10 的 1.0 mL (倾倒测试片), 检测限值为 10 CFU/g, 用户可以量化 (枚举)  $> 100$  CFU/g。
7. 如果测试片计数导致计数的菌落少于 10 个, 则应表示估计数, 例如, 报告  $>10$  CFU/g 或  $>100$  CFU/g (取决于接种体积)。
8. 由于菌丝体和无性或有性孢子的混合, 尤其是霉菌的计数可能不准确。最终计数将取决于菌丝体的碎裂程度, 但可以适当将样品匀化, 将风险降至最低。
9. 小心处理有霉菌生长的陪替氏培养皿, 因为孢子会污染环境。

## 验证

应按照 ISO 16140:3:2021 中描述的协议, 开展方法验证。用户实验室应遵循第 5 章“定量方法——验证技术协议”中所述的实验设计和验收标准。

## 确认

### MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate 酵母菌和霉菌已通过 MicroVal 认证, 可替代参考 ISO 21527-1:2008 酵母菌和霉菌计数的水平方法—第 1 部分: 水分活性大于 0,95 的产品中的菌落计数技术和 ISO 21527-2:2008 酵母菌和霉菌计数水平方法—第 2 部分: 根据参考标准 ISO 16140-2:2016, 水分活性小于或等于 0,95 的产品中的菌落计数技术, 范围是各种食品中酵母菌和霉菌的计数。有关详细信息, 请参阅 MicroVal 证书。

## 安全性

请参阅相关产品安全数据表 (SDS)。穿戴防护手套/防护服/护目镜/面部防护装置, 佩戴合适的呼吸防护装置。脱水琼脂基质含有氯霉素, 这是一种致癌物质, 其粉末/粉尘形式会对健康造成严重危害。

## 存储

在 2-30°C 储存脱水培养基, 避免阳光直射。打开并重新盖上盖子后, 以相同储存温度, 将容器放置在低湿度环境中。保持容器密闭, 防止潮湿和光线照射。

制备的培养基和/或补充剂应储存在 2-8°C。请勿冷冻贮藏。补充剂可在室温下储存长达 5 天。

## 到期

请参阅容器上印有的有效期。如果脱水培养基并非自由流动, 或者外观与原始颜色相比有所改变, 则应丢弃。按照指示储存时, 有效期适用于其完整容器中的培养基。

## 处置

培养物应当作为生物危害废物适当处理。处理生物危害废物的首选方法是高压灭菌。不能高压灭菌的物品可以用漂白剂溶液消毒。有关详细说明, 请咨询您设施的安全顾问。

## 客户服务

可以使用以下联系信息, 联系 Neogen 客户服务和技术服务:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK  
+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

提供有关本品及所有 Neogen 测试套件的培训。

## 条款和条件

如需完整条款和条件, 请访问 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

## 质保

Neogen Corporation 不作明示或暗示的保证, 但其产品材料为标准质量除外。如有材料存在缺陷, Neogen 将提供产品更换。买方承担因使用本产品而产生的所有风险和责任。我们不保证本产品的适销性或产品适用于任意目的。若因使用本产品而直接或间接产生损害, 包括特殊损害或后果性损害, 或费用, Neogen 概不负责。



## 제품 지침

# One Plate 효모 및 곰팡이 (OP-YM)

### 사용 목적

One Plate 효모 및 곰팡이 (OP-YM)는 수분 활성도( $a_w$ )에 관계없이 기존 배양 방법을 사용하여 효모 및 곰팡이를 신속하게 계수할 수 있는 방법입니다.

### 제품 요약 및 설명

균류는 효모, 곰팡이와 같이 두 가지 주요 그룹으로 나뉩니다. 효모는 단세포 생물인 반면 곰팡이는 여러 개의 동일한 핵을 포함하는 다세포 필라멘트로 자랍니다. 균류는 식품 부패의 주요 원인이며, 잠재적으로 유해한 독소를 생성합니다. 효모와 곰팡이는 모두 식품에서 다양한 정도의 변질과 분해를 유발합니다. 모든 종류의 식품을 오염시킬 수 있으며, 발에서 매장에 이르기까지 언제든지 발의 곡물, 견과류, 콩 및 과일과 같은 작물에 침입할 수 있습니다. 가공 식품과 식품 혼합물도 영향을 받을 수 있습니다.

