




















## Product Instructions

-  (EN) Coliform Count Plate
-  (FR) Test pour la numération des Coliformes
-  (DE) Coliforme Zählplatte
-  (IT) Piastra per il conteggio dei coliformi
-  (ES) Placa para recuento de coliformes
-  (NL) Coliform Telplaat
-  (SV) Odlingsplatta för koliformer
-  (DA) Coliform Tælleplade
-  (NO) For koliforme bakterier
-  (FI) Koliformien kasvatusalusta
-  (PT) Placa para Contagem de Coliformes
-  (EL) Πλακίδιο Καταμέτρησης Κολοβακτηριδίων
-  (PL) Płytko do oznaczania liczby bakterii z grupy coli
-  (RU) Тест-пластина для подсчета колиформных бактерий
-  (TR) Koliform Sayım Plakası
-  (JA) 大腸菌群数測定用プレート
-  (ZH) 大肠菌群测试片
-  (TH) แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนโคลิฟอร์ม
-  (KO) 대장균군 측정용 플레이트

## Product Instructions

# Coliform Count Plate

### Product Description and Intended Use

The Neogen® Petrifilm® Coliform Count (CC) Plate is a sample-ready-culture medium system which contains modified Violet Red Bile (VRB) nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and a tetrazolium indicator that facilitates colony enumeration. Neogen Petrifilm CC Plates are used for the enumeration of coliforms in the food and beverage and bottled water industries. Neogen Petrifilm CC Plate components are decontaminated though not sterilized. Neogen Food Safety is certified to International Organization for Standardization (ISO) 9001 for design and manufacturing. Neogen Petrifilm CC Plate has not been evaluated with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible microorganism strains.

The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> define coliforms as Gram-negative rods, which produce acid and gas from lactose fermentation. Coliform colonies growing on the Neogen Petrifilm CC Plate produce acid, which causes the pH indicator to deepen the gel color; gas trapped around red colonies indicates coliforms.

ISO defines coliforms by their ability to grow in method-specific, selective media. ISO method 4832<sup>1</sup>, enumerating coliforms by colony-count technique, defines coliforms as acid producers on VRB with lactose (VRBL) agar. On Neogen Petrifilm CC Plates these acid-producing coliforms are indicated by red colonies with or without gas production. ISO method 4831<sup>2</sup>, enumerating coliforms by the most probable number (MPN) method, defines coliforms by their ability to grow and produce gas from lactose in a selective broth. On Neogen Petrifilm CC Plates these coliforms are indicated by red colonies associated with gas.

For bottled water samples, confirmed coliform colonies are indicated by red colonies associated with gas on Neogen Petrifilm CC Plates. Red colonies without closely associated gas bubbles may be coliforms and should be subcultured and tested with appropriate confirmation methods<sup>11,12</sup>. See Interpretation section for additional details. Characteristic colonies can be subcultured and tested as *Escherichia coli*.

AFNOR Certification has certified Neogen Petrifilm CC Plate in comparison to ISO method 4831<sup>2</sup> and ISO method 4832<sup>1</sup> for enumeration of total coliforms. AFNOR Certification has also certified Neogen Petrifilm CC Plate in comparison to NF V08-060<sup>3</sup>, for enumeration of thermotolerant coliforms.

### Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Petrifilm CC Plate. Retain the safety instructions for future reference.

**⚠ WARNING:** Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage

### **⚠ WARNING**

#### **To reduce the risks associated with exposure to biohazards and environmental contamination:**

- Follow current industry standards and local regulations for disposal of biohazardous waste.

#### **To reduce the risks associated with release of contaminated product:**

- Follow all product storage instruction contained in the instructions for use.
- Do not use beyond the expiration date.

#### **To reduce the risks associated with bacterial infection and workplace contamination:**

- Perform Neogen Petrifilm CC Plate testing in a properly equipped laboratory under the control of a skilled microbiologist.
- The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup>, or ISO 17025<sup>6</sup>.

#### **To reduce the risks associated with misinterpretation of results:**

- Neogen has not documented Neogen Petrifilm CC Plates for use in industries other than food and beverage including bottled water. For example, Neogen has not documented Neogen Petrifilm CC Plates for testing pharmaceuticals, or cosmetics. Neogen has not documented Neogen Petrifilm CC Plates for testing surface and municipal waters, or waters used in the pharmaceutical or cosmetic industries.
- The use of Neogen Petrifilm CC Plates to test water samples in compliance with local water testing regulations is at the sole discretion and responsibility of the end-user. Neogen Petrifilm CC Plates have not been tested with all possible bottled water samples, testing protocols or with all possible strains of microorganisms.

- Do not use the Neogen Petrifilm CC Plates in the diagnosis of conditions in humans or animals.
- Neogen Petrifilm CC Plates do not differentiate any one coliform strain from another.
- Foods with high sugar content may increase the potential for gas production from non-coliform *Enterobacteriaceae*.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

For information on documentation of product performance, visit our website at [www.neogen.com](http://www.neogen.com) or contact your Neogen representative or authorized distributor.

## User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at [www.neogen.com](http://www.neogen.com), or contact your Neogen representative or authorized distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

## Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify Neogen within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to Neogen. Please contact your Neogen representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

## Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

## Storage

Store unopened Neogen Petrifilm CC Plate pouches refrigerated or frozen at temperatures lower than or equal to 8°C (46°F). Just prior to use, allow unopened Neogen Petrifilm CC Plate pouches to come to room temperature before opening. Return unused Neogen Petrifilm CC Plates to pouch. Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool dry place for no longer than four weeks. It is recommended that resealed pouches of Neogen Petrifilm CC Plates be stored in a freezer (see below) if the laboratory temperature exceeds 25°C (77°F) and/or the laboratory is located in a region where the relative humidity exceeds 50% (with the exception of air-conditioned premises).

To store opened pouches in a freezer, place Neogen Petrifilm CC Plates in a sealable container. To remove frozen Neogen Petrifilm CC Plates for use, open the container, remove the plates that are needed and immediately return remaining plates to the freezer in the sealed container for the remainder of the shelf life. Neogen Petrifilm CC Plates should not be used past their expiration date. The freezer that is used for open pouch storage must not have an automatic defrost cycle as this would repeatedly expose the Neogen Petrifilm CC Plates to moisture which can damage the plates.

Do not use Neogen Petrifilm CC Plates that show discoloration. Expiration date and lot number are noted on each package of Neogen Petrifilm CC Plates. The lot number is also noted on individual Neogen Petrifilm CC Plates.

## ⚠ Disposal

After use, Neogen Petrifilm CC Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard.

Follow current industry standards for disposal.

## Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.



## Preparation, Incubation and Interpretation of Samples from Food and Beverage Industries (Bottled Water Excepted) Including Environmental Samples

### Sample Preparation

1. Use appropriate sterile diluents:

Butterfield's phosphate buffered dilution water<sup>7</sup>, 0.1% peptone water<sup>8</sup>, peptone salt diluents<sup>8,9</sup>, Buffered Peptone Water<sup>8,9</sup>, saline solution (0.85-0.90%), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfite-free letheen broth or distilled water. See section "Specific Instructions for Validated Methods" for specific requirements.

**Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with Neogen Petrifilm CC Plates; they can inhibit growth.** If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40-45°C (104-113°F).

2. Blend or homogenize sample.
3. For optimal growth and recovery of microorganisms, adjust the pH of the sample suspension to 6.6 - 7.2. For acidic products, adjust the pH with 1N NaOH. For alkaline products, adjust the pH with 1N HCl.

### Plating

1. Place the Neogen Petrifilm CC Plate on a flat, level surface.
2. Lift the top film and with the pipette perpendicular to the inoculation area dispense 1 mL of sample suspension onto the center of bottom film.
3. Roll the top film down onto the sample to prevent trapping air bubbles.
4. Place the Neogen® Petrifilm® Spreader with the flat side down on the center of the Neogen Petrifilm CC Plate. Press gently on the center of the Neogen Petrifilm Spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire Neogen Petrifilm CC Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the Neogen Petrifilm Spreader across the film.
5. Remove the Neogen Petrifilm Spreader and leave the Neogen Petrifilm CC Plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

### Incubation

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 plates. Several incubation times and temperatures can be used depending on current local reference methods, some of which are listed in the "Specific Instructions for Validated Methods" section.

### Interpretation

1. Neogen Petrifilm CC Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Gas produced by coliform may disrupt the colony so that the colony "outlines" the bubble. This should be counted as a single coliform. Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium. Do not count artifact bubbles that may be present.

The interpretation of coliform colonies on the Neogen Petrifilm CC Plate varies by reference method. For example:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Coliform colonies are red and closely associated (within one colony diameter) with entrapped gas. Colonies not associated with gas (a distance greater than one colony diameter between colony and gas bubble) are not counted as coliforms.

OR NF Validation certified methods:

- As compared to ISO method 4831<sup>2</sup> (MPN method), coliform colonies are red and closely associated (within one colony diameter) with entrapped gas.
- As compared to ISO method 4832<sup>1</sup> (total coliforms) and NF V08-060<sup>3</sup> (fecal coliforms) both based on VRBL methods, count all red colonies with or without gas.

2. The circular growth area is approximately 20 cm<sup>2</sup>. Estimates can be made on Neogen Petrifilm CC Plates containing greater than 150 colonies by counting the number of colonies in one or more representative squares and determining the average number per square. Multiply the average number by 20 to determine the estimated count per Neogen Petrifilm CC Plate.
3. When colonies are present in large numbers, Neogen Petrifilm CC Plates may have a deepening of the gel color and either or both of the following characteristics: many small, indistinct colonies and/or many gas bubbles. High concentrations of coliforms will cause the growth area to turn dark red. When this occurs, record results as too numerous to count (TNTC). When an actual count is required, plate at a higher dilution.
4. Where necessary, colonies may be isolated for further identification. Lift the top film using proper testing technique and pick the colony from the gel. Test using standard procedures.
5. If the Neogen Petrifilm CC Plates cannot be counted within 1 hour of removal from the incubator, they may be stored for later enumeration by freezing in a sealable container at temperatures lower than or equal to negative 15°C (5°F) for no longer than one week.



## Preparation, Incubation and Interpretation of Bottled Water Samples

### Hydrate Neogen Petrifilm CC Plates

1. Place the Neogen Petrifilm CC Plate on a flat, level surface.
2. Lift the top film and dispense 1 mL of an appropriate sterile hydration diluent onto the center of bottom film. Appropriate sterile hydration diluents include distilled water, deionized (DI) water and reverse osmosis (RO) water.
3. Roll the top film down onto the sample to prevent trapping air bubbles.
4. Place the Neogen Petrifilm Spreader with the flat side down on the center of the plate. Press gently on the center of the spreader to distribute the diluent evenly. Spread the diluent over the entire Neogen Petrifilm Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the spreader across the film.
5. Remove the spreader and allow the plates to remain closed for a minimum of 1 hour before use.
6. Store hydrated Neogen Petrifilm CC Plates in a sealed pouch or plastic bag. Protect plates from light and refrigerate at 2-8°C (36-46°F) for up to 7 days.

### Water Filtration and Plate Incubation

1. Following standard procedures for water analysis, membrane filter water sample using a 47 mm, 0.45 micron pore size Mixed Cellulose Ester (MCE) filter.
2. Carefully lift the top film of the Neogen Petrifilm CC Plate. Avoid touching the circular growth area. Place the filter in the center of the hydrated area. Minimize trapping bubbles under the filter.
3. Slowly roll top film onto the filter. Minimize trapping air bubbles and creating gaps between the filter and the Neogen Petrifilm CC Plate.
4. Lightly apply pressure by using the Neogen Petrifilm Plate spreader or sliding a finger lightly across the entire disk area (including edges) to ensure uniform contact of the filter with the gel and to eliminate any air bubbles.
5. Incubate Neogen Petrifilm CC Plates at 35°C ± 1°C for 24 hours ± 2 hours<sup>11</sup> or 36°C ± 1°C for 24 hours ± 2 hours<sup>12</sup> in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20.

### Interpretation

1. Neogen Petrifilm CC Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium. Do not count artifact bubbles that may be present.
2. Red colonies associated with gas bubbles are counted as coliforms. Gas bubbles may form a circular or star-shaped pattern around the colony. Gas produced by coliforms may disrupt the colony so that the colony “outlines” the bubble. This should be counted as a single coliform. Red colonies without closely associated gas bubbles may be coliforms and should be picked and tested with appropriate confirmation methods<sup>11,12</sup>.
3. When colonies are present in large numbers, Neogen Petrifilm CC Plates will have a deepening of the gel color associated with many small, indistinct colonies or gas bubbles. When this occurs, record results as too numerous to count (TNTC).
4. Colonies may be isolated for further identification. Lift the top film and pick the colony from the gel or the filter surface. When lifting the top film, the filter may adhere to either the top film or the bottom film. If the filter adheres to the top film, separate the filter from the top film and pick colonies. Test using standard procedures.

**Note:** Delayed counting of Neogen Petrifilm CC Plates with filters is not recommended.

For further information refer to the appropriate “Neogen® Petrifilm® Coliform Count Plate Interpretation Guide.” If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at [www.neogen.com](http://www.neogen.com) or contact your local Neogen representative or distributor.

### Specific Instructions for Validated Methods

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours ± 2 hours at 32°C ± 1°C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours ± 2 hours at 35°C ± 1°C.

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Certificate #082101**

In an AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) study, the Neogen Petrifilm CC Plate method was found to be equivalent to the average log counts of the FDA/BAM Chapter 4, Section III.D method for the enumeration of coliform count in bottled water.



**Scope of the Validation:**

Bottled water: purified water, treated spring water, non-carbonated natural spring water, carbonated natural spring water.

**Incubation:**

Incubate the Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours  $\pm$  2 hours at 35°C  $\pm$  1°C.

**NF Validation by AFNOR Certification:**

**NF Validation certified method in compliance with ISO 16140-2<sup>10</sup> in comparison to ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Scope of the validation:** For testing all human food products (except raw shellfish), pet food and environmental samples. Use the following details when implementing the above Instructions for Use:

**Sample preparation:**

Use only ISO listed diluents.

**Incubation:**

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours  $\pm$  2 hours at 30°C  $\pm$  1°C or 37°C  $\pm$  1°C.

**Interpretation:**

Calculate the number of microorganisms present in the test sample according to ISO 7218<sup>5</sup> for one plate per dilution. Estimates are outside of the scope of the NF Validation certification (cf interpretation part paragraph 2).

**NF Validation certified method in compliance with ISO 16140-210 in comparison to ISO 48312 (3M-01/02-09/89 B)**

**Scope of the validation:** For testing all human food products (except raw shellfish).

Use the following details when implementing the above Instructions for Use:

**Sample preparation:**

Use only ISO listed diluents.

**Incubation:**

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours  $\pm$  2 hours at 30°C  $\pm$  1°C or 37°C  $\pm$  1°C.

**Interpretation:**

Calculate the number of microorganisms present in the test sample according to ISO 7218<sup>5</sup> for one plate per dilution. Estimates are outside of the scope of the NF Validation certification (cf interpretation part paragraph 2).

**NF Validation certified method in compliance with ISO 16140-2<sup>10</sup> in comparison to NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Scope of the validation:** For testing all human food products

Use the following details when implementing the above Instructions for Use:

**Sample preparation:**

Use only ISO listed diluents

**Incubation:**

Incubate Neogen Petrifilm CC Plates 24 hours  $\pm$  2 hours at 44°C  $\pm$  1°C.

**Interpretation:**

Calculate the number of microorganisms present in the test sample according to ISO 7218<sup>5</sup> for one plate per dilution. Estimates are outside of the scope of the NF Validation certification (cf interpretation part paragraph 2). Refer to EN ISO 7218 standard for inoculation, colony counting and calculation and expression of results.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

For more information about end of validity, please refer to NF VALIDATION certificate available on the website mentioned above.

## References

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Refer to the current versions of the standard methods listed above.

## Explanation of Symbols

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC is a registered trademark of AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods is a service mark of AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method is a service mark of AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A



## Instructions relatives au produit

# Test pour la numération des Coliformes

### Description et utilisation du produit

Le test Neogen® Petrifilm® pour la numération des Coliformes (CC) est un milieu de culture prêt à l'emploi qui contient des éléments nutritifs VRB modifiés (cristal violet, rouge neutre et bile), un agent gélifiant soluble dans l'eau froide et un indicateur au tétrazolium facilitant le dénombrement des colonies. Les tests Neogen Petrifilm CC sont utilisés pour la numération des coliformes dans les secteurs de l'alimentation, des boissons et de l'eau en bouteille. Les composants du test Neogen Petrifilm CC sont décontaminés, mais pas stérilisés. Neogen Sécurité Alimentaire respecte la norme International Organization for Standardization (ISO) 9001 en matière de conception et de fabrication. Le test Neogen Petrifilm CC n'a pas été testé avec la totalité des produits alimentaires, des processus de transformation des aliments, des protocoles d'analyse ou des souches possibles de microorganismes.

Le Bacteriological Analytical Manual (BAM, Manuel analytique bactériologique)<sup>7</sup>, publié par la Food and Drug Administration (FDA), définit les coliformes comme des bâtonnets Gram négatif qui produisent des acides et du gaz par fermentation du lactose. Les colonies de coliformes qui se développent sur le test Neogen Petrifilm CC produisent un acide, ce qui conduit ainsi l'indicateur de pH à assombrir la couleur du gel ; la présence de gaz emprisonné autour des colonies rouges indique la présence de coliformes.