One Plate 효모 및 곰팡이 는 광범위한 식품에서 효모와 곰팡이를 계수할 수 있는 선택적 차별화 한천입니다. ISO 21527-1, ISO 21527-2 및 ISO 7218의 설명에 따라 플레이트를 2개 이상 사용하는 대신 플레이트를 하나만 사용하여 모든 식품(모든 수분 활성도)에서 최소 54시간 내에 효모 및 곰팡이의 정량 결과를 얻을 수 있습니다.

이 제품은 한천 염기로 구성되어 있어 수분 활성도에 관계없이 모든 시료 유형에서 효모와 곰팡이를 빠르게 계수할 수 있도록 필요한 모든 성장제를 제공합니다. 선택적 제제는 박테리아 성장을 억제하여 균류 계수에 방해가 되지 않도록 합니다. 글리세롤이 멸균 전 염기에 첨가되며, 시료 유형에 관계없이 사용됩니다. 그런 다음 멸균 후 용융 한천에 보충액을 추가하여 주로 효모 종을 진단 착색시킵니다.

### 대상 사용자

이 방법은 자격을 갖추고 있으며 적절한 교육을 받은 직원이 사용하도록 설계되었습니다.

### 제품 코드

참고: 적합한 시료별 희석제에 대해서는 ISO 6887 1~5부를 참조하십시오.

| 제품 이름                     | 형태            | 팩 크기                    | SKU       |            |
|---------------------------|---------------|-------------------------|-----------|------------|
| One Plate 효모 및 곰팡이 한천     | DCM           | 500g                    | 700006972 | NCM1017A   |
|                           |               | 5kg                     | 700006973 | NCM1017B   |
|                           |               | 10kg                    | 700006974 | NCM1017C   |
|                           |               | 25kg                    | 700006975 | NCM1017D   |
| One Plate 효모 및 곰팡이 진단 보충액 | 액상 즉시 사용 보충액  | 100mL 병 1개(최대 50L의 배지용) | 700006976 | NCM4088-50 |
| One 효모 및 곰팡이 한천           | 준비된 한천 플레이트*  | 20 x 90mm 한천 플레이트       | 요청 시      |            |
|                           |               | 100 x 90mm 한천 플레이트      | 요청 시      |            |
| One 효모 및 곰팡이 한천           | 다시 녹임 가능 한천** | 250mL 병 1개              | 요청 시      |            |

\*준비된 한천 플레이트는 보충액이 필요하지 않습니다.

\*\*다시 녹임 가능 한천은 김이 날 정도로 뜨거운 물이 담긴 수조에서 녹여야 합니다(자세한 지침은 ISO 7218 참조). 템퍼링 후 배지를 보충해야 합니다.

## 일반 구성

제형은 성능 사양을 충족하기 위해 필요에 따라 조정 및/또는 보충될 수 있습니다.

|          |         |
|----------|---------|
| 펩톤 및 추출물 | 5.25g/L |
| 성장 촉진제   | 12.0g/L |
| 완충 혼합물   | 4.0g/L  |
| 선택적 혼합물  | 0.1g/L  |
| 한천       | 11.0g/L |

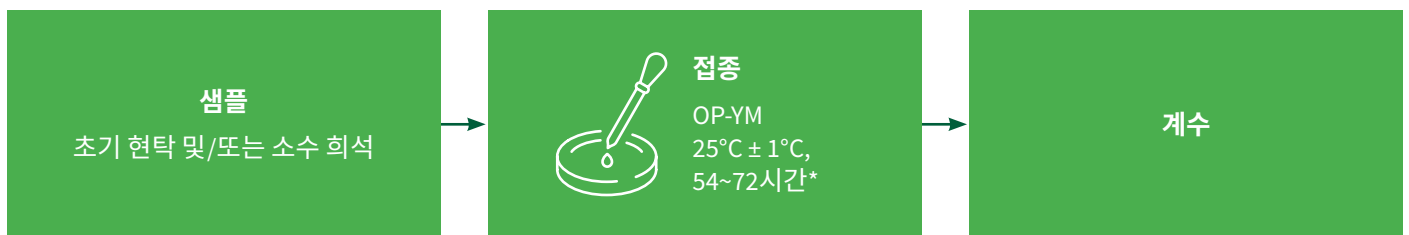
25°C 기준 준비된 배지의 pH: pH 5.6 ± 0.2.

## 준비

정제수 960mL에 배지 32.35g을 현탁시키고 글리세롤 40g(CAS 56-81-5)을 추가하십시오. 자주 교반하여 배지를 완전히 녹이십시오. 121°C에서 15분 동안 고압 멸균하십시오. 45~50°C로 식히십시오. One Plate Yeast and Mold 진단 보충액(NCM4088-50) 2.0mL를 무균 상태로 추가하고 휘저어 혼합한 다음 페트리 접시에 부으십시오.

참고: One Plate Yeast and Mould 진단 보충액은 성장 요건에 기여하지 않습니다. 보충액을 추가하지 않으면 효모 집락이 자연적인 밀짚색/흰색으로 나타납니다.

## OP-YM 흐름도



\* 플레이트는 편의를 위해 최대 72시간 동안 배양할 수 있습니다.

## 시료 준비

ISO 6887의 사양 또는 초기 현탁 및 희석에 대해 해당 제품에 적합한 특정 국제 표준을 따르십시오.

## 표면 접종

1. 현탁액 또는 일련 희석액 0.1mL를 준비된 또는 사전 붓기 완료 OP-YM 한천 플레이트 **1개**의 표면으로 옮기십시오.
2. 멸균 살포기를 사용하여 접종물을 표면에 퍼 바르십시오.

참고: 자동 나선형 플레이팅 증착 기법을 표면 접종에 사용할 수 있습니다. 일반적인 오염 범위를 알 수 없는 경우 소수 희석이 필요할 수 있습니다. 소량을 추정하려면 ISO 7218에 설명된 대로 1차 희석액 1mL를 준비된 플레이트 3개의 표면에 퍼 바르십시오.

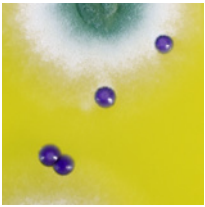
## 붓기식 플레이트 접종

1. 액체 시료 1mL, 기타 제품이나 일련 희석액의 경우 현탁액 1mL를 빈 멸균 페트리 접시 **1개**로 옮깁니다.
2. 약 15~20mL의 용융된 OP-YM을 플레이트에 붓습니다. 휘저어 잘 균질화하고 서늘한 표면에서 응고시킵니다.

참고: 중첩은 필요하지 않습니다.

## 배양

준비된 플레이트를 뒤집고 25 ± 1°C에서 54~72시간 동안 배양하십시오.



## 해석

효모는 진단 보충액의 기질과 상호 작용하여 라일락색-보라색 집락을 생성합니다. 곰팡이는 자연적인 색소 침착을 나타내지만, 성장의 후기 단계에서 기질로 인해 착색될 수 있습니다. 효모는 무광택 또는 광택 집락을 생성하는 반면, 곰팡이는 흔히 착색된 자실 또는 포자 구조의 평평하거나 솜털 같은 확산 증식체 또는 집락을 생성합니다. 이 형태학적 차이를 사용하여 원하는 경우 효모와 곰팡이를 별도로 계산할 수 있습니다.

## 집락 형성 단위 계수

정확한 계수를 위해 10~150개의 집락/증식체/세균이 포함된 플레이트를 선택하십시오. 결과가 한계를 벗어난 경우 ISO 7218을 참조하십시오. 희석 계수를 적용하십시오. 이렇게 하면 2회 연속으로 희석하거나 중복할 필요가 없습니다.

서로 다른 효모 종은 기질에서 각기 다른 수준의 착색을 보이지만, 형태학과 색상 관찰의 조합으로 총 효모 수를 확인할 수 있습니다. 곰팡이는 색상이 다양하지만 형태학에 근거하여 더 효과적으로 구별할 수 있습니다. 전체 효모와 곰팡이를 계수하려면 색상이나 형태에 관계없이 모든 집락을 계수하십시오.