La norme ISO définit les coliformes en fonction de leur capacité à croître dans des milieux sélectifs, selon des méthodes spécifiques. La méthode ISO 4832<sup>1</sup>, qui énumère les coliformes grâce à la technique de comptage des colonies, définit les coliformes comme étant des producteurs d'acide sur gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL). Sur les tests Neogen Petrifilm CC, ces coliformes producteurs d'acide forment des colonies rouges avec ou sans production de gaz. La méthode ISO 4831<sup>2</sup>, qui énumère les coliformes grâce à la méthode du nombre le plus probable (NPP), définit les coliformes par leur capacité à se développer et à produire du gaz à partir du lactose dans un bouillon sélectif. Sur les tests Neogen Petrifilm CC, ces coliformes sont indiqués par des colonies rouges associées à du gaz.

Pour les échantillons d'eau en bouteille, les colonies de coliformes confirmées sont indiquées par des colonies rouges associées à du gaz sur les tests Neogen Petrifilm CC. Les colonies rouges sans bulles de gaz étroitement associées peuvent être des coliformes. Elles doivent être passées et testées avec des méthodes de confirmation appropriées<sup>11,12</sup>. Consultez la section Interprétation pour obtenir plus de détails. Les colonies caractéristiques peuvent être passées et testées comme *Escherichia coli*.

AFNOR Certification a certifié le test Neogen Petrifilm CC par rapport à la méthode ISO 4831<sup>2</sup> et à la méthode ISO 4832<sup>1</sup> pour la numération des coliformes totaux. AFNOR Certification a également certifié le test Neogen Petrifilm CC par rapport à la norme NF V08-060<sup>3</sup> pour la numération des coliformes thermotolérants.

### Sécurité

L'utilisateur doit lire, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité fournies dans les instructions du test Neogen Petrifilm CC. Conserver ces consignes de sécurité pour référence ultérieure.

**⚠ AVERTISSEMENT :** indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner un décès, des blessures graves et/ou des dommages matériels

## ⚠ AVERTISSEMENT

### Afin de réduire les risques associés à l'exposition aux dangers biologiques et à la pollution de l'environnement :

- Se conformer aux normes actuelles du secteur et aux réglementations locales relatives à l'élimination des déchets contaminés.

### Afin de réduire les risques associés à la diffusion de produits contaminés :

- Suivre toutes les instructions relatives à la conservation du produit mentionnées dans le mode d'emploi.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.

### Afin de réduire les risques associés à l'infection bactérienne et à la contamination du lieu de travail :

- Effectuer les analyses au moyen du test Neogen Petrifilm CC dans un laboratoire correctement équipé, sous la surveillance d'un microbiologiste compétent.
- L'utilisateur doit former son personnel aux techniques d'analyse en vigueur appropriées, par exemple les bonnes pratiques de laboratoire<sup>4</sup>, la norme ISO 7218<sup>5</sup> ou la norme ISO 17025<sup>6</sup>.

### Afin de réduire les risques associés à une mauvaise interprétation des résultats :

- Neogen n'a pas étudié l'utilisation des tests Neogen Petrifilm CC dans des secteurs autres que dans celui de l'alimentation, des boissons et de l'eau en bouteille. Par exemple, Neogen n'a pas étudié l'utilisation des tests Neogen Petrifilm CC pour l'analyse de produits pharmaceutiques ou de cosmétiques. Neogen n'a pas documenté les tests Neogen Petrifilm CC pour l'analyse des eaux de surface et des eaux municipales, ou des eaux utilisées dans les industries pharmaceutiques ou cosmétiques.
- L'utilisation des tests Neogen Petrifilm CC pour l'analyse d'échantillons d'eau conformément aux réglementations locales en matière d'analyse de l'eau est à la seule discrétion et responsabilité de l'utilisateur final. Les tests Neogen Petrifilm CC n'ont pas été testés avec tous les échantillons d'eau en bouteille possibles, les protocoles d'analyse ou souches possibles de microorganismes.
- Ne pas utiliser les tests Neogen Petrifilm CC pour réaliser des diagnostics sur l'homme ou l'animal.
- Les tests Neogen Petrifilm CC ne permettent pas de faire de distinction entre les différentes souches de coliformes.
- Les aliments à forte teneur en sucre peuvent augmenter le potentiel de production de gaz des *Enterobacteriaceae* non coliformes.

Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour obtenir des informations supplémentaires.

Visitez notre site Web à l'adresse [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou contactez votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour plus d'informations.

### Responsabilité de l'utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de prendre connaissance des instructions et des informations relatives au produit.

Visitez notre site Web à l'adresse [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou contactez votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour plus d'informations.

Lors du choix d'une méthode de test, il est important d'admettre que des facteurs externes comme les méthodes d'échantillonnage, les protocoles d'analyse, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoire peuvent influencer les résultats.

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode ou un produit d'analyse adapté pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les souches microbiennes appropriées, afin de garantir que la méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs.

Comme pour toute méthode d'analyse, les résultats obtenus avec un produit Neogen Sécurité Alimentaire ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

### Limitations de garanties/Limites de recours

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN RENONCE À TOUTE GARANTIE EXPLICITE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE COMMERCIALISATION OU D'ADAPTATION POUR UN USAGE SPÉCIFIQUE. En cas de défaut de tout produit Neogen Sécurité Alimentaire, Neogen ou son distributeur agréé s'engage, à son entière discrétion, au remplacement ou au remboursement du prix d'achat du produit. Il s'agit de vos recours exclusifs. Tout défaut supposé du produit devra être notifié à Neogen dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé à Neogen. Merci de contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour toute autre question.

### Limitation de responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS TENUE RESPONSABLE DES PERTES OU DES DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas et en aucune manière, la responsabilité de Neogen ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

### Stockage

Conserver les poches non ouvertes de tests Neogen Petrifilm CC au réfrigérateur ou au congélateur à une température inférieure ou égale à 8 °C (46 °F). Juste avant utilisation, laisser les poches non ouvertes de tests Neogen Petrifilm CC atteindre la température ambiante avant de les ouvrir. Replacer les tests Neogen Petrifilm CC non utilisés dans leur poche. Refermer hermétiquement les poches ouvertes avec un ruban adhésif, après avoir plié sur lui-même le côté ouvert. **Ne pas réfrigérer les poches ouvertes pour éviter une exposition à l'humidité.** Les poches doivent être conservées refermées dans un endroit frais et sec pendant quatre semaines au maximum. Lorsque la température d'un laboratoire dépasse 25 °C (77 °F), et/ou que ce laboratoire est situé dans une région où l'humidité relative dépasse 50 % (à l'exception des locaux climatisés), il est recommandé de conserver les poches de tests Neogen Petrifilm CC refermées au congélateur (voir ci-dessous).

Pour conserver les poches ouvertes dans un congélateur, placer les tests Neogen Petrifilm CC dans un récipient étanche. Pour retirer les plaques Neogen Petrifilm CC congelées et les utiliser, ouvrez le récipient, retirez les plaques nécessaires et remettez immédiatement les plaques restantes au congélateur dans le récipient scellé pour le reste de la durée de conservation. Les tests Neogen Petrifilm CC ne doivent pas être utilisés après leur date de péremption. Le congélateur dans lequel sont conservées les poches ouvertes ne doit pas disposer de cycle de dégivrage automatique, car cela exposerait de façon répétée les tests Neogen Petrifilm CC à l'humidité, ce qui pourrait endommager les tests.



Ne pas utiliser les tests Neogen Petrifilm CC qui présentent des signes de décoloration. La date de péremption et le numéro de lot figurent sur chaque poche de tests Neogen Petrifilm CC. Le numéro de lot est également indiqué sur chaque test Neogen Petrifilm CC.

### △ Élimination des déchets

Après utilisation, les tests Neogen Petrifilm CC peuvent contenir des microorganismes susceptibles de présenter un risque biologique potentiel.

Respecter les normes en vigueur concernant l'élimination des déchets.

### Instructions d'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Dans le cas contraire, les résultats obtenus risquent d'être inexacts.

### Préparation, incubation et interprétation d'échantillons provenant des secteurs de l'alimentation et des boissons (hormis l'eau en bouteille), y compris les échantillons environnementaux

#### Préparation de l'échantillon

1. Utiliser des diluants stériles appropriés :

Eau de dilution tamponnée au phosphate de Butterfield<sup>7</sup>, eau peptonée à 0,1 %<sup>8</sup>, diluants peptone sel<sup>8,9</sup>, eau peptonée tamponnée<sup>8,9</sup>, solution saline (0,85 à 0,90 %), neutralisant à large spectre Neogen<sup>®</sup>, bouillon de letheen sans bisulfite ou eau distillée. Se référer à la section « **Instructions spécifiques pour méthodes validées** » pour connaître les exigences spécifiques.

**Ne pas utiliser de diluants contenant du citrate, du bisulfite ou du thiosulfate avec les tests Neogen Petrifilm CC, car ils peuvent inhiber la croissance.** Si une solution tampon au citrate est indiquée dans la procédure standard, la remplacer par l'un des tampons cités plus haut, réchauffé à une température comprise entre 40 et 45 °C (104-113°F).

2. Mélanger ou homogénéiser l'échantillon.
3. Pour obtenir des conditions de croissance et de recouvrement optimales des microorganismes, ajuster le pH de la suspension d'échantillon entre 6,6 et 7,2. Pour les produits acides, ajustez le pH avec 1N NaOH. Pour les produits alcalins, ajuster le pH avec HCl 1N.

#### Utilisation des tests

1. Placer le test Neogen Petrifilm CC sur une surface de travail plane et régulière.
2. Soulever le film supérieur et, en tenant la pipette perpendiculairement à la zone d'inoculation, déposer 1 mL de l'échantillon en suspension au centre du film inférieur.
3. Rouler le film supérieur sur l'échantillon pour éviter d'emprisonner des bulles d'air.
4. Placer le Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> Diffuseur, face plane, vers le bas au centre du test Neogen Petrifilm CC. Répartir l'échantillon uniformément en exerçant une légère pression au centre du Neogen Petrifilm Diffuseur. Répartir l'inoculum sur la totalité de la zone de croissance du test Neogen Petrifilm CC avant que le gel ne se forme. Ne pas faire glisser le Neogen Petrifilm Diffuseur sur le film.
5. Retirer le Neogen Petrifilm Diffuseur et laisser le test Neogen Petrifilm CC reposer durant au moins une minute afin de laisser le gel se former.

### Incubation

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut et sans empiler plus de 20 tests. Plusieurs durées et températures d'incubation peuvent être utilisées selon les méthodes de références locales en vigueur, dont certaines sont indiquées à la section « **Instructions spécifiques pour méthodes validées** ».

### Interprétation

1. La numération à l'aide des tests Neogen Petrifilm CC peut être effectuée sur un compteur de colonies standard ou au moyen d'une autre loupe éclairante. Le gaz produit par le coliforme peut perturber la colonie de sorte que celle-ci « contourne » la bulle. Il doit être compté comme un seul coliforme. Ne pas dénombrer les colonies présentes sur le pourtour en mousse, celles-ci n'étant plus exposées à l'influence sélective du milieu. Ne pas dénombrer les bulles d'artefacts éventuelles.

L'interprétation des colonies coliformes sur le test Neogen Petrifilm CC varie selon la méthode de référence. Par exemple :

#### AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup> :

Les colonies coliformes sont rouges et étroitement liées (dans les limites d'un diamètre correspondant à une colonie) avec du gaz emprisonné. Les colonies non liées au gaz (à une distance supérieure à celle d'un diamètre de colonie entre la colonie et la bulle de gaz) ne sont pas comptées comme des coliformes.

#### OU Méthodes certifiées NF Validation :

- Par rapport à la méthode ISO 4831<sup>2</sup> (méthode NPP), les colonies coliformes sont rouges et étroitement liées (dans les limites d'un diamètre correspondant à une colonie) avec du gaz emprisonné.
- Par rapport aux méthodes ISO 4832<sup>1</sup> (coliformes totaux) et NF V08-060<sup>3</sup> (coliformes fécaux), toutes deux basées sur les méthodes de gélose VRBL : compter toutes les colonies rouges avec ou sans gaz.

2. La zone de croissance circulaire est de 20 cm<sup>2</sup> environ. Les estimations peuvent être effectuées sur les tests Neogen Petrifilm CC contenant plus de 150 colonies en comptant le nombre de colonies dans un ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Multiplier le nombre moyen par 20 pour déterminer le nombre estimé par test Neogen Petrifilm CC.
3. Lorsque les colonies sont présentes en grand nombre, les tests Neogen Petrifilm CC peuvent présenter un approfondissement de la couleur du gel et l'une des deux caractéristiques suivantes (ou les deux) : plusieurs petites colonies indistinctes et/ou de nombreuses bulles de gaz. De fortes concentrations de coliformes impliquent que la zone de croissance devient rouge foncé. Le cas échéant, enregistrer les résultats comme indénombrables. Lorsqu'une numération réelle est nécessaire, effectuer une analyse après dilution supplémentaire.
4. Si nécessaire, les colonies peuvent être isolées pour être identifiées plus tard. Soulever le film supérieur en utilisant la technique de test appropriée et prélever la colonie à partir du gel. Procéder au test en suivant les procédures standard.
5. Si les tests Neogen Petrifilm CC sont indénombrables dans l'heure qui suit leur retrait de l'incubateur, ils peuvent être conservés pour une numération ultérieure en les congelant dans un récipient étanche à des températures inférieures ou égales à 15 °C (5 °F) pendant une semaine au maximum.

## Préparation, incubation et interprétation des échantillons d'eau en bouteille

### Hydrater les tests Neogen Petrifilm CC

1. Placer le test Neogen Petrifilm CC sur une surface de travail plane et régulière.
2. Soulever le film supérieur et déposer 1 ml d'un diluant d'hydratation stérile approprié au centre du film inférieur. Les diluants d'hydratation stériles appropriés comprennent l'eau distillée, l'eau désionisée (DI) et l'eau par osmose inverse (RO).
3. Rouler le film supérieur sur l'échantillon pour éviter d'emprisonner des bulles d'air.
4. Placer le Neogen Petrifilm Diffuseur face plate vers le bas au centre du test. Répartir le diluant uniformément en exerçant une légère pression au centre du diffuseur. Répartir le diluant sur la totalité de la zone de croissance du test Neogen Petrifilm avant que le gel ne se forme. Ne pas faire glisser le diffuseur sur le film.
5. Retirer le diffuseur et laisser les tests fermés pendant au moins 1 heure avant de les utiliser.
6. Conserver les tests Neogen Petrifilm CC hydratés dans une poche fermée ou dans un sachet plastique. Protéger les tests de la lumière et les réfrigérer à une température située entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F) pendant 7 jours maximum.

### Filtration de l'eau et incubation des tests

1. Conformément aux procédures standard d'analyse de l'eau, filtrer l'échantillon d'eau sur membrane à l'aide d'un filtre d'esters de cellulose mélangées (ECM) de 47 mm, dont les pores mesurent 0,45 micron.
2. Soulever soigneusement le film supérieur du test Neogen Petrifilm CC. Ne pas toucher la zone de croissance circulaire. Placer le filtre au centre de la zone hydratée. Minimiser l'emprisonnement de bulles d'air sous le filtre.
3. Dérouler lentement le film supérieur sur le filtre. Minimiser l'emprisonnement de bulles d'air et la création d'espaces entre le filtre et le test Neogen Petrifilm CC.
4. Appliquer une légère pression en utilisant le diffuseur de test Neogen Petrifilm ou en faisant glisser légèrement un doigt sur toute la surface du disque (y compris les bords) pour assurer un contact uniforme du filtre avec le gel et pour éliminer toute bulle d'air.
5. Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC à 35 °C ± 1 °C ou 36 °C ± 1 °C pendant 24 heures<sup>11</sup> ou à 36 °C ± 1 °C pendant 24 heures ± 2 heures<sup>12</sup> à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut et sans empiler plus de 20 tests.

### Interprétation

1. La numération à l'aide des tests Neogen Petrifilm CC peut être effectuée sur un compteur de colonies standard ou au moyen d'une autre loupe éclairante. Ne pas dénombrer les colonies présentes sur le pourtour en mousse, celles-ci n'étant plus exposées à l'influence sélective du milieu. Ne pas dénombrer les bulles d'artéfacts éventuelles.
2. Les colonies rouges associées aux bulles de gaz sont comptées comme des coliformes. Les bulles de gaz peuvent former un motif circulaire ou en forme d'étoile autour de la colonie. Le gaz produit par les coliformes peut perturber la colonie de sorte que celle-ci « contourne » la bulle. Il doit être compté comme un seul coliforme. Les colonies rouges sans bulles de gaz étroitement associées peuvent être des coliformes. Elles doivent être prélevées et testées avec des méthodes de confirmation appropriées<sup>11,12</sup>.
3. Lorsque les colonies sont présentes en grand nombre, les tests Neogen Petrifilm CC présenteront un assombrissement de la couleur du gel associée à plusieurs petites colonies indistinctes ou des bulles de gaz. Le cas échéant, enregistrer les résultats comme indénombrables.
4. Les colonies peuvent être isolées pour être identifiées plus tard. Soulever le film supérieur et prélever la colonie à partir du gel ou de la surface du filtre. En soulevant le film supérieur, le filtre risque d'adhérer soit au film supérieur, soit au film inférieur. Si le filtre adhère au film supérieur, séparer le filtre du film supérieur et prélever des colonies. Procéder au test en suivant les procédures standard.

**Remarque :** La numération différée des tests Neogen Petrifilm CC avec filtres n'est pas recommandée.

Pour plus d'informations, consultez le « Guide d'interprétation du test Neogen® Petrifilm® pour la numération des Coliformes » approprié. Pour toute question concernant des applications ou procédures spécifiques, consulter notre site Internet à l'adresse [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou contacter votre représentant ou distributeur Neogen local.