확산 집락은 단일 집락으로 간주됩니다. 확산으로 인해 접시의 1/4 미만에서 과성장한 경우 영향을 받지 않은 부분의 집락을 계수하여 접시의 이론적 총수를 외삽하십시오.

균류 계수에는 확인이 필요하지 않습니다.

## 사양에 따른 희석 결과

사양에 따라 희석이 이루어지며, 계산된 양의 적절한 희석액이 플레이트에 추가됩니다.

사양 희석의 예:

| 희석     | 접종                      | 사양                                      |
|--------|-------------------------|-----------------------------------------|
| 1/10   | 1mL 붓기식 플레이트            | 음성 결과 <10CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 10CFU/mL     |
| 1/10   | 0.1mL 표면 또는 붓기식 플레이트    | 음성 결과 <100CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 100CFU/mL   |
| 1/10   | 0.01mL 표면(루프) 선상도말 플레이트 | 음성 결과 <1000CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 1000CFU/mL |
| 1/100  | 1mL 붓기식 플레이트            | 음성 결과 <100CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 100CFU/mL   |
| 1/100  | 0.1mL 표면 또는 붓기식 플레이트    | 음성 결과 <1000CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 1000CFU/mL |
| 1/1000 | 1mL 붓기식 플레이트            | 음성 결과 <1000CFU/mL<br>양성 결과 ≥ 1000CFU/mL |

## 품질 관리

**탈수된 배지의 외형:** 베이지색, 균질한 형태, 자유롭게 흐르는 분말

**준비된 배지의 외형(보충 추가 후):** 형광색-노란색 젤

25 ± 1°C에서 호기성으로 배양하고 54~72시간 후 성장을 검사했을 때의 일반 배양 반응:

| 미생물                    | WDCM  | 대략적인 접종물(CFU)    | 예상 결과             |
|------------------------|-------|------------------|-------------------|
| <i>사카로미세스 세레비시아</i>    | 00058 | 50-200           | >50% 회수, 라일락색/보라색 |
| <i>칸디다 알비칸스</i>        | 00054 | 50-200           | >50% 회수, 라일락색/보라색 |
| <i>아스페르길루스 브라질리엔시스</i> | 00053 | 50-300           | >50% 회수           |
| <i>유로툼 루브룸</i>         | 00184 | 50-300           | >50% 회수           |
| <i>대장균</i>             | 00012 | >10 <sup>4</sup> | 완전 억제             |
| <i>바실루스 서브틸리스</i>      | 00003 | >10 <sup>4</sup> | 완전 억제             |

## 방법의 주의 사항 및 한계

1. One Plate 방법에는 하나의 펠트리 접시만 필요하므로, 계수를 위한 필수 중복 플레이트팅을 제외하고 ISO 7218에 따라 우수한 미생물학 실험실 관행을 이용합니다.
2. 효모와 곰팡이는 형태학적으로 구별할 수 있지만, 중간에 해당하는 일부 형태가 있으므로 양안 돋보기 또는 현미경을 사용한 정밀 검사가 필요할 수 있습니다.
3. 플레이트당 집락 수가 150CFU를 초과하면 진단 반응의 정의가 불량해질 수 있습니다. 더 높은 수준의 오염을 정확하게 계수하기 위해 농도가 더 높은 희석액을 사용하는 것이 좋습니다.
4. 검출 한계와 정량화의 한계는 모두 하위 배양 용량에 의해 결정됩니다.
5. 1/10 희석액 0.1mL(퍼 바르기식 플레이트)接种의 검출 한계는 100CFU/g이며, 사용자는 > 1000CFU/g 한계에서 정량화(열거)할 수 있습니다.
6. 1/10 희석액 1.0mL(붓기식 플레이트)接种의 검출 한계는 10CFU/g이며, 사용자는 > 100CFU/g 한계에서 정량화(열거)할 수 있습니다.
7. 플레이트의 계수 결과 집락 수가 10개 미만인 경우 추정 수를 표현해야 합니다(예: >10CFU/g 또는 >100CFU/g으로 보고(접종 용량에 따라 다름)).
8. 특히 곰팡이의 계수는 균사체와 무성 또는 유성 포자의 혼합으로 인해 부정확할 수 있습니다. 최종 수는 균사체의 단편화 정도에 따라 달라지지만, 적절한 시료 균질화를 통해 위험을 최소화할 수 있습니다.
9. 포자가 환경을 오염시킬 수 있으므로 곰팡이가 성장하는 펠트리 접시를 취급할 때는 주의해야 합니다.

## 검증

방법 검증은 ISO 16140:3:2021에 설명된 프로토콜에 따라 수행해야 합니다. 사용자 실험실은 5장 '정량 방법 - 검증을 위한 기술 프로토콜'에 설명된 실험 설계 및 허용 기준을 따라야 합니다.

## 유효성 검사

### MicroVal(ISO 16140-2:2016)

One Plate Yeast and Mold는 효모 및 곰팡이 계수를 위한 참조 ISO 21527-1:2008 수평적 방법(1부: 수분 활성도가 0.95보다 큰 제품의 집락 계수 기법) 및 효모 및 곰팡이 계수를 위한 ISO 21527-2:2008 수평적 방법(2부: 수분 활성도가 0.95 이하인 제품의 집락 계수 기법)의 대안으로 참조 표준 ISO 16140-2:2016에 따라 광범위한 식품에서 효모 및 곰팡이 계수 범위로 MicroVal의 인증을 받았습니다. 자세한 내용은 MicroVal 인증서를 참조하십시오.

## 안전

관련 제품 안전 데이터 시트(SDS)를 참조하십시오. 보호 장갑/보호복/보안경/안면 보호구 및 적절한 호흡기 보호구를 착용하십시오. 탈수된 한천 염기에는 발암 물질인 클로람페니콜이 포함되어 있으며, 이는 분말/먼지 형태에서 심각한 건강 위험을 초래합니다.

## 보관

탈수된 배양 배지는 직사광선을 피해 2~30°C에서 보관하십시오. 용기를 개봉하고 뚜껑을 다시 덮은 후에는 동일한 보관 온도에서 습도가 낮은 환경에 용기를 두십시오. 용기를 단단히 닫아 습기와 빛으로부터 보호하십시오.

준비된 배지 및/또는 보충액은 2~8°C에서 보관해야 합니다. 얼리지 마십시오. 보충액은 실온에서 최대 5일 동안 보관할 수 있습니다.

## 만료

용기에 새겨져 있는 만료 날짜를 참조하십시오. 탈수된 배지는 자유롭게 흐르지 않거나 외형이 원래 색상에서 변경된 경우 폐기해야 합니다. 만료는 온전한 용기에 들어 있으며 지침에 따라 보관한 배지에 적용됩니다.

## 폐기

배양물은 생물학적 위험 폐기물로 적절하게 처리해야 합니다. 생물학적 위험 폐기물을 처리하는 데 선호되는 방법은 고압 멸균입니다. 고압 멸균할 수 없는 항목은 표백제로 소독할 수 있습니다. 자세한 지침은 해당 시설의 안전 자문에게 문의하십시오.

## 고객 서비스

다음 연락처 정보를 사용하여 Neogen 고객 서비스 및 기술 서비스에 문의할 수 있습니다.

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

[infoUK@neogen.com](mailto:infoUK@neogen.com)

이 제품 및 모든 Neogen 테스트 키트에 대한 교육이 가능합니다.

## 약관

약관 전문은 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions> 참조

## 보증

Neogen Corporation은 제품을 제작하는 재료가 표준 품질이라는 점을 제외하고는 명시적이든 묵시적이든 어떠한 종류의 보증도 하지 않습니다. 재료에 결함이 있는 경우 Neogen은 제품 교체품을 제공합니다. 이 제품의 사용으로 인해 발생하는 모든 위험과 책임은 구매자의 몫입니다. 이 제품의 상품성 또는 어떤 목적으로든 제품의 적합성에 대한 보증은 없습니다. Neogen은 이 제품의 사용으로 인해 직간접적으로 발생하는 특수하거나 결과적인 손해 또는 비용을 포함한 어떠한 손해에 대해서도 책임을 지지 않습니다.