#### Instructions spécifiques pour méthodes validées

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Dénombrement des bactéries et des coliformes dans le lait, méthodes sur film sec réhydratable et 989.10 Dénombrement des bactéries et des coliformes dans les produits laitiers, méthodes sur film sec réhydratable)

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures  $\pm 2$  heures à 32 °C  $\pm 1$  °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Méthodes de numération des coliformes et des Escherichia coli dans tout type d'aliments sur film sec réhydratable)

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures  $\pm 2$  heures à 35 °C  $\pm 1$  °C.

#### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> certificat n° 082101**

Une étude AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) a démontré que la méthode Test Neogen Petrifilm CC est équivalente à la méthode de numération totale moyenne issue du BAM de la FDA, chapitre 4, section III.D en ce qui concerne la numération des coliformes dans l'eau en bouteille.



#### **Portée de la validation :**

Eau en bouteille : eau purifiée, eau de source traitée, eau de source naturelle non gazeuse, eau de source naturelle gazeuse.

#### **Incubation :**

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures  $\pm 2$  heures à 35 °C  $\pm 1$  °C.

#### **Méthode certifiée par AFNOR Certification :**

**Méthode certifiée dans le cadre de la marque NF Validation, conformément à la norme ISO 16140-2<sup>10</sup> par rapport à la norme ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Portée de la validation :** pour l'analyse des produits alimentaires destinés à la consommation humaine (à l'exception des fruits de mer crus), des aliments pour animaux de compagnie et des échantillons environnementaux.

Utiliser les détails suivants lors de l'application des instructions d'utilisation ci-dessus :

#### **Préparation de l'échantillon :**

N'utiliser que des diluants répertoriés dans la norme ISO.

#### **Incubation :**

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures  $\pm 2$  heures à 30 °C  $\pm 1$  °C ou 37 °C  $\pm 1$  °C.

#### **Interprétation :**

Calculer le nombre de microorganismes présents dans l'échantillon selon la norme ISO 7218<sup>5</sup> en utilisant un test par dilution. Les valeurs estimées sont exclues de la certification par NF Validation (voir la section Interprétation, paragraphe 2).

**Méthode certifiée dans le cadre de la marque NF Validation, conformément à la norme ISO 16140-2<sup>10</sup> par rapport à la norme ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Portée de la validation :** pour l'analyse des produits alimentaires destinés à la consommation humaine (à l'exception des fruits de mer crus).

Utiliser les détails suivants lors de l'application des instructions d'utilisation ci-dessus :

#### **Préparation de l'échantillon :**

N'utiliser que des diluants répertoriés dans la norme ISO.

#### **Incubation :**

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures  $\pm 2$  heures à 30 °C  $\pm 1$  °C ou 37 °C  $\pm 1$  °C.

#### **Interprétation :**

Calculer le nombre de microorganismes présents dans l'échantillon selon la norme ISO 7218<sup>5</sup> en utilisant un test par dilution. Les valeurs estimées sont exclues de la certification par NF Validation (voir la section Interprétation, paragraphe 2).

**Méthode certifiée dans le cadre de la marque NF Validation, conformément à la norme ISO 16140-2<sup>10</sup> par rapport à la norme NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Portée de la validation :** pour l'analyse des produits alimentaires destinés à la consommation humaine.

Utiliser les détails suivants lors de l'application des instructions d'utilisation ci-dessus :

**Préparation de l'échantillon :**

N'utiliser que des diluants répertoriés dans la norme ISO.

**Incubation :**

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm CC pendant 24 heures ±2 heures à 44 °C ±1 °C.

**Interprétation :**

Calculer le nombre de microorganismes présents dans l'échantillon selon la norme ISO 7218<sup>5</sup> en utilisant un test par dilution. Les valeurs estimées sont exclues de la certification par NF Validation (voir la section Interprétation, paragraphe 2).

Consulter la norme EN ISO 7218 pour l'inoculation, le comptage des colonies et le calcul et l'affichage des résultats.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C**  
**MÉTHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Pour plus d'information sur l'expiration de la validité, se reporter au certificat NF VALIDATION disponible sur le site Internet cité ci-dessus.

**Références**

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM consulté sur : <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Se reporter aux versions en cours de validité des méthodes normalisées citées plus haut.

**Explication des symboles**

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC est une marque déposée d'AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods est un service déposé d'AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method est un service déposé d'AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Gebrauchsanweisungen

### Coliforme Zählplatte

#### Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Die Neogen® Petrifilm® Coliforme Zählplatte ist ein probenfertiges Kulturmediensystem, das modifizierte Kristallviolett-Galle(VRB)-Nährstoffe, einen im kalten Wasser löslichen Gelbildungsstoff und ein Tetrazolium-Indikator, der die Kolonienauszählung erleichtert, enthält. Neogen Petrifilm CC Platten werden zur Zählung von Coliformen in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie (einschließlich abgefülltem Wasser) eingesetzt. Die Bestandteile der Neogen Petrifilm CC Platte sind dekontaminiert, aber nicht sterilisiert. Neogen Food Safety hat für die Bereiche Entwicklung und Fertigung die Zertifizierung der Internationalen Organisation für Normung (ISO) 9001 erhalten. Die Neogen Petrifilm CC Platte wurde nicht für alle möglichen Lebensmittelprodukte, Lebensmittelverarbeitungsprozesse, Testprotokolle oder mit allen möglichen Mikroorganismenstämmen getestet.

Im Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> der United States Food and Drug Administration (FDA) sind Coliforme als gramnegative Stäbchen definiert, die durch Laktosefermentation Säure und Gas bilden. Coliformen-Kolonien, die auf der Neogen Petrifilm CC Platte wachsen, bilden Säure, die wiederum dazu führt, dass der pH-Indikator die Gelfarbe verstärkt. Das um die roten Kolonien eingeschlossene Gas weist auf Coliforme hin.

ISO definiert Coliforme nach ihrer Fähigkeit, in methodenspezifischen, selektiven Medien zu wachsen. ISO-Methode 4832<sup>1</sup>, Zählung von Coliformen durch Kolonienauszähltechnik, definiert Coliforme als Säurebildner auf VRB-Lactose-Agar (VRBL). Auf Neogen Petrifilm CC Platten werden diese säurebildenden Coliforme durch rote Kolonien mit oder ohne Gasbildung angezeigt. ISO-Methode 4831<sup>2</sup>, Zählung von Coliformen anhand der Methode der wahrscheinlichsten Anzahl (most probable number, MPN) definiert Coliforme anhand ihrer Fähigkeit, in selektivem Bouillon zu wachsen und Gas aus Laktose zu produzieren. Auf Neogen Petrifilm CC Platten werden diese Coliformen durch mit Gas assoziierte rote Kolonien angezeigt.

In Proben mit abgefülltem Wasser werden bestätigte Coliformen-Kolonien durch rote, mit Gas assoziierte Kolonien auf Neogen Petrifilm CC Platten angezeigt. Rote Kolonien die nicht eng mit Gasbläschen assoziiert sind, können auch Coliforme sein. In diesem Fall sollte eine Subkultur angelegt werden und mit entsprechenden Bestätigungsmethoden getestet werden<sup>11,12</sup>. Weitere Details finden Sie im Abschnitt „Interpretation“. Charakteristische Kolonien können als Subkultur angezogen werden und als *Escherichia coli* getestet werden.

In der AFNOR Certification wurde die Neogen Petrifilm CC Platte im Vergleich zur ISO-Methode 4831<sup>2</sup> und ISO-Methode 4832<sup>1</sup> zur Zählung der Gesamtzahl von Coliformen zertifiziert. In der AFNOR Certification wurde die Neogen Petrifilm CC Platte auch im Vergleich zu NF V08-060<sup>3</sup> zur Zählung von temperaturtoleranten Coliformen zertifiziert.

#### Sicherheit

Der Anwender sollte alle Sicherheitshinweise in den Gebrauchsanweisungen zur Neogen Petrifilm CC Platte lesen, verstehen und befolgen. Bewahren Sie diese Sicherheitshinweise auf, um später auf sie zurückgreifen zu können.

**⚠ WARNUNG:** Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zum Tode oder zu schweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann

#### ⚠ WARNUNG

**So reduzieren Sie die Risiken in Zusammenhang mit einer Exposition gegenüber biologischer Gefährdung und Umweltverschmutzung:**

- Befolgen Sie die aktuellen Industrienormen und die lokalen Vorschriften für die Entsorgung von biogefährlichem Abfall.

**So reduzieren Sie die mit der Freisetzung von kontaminierten Produkten verbundenen Risiken:**

- Befolgen Sie die in der Gebrauchsanweisung enthaltenen Anweisungen zur Produktlagerung.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.

**So reduzieren Sie die Risiken einer bakteriellen Infektion und einer Kontamination des Arbeitsplatzes:**

- Führen Sie Untersuchungen mit der Neogen Petrifilm CC Platte in einem ordnungsgemäß ausgestatteten Labor und unter der Aufsicht eines geschulten Mikrobiologen durch.
- Der Anwender muss sein Personal in den geeigneten Testmethoden unterweisen, zum Beispiel laut: Gute Laborpraxis<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> oder ISO 17025<sup>6</sup>.





## So reduzieren Sie die Risiken in Zusammenhang mit einer Fehlinterpretation der Ergebnisse:

- Neogen hat die Verwendung von Neogen Petrifilm CC Platten nur für die Lebensmittel- und Getränkeindustrie (einschließlich abgefülltem Wasser) dokumentiert. Neogen hat die Verwendung von Neogen Petrifilm CC Platten beispielsweise nicht für die Untersuchung von Pharmazeutika oder Kosmetika dokumentiert. Neogen hat die Verwendung von Neogen Petrifilm CC Platten nicht für die Untersuchung von Oberflächen- und Abwasser oder von in der pharmazeutischen oder kosmetischen Industrie verwendetem Wasser dokumentiert.
- Die Verwendung von Neogen Petrifilm CC Platten zur Untersuchung von Wasserproben unter Einhaltung der lokalen Wasseruntersuchungsrichtlinien unterliegt alleine dem Ermessen und der Verantwortlichkeit des Endbenutzers. Neogen Petrifilm CC Platten wurden nicht mit allen möglichen Proben von abgefülltem Wasser, Testprotokollen oder mit allen möglichen Mikroorganismenstämmen getestet.
- Neogen Petrifilm CC Platten dürfen nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren verwendet werden.
- Neogen Petrifilm CC Platten können die einzelnen Coliformen-Stämme nicht differenzieren.
- Lebensmittel mit hohem Zuckergehalt können eine mögliche Gasproduktion durch nicht coliforme *Enterobacteriaceae* erhöhen.

Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Informationen zur Dokumentation der Produktleistung finden Sie auf unserer Website unter [www.neogen.com](http://www.neogen.com) oder bei Ihrem Neogen-Vertreter oder autorisierten Händler.

## Verantwortung des Anwenders

Anwender müssen sich auf eigene Verantwortung mit den Gebrauchsanweisungen und Informationen des Produkts vertraut machen. Besuchen Sie bitte unsere Website unter [www.neogen.com](http://www.neogen.com) oder wenden Sie sich für weitere Informationen an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Händler.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist zu beachten, dass externe Faktoren wie Probenentnahmemethoden, Testprotokolle, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik die Ergebnisse beeinflussen können.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders bei der Auswahl einer Testmethode oder eines Produkts, diese mit einer ausreichenden Anzahl von Proben und Kontrollen zu evaluieren, um sicherzustellen, dass die gewählte Testmethode seinen Anforderungen entspricht.

Der Anwender trägt ebenfalls die Verantwortung dafür, dass die angewendeten Testmethoden und Ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei allen Testmethoden, stellen die mit Neogen Lebensmittelsicherheitsprodukten erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matrizen oder Prozesse dar.

## Haftungsbeschränkungen/Beschränkte Rechtsmittel

AUSSER ES WIRD AUSDRÜCKLICH ANDERS IM ABSCHNITT DER HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN DER VERPACKUNG DES JEWEILIGEN PRODUKTS ANGEGEBEN, LEHNT NEOGEN ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIE, EINSCHLIESSLICH, JEDOCH NICHT BESCHRÄNKT AUF, DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK AB. Sollte sich ein Produkt von Neogen Food Safety als defekt herausstellen, wird es von Neogen oder einem autorisierten Vertragshändler nach eigenem Ermessen ersetzt oder der Kaufpreis zurückerstattet. Gewährleistungsansprüche bestehen nicht. Sie sind verpflichtet, Neogen umgehend innerhalb von sechzig Tagen, nachdem die mutmaßlichen Defekte am Produkt festgestellt wurden, darüber zu informieren und das Produkt an Neogen zurückzusenden. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Neogen-Händler.

## Haftungsbeschränkungen von Neogen

NEOGEN HAFTET NICHT FÜR VERLUSTE ODER SCHÄDEN, GANZ GLEICH OB MITTELBARE, UNMITTELBARE, SPEZIELLE, NEBEN- ODER FOLGESCHÄDEN EINSCHLIESSLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF ENTGANGENEN GEWINN. In keinem Fall übersteigt die Haftung von Neogen den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

## Lagerung

Lagern Sie ungeöffnete Beutel mit Neogen Petrifilm CC Platten gekühlt oder gefroren bei Temperaturen von unter oder gleich 8 °C (46 °F). Lassen Sie verschlossene Beutel mit Neogen Petrifilm CC Platten unmittelbar vor dem Gebrauch und vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen. Legen Sie unbenutzte Neogen Petrifilm CC Platten wieder zurück in den Beutel. Falten Sie das geöffnete Ende eines nicht verbrauchten Beutels um und verschließen Sie es mit Klebeband. **Damit die Platten keiner Feuchtigkeit ausgesetzt werden, dürfen die geöffneten Beutel nicht mehr im Kühlschrank gelagert werden.** Lagern Sie wieder verschlossene Beutel maximal vier Wochen lang an einem kühlen trockenen Ort. Sollte die Labortemperatur 25 °C (77 °F) überschreiten und/oder Ihr Labor in einer Region mit > 50% relativer Luftfeuchtigkeit liegen (mit Ausnahme von Gebäuden mit Klimaanlage), wird empfohlen, die wieder verschlossenen Beutel mit Neogen Petrifilm CC Platten in einem Tiefkühlgerät zu lagern (siehe unten).



Um die geöffneten Beutel im Tiefkühlgerät zu lagern, legen Sie die Neogen Petrifilm CC Platten in einen verschließbaren Behälter. Um gefrorene Neogen-Petrifilm-CC-Platten zur Verwendung zu entnehmen, öffnen Sie den Behälter, nehmen Sie die benötigten Platten heraus und legen Sie die verbleibenden Platten umgehend für die restliche Haltbarkeitsdauer im versiegelten Behälter zurück in den Gefrierschrank. Verwenden Sie Neogen Petrifilm CC Platten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr. Das Tiefkühlgerät für die Lagerung des offenen Beutels darf keinen automatischen Abtauzyklus durchführen, da dies die Neogen Petrifilm CC Platten Feuchtigkeit aussetzen und damit zu Beschädigungen führen könnte.

Verwenden Sie keine verfärbten Neogen Petrifilm CC Platten. Verfallsdatum und Chargennummer sind auf jeder Verpackung von Neogen Petrifilm CC Platten angegeben. Die Chargennummer befindet sich zudem auf jeder einzelnen Neogen Petrifilm CC Platte.

### ⚠ **Entsorgung**

Nach Gebrauch können Neogen Petrifilm CC Platten mit Mikroorganismen kontaminiert sein und somit ein biologisches Gefährdungspotenzial darstellen.

Bei der Entsorgung sind die aktuellen Industriestandards zu beachten.

### **Bedienungsanleitung**

Befolgen Sie alle Anweisungen genau. Andernfalls werden möglicherweise ungenaue Ergebnisse erzielt.

### **Vorbereitung, Inkubation und Interpretation von Proben aus der Lebensmittel- und Getränke-industrie (mit Ausnahme von abgefülltem Wasser), einschließlich Umgebungsproben**

#### **Vorbereiten der Probe**

1. Verwenden Sie geeignete sterile Verdünnungsmittel:

Butterfields phosphatgepuffertes Verdünnungswasser<sup>7</sup>, 0,1 % Peptonwasser<sup>8</sup>, Peptonsalzverdünner<sup>8,9</sup>, gepuffertes Peptonwasser<sup>8,9</sup>, Kochsalzlösung (0,85-0,90 %), Neogen® Breitspektrum-Neutralisator, bisulfatfreies Lethen Broth oder destilliertes Wasser. Spezifische Anweisungen finden Sie im Abschnitt „**Spezielle Anweisungen für validierte Verfahren**“.

**Neogen Petrifilm CC Platten nicht in Verbindung mit Verdünnungsmitteln benutzen, die Citrat, Bisulfit oder Thiosulfat enthalten. Sie können das Wachstum der Keime hemmen.** Falls im Standardverfahren Citratpuffer vorgegeben wird, sollte er durch einen der oben genannten, auf 40-45 °C (104-113 °F) angewärmten Puffer ersetzt werden.

2. Mischen oder homogenisieren Sie die Probe.
3. Für ein optimales Wachstum und eine optimale Rückgewinnung von Mikroorganismen muss der pH-Wert der Probensuspension auf 6,6-7,2 angepasst werden. Passen Sie den pH-Wert von säurehaltigen Produkten mit 1 N NaOH an. Passen Sie den pH-Wert von basehaltigen Produkten mit 1 N HCl an.

#### **Ausplattieren**

1. Legen Sie die Neogen Petrifilm CC Platte auf eine flache, ebene Oberfläche.
2. Heben Sie die obere Folie ab und pipettieren Sie mit zum Beimpfungsbereich senkrechter Pipette 1 ml der Probe in die Mitte des unteren Films.
3. Rollen Sie den oberen Film nach unten auf die Probe, um einen Einschluss von Luftbläschen zu verhindern.
4. Platzieren Sie den Neogen® Petrifilm® Probenverteiler mit der flachen Seite nach unten in der Mitte der Neogen Petrifilm CC Platte. Verteilen Sie die Probe gleichmäßig, indem Sie leichten Druck auf die Mitte des Neogen Petrifilm Probenverters ausüben. Verteilen Sie das Inokulum über den gesamten Wachstumsbereich der Neogen Petrifilm CC Platte, bevor sich das Gel ausbildet. Schieben Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler nicht über die Folie.
5. Heben Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler ab und lassen Sie die Neogen Petrifilm CC Platte mindestens eine Minute lang zum Ausbilden des Gels ungestört stehen.

#### **Inkubation**

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten in horizontaler Lage mit der durchsichtigen Seite nach oben in Stapeln von maximal 20 Platten. Abhängig von aktuellen örtlichen Referenzmethoden, von denen einige im Abschnitt „**Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren**“ aufgeführt sind, können verschiedene Inkubationszeiten und Temperaturen verwendet werden.

#### **Interpretation**

1. Die Neogen Petrifilm CC Platten können mit einem Standardkoloniezähler oder unter einem beleuchteten Vergrößerungsglas gezählt werden. Das von den Coliformen produzierte Gas kann die Kolonie aufbrechen, sodass die Kolonie die Blase „umrandet“. Dies sollte als einzige Coliformen-Kolonie gezählt werden. Zählen Sie keine Kolonien, die auf dem Schaumstoffdamm wachsen, da sie dem selektiven Einfluss des Mediums entzogen sind. Zählen Sie keine u. U. vorhandenen Artefaktbläschen.



Die Interpretation von Coliformen-Kolonien auf der Neogen Petrifilm CC Platte unterscheidet sich je nach Referenzmethode. Beispiel:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Coliformen-Kolonien sind rot und sind eng mit eingeschlossenem Gas assoziiert (Durchmesser von unter einer Kolonie). Nicht mit Gas assoziierte Kolonien (Abstand zwischen Kolonie und Gasbläschen ist größer als ein Kolonien-Durchmesser ist) werden nicht als Coliforme gezählt.

ODER NF Validation-zertifizierte Methoden:

- Im Vergleich zur ISO-Methode 4831<sup>2</sup> (MPN-Methode) sind Coliformen-Kolonien rot und eng mit eingeschlossenem Gas assoziiert (Durchmesser von unter einer Kolonie).
- Im Vergleich zur ISO-Methode 4832<sup>1</sup> (Gesamt-Coliforme) und NF V08-060<sup>3</sup> (fäkale Coliforme), beide basierend auf VRBL-Methoden, werden alle roten Kolonien mit oder ohne Gas gezählt.

2. Der kreisförmige Wachstumsbereich ist ca. 20 cm<sup>2</sup> groß. Bei Platten mit mehr als 150 Kolonien kann auf Neogen Petrifilm CC Platten eine Schätzung vorgenommen werden, indem die Anzahl Kolonien in zwei oder mehr repräsentativen Quadraten gezählt werden und der Durchschnittswert pro Quadrat bestimmt wird. Multiplizieren Sie zur Bestimmung der geschätzten Anzahl mit der Neogen Petrifilm CC Platte die durchschnittliche Anzahl mit 20.
3. Wenn hohe Koloniezahlen vorliegen, können Neogen Petrifilm CC Platten eine stärkere Gelfarbe aufweisen und eine oder beide der folgenden Eigenschaften zeigen: viele kleine, undeutliche Kolonien und/oder viele Gasblasen. Hohe Konzentrationen von Coliformen führen zu einer Rotfärbung des Wachstumsbereichs. Wenn dies auftritt, müssen die Ergebnisse „Zur Zählung zu zahlreich“ (TNTC) dokumentiert werden. Wird die tatsächliche Anzahl benötigt, plattieren Sie mit einer höheren Verdünnung aus.
4. Kolonien können, wo erforderlich, zur weiteren Identifizierung isoliert werden. Heben Sie die obere Folie mithilfe einer korrekten Testmethode ab und nehmen Sie die Kolonie von dem Gel ab. Testen Sie mithilfe der Standardverfahren.
5. Wenn es nicht möglich ist, die Neogen Petrifilm CC Platten innerhalb von 1 Stunde nach der Herausnahme aus dem Inkubator zu zählen, können Sie sie in einem verschließbaren Behälter bei Temperaturen von gleich oder unter 15 °C (5 °F) maximal eine Woche lang tiefgekühlt lagern.

## Vorbereitung Inkubation und Interpretation von Proben von abgefülltem Wasser

### Hydrieren der Neogen Petrifilm CC Platten

1. Legen Sie die Neogen Petrifilm CC Platte auf eine flache, ebene Oberfläche.
2. Heben Sie die obere Folie ab und dispensieren Sie 1 ml eines geeigneten sterilen Hydrierungsverdünnungsmittels in die Mitte auf den unteren Film. Als sterile Hydrierungsverdünnungsmittel eignen sich zum Beispiel destilliertes Wasser, deionisiertes Wasser (DI) und Umkehrosmose-Wasser (RO).
3. Rollen Sie den oberen Film nach unten auf die Probe, um einen Einschluss von Luftbläschen zu verhindern.
4. Platzieren Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler mit der flachen Seite nach unten in der Mitte der Platte. Verteilen Sie das Verdünnungsmittel gleichmäßig, indem Sie leichten Druck auf die Mitte des Probenverteilers ausüben. Verteilen Sie das Verdünnungsmittel über die gesamte Neogen Petrifilm Platte, bevor sich das Gel ausbildet. Schieben Sie den Probenverteiler nicht über die Folie.
5. Entfernen Sie den Probenverteiler und lassen Sie die Platten vor dem Gebrauch mindestens 1 Stunde lang geschlossen.
6. Lagern Sie die hydrierten Neogen Petrifilm CC Platten in einem verschlossenen Beutel oder einem Plastikbeutel. Lagern Sie Platten bis zu 7 Tage lang lichtgeschützt im Kühlschrank bei 2-8 °C (36-46 °F).

### Wasserfiltration und Platteninkubation

1. Führen Sie eine Membranfiltration der Wasserprobe gemäß den Standardverfahren zur Wasseranalyse durch. Verwenden Sie dabei einen 47-mm-Filter aus gemischtem Celluloseester (MCE) mit einer Porengröße von 0,45 Mikrometer.
2. Heben Sie vorsichtig den oberen Film von der Neogen Petrifilm CC Platte ab. Vermeiden Sie es, den runden Wachstumsbereich zu berühren. Platzieren Sie den Filter in der Mitte des hydrierten Bereichs. Achten Sie darauf, möglichst wenig Bläschen unter dem Filter einzuschließen.
3. Rollen Sie langsam den oberen Film auf den Filter. Minimieren Sie das Einschließen von Luftbläschen und die Entstehung von Lücken zwischen dem Filter und der Neogen Petrifilm CC Platte.
4. Üben Sie mithilfe des Neogen Petrifilm Platten Probenverteilers leichten Druck aus oder fahren Sie vorsichtig mit dem Finger über den gesamten Plattenbereich (einschließlich Kanten), um sicherzustellen, dass der Filter gleichmäßigen Kontakt mit dem Gel hat und um Luftblasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie die Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden ± 2 Stunden<sup>11</sup> lang bei 35°C ± 1 °C oder 24 Stunden ± 2 Stunden<sup>12</sup> lang bei 36°C ± 1 °C in horizontaler Lage mit der durchsichtigen Seite nach oben in Stapeln von maximal 20 Platten.



## Interpretation

1. Die Neogen Petrifilm CC Platten können mit einem Standardkoloniezähler oder unter einem beleuchteten Vergrößerungsglas gezählt werden. Zählen Sie keine Kolonien, die auf dem Schaumstoffdamm wachsen, da sie dem selektiven Einfluss des Mediums entzogen sind. Zählen Sie keine u. U. vorhandenen Artefaktbläschen.
2. Rote, mit Gasbläschen assoziierte Kolonien werden als Coliforme gezählt. Gasbläschen können ein rundes oder sternförmiges Muster um die Kolonien bilden. Das von den Coliformen produzierte Gas kann die Kolonie aufbrechen, sodass die Kolonie die Blase „umrandet“. Dies sollte als einzige Coliformen-Kolonie gezählt werden. Rote Kolonien die nicht eng mit Gasbläschen assoziiert sind, können auch Coliforme sein. In diesem Fall sollten Sie herausgenommen und mit entsprechenden Bestätigungsmethoden getestet werden<sup>11,12</sup>.
3. Wenn hohe Koloniezahlen vorliegen, weisen Neogen Petrifilm CC Platten eine stärkere Gelfarbe auf, die mit vielen kleinen, undeutlichen Kolonien und/oder vielen Gasbläschen assoziiert ist. Wenn dies auftritt, müssen die Ergebnisse „Zur Zählung zu zahlreich“ (TNTC) dokumentiert werden.
4. Kolonien können zur weiteren Identifizierung isoliert werden. Heben Sie die obere Folie ab und nehmen Sie die Kolonie von dem Gel oder der Filteroberfläche ab. Beim Anheben des oberen Films kann der Filter am oberen Film oder unteren Film haften bleiben. Wenn der Filter am oberen Film haftet, trennen Sie ihn vom oberen Film und nehmen Sie Kolonien auf. Testen Sie mithilfe der Standardverfahren.

**Hinweis:** Eine verzögerte Auszählung der Neogen Petrifilm CC Platten mit Filtern wird nicht empfohlen.

Weitere Informationen finden Sie im „Interpretationsleitfaden für Neogen® Petrifilm® Coliforme Zählplatten.“ Sollten Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter [www.neogen.com](http://www.neogen.com) oder wenden Sie sich an den lokalen Neogen-Verkaufsvertreter oder Händler.

### Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden ± 2 Stunden lang bei 32 °C ± 1 °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden ± 2 Stunden lang bei 35 °C ± 1 °C.

### AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Zertifikat Nr. 082101

In einer Performance Tested Method (PTM)-Studie des AOAC® Research Institute konnte gezeigt werden, dass das Neogen Petrifilm CC Platten-Verfahren den durchschnittlichen Logzählungen des Verfahrens United States FDA/BAM Chapter 4, Section III.D zur Zählung von Coliformen in abgefülltem Wasser gleichwertig ist.



### Einsatzgebiet der Validierung:

Abgefülltes Wasser: gereinigtes Wasser, behandeltes Quellwasser, stilles natürliches Quellwasser, kohlenstoffhaltiges natürliches Quellwasser.

### Inkubation:

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden ± 2 Stunden lang bei 35 °C ± 1 °C.

### NF Validation gemäß AFNOR Certification:

**NF Validation-zertifizierte Methode in Übereinstimmung mit ISO 16140-2<sup>10</sup> im Vergleich zu ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Einsatzgebiet der Validierung:** Für die Untersuchung von nur für den Menschen vorgesehenen Nahrungsmittelprodukten (mit Ausnahme von rohen Schalentieren), Tiernahrung und Umgebungsproben.

Bei der Umsetzung der obigen Verfahrensrichtlinien müssen folgende Details beachtet werden:

### Probenvorbereitung:

Verwenden Sie nur die nach ISO aufgelisteten Verdünnungsmittel.

### Inkubation:

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden ± 2 Stunden lang bei 30 °C ± 1 °C oder 37 °C ± 1 °C.

### Interpretation:

Die Zahl der Mikroorganismen in der Probenlösung wird gemäß ISO 7218<sup>5</sup> für eine Platte pro Verdünnungsstufe berechnet. Schätzungen liegen außerhalb des Umfangs der NF Validation-Zertifizierung (siehe „Interpretationsteil, Paragraph 2“).



**NF Validation-zertifizierte Methode in Übereinstimmung mit ISO 16140-2<sup>10</sup> im Vergleich zu ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Einsatzgebiet der Validierung:** Zur Untersuchung von nur für den menschlichen Verzehr vorgesehenen Nahrungsmittelprodukten (mit Ausnahme von rohen Schalentieren).

Bei der Umsetzung der obigen Verfahrensrichtlinien müssen folgende Details beachtet werden:

**Probenvorbereitung:**

Verwenden Sie nur die nach ISO aufgelisteten Verdünnungsmittel.

**Inkubation:**

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden  $\pm$  2 Stunden lang bei 30 °C  $\pm$  1 °C oder 37 °C  $\pm$  1 °C.

**Interpretation:**

Die Zahl der Mikroorganismen in der Probenlösung wird gemäß ISO 7218<sup>5</sup> für eine Platte pro Verdünnungsstufe berechnet. Schätzungen liegen außerhalb des Umfangs der NF Validation-Zertifizierung (siehe „Interpretationsteil, Paragraph 2“).

**NF Validation-zertifizierte Methoden in Übereinstimmung mit ISO 16140-2<sup>10</sup> im Vergleich zu NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Einsatzgebiet der Validierung:** Zur Untersuchung von nur für den menschlichen Verzehr vorgesehenen Nahrungsmittelprodukten

Bei der Umsetzung der obigen Verfahrensrichtlinien müssen folgende Details beachtet werden:

**Probenvorbereitung:**

Verwenden Sie nur die nach ISO aufgelisteten Verdünnungsmittel

**Inkubation:**

Inkubieren Sie Neogen Petrifilm CC Platten 24 Stunden  $\pm$  2 Stunden lang bei 44 °C  $\pm$  1 °C.

**Interpretation:**

Die Zahl der Mikroorganismen in der Probenlösung wird gemäß ISO 7218<sup>5</sup> für eine Platte pro Verdünnungsstufe berechnet. Schätzungen liegen außerhalb des Umfangs der NF Validation-Zertifizierung (siehe „Interpretationsteil, Paragraph 2“). Zur Inokulation, Koloniezählung und -berechnung sowie zur Darstellung der Ergebnisse wird auf die Norm EN ISO 7218 verwiesen.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Für weitere Informationen zum Ablauf der Validierung siehe NF VALIDATION-Zertifikat unter der oben genannten Website.

## Referenzen

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM gefunden unter: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Konsultieren Sie bitte die jeweils aktuelle Version der oben aufgelisteten Standardmethoden.

## Erklärung der Symbole

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC ist eine eingetragene Marke von AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods ist eine Dienstleistungsmarke von AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method ist eine Dienstleistungsmarke von AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Istruzioni sul prodotto

# Piastra per il conteggio dei coliformi

### Descrizione del prodotto e uso previsto

La piastra Neogen® Petrifilm® per il conteggio dei coliformi (CC) è un sistema con terreno di coltura pronto per l'uso che contiene sostanze nutritive Violet Red Bile (VRB) modificate, una sostanza gelificante solubile in acqua fredda e un indicatore al tetrazolio che facilita il conteggio delle colonie. Le piastre Neogen Petrifilm CC sono utilizzate per il conteggio di coliformi nei settori alimentare, delle bevande e dell'acqua in bottiglia. I componenti della piastra Neogen Petrifilm CC sono decontaminati, seppure non sterilizzati. Neogen Food Safety è certificata International Organization for Standardization (ISO) 9001 per la progettazione e la produzione. La piastra Neogen Petrifilm CC non è stata valutata con tutti i prodotti alimentari, i processi alimentari, i protocolli di test o tutti i ceppi di microrganismi possibili.

Il Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> della United States Food and Drug Administration (FDA) definisce i coliformi come bastoncini Gram negativi, che producono acido e gas dalla fermentazione lattica. Le colonie di coliformi che crescono sulla piastra Neogen Petrifilm CC producono acido, che induce l'indicatore di pH a far diventare più intenso il colore del gel; il gas intrappolato nelle colonie rosse indica i coliformi.

ISO definisce i coliformi a seconda della loro capacità di crescita in terreni di coltura selettivi, specifici per il metodo. Il metodo ISO 4832<sup>1</sup>, che enumera i coliformi con la tecnica del conteggio delle colonie, definisce i coliformi come produttori di acido su VRB agar con lattosio (VRBL). Sulle Piastre Neogen Petrifilm CC, questi coliformi che producono acido sono indicati da colonie rosse con o senza produzione di gas. Il metodo ISO 4831<sup>2</sup>, che enumera i coliformi con il metodo del numero più probabile (Most Probable Number - MPN), definisce i coliformi per la loro capacità di crescere e produrre gas dal lattosio in un brodo selettivo. Sulle Piastre Neogen Petrifilm CC, questi coliformi sono indicati da colonie rosse associate a gas.

Per campioni di acqua in bottiglia, colonie di coliformi confermate sono indicate da colonie rosse associate a gas su Piastre Neogen Petrifilm CC. Le colonie rosse senza bolle di gas strettamente associate possono essere coliformi e devono essere sottocolturate e testate con metodi di conferma appropriati<sup>11,12</sup>. Vedere il paragrafo Interpretazione per ulteriori dettagli. Colonie caratteristiche possono essere sottocolturate e testate come *Escherichia coli*.

AFNOR Certification ha certificato la Piastra Neogen Petrifilm CC rispetto al metodo ISO 4831<sup>2</sup> e al metodo ISO 4832<sup>1</sup> per l'enumerazione dei coliformi totali. AFNOR Certification ha inoltre certificato la Piastra Neogen Petrifilm CC rispetto a NF V08-060<sup>3</sup>, per l'enumerazione dei coliformi termotolleranti.

### Sicurezza

L'utente è tenuto a leggere, comprendere e seguire tutte le informazioni di sicurezza contenute nelle istruzioni della Piastra Neogen Petrifilm CC. Conservare le istruzioni di sicurezza per poterle consultare in futuro.

**⚠ AVVERTENZA:** indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare la morte o lesioni gravi e/o danni materiali.

## ⚠ AVVERTENZA

### Per ridurre i rischi associati all'esposizione a pericoli biologici e alla contaminazione ambientale

- Seguire gli standard di settore e le normative locali vigenti per lo smaltimento dei rifiuti a rischio biologico.

### Per ridurre i rischi associati al rilascio di un prodotto contaminato

- Seguire tutte le istruzioni relative alla conservazione del prodotto contenute nelle istruzioni per l'uso.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.

### Per ridurre i rischi associati all'infezione batterica e alla contaminazione del luogo di lavoro

- Eseguire il test con la Piastra Neogen Petrifilm CC in un laboratorio adeguatamente equipaggiato, sotto la supervisione di un microbiologo esperto.
- L'utente deve addestrare il proprio personale all'esecuzione corretta di tecniche di prova attuali: per esempio, Buone prassi di laboratorio<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> o ISO 17025<sup>6</sup>.

### Per ridurre i rischi associati a un'interpretazione errata dei risultati

- Neogen non ha documentato l'uso delle Piastre Neogen Petrifilm CC nell'ambito di settori diversi da quello alimentare e delle bevande, inclusa l'acqua in bottiglia. Per esempio, Neogen non ha documentato l'uso delle Piastre Neogen Petrifilm CC per analizzare sostanze farmaceutiche o cosmetici. Neogen non ha documentato l'uso delle Piastre Neogen Petrifilm CC per analizzare acque superficiali e urbane o acque utilizzate nei settori farmaceutico o cosmetico.



- L'uso di Piastre Neogen Petrifilm CC per testare campioni di acqua in conformità delle normative locali in materia di analisi dell'acqua è a esclusiva discrezione e responsabilità dell'utente finale. Le Piastre Neogen Petrifilm CC non sono state testate con tutti i campioni di acqua in bottiglia, i protocolli di test o tutti i ceppi di microrganismi possibili.
- Non utilizzare le Piastre Neogen Petrifilm CC per la diagnosi di condizioni patologiche in esseri umani o animali.
- Le Piastre Neogen Petrifilm CC non sono in grado di differenziare tra loro i diversi ceppi di coliformi.
- Gli alimenti ad alto contenuto di zucchero possono aumentare il potenziale di produzione di gas da parte di *Enterobacteriaceae* non coliformi.

Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza.

Per informazioni sulla documentazione relativa alle prestazioni del prodotto, visitare il nostro sito Web all'indirizzo [www.neogen.com](http://www.neogen.com) oppure contattare il rappresentante Neogen o il distributore autorizzato.

## Responsabilità dell'utente

Gli utenti sono tenuti a leggere e apprendere le istruzioni e le informazioni sul prodotto. Per maggiori informazioni, visitare il nostro sito Web su [www.neogen.com](http://www.neogen.com) oppure contattare il rappresentante o il distributore autorizzato Neogen.

Nella scelta di un metodo di test, è importante considerare che fattori esterni quali i metodi di campionamento, i protocolli di test, la preparazione del campione, la manipolazione e le tecniche di laboratorio possono influenzare i risultati.

È responsabilità dell'utente, nel selezionare un qualsiasi metodo di analisi o prodotto, valutare un numero sufficiente di campioni con le matrici appropriate e con particolari caratteristiche microbiche per soddisfare i criteri relativi alla metodologia di analisi scelta dall'utente.

L'utente ha inoltre la responsabilità di accertarsi che tutti i metodi di analisi utilizzati e i risultati ottenuti soddisfino i requisiti dei propri clienti e fornitori.

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie al prodotto di Neogen Food Safety non costituiscono una garanzia della qualità delle matrici o dei processi sottoposti a prova.

## Limitazione di garanzia/Rimedio limitato

SALVO NEI CASI ESPRESSAMENTE INDICATI IN UNA SEZIONE DI GARANZIA LIMITATA DELLA CONFEZIONE DEL SINGOLO PRODOTTO, NEOGEN NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE, MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE. Qualora un prodotto della Neogen Food Safety sia difettoso, Neogen o il suo distributore autorizzato provvederanno, a loro discrezione, alla sostituzione o al rimborso del prezzo d'acquisto del prodotto. Questi sono gli unici rimedi a disposizione del cliente. Si dovrà avvisare immediatamente Neogen entro sessanta giorni dal riscontro di eventuali difetti sospetti nel prodotto, provvedendo a rispedirlo a Neogen. Per ulteriori domande, contattare il rappresentante Neogen o il distributore autorizzato Neogen.

## Limitazione di responsabilità da parte di Neogen

NEOGEN NON SARÀ RESPONSABILE DI PERDITE O DANNI, DIRETTI, INDIRETTI, SPECIALI, INCIDENTALI O EMERGENTI, INCLUSA, MA NON IN VIA STRETTAMENTE LIMITATIVA, LA PERDITA DI PROFITTO. In nessun caso la responsabilità legale di Neogen andrà oltre il prezzo d'acquisto del prodotto presunto difettoso.

## Conservazione

Conservare le buste contenenti le Piastre Neogen Petrifilm CC chiuse in frigorifero o nel congelatore a temperature inferiori o pari a 8 °C (46 °F). Prima di aprire le buste contenenti le Piastre Neogen Petrifilm CC, attendere che esse abbiano raggiunto la temperatura ambiente. Riporre le Piastre Neogen Petrifilm CC inutilizzate nella busta originale. Sigillare ripiegando l'estremità della busta e applicando del nastro adesivo. **Non refrigerare le buste aperte per evitarne l'esposizione all'umidità.** Le buste aperte e risigillate vanno conservate in un luogo fresco e asciutto per non oltre 4 settimane. Si raccomanda di conservare le buste di Piastre Neogen Petrifilm CC risigillate in un congelatore (vedere sotto) se la temperatura del laboratorio supera i 25 °C (77 °F) e/o il laboratorio si trova in un'area dove l'umidità relativa supera il 50% (con l'eccezione di locali dotati di aria condizionata).

Per conservare le buste aperte in un congelatore, inserire le Piastre Neogen Petrifilm CC in un contenitore sigillabile. Per rimuovere le piastre CC Petrifilm Neogen congelate per l'uso, aprire il contenitore, rimuovere le piastre necessarie e rimettere immediatamente le piastre rimanenti nel congelatore nel contenitore sigillato per la restante conservazione. Le Piastre Neogen Petrifilm CC non devono essere utilizzate dopo la data di scadenza. Il congelatore utilizzato per la conservazione delle buste aperte non deve disporre di un ciclo automatico di sbrinamento, in quanto l'esposizione ripetuta delle Piastre Neogen Petrifilm CC all'umidità può danneggiarle.

Non utilizzare le Piastre Neogen Petrifilm CC in presenza di segni di scolorimento. La data di scadenza e il numero di lotto sono riportati su ogni confezione di Piastre Neogen Petrifilm CC. Il numero di lotto è riportato anche sulle singole Piastre Neogen Petrifilm CC.

### △ Smaltimento

Dopo l'uso, le Piastre Neogen Petrifilm CC potrebbero contenere microorganismi che possono rappresentare un potenziale rischio biologico.

Seguire le normative vigenti del settore per lo smaltimento.

### Istruzioni per l'uso

Seguire attentamente tutte le istruzioni. In caso contrario, si rischia di ottenere risultati non precisi.

## Preparazione, incubazione e interpretazione di campioni dei settori alimentare e delle bevande (eccetto l'acqua in bottiglia), compresi i campioni ambientali

### Preparazione del campione

1. Usare i diluenti sterili appropriati:

Acqua per diluizione con tampone fosfato di Butterfield<sup>7</sup>, acqua peptonata allo 0,1%<sup>8</sup>, diluenti salini peptonati<sup>8,9</sup>, acqua peptonata tamponata<sup>8,9</sup>, soluzione salina (0,85-0,90%), neutralizzante ad ampio spettro Neogen<sup>®</sup>, brodo Letheen privo di bisolfiti o acqua distillata. Per i requisiti specifici, consultare la sezione "Istruzioni specifiche per metodi validati".

**Non utilizzare diluenti contenenti citrato, bisolfito o tiosolfato con le Piastre Neogen Petrifilm CC: possono inibire la crescita.** Se nella procedura standard viene indicato il tampone citrato, sostituire con uno dei tamponi elencati in precedenza, riscaldato a 40-45 °C (104-113 °F).

2. Miscelare o omogeneizzare il campione.
3. Per una crescita ottimale e il recupero di microorganismi, regolare il pH della sospensione del campione su un valore di 6,6 - 7,2. Con i prodotti acidi, regolare il pH con 1N NaOH. Con i prodotti alcalini, regolare il pH con 1N HCl.

### Piastratura

1. Posizionare la Piastra Neogen Petrifilm CC su una superficie piana e livellata.
2. Sollevare la pellicola superiore e con la pipetta perpendicolare all'area di inoculazione erogare 1 ml di sospensione del campione al centro della pellicola inferiore.
3. Srotolare la pellicola superiore sul campione per evitare di intrappolare eventuali bolle d'aria.
4. Collocare il Diffusore per piastre Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> con il lato piatto rivolto verso il basso al centro della Piastra Neogen Petrifilm CC. Distribuire uniformemente il campione esercitando una leggera pressione al centro del Diffusore per piastre Neogen Petrifilm. Distribuire l'inoculo sull'intera area di crescita della Piastra Neogen Petrifilm CC prima che si formi il gel. Non far scorrere il Diffusore per piastre Neogen Petrifilm sulla pellicola.
5. Rimuovere il Diffusore per piastre Neogen Petrifilm e lasciare riposare la Piastra Neogen Petrifilm CC per almeno un minuto in modo da consentire la formazione del gel.

### Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC in posizione orizzontale, con la faccia trasparente rivolta verso l'alto in pile di non oltre 20 piastre. È possibile utilizzare tempi e temperature di incubazione diversi a seconda dei metodi di riferimento locali; alcuni esempi sono riportati nel paragrafo "Istruzioni specifiche per metodi validati".

### Interpretazione

1. Le Piastre Neogen Petrifilm CC possono essere sottoposte a conteggio mediante un contacolonie standard o un'altra sorgente di luce ingrandita. Il gas prodotto dai coliformi può interrompere la colonia in modo tale che la colonia "delinei il contorno" della bolla. Questa dovrebbe essere considerata come singolo coliforme. Le colonie sulla barriera schiumosa non vanno prese in considerazione in quanto vengono rimosse dall'influenza selettiva del terreno di coltura. Non contare le bolle artefatte che potrebbero essere presenti.

L'interpretazione delle colonie di coliformi sulla Piastra Neogen Petrifilm CC varia a seconda del metodo di riferimento. Per esempio:

AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

Le colonie di coliformi sono rosse e strettamente associate (entro il diametro della colonia stessa) al gas intrappolato. Le colonie non associate al gas (la distanza tra la colonia e la bolla di gas in tal caso deve essere maggiore del diametro della colonia) non vengono conteggiate come coliformi.

OPPURE metodi certificati NF Validation:

- Rispetto al metodo ISO 4831<sup>2</sup> (metodo MPN), le colonie di coliformi sono rosse e strettamente associate (entro il diametro della colonia stessa) al gas intrappolato.
- Rispetto al metodo ISO 4832<sup>1</sup> (coliformi totali) e NF V08-060<sup>3</sup> (coliformi fecali) entrambi basati su metodi VRBL, devono essere considerate tutte le colonie rosse con o senza gas.

2. L'area di crescita circolare è pari a 20 cm<sup>2</sup> circa. È possibile effettuare delle stime su Piastre Neogen Petrifilm CC che contengono oltre 150 colonie contando il numero di colonie in uno o più quadratini rappresentativi e determinando il numero medio per quadratino. Moltiplicare il numero medio per 20 al fine di determinare la conta stimata per Piastra Neogen Petrifilm CC.

3. Quando le colonie sono presenti in gran numero, le Piastre Neogen Petrifilm CC possono far diventare il colore del gel più intenso e avere una o entrambe le seguenti caratteristiche: molte piccole colonie indistinte e/o numerose bolle di gas. Elevate concentrazioni di coliformi faranno virare il colore dell'area di crescita al rosso scuro. Quando ciò avviene, registrare il risultato come Too Numerous To Count (TNTC, troppo numerose per essere contate). Quando è necessario un conteggio effettivo, prevedere una piastratura con diluizione maggiore.
4. Qualora sia necessario, le colonie possono essere isolate per un'ulteriore identificazione. Sollevare la pellicola superiore applicando la corretta tecnica di prova e prelevare la colonia dal gel. Analizzare la colonia mediante le procedure standard.
5. Se non è possibile eseguire il conteggio delle Piastre Neogen Petrifilm CC entro 1 ora dalla rimozione dall'incubatore, le piastre possono essere congelate e conservate per il conteggio differito in un contenitore sigillabile a temperatura pari o inferiore a -15 °C (5 °F) per massimo una settimana.

## Preparazione, incubazione e interpretazione di campioni di acqua in bottiglia

### Idratare le Piastre Neogen Petrifilm CC

1. Posizionare la Piastra Neogen Petrifilm CC su una superficie piana e livellata.
2. Sollevare la pellicola superiore ed erogare 1 ml di un diluente sterile idratante appropriato sul centro della pellicola inferiore. Tra i diluenti sterili idratanti appropriati figurano acqua distillata, acqua deionizzata (DI) e acqua trattata con l'osmosi inversa (OI).
3. Srotolare la pellicola superiore sul campione per evitare di intrappolare eventuali bolle d'aria.
4. Collocare il Diffusore per piastre Neogen Petrifilm con il lato piatto rivolto verso il basso al centro della piastra. Distribuire uniformemente il diluente esercitando una leggera pressione al centro del diffusore. Distribuire il diluente sull'intera area di crescita della Piastra Neogen Petrifilm prima che si formi il gel. Non far scorrere il diffusore sulla pellicola.
5. Rimuovere il diffusore e consentire alle piastre di rimanere chiuse per almeno 1 ora prima dell'uso.
6. Conservare le Piastre Neogen Petrifilm CC idratate in una busta sigillata o sacchetto di plastica. Proteggere le piastre dalla luce e conservare in frigorifero a 2-8 °C (36-46 °F) per un massimo di 7 giorni.

### Filtrazione dell'acqua e incubazione delle piastre

1. Attenendosi alle procedure standard per l'analisi dell'acqua, effettuare la filtrazione a membrana dei campioni d'acqua utilizzando un filtro da 47 mm in esteri misti di cellulosa (EMC) con porosità di 0,45 micron.
2. Sollevare attentamente la pellicola superiore della Piastra Neogen Petrifilm CC. Evitare di toccare l'area di crescita circolare. Posizionare il filtro al centro dell'area idratata. Ridurre al minimo l'intrappolamento delle bolle sotto il filtro.
3. Srotolare lentamente la pellicola superiore sul filtro. Ridurre al minimo l'intrappolamento delle bolle d'aria e la creazione di spazi tra il filtro e la Piastra Neogen Petrifilm CC.
4. Applicare una leggera pressione utilizzando il Diffusore per piastre Neogen Petrifilm o facendo scorrere leggermente un dito su tutta l'area del disco (compresi i bordi) per assicurare un contatto uniforme del filtro con il gel ed eliminare eventuali bolle d'aria.
5. Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC a 35 °C ± 1 °C per 24 ore ± 2 ore<sup>11</sup> o a 36 °C ± 1 °C per 24 ore ± 2 ore<sup>12</sup> in posizione orizzontale, con la faccia trasparente rivolta verso l'alto in pile di non oltre 20.

### Interpretazione

1. Le Piastre Neogen Petrifilm CC possono essere sottoposte a conteggio mediante un contacolonie standard o un'altra sorgente di luce ingrandita. Le colonie sulla barriera schiumosa non vanno prese in considerazione in quanto vengono rimosse dall'influenza selettiva del terreno di coltura. Non contare le bolle artefatte che potrebbero essere presenti.
2. Le colonie rosse associate alle bolle di gas vengono conteggiate come coliformi. Le bolle di gas possono formare una figura circolare o a forma di stella attorno alla colonia. Il gas prodotto dai coliformi può interrompere la colonia in modo tale che la colonia "delinei il contorno" della bolla. Questa dovrebbe essere considerata come singolo coliforme. Le colonie rosse senza bolle di gas strettamente associate possono essere coliformi e devono essere prelevate e testate con metodi di conferma appropriati<sup>1,12</sup>.
3. Quando le colonie sono presenti in gran numero, le Piastre Neogen Petrifilm CC faranno diventare più intenso il colore del gel associato a molte piccole colonie indistinte o bolle di gas. Quando ciò avviene, registrare il risultato come Too Numerous To Count (TNTC, troppo numerose per essere contate).
4. Le colonie possono essere isolate per un'ulteriore identificazione. Sollevare la pellicola superiore e prelevare la colonia dal gel o dalla superficie del filtro. Quando si solleva la pellicola superiore, il filtro può aderire o alla pellicola superiore o alla pellicola inferiore. Se il filtro aderisce alla pellicola superiore, separare il filtro dalla pellicola superiore e prelevare le colonie. Analizzare la colonia mediante le procedure standard.

**Nota:** si sconsiglia il conteggio ritardato di Piastre Neogen Petrifilm CC con filtri.

Per ulteriori informazioni, fare riferimento all'opportuna "Guida all'interpretazione della Piastra Neogen® Petrifilm® per il conteggio rapido dei coliformi". Per qualsiasi domanda su applicazioni o procedure specifiche, visitare il nostro sito Web all'indirizzo [www.neogen.com](http://www.neogen.com) o contattare il distributore o il rappresentante Neogen di zona.

### Istruzioni specifiche per metodi validati

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Metodi con film secco reidratante del conteggio dei batteri e dei coliformi nel latte e 989.10 Metodi con film secco reidratante del conteggio dei batteri e dei coliformi nei latticini)

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 32 °C ± 1 °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Metodi con film secco reidratante del conteggio di coliformi ed Escherichia coli negli alimenti)

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 35 °C ± 1 °C.

**AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup>, certificato n. 082101**

In uno studio Performance Tested Method (PTM) dell'Istituto di ricerca AOAC® il metodo Piastra Neogen Petrifilm CC è risultato equivalente ai conteggi log medi del metodo FDA/BAM Capitolo 4, Sezione III.D per il conteggio dei coliformi dell'acqua in bottiglia.



### Ambito della validazione

Acqua in bottiglia: acqua purificata, acqua di sorgente trattata, acqua di sorgente naturale non gassata, acqua di sorgente naturale gassata.

### Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 35 °C ± 1 °C.

### NF Validation concessa dalla AFNOR Certification:

**Metodo certificato NF Validation in conformità di ISO 16140-2<sup>10</sup> rispetto a ISO 4832<sup>1</sup>(3M-01/02-09/89 A)**

**Ambito della validazione:** per analizzare tutti i prodotti alimentari umani (eccetto i crostacei crudi), alimenti per animali domestici e campioni ambientali.

Utilizzare i seguenti dettagli quando si applicano le Istruzioni per l'uso di cui sopra.

### Preparazione del campione

Utilizzare esclusivamente diluenti ISO.

### Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 30 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C.

### Interpretazione

Calcolare il numero di microrganismi presenti nel campione del test in base a ISO 7218<sup>5</sup> per una piastra per diluizione. Le stime esulano dall'ambito della certificazione della NF Validation (vedere il paragrafo 2 della sezione Interpretazione).

**Metodo certificato NF Validation in conformità di ISO 16140-2<sup>10</sup> rispetto a ISO 4831<sup>2</sup>(3M-01/02-09/89 B)**

**Ambito della validazione:** per analizzare tutti i prodotti alimentari umani (eccetto i crostacei crudi).

Utilizzare i seguenti dettagli quando si applicano le Istruzioni per l'uso di cui sopra.

### Preparazione del campione

Utilizzare esclusivamente diluenti ISO.

### Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 30 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C.

### Interpretazione

Calcolare il numero di microrganismi presenti nel campione del test in base a ISO 7218<sup>5</sup> per una piastra per diluizione. Le stime esulano dall'ambito della certificazione della NF Validation (vedere il paragrafo 2 della sezione Interpretazione).

**Metodo certificato NF Validation in conformità di ISO 16140-2<sup>10</sup> rispetto a NF V08-060<sup>3</sup>(3M-01/02-09/89 C)**

**Ambito della validazione** Per analizzare tutti i prodotti alimentari umani.

Utilizzare i seguenti dettagli quando si applicano le Istruzioni per l'uso di cui sopra.

### Preparazione del campione

Utilizzare esclusivamente diluenti ISO

### Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm CC per 24 ore ± 2 ore a 44°C ± 1°C.

## Interpretazione

Calcolare il numero di microrganismi presenti nel campione del test in base a ISO 7218<sup>5</sup> per una piastra per diluizione. Le stime esulano dall'ambito della certificazione della NF Validation (vedere il paragrafo 2 della sezione Interpretazione). Fare riferimento allo standard EN ISO 7218 per inoculazione, conteggio delle colonie e calcolo ed espressione dei risultati.



### 3M 01/02 – 09/89A, B, and C ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Per maggiori informazioni sulla scadenza, consultare il certificato NF VALIDATION, disponibile sul sito web menzionato in precedenza.

## Bibliografia

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Fare riferimento alle versioni attuali dei metodi standard elencati in precedenza.

## Legenda dei simboli

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC è un marchio di fabbrica registrato di AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods è un marchio di servizio di AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method è un marchio di servizio di AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Instrucciones del Producto

# Placa para recuento de coliformes

### Descripción del producto y uso previsto

La placa para recuento de coliformes Neogen® Petrifilm® CC es un sistema de medios de cultivo listo para muestras que contiene nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. Las Placas Neogen Petrifilm CC se usan para la enumeración de coliformes en las industrias de agua embotellada, alimentos y bebidas. Los componentes de la Placa Neogen Petrifilm CC están descontaminados, pero no están esterilizados. Neogen Food Safety cuenta con certificación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación. La Placa Neogen Petrifilm CC no ha sido evaluada con todos los productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de prueba posibles ni con todas las posibles cepas de microorganismos.

El Manual de análisis bacteriológico<sup>7</sup> (BAM) de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) define a los coliformes como bacilos gramnegativos, los cuales producen ácido y gas a partir de la fermentación de la lactosa. Las colonias de coliformes que crecen en la Placa Neogen Petrifilm CC producen ácido, lo que provoca que el indicador de pH intensifique el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias rojas indica coliformes.

ISO define a los coliformes por su capacidad de crecer en medios selectivos y específicos del método. El método ISO 4832<sup>1</sup>, que enumera a los coliformes por técnica de recuento de colonias, define a los coliformes como productores de ácido en VRB con agar de lactosa (VRBL). En las Placas Neogen Petrifilm CC, estos coliformes que producen ácido están indicados por las colonias rojas con o sin producción de gas. El método ISO 4831<sup>2</sup>, que enumera a los coliformes por el método de número más probable (MPN), define a los coliformes por su capacidad de crecer y producir gas a partir de la lactosa en un caldo selectivo. En las Placas Neogen Petrifilm CC, estos coliformes están indicados por las colonias rojas asociadas con el gas.

Para las muestras de agua embotellada, las colonias confirmadas de coliformes están indicadas por las colonias rojas asociadas con el gas en las Placas Neogen Petrifilm CC. Las colonias rojas sin burbujas de gas estrechamente asociadas pueden ser coliformes y deben subcultivarse y probarse con los métodos de confirmación adecuados<sup>11,12</sup>. Para obtener detalles adicionales, consulte la sección Interpretación. Las colonias características pueden subcultivarse y probarse para *Escherichia coli*.

AFNOR Certification ha certificado la Placa Neogen Petrifilm CC en comparación con el método ISO 4831<sup>2</sup> y el método ISO 4832<sup>1</sup> para la enumeración de coliformes totales. AFNOR Certification también ha certificado la Placa Neogen Petrifilm CC en comparación con NF V08-060<sup>3</sup>, para la enumeración de coliformes termotolerantes.

### Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones de la Placa Neogen Petrifilm CC. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

**⚠ ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves o daños en la propiedad.

### ⚠ ADVERTENCIA

#### Para reducir los riesgos asociados con la exposición a riesgos biológicos y la contaminación ambiental:

- Proceda de acuerdo con las normas de la industria y la normativa local actuales para el desecho de residuos de riesgo biológico.

#### Para reducir los riesgos asociados con la diseminación de productos contaminados:

- Siga todas las instrucciones de almacenamiento del producto que se incluyen en las instrucciones de uso.
- No use el producto después de la fecha de vencimiento.

#### Para reducir los riesgos asociados con la infección bacteriana y la contaminación del lugar de trabajo:

- Realice pruebas con la Placa Neogen Petrifilm CC en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de un microbiólogo capacitado.
- El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> o ISO 17025<sup>6</sup>.

#### Para reducir los riesgos asociados con la interpretación incorrecta de resultados:

- Neogen no ha documentado el uso de las Placas Neogen Petrifilm CC en industrias que no sean de alimentos y bebidas, incluida el agua embotellada. Por ejemplo, Neogen no ha documentado las Placas Neogen Petrifilm CC para probar productos farmacéuticos o cosméticos. Neogen no ha documentado las Placas Neogen Petrifilm CC para probar aguas superficiales y municipales o aguas que se utilicen las industrias farmacéuticas o cosméticas.

- El uso de Placas Neogen Petrifilm CC para probar muestras de agua en conformidad con las regulaciones locales para pruebas de agua se hace a absoluta discreción y responsabilidad del usuario final. Las Placas Neogen Petrifilm CC no han sido probadas con todas las muestras posibles de agua embotellada, protocolos de prueba ni con todas las posibles cepas de microorganismos.
- No use las Placas Neogen Petrifilm CC para diagnosticar afecciones en humanos o animales.
- Las Placas Neogen Petrifilm CC no distinguen una cepa de coliformes de otra.
- Los alimentos con alto contenido de azúcar pueden aumentar el potencial de producción de gas a partir de *Enterobacteriaceae* no coliformes.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Para obtener más información sobre la documentación del desempeño del producto, visite nuestro sitio web en [www.neogen.com](http://www.neogen.com) o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen.

## Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en [www.neogen.com](http://www.neogen.com) o póngase en contacto con su representante o distribuidor autorizado de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos, tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio, pueden afectar los resultados.

Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar un número suficiente de muestras con retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

## Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a Neogen en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen si tuviera cualquier otra pregunta.

## Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS.

En ningún caso la responsabilidad de Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

## Almacenamiento

Almacene las bolsas cerradas de la Placa Neogen Petrifilm CC refrigeradas o congeladas a temperaturas inferiores o iguales a 8 °C (46 °F). Antes de usarlas, deje que las bolsas cerradas de la Placa Neogen Petrifilm CC alcancen temperatura ambiente antes de abrirlas. Vuelva a colocar las Placas Neogen Petrifilm CC que no haya usado en la bolsa. Selle la bolsa plegando el extremo y colocando cinta adhesiva. **Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas.** Almacene las bolsas reselladas en un lugar fresco y seco durante no más de cuatro semanas. Se recomienda que las bolsas reselladas de las Placas Neogen Petrifilm CC se almacenen en un congelador (vea a continuación) si la temperatura del laboratorio supera los 25 °C (77 °F) o el laboratorio se encuentra en una región con una humedad relativa que supera el 50 % (excepto en instalaciones con aire acondicionado).

Para almacenar las bolsas abiertas en un congelador, coloque las Placas Neogen Petrifilm CC en un recipiente hermético. Para retirar las placas CC Neogen Petrifilm congeladas para su uso, abra el recipiente, retire las placas necesarias e inmediatamente devuelva las placas restantes al congelador en el recipiente sellado durante el resto de la vida útil. Las Placas Neogen Petrifilm CC no deben usarse pasada su fecha de vencimiento. El congelador que se utiliza para el almacenamiento de bolsas abiertas no debe tener un ciclo de descongelación automático, ya que esto expone repetidamente las Placas Neogen Petrifilm CC a la humedad, lo que puede dañar las placas.

No use las Placas Neogen Petrifilm CC que presenten decoloración. La fecha de vencimiento y el número de lote figuran en cada paquete de las Placas Neogen Petrifilm CC. El número de lote también aparece en cada una de las Placas Neogen Petrifilm CC.



## △ Desecho

Después del uso, las Placas Neogen Petrifilm CC pueden contener microorganismos que pueden representar un potencial riesgo biológico.

Siga las normas actuales de la industria para su desecho.

## Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

## Preparación, incubación e interpretación de las muestras de las industrias de alimentos y bebidas (a excepción del agua embotellada), incluidas las muestras ambientales.

### Preparación de la muestra

1. Utilice diluyentes estériles apropiados:

Agua de dilución de fosfatos de Butterfield<sup>7</sup>, 0,1 % de agua de peptona<sup>8</sup>, diluyentes de sal de peptona<sup>8,9</sup>, agua con peptona tamponada<sup>8,9</sup>, solución salina (0,85 0,90 %), neutralizador de amplio espectro Neogen<sup>®</sup>, caldo de Lethen sin bisulfito o agua destilada. Para conocer los requisitos específicos, consulte la sección “**Instrucciones específicas para métodos validados**”.

**No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato en las Placas Neogen Petrifilm CC, ya que pueden inhibir el crecimiento.** Si se indica una solución de caldo de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyala por una de las soluciones de caldo que figuran más arriba, calentada a 40 °C-45 °C (104 °F-113 °F).

2. Mezcle u homogeneice la muestra.
3. Para un crecimiento y una recuperación óptimos de los microorganismos, ajuste el pH de la suspensión de la muestra a 6,6-7,2. Para productos ácidos, ajuste el pH con 1N de NaOH. Para productos alcalinos, ajuste el pH con 1N de HCl.

### Inoculación de las placas

1. Coloque la Placa Neogen Petrifilm CC sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y, con la pipeta en posición perpendicular al área de inoculación, distribuya 1 mL de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior.
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar atrapar burbujas de aire.
4. Coloque el Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> Difusor con el lado plano hacia abajo en el centro de la Placa Neogen Petrifilm CC. Presione suavemente el centro del Neogen Petrifilm Difusor para distribuir la muestra de manera uniforme. Esparza el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa Neogen Petrifilm CC antes de que se forme el gel. No deslice el Neogen Petrifilm Difusor a través de la película.
5. Quite el Neogen Petrifilm Difusor y deje la Placa Neogen Petrifilm CC quieta durante al menos un minuto para permitir que se forme el gel.

## Incubación

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC en posición horizontal, con el lado claro hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas. Se pueden usar varios tiempos y temperaturas de incubación según los métodos de referencia locales actuales, algunos de los cuales se enumeran en la sección “**Instrucciones específicas para métodos validados**”.

## Interpretación

1. Las Placas Neogen Petrifilm CC pueden contarse con un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. El gas producido por los coliformes puede impedir el desarrollo normal de la colonia para que esta "delinee" la burbuja. Esto debe contarse como un coliforme individual. No cuente las colonias en el dique de espuma ya que fueron retiradas de la influencia selectiva del medio. No cuente las burbujas del artefacto que puedan estar presentes.

La interpretación de las colonias de coliformes en la Placa Neogen Petrifilm CC varía según el método de referencia. Por ejemplo:

#### AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

Las colonias de coliformes son rojas y se encuentran estrechamente asociadas (dentro del diámetro de una colonia) con el gas atrapado. Las colonias no asociadas con el gas (una distancia mayor que el diámetro de una colonia entre la colonia y la burbuja de gas) no se cuentan como coliformes.

#### ○ Métodos certificados de NF Validation:

- En comparación con el método ISO 4831<sup>2</sup> (método de MPN), las colonias de coliformes son rojas y se encuentran estrechamente asociadas (dentro del diámetro de una colonia) con el gas atrapado.
- En comparación con el método ISO 4832<sup>1</sup> (coliformes totales) y NF V08-060<sup>3</sup> (coliformes fecales), ambos basados en los métodos de VRBL, se cuentan todas las colonias rojas con o sin gas.

2. El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. Se pueden hacer estimaciones en las Placas Neogen Petrifilm CC que contengan más de 150 colonias contando la cantidad de colonias en uno o más cuadrados representativos y determinando la cantidad promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 para determinar el recuento estimado por Placa Neogen Petrifilm CC.

3. Cuando las colonias están presentes en grandes cantidades, las Placas Neogen Petrifilm CC pueden sufrir la intensificación del color del gel y cualquiera o ambas de las siguientes características: muchas colonias pequeñas e indistintas o muchas burbujas de gas. Altas concentraciones de coliformes provocarán que el área de crecimiento se vuelva roja oscura. Cuando esto ocurra, registre los resultados como demasiado numerosos para contar (TNTC). Cuando se requiera un recuento exacto, siembre con una dilución más alta.
4. Cuando sea necesario, las colonias se podrán aislar para una mejor identificación. Levante la película superior usando una técnica de prueba adecuada y recoja la colonia del gel. Pruebe usando procedimientos estándar.
5. Si las Placas Neogen Petrifilm CC no se pueden contar pasada 1 hora desde que se las quitó de la incubadora, podrán almacenarse para su posterior enumeración congelándolas en un recipiente hermético a temperaturas inferiores o iguales a 15 °C (5 °F) negativos durante no más de una semana.

## Preparación, incubación e interpretación de muestras de agua embotellada

### Hidrate las Placas Neogen Petrifilm CC

1. Coloque la Placa Neogen Petrifilm CC sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y vierta 1 mL de un diluyente de hidratación estéril adecuado en el centro de la película inferior. Los diluyentes de hidratación estéril adecuados incluyen agua destilada, agua desionizada (DI) y agua de ósmosis inversa (RO).
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar atrapar burbujas de aire.
4. Coloque el Neogen Petrifilm Difusor con el lado plano hacia abajo en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Esparza el diluyente por toda el área de crecimiento de la Placa Neogen Petrifilm antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
5. Quite el difusor y deje que las placas permanezcan cerradas por un mínimo de 1 hora antes de usarse.
6. Almacene las Placas Neogen Petrifilm CC hidratadas en una bolsa sellada o una bolsa de plástico. Proteja las placas de la luz y refrigérelas a 2 °C-8 °C (36 °F-46 °F) por hasta 7 días.

### Filtración de agua e incubación de placas

1. Según los procedimientos estándar para el análisis del agua, filtre la muestra de agua con una membrana de filtro de éster de celulosa mixta (MCE) de 47 mm con un tamaño de poros de 0,45 micrones.
2. Levante con cuidado la película superior de la Placa Neogen Petrifilm CC. Evite tocar el área circular de crecimiento. Coloque el filtro en el centro del área hidratada. Minimice las burbujas atrapadas debajo del filtro.
3. Enrolle lentamente la película superior en el filtro. Minimice las burbujas de aire atrapadas y la formación de huecos entre el filtro y la Placa Neogen Petrifilm CC.
4. Aplique presión suavemente usando el difusor de la Placa Neogen Petrifilm o deslizando un dedo suavemente por toda el área del disco (incluidos los bordes) para garantizar un contacto uniforme entre el filtro y el gel y para eliminar las burbujas de aire.
5. Incube las Placas Neogen Petrifilm CC a 35 °C ± 1 °C durante 24 horas ± 2 horas<sup>11</sup> o 36 °C ± 1 °C durante 24 horas ± 2 horas<sup>12</sup> en posición horizontal con el lado claro hacia arriba en pilas de hasta 20.

### Interpretación

1. Las Placas Neogen Petrifilm CC pueden contarse con un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. No cuente las colonias en el dique de espuma ya que fueron retiradas de la influencia selectiva del medio. No cuente las burbujas del artefacto que puedan estar presentes.
2. Las colonias rojas asociadas con burbujas de gas se cuentan como coliformes. Las burbujas de gas pueden formar un patrón circular o con forma de estrella alrededor de la colonia. El gas producido por los coliformes puede impedir el desarrollo normal de la colonia para que esta "delinee" la burbuja. Esto debe contarse como un coliforme individual. Las colonias rojas sin burbujas de gas estrechamente asociadas pueden ser coliformes y deben recogerse y probarse con los métodos de confirmación adecuados<sup>11,12</sup>.
3. Cuando las colonias estén presentes en grandes cantidades, las Placas Neogen Petrifilm CC sufrirán una intensificación del color del gel asociada con muchas colonias pequeñas e indistintas o burbujas de gas. Cuando esto ocurra, registre los resultados como demasiado numerosos para contar (TNTC).
4. Las colonias se pueden aislar para una mayor identificación. Levante la película superior y recoja la colonia del gel o la superficie del filtro. Al levantar la película superior, el filtro puede adherirse a la película superior o a la inferior. Si el filtro se adhiere a la película superior, separe el filtro de la película superior y recoja las colonias. Pruebe usando procedimientos estándar.

**Nota:** No se recomienda el recuento retrasado de las Placas Neogen Petrifilm CC con filtros.

Para obtener más información, consulte la "Guía de Interpretación de la placa para recuento de coliformes Neogen® Petrifilm®" adecuada. Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en [www.neogen.com](http://www.neogen.com) o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

### Instrucciones específicas para métodos validados

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Recuentos de coliformes y bacterias en leche, métodos de películas secas rehidratables y 989.10 Recuentos de coliformes y bacterias en productos lácteos, métodos de películas secas rehidratables).

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 32 °C  $\pm$  1 °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Recuentos de Escherichia coli y coliformes en alimentos, métodos de películas secas rehidratables).

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1 °C.

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> N.º de certificado 082101**

En un estudio AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM), se descubrió que el método de Placa Neogen Petrifilm CC es equivalente a los recuentos logarítmicos promedio del método del Manual Analítico Bacteriológico (BAM, por sus siglas en inglés) de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), Capítulo 4, Sección III.D para la enumeración del recuento de coliformes en agua embotellada.



### **Alcance de la validación:**

Agua embotellada: agua purificada, agua mineral tratada, agua mineral natural no carbonatada, agua mineral natural carbonatada.

### **Incubación:**

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1 °C.

### **NF Validation por AFNOR Certification:**

**Método certificado de NF Validation en conformidad con ISO 16140-2<sup>10</sup> en comparación con ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A).**

**Alcance de la validación:** Para probar todos los productos alimenticios para humanos (excepto mariscos crudos), alimentos para mascotas y muestras ambientales.

Utilice los siguientes datos al llevar a cabo la implementación de las Instrucciones de uso antes mencionadas:

### **Preparación de la muestra:**

Use exclusivamente diluyentes mencionados en las normas ISO.

### **Incubación:**

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 30 °C  $\pm$  1 °C o 37 °C  $\pm$  1 °C.

### **Interpretación:**

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba según la norma ISO 7218<sup>5</sup> para una placa por dilución. Las estimaciones están fuera del alcance de la certificación de NF Validation (véase el párrafo 2 de la parte de interpretación).

**Método certificado de NF Validation en conformidad con ISO 16140-2<sup>10</sup> en comparación con ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B).**

**Alcance de la validación:** Para probar todos los productos alimenticios para humanos (excepto mariscos crudos).

Utilice los siguientes datos al llevar a cabo la implementación de las Instrucciones de uso antes mencionadas:

### **Preparación de la muestra:**

Use exclusivamente diluyentes mencionados en las normas ISO.

### **Incubación:**

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 30 °C  $\pm$  1 °C o 37 °C  $\pm$  1 °C.

### **Interpretación:**

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba según la norma ISO 7218<sup>5</sup> para una placa por dilución. Las estimaciones están fuera del alcance de la certificación de NF Validation (véase el párrafo 2 de la parte de interpretación).

**Método certificado de NF Validation en conformidad con ISO 16140-2<sup>10</sup> en comparación con NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C).**

**Alcance de la validación:** Para probar todos los productos alimenticios para humanos.

Utilice los siguientes datos al llevar a cabo la implementación de las Instrucciones de uso antes mencionadas:

### Preparación de la muestra:

Use exclusivamente diluyentes mencionados en las normas ISO.

### Incubación:

Incube las Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 44 °C  $\pm$  1 °C.

### Interpretación:

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba según la norma ISO 7218<sup>5</sup> para una placa por dilución. Las estimaciones están fuera del alcance de la certificación de NF Validation (véase el párrafo 2 de la parte de interpretación). Consulte la norma EN ISO 7218 sobre inoculación, recuento y cálculo de colonias, y expresión de los resultados.



## 3M 01/02 – 09/89A, B, and C ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Para más información acerca del final de la validez, consulte el certificado de NF VALIDATION disponible en el sitio web mencionado anteriormente.

### Referencias

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

### Explicación de los símbolos

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC es una marca comercial registrada de AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods es una marca de servicio de AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method es una marca de servicio de AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Productinstructies

# Coliform Telplaat

### Productbeschrijving en beoogd gebruik

De Neogen® Petrifilm® Coliform (CC) Telplaat is een kant-en-klaar kweekmediumsysteem met aangepaste VRB-voedingsstoffen (Violet Red Bile), een in koud water oplosbaar geleermiddel en een tetrazoliumindicator die het tellen van kolonies vergemakkelijkt. De Neogen Petrifilm CC Telplaten worden gebruikt voor het tellen van coliformen in voedingsmiddelen, dranken en flessenwater. De componenten van de Neogen Petrifilm CC Telplaat zijn ontsmet, maar niet gesteriliseerd. Neogen Food Safety is volgens ISO 9001 (Internationale Organisatie voor Standardisatie) gecertificeerd voor het ontwerp en de productie. De Neogen Petrifilm CC Telplaat is niet geëvalueerd met alle mogelijke voedingsmiddelen, voedingsprocessen, testprotocollen en stammen van micro-organismen.

In de Bacteriological Analytical Manual (BAM) van de Amerikaanse Food and Drug Administration (FDA)<sup>7</sup> worden coliformen gedefinieerd als gramnegatieve staven die zuur en gas produceren bij de fermentatie van lactose. Coliforme kolonies die op de Neogen Petrifilm CC Telplaat groeien produceren zuur, waardoor de pH-indicator de gel een diepere kleur geeft. Gas rondom rode kolonies duidt op coliformen.

ISO definieert coliformen op basis van hun vermogen om in methode-specifieke, selectieve media te groeien. In ISO-methode 4832<sup>1</sup>, het tellen van coliformen met de kolonieteltechniek, worden coliformen gedefinieerd als zuurproducerend op VRB met VRBL-agar (Violet Red Bile Lactose). Op Neogen Petrifilm CC Telplaten komen deze zuurproducerende coliformen voor als rode kolonies met of zonder gasproductie. In ISO-methode 4831<sup>2</sup>, het tellen van coliformen met de MPN-techniek (Most Probable Number), worden coliformen gedefinieerd op basis van hun vermogen om in een selectieve bouillon te groeien en gas te produceren bij de fermentatie van lactose. Op Neogen Petrifilm CC Telplaten komen deze coliformen voor als rode kolonies dicht bij gas.

In flessenwatermonsters komen coliforme kolonies op Neogen Petrifilm CC Telplaten voor als rode kolonies dicht bij gas. Rode kolonies zonder nabije gasbellen kunnen coliformen zijn. Van deze kolonies moet een subkweek worden gemaakt en ze moeten worden getest met de juiste bevestigingsmethoden<sup>11,12</sup>. Raadpleeg het gedeelte 'Interpretatie' voor meer informatie. Van kenmerkende kolonies kan een subkweek worden gemaakt en deze kunnen worden getest als *Escherichia coli*.

AFNOR Certification heeft de Neogen Petrifilm CC Telplaat gecertificeerd in vergelijking met ISO-methode 4831<sup>2</sup> en ISO-methode 4832<sup>1</sup> voor het tellen van het totale aantal coliformen. AFNOR Certification heeft de Neogen Petrifilm CC Telplaat ook gecertificeerd in vergelijking met NF V08-060<sup>3</sup> voor het tellen van thermotolerante coliformen.

### Veiligheid

De gebruiker dient alle veiligheidsinformatie in de instructies voor de Neogen Petrifilm CC Telplaat te lezen, te begrijpen en te volgen. Bewaar de veiligheidsinstructies om deze later te kunnen raadplegen.

**⚠ WAARSCHUWING:** Geeft een gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, kan leiden tot overlijden, ernstig letsel en/of materiële schade.

## ⚠ WAARSCHUWING

**Op de volgende wijze kunt u de risico's in verband met blootstelling aan biologische gevaren en milieuverontreiniging beperken:**

- Houd u aan de actuele branchenormen en lokale voorschriften voor het afvoeren van biologisch gevaarlijk afval.

**Op de volgende wijze kunt u de risico's in verband met vrijgave van verontreinigd product beperken:**

- Houd u aan alle instructies voor productopslag in deze gebruiksaanwijzing.
- Niet gebruiken nadat de vervaldatum is verstreken.

**Op de volgende wijze kunt u de risico's in verband met bacteriële infecties en verontreiniging van de werkplek beperken:**

- Voer testen met de Neogen Petrifilm CC Telplaat onder toezicht van een bekwame microbioloog in een goed uitgerust laboratorium uit.
- De gebruiker moet diens medewerkers trainen in de huidige en juiste testtechnieken, bijvoorbeeld Goede Laboratoriumpraktijken<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> of ISO 17025<sup>6</sup>.



## Op de volgende wijze kunt u de risico's in verband met onjuiste interpretatie van de resultaten beperken:

- Neogen heeft de geschiktheid van de Neogen Petrifilm CC Telplaten voor gebruik in andere sectoren dan de voedings- en drankensector, met inbegrip van flessenwater, niet gedocumenteerd. Neogen heeft bijvoorbeeld de geschiktheid van de Neogen Petrifilm CC Telplaten voor het testen van farmaceutische producten of cosmetica niet gedocumenteerd. Neogen heeft de geschiktheid van de Neogen Petrifilm CC Telplaten voor het testen van oppervlakte- en leidingwater of water dat in de farmaceutische of cosmetische industrie wordt gebruikt niet gedocumenteerd.
- Het gebruik van de Neogen Petrifilm CC Telplaten voor het testen van watermonsters in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften voor het testen van water vindt plaats naar het oordeel en onder de verantwoordelijkheid van uitsluitend de eindgebruiker. De Neogen Petrifilm CC Telplaten zijn niet getest met alle mogelijke flessenwatermonsters, testprotocollen en stammen van micro-organismen.
- Gebruik de Neogen Petrifilm CC Telplaten niet voor het diagnosticeren van aandoeningen bij mensen of dieren.
- De Neogen Petrifilm CC Telplaten maken geen onderscheid tussen verschillende stammen van coliformen.
- Voedingsmiddelen met een hoog suikergehalte kunnen de kans op gasproductie door niet-coliforme *Enterobacteriaceae* verhogen.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie.

Bezoek voor informatie over documentatie of productprestaties onze website op [www.neogen.com](http://www.neogen.com), of neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of erkende Neogen-distributeur.

## Verantwoordelijkheid van de gebruiker

Gebruikers worden geacht zich vertrouwd te maken met de productinstructies en -informatie. Bezoek onze website op [www.neogen.com](http://www.neogen.com) of neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of erkende Neogen-distributeur voor meer informatie.

Bij het kiezen van een testmethode is het belangrijk om te erkennen dat externe factoren zoals bemonsteringsmethoden, testprotocollen, monstervoorbereiding en -behandeling en laboratoriumtechniek invloed op de resultaten kunnen hebben.

De gebruiker is verantwoordelijk voor de selectie van een testmethode of product waarbij een voldoende aantal monsters met gepaste matrices en microbiële uitdagingen wordt onderzocht, zodat de gekozen testmethode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Het is ook de verantwoordelijkheid van de gebruiker om te bepalen of testmethoden en resultaten aan de vereisten van klanten en leveranciers voldoen.

Zoals bij elke testmethode vormen de verkregen resultaten van het gebruik van een Neogen Food Safety-product geen garantie voor de kwaliteit van de geteste matrices of processen.

## Beperkte garantie / beperkt verhaal

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN SECTIE MET BETREKKING TOT DE BEPERKTE GARANTIE VAN EEN AFZONDERLIJKE PRODUCTVERPAKKING, WIJST NEOGEN ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIJ VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE VERHANDELBAARHEID EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een Neogen Food Safety-product gebrekkig is, zal Neogen of zijn gevolmachtigde distributeur naar eigen keuze het product vervangen of de aankoopprijs van het product terugbetalen. Dit is het enige rechtsmiddel waarover u beschikt. Indien u vermoedt dat een product gebrekkig is, moet u Neogen daarvan binnen 60 dagen na de vaststelling op de hoogte brengen en het product naar Neogen terugsturen. Neem voor verdere vragen contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of erkende Neogen-distributeur.

## Beperking van Neogen aansprakelijkheid

NEOGEN IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG(E) VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM DIRECTE, INDIRECTE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIJ VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT WINSTDERVING. In geen geval zal de wettelijke aansprakelijkheid van Neogen onder om het even welke juridische theorie de aankoopprijs van het vermeend gebrekkige product overschrijden.

## Opslag

Bewaar ongeopende zakjes met Neogen Petrifilm CC Telplaten gekoeld of bevroren bij een temperatuur lager dan 8 °C (46 °F). Laat de ongeopende zakjes met Neogen Petrifilm CC Telplaten vlak voor het gebruik op kamertemperatuur komen alvorens deze te openen. Plaats ongebruikte Neogen Petrifilm CC Telplaten terug in het zakje. Sluit geopende zakjes door het uiteinde om te vouwen en met plakband vast te plakken. **Bewaar geopende zakjes niet in de koelkast om blootstelling aan vocht te vermijden.** Bewaar opnieuw gesloten zakjes niet langer dan vier weken op een koele en droge plaats. Aanbevolen wordt om opnieuw gesloten zakjes met Neogen Petrifilm CC Telplaten in een vriezer te bewaren (zie hieronder) als de temperatuur in het laboratorium hoger is dan 25 °C (77 °F) en/of het laboratorium zich bevindt in een omgeving met een relatieve vochtigheid hoger dan 50% (uitgezonderd gebouwen met airconditioning).

Geopende zakjes met Neogen Petrifilm CC Telplaten moeten in een afsluitbare container in een vriezer worden bewaard. Om bevroren Neogen Petrifilm CC-platen te verwijderen voor gebruik, opent u de verpakking, verwijdert u de platen die u nodig hebt en legt u de resterende platen onmiddellijk terug in de vriezer in de verzegelde container voor de rest van de houdbaarheid. De Neogen Petrifilm CC Telplaten mogen niet worden gebruikt na de vervaldatum. De vriezer waarin de geopende zakjes worden bewaard, mag niet over een automatische ontdooi-cyclus beschikken; hierdoor worden de Neogen Petrifilm CC Telplaten herhaaldelijk aan vocht blootgesteld, waardoor ze beschadigd kunnen raken.

Neogen Petrifilm CC Telplaten die verkleuring vertonen, mogen niet worden gebruikt. De vervaldatum en het lotnummer zijn vermeld op iedere verpakking Neogen Petrifilm CC Telplaten. Het lotnummer is ook vermeld op de afzonderlijke Neogen Petrifilm CC Telplaten.

### ⚠ Afvoer

Na gebruik kunnen de Neogen Petrifilm CC Telplaten micro-organismen bevatten die een biologisch gevaar kunnen vormen.

Volg de in de branche geldende normen voor afvalverwerking.

### Gebruiksaanwijzing

Volg alle instructies zorgvuldig op. Wanneer dit niet gebeurt, kan dit onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

## Vorbereiding, incubatie en interpretatie van monsters van voedingsmiddelen en dranken (met uitzondering van flessenwater), met inbegrip van omgevingsmonsters

### Monstervorbereiding

1. Gebruik geschikte steriele verdunningsmiddelen:

Fosfaatgebufferd verdunningswater van Butterfield<sup>7</sup>, 0,1% peptonwater<sup>8</sup>, peptonzoutverdunningsmiddelen<sup>8,9</sup>, gebufferd peptonwater<sup>8,9</sup>, zoutoplossing (0,85-0,90%), Neogen<sup>®</sup> breed spectrumneutralisator, bisulfietvrije letheenbouillon, of gedestilleerd water. Raadpleeg het gedeelte '**Specifieke instructies voor gevalideerde methoden**' voor informatie over specifieke eisen.

**Gebruik geen verdunningsmiddelen die citraat, bisulfiet of thiosulfaat bevatten met Neogen Petrifilm CC Telplaten, aangezien deze de groei kunnen remmen.** Als in de standaardprocedure wordt aangegeven dat er een citraatbuffer moet worden gebruikt, moet deze worden vervangen door een van de hierboven vermelde buffers, verwarmd tot 40-45 °C (104-113 °F).

2. Meng of homogeniseer het monster.
3. Pas de pH-waarde van de monstersuspensie aan tot 6,6-7,2 voor optimale groei en optimale terugwinning van micro-organismen. Pas de pH-waarde van zure producten aan met 1N NaOH. Pas de pH-waarde van zure producten aan met 1N HCl.

### Op telplaten aanbrengen of uitplaten

1. Plaats de Neogen Petrifilm CC Telplaat op een vlakke, gelijke ondergrond.
2. Til de bovenste film op en pipetteer 1 ml van de monstersuspensie in het midden van de onderste film terwijl u de pipet haaks op het inoculatiegebied houdt.
3. Rol de bovenste film naar beneden over het monster zodat er geen luchtballen ontstaan.
4. Plaats de Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> Spreider in het midden van de Neogen Petrifilm CC Telplaat met de vlakke kant naar beneden. Druk zachtjes op het midden van de Neogen Petrifilm Spreider om het monster gelijkmatig te verdelen. Verspreid de entstof over het gehele groeioppervlak van de Neogen Petrifilm CC Telplaat voordat de gel ontstaat. Laat de Neogen Petrifilm Spreider niet over de film glijden.
5. Neem de Neogen Petrifilm Spreider weg en laat de Neogen Petrifilm CC Telplaat minstens één minuut ongestoord liggen, zodat er een gel kan ontstaan.

### Incubatie

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten horizontaal, met de doorzichtige kant naar boven en in stapels van maximaal 20 telplaten. Afhankelijk van de huidige plaatselijke referentiemethoden, waarvan sommige in het gedeelte '**Specifieke instructies voor gevalideerde methoden**' worden vermeld, kunnen verschillende incubatietijden en temperaturen worden gebruikt.



## Interpretatie

1. De Neogen Petrifilm CC Telplaten kunnen met een standaard kolonieteller of een ander verlicht vergrootglas worden geteld. Door coliformen geproduceerd gas kan de kolonie verstoren, waardoor de kolonie de gasbel omringt. Een dergelijke kolonie moet als één coliform worden geteld. Tel geen kolonies op de schuimrand aangezien deze van de selectieve invloed van het voedingsmedium zijn verwijderd. Tel geen eventueel aanwezige kunstmatige bellen.

De interpretatie van coliforme kolonies op de Neogen Petrifilm CC Telplaat verschilt per referentiemethode.

Bijvoorbeeld:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Coliforme kolonies zijn rood en bevinden zich dicht bij gasbellen (binnen één koloniediameter). Kolonies die zich niet dicht bij gas bevinden (meer dan een koloniediameter van de gasbel verwijderd), worden niet als coliformen beschouwd.

OF Met NF Validation gecertificeerde methoden:

- Volgens ISO-methode 4831<sup>2</sup> (MPN-methode) zijn coliforme kolonies rood en bevinden ze zich dicht bij gasbellen (binnen één koloniediameter).
- Volgens ISO-methode 4832<sup>1</sup> (totaal aantal coliformen) en NF V08-060<sup>3</sup> (fecale coliformen), beide op basis van VRBL-methoden, moeten alle rode kolonies met en zonder gas worden geteld.

2. Het cirkelvormige groeioppervlak bedraagt ongeveer 20 cm<sup>2</sup>. Op basis van Neogen Petrifilm CC Telplaten met meer dan 150 kolonies kunnen schattingen worden gemaakt door het aantal kolonies in één of meer aanwezige vierkantjes te tellen en het gemiddelde per vierkantje te bepalen. Vermenigvuldig het gemiddelde aantal met 20 om het aantal kolonies op de Neogen Petrifilm CC Telplaat te schatten.
3. Als kolonies in grote aantallen aanwezig zijn, hebben de Neogen Petrifilm CC Telplaten mogelijk een diepere gelkleur en (een van) de volgende kenmerken: veel kleine, moeilijk te onderscheiden kolonies en/of veel gasbellen. Door hoge concentraties van coliformen wordt het groeioppervlak donkerrood. Als dit gebeurt, moeten de resultaten als TNTC (Too Numerous To Count) worden beschouwd. Als er een werkelijke telling is vereist, kan er een hogere verdunning worden gebruikt.
4. Indien nodig kunnen kolonies voor verdere identificatie worden geïsoleerd. Til de bovenste film op met een geschikte testtechniek en neem de kolonie uit de gel. Voer de test volgens de standaardprocedures uit.
5. Als het niet mogelijk is om de Neogen Petrifilm CC Telplaten binnen 1 uur na verwijdering uit de incubator te tellen, kunnen deze maximaal één week in een afsluitbare container bij een temperatuur van -15 °C (5 °F) of lager worden bewaard voor latere telling.

## Vorbereiding, incubatie en interpretatie van monsters van flessenwater

### Neogen Petrifilm CC Telplaten hydrateren

1. Plaats de Neogen Petrifilm CC Telplaat op een vlakke, gelijke ondergrond.
2. Til de bovenste film op en plaats 1 ml geschikt, steriel hydratatieverduunningsmiddel op het midden van de onderste film. Geschikte steriele hydratatieverduunningsmiddelen zijn gedistilleerd water, gedeïoniseerd (DI) water en water dat met omgekeerde osmose (RO) is gezuiverd.
3. Rol de bovenste film naar beneden over het monster zodat er geen luchtbelletjes ontstaan.
4. Plaats de Neogen Petrifilm Spreider in het midden van de telplaat met de vlakke kant naar beneden. Druk zachtjes op het midden van de spreider om het verduunningsmiddel gelijkmatig te verdelen. Verspreid het verduunningsmiddel over het gehele groeioppervlak van de Neogen Petrifilm Telplaat voordat de gel ontstaat. Laat de spreider niet over de film glijden.
5. Neem de spreider weg en houd de telplaten voorafgaand aan het gebruik minstens 1 uur gesloten.
6. Bewaar gehydrateerde Neogen Petrifilm CC Telplaten in een gesloten zakje of een plastic zak. Bescherm telplaten tegen licht en bewaar ze maximaal 7 dagen gekoeld bij 2-8 °C (36-46 °F).

### Waterfiltratie en telplaatincubatie

1. Na de standaardprocedures voor wateranalyse moet het watermonster door een membraan worden gefilterd met een MCE-filter (Mixed Cellulose Ester) van 47 mm met een poriegrootte van 0,45 micron.
2. Til de bovenste film van de Neogen Petrifilm CC Telplaat voorzichtig op. Raak het ronde groeioppervlak niet aan. Plaats het filter in het midden van het gehydrateerde gebied. Sluit zo weinig mogelijk bellen in onder het filter.
3. Rol de bovenste film langzaam over het filter. Sluit zo weinig mogelijk luchtbelletjes in om ruimte tussen het filter en de Neogen Petrifilm CC Telplaat te voorkomen.
4. Pas lichte druk toe met de Neogen Petrifilm Spreider of door zachtjes met een vinger over het volledige oppervlak (met inbegrip van de randen) te glijden om zeker te zijn van gelijkmatig contact van het filter met de gel en om eventuele luchtbelletjes te verwijderen.
5. Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten horizontaal gedurende 24 uur ± 2 uur bij 35 °C ± 1 °C<sup>11</sup> of gedurende 24 uur ± 2 uur bij 36 °C ± 1 °C<sup>12</sup> met de doorzichtige kant naar boven in stapels van maximaal 20 platen.

## Interpretatie

1. De Neogen Petrifilm CC Telplaten kunnen met een standaard kolonieteller of een ander verlicht vergrootglas worden geteld. Tel geen kolonies op de schuimrand aangezien deze van de selectieve invloed van het voedingsmedium zijn verwijderd. Tel geen eventueel aanwezige kunstmatige bellen.
2. Rode kolonies dicht bij gas worden beschouwd als coliformen. Gasbellen kunnen een rond of stervormig patroon rondom de kolonie vormen. Door coliformen geproduceerd gas kan de kolonie verstoren, waardoor de kolonie de gasbel omringt. Een dergelijke kolonie moet als één coliform worden geteld. Rode kolonies zonder nabije gasbellen kunnen coliformen zijn. Deze kolonies moeten worden uitgenomen en worden getest met de juiste bevestigingsmethoden<sup>11,12</sup>.
3. Als kolonies in grote aantallen aanwezig zijn, hebben de Neogen Petrifilm CC Telplaten een diepere gelkleur en zijn er veel kleine, moeilijk te onderscheiden kolonies of veel gasbellen aanwezig. Als dit gebeurt, moeten de resultaten als TNTC (Too Numerous To Count) worden beschouwd.
4. Kolonies kunnen voor verdere identificatie worden geïsoleerd. Til de bovenste film op en neem de kolonie uit de gel of het filteroppervlak. Bij het optillen van de bovenste film kan het filter aan de bovenste of onderste film blijven plakken. Als het filter aan de bovenste film blijft plakken, moet het van de bovenste film worden gescheiden voordat de kolonies kunnen worden uitgenomen. Voer de test volgens de standaardprocedures uit.

**Opmerking:** Uitgestelde telling van Neogen Petrifilm CC Telplaten met filters wordt niet aanbevolen.

Raadpleeg de '1 Interpretatiegids voor de Neogen® Petrifilm® Coliform Telplaat' voor meer informatie. Als u vragen hebt over specifieke toepassingen of procedures, kunt u onze website [www.neogen.com](http://www.neogen.com) bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke vertegenwoordiger of distributeur van Neogen.

### Specifieke instructies voor gevalideerde methoden

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Tellingen van bacteriën en coliformen in melk, methoden met droge rehydrateerbare film; 989.10 Tellingen van bacteriën en coliformen in zuivelproducten, methoden met droge rehydrateerbare film)

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur bij 32 °C ± 1 °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Tellingen van coliformen en *Escherichia coli* in voedingsmiddelen, methoden met droge rehydrateerbare film)

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur bij 35 °C ± 1 °C.

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> certificaat nr. 082101**

In een Performance Tested Method (PTM)-onderzoek van het AOAC® Research Institute is vastgesteld dat de methode met Neogen Petrifilm CC Telplaten vergelijkbaar is met de gemiddelde logtellingen van de FDA/BAM hoofdstuk 4, paragraaf III.D methode voor de telling van coliformen in flessenwater.



### **Toepassingsgebied van de validatie:**

Flessenwater: gezuiverd water, behandeld bronwater, niet-bruisend natuurlijk bronwater, bruisend natuurlijk bronwater.

### **Incubatie:**

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten 24 uur ± 2 uur bij 35 °C ± 1 °C.

### **NF Validation door AFNOR Certification:**

**Met NF Validation gecertificeerde methode conform ISO 16140-2<sup>10</sup> in vergelijking met ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Toepassingsgebied van de validatie:** Voor het testen van alle voedingsmiddelen voor mensen (met uitzondering van rauwe schaaldieren), voedsel voor huisdieren en omgevingsmonsters.

Gebruik de volgende gegevens bij het implementeren van de bovenstaande gebruiksaanwijzing:

### **Monstervoorbereiding:**

Gebruik uitsluitend verdunningsmiddelen die door ISO worden vermeld.

### **Incubatie:**

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur bij 30 °C ± 1 °C of 37 °C ± 1 °C.

### **Interpretatie:**

Bereken het aantal in het testmonster aanwezige micro-organismen volgens ISO 7218<sup>5</sup> voor één telplaat per verdunning. Schattingen vallen buiten het toepassingsgebied van de NF Validation-certificering (zie paragraaf 2 van het gedeelte 'Interpretatie').

**Met NF Validation gecertificeerde methode conform ISO 16140-2<sup>10</sup> in vergelijking met ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Toepassingsgebied van de validatie:** Voor het testen van alle voedingsmiddelen voor mensen (met uitzondering van rauwe schaaldieren).

Gebruik de volgende gegevens bij het implementeren van de bovenstaande gebruiksaanwijzing:

**Monstervoorbereiding:**

Gebruik uitsluitend verdunningsmiddelen die door ISO worden vermeld.

**Incubatie:**

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten gedurende 24 uur  $\pm$  2 uur bij 30 °C  $\pm$  1 °C of 37 °C  $\pm$  1 °C.

**Interpretatie:**

Bereken het aantal in het testmonster aanwezige micro-organismen volgens ISO 7218<sup>5</sup> voor één telplaat per verdunning. Schattingen vallen buiten het toepassingsgebied van de NF Validation-certificering (zie paragraaf 2 van het gedeelte 'Interpretatie').

**Met NF Validation gecertificeerde methode conform ISO 16140-2<sup>10</sup> in vergelijking met NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Toepassingsgebied van de validatie:** Voor het testen van alle voedingsmiddelen voor mensen.

Gebruik de volgende gegevens bij het implementeren van de bovenstaande gebruiksaanwijzing:

**Monstervoorbereiding:**

Gebruik uitsluitend verdunningsmiddelen die door ISO worden vermeld.

**Incubatie:**

Incubeer de Neogen Petrifilm CC Telplaten gedurende 24 uur  $\pm$  2 uur bij 44 °C  $\pm$  1 °C.

**Interpretatie:**

Bereken het aantal in het testmonster aanwezige micro-organismen volgens ISO 7218<sup>5</sup> voor één telplaat per verdunning. Schattingen vallen buiten het toepassingsgebied van de NF Validation-certificering (zie paragraaf 2 van het gedeelte 'Interpretatie'). Raadpleeg de norm EN ISO 7218 voor inoculatie, kolonietelling en de berekening en weergave van de resultaten.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Voor meer informatie over het einde van de geldigheid kunt u het NF VALIDATION-certificaat op de hierboven vermelde website raadplegen.

## Referenties

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Raadpleeg de huidige versies van de hierboven vermelde standaardmethoden.

## Verklaring van symbolen

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC is een gedeponeerd handelsmerk van AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods is een dienstmerk van AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method is een dienstmerk van AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Produktinformation

# Odlingsplatta för koliformer

### Produktbeskrivning och avsedd användning

Neogen® Petrifilm® Odlingsplatta för koliformer (CC) är ett provklart odlingsmediumsystem som innehåller modifierat VRB-agar, ett kallvattenlösligt gelningsmedel och en tetrazoliumindikator som underlättar koloniräkning. Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor används för räkning av koliformer i livsmedels-, dryckesvaruindustrin och för branschen med vatten på flaska. Beståndsdelarna i Neogen Petrifilm CC Odlingsplattan är dekontaminerade men inte steriliserade. Neogen Food Safety är certifierat enligt den internationella standardiseringsorganisationen (ISO) 9001 avseende utformning och tillverkning. Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta har inte bedömts ihop med alla möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsprocesser, testprotokoll eller med alla möjliga mikroorganismstammar.

The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> definierar koliformer som gramnegativa stavar som producerar syra och gas ur laktosfermentering. Koliforma kolonier som växer på Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta producerar syra, vilket får pH-indikatorn att fördjupa gelfärgen; gas som fångats in runt röda kolonier indikerar koliformer.

ISO definierar koliformer utifrån deras förmåga att växa i metodspecifika, selektiva medier. ISO metod 4832<sup>1</sup>, för koloniräkningsteknik definierar koliforma bakterier som syraproducenter på VRB med laktosagar (VRBL). De här syraproducerande koliforma bakterierna indikeras av röda kolonier med eller utan gasproduktion på Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor. ISO metod 4831<sup>2</sup>, räkning av koliformer enligt metoden med det mest sannolika antalet (MPN) definierar koliforma bakterierna utifrån deras förmåga att växa och producera gas från laktos i en selektiv buljong. De här koliforma bakterierna indikeras av röda kolonier med gasproduktion på Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor.

För flaskvattenprover indikeras bekräftade koliforma bakteriekolonier av röda kolonier associerade med gas på Neogen Petrifilm CC Odlingsplattorna. Röda kolonier utan nära tillhörande gasbubblor kan vara koliformer och bör underkultureras och testas med lämpliga bekräftelsemetoder<sup>11,12</sup>. Se avsnittet Tolkning för ytterligare information. Karakteristiska kolonier kan subkultureras och testas som *Escherichia coli*.

AFNOR Certification har certifierat Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta i jämförelse med ISO metoden 4831<sup>2</sup> och ISO metoden 4832<sup>1</sup> för räkning av totalt antal koliformer. AFNOR Certification har certifierat Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta i jämförelse med NF V08-060<sup>3</sup> för räkning av totalt antal värmeteroleranta koliformer.

### Säkerhet

Användaren måste läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i instruktionerna för Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta. Behåll säkerhetsanvisningarna för framtida bruk.

**⚠ WARNING:** Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i dödsfall eller allvarliga personskador och/eller materiella skador

### ⚠ WARNING

#### För att minska riskerna som förknippas med exponering för biologisk smittofara och miljöförgiftning:

- Följ gällande branschstandarder och lokala föreskrifter för kassering av biologiskt riskavfall.

#### För att minska riskerna som förknippas med utsläpp av kontaminerad produkt:

- Följ alla instruktioner gällande produktförvaring i bruksanvisningen.
- Använd inte produkten efter utgångsdatumet.

#### För att minska riskerna som förknippas med infektioner och kontaminering av arbetsplatsen:

- Utför tester med Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta i ett korrekt utrustat laboratorium under tillsyn av en kompetent mikrobiolog.
- Användaren måste utbilda sin personal i korrekta testmetoder, exempelvis Good Laboratory Practices<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup>, eller ISO 17025<sup>6</sup>.

#### För att minska riskerna som förknippas med feltolkning av resultat:

- Neogen har inte dokumenterat Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för användning inom andra branscher än livsmedels- och dryckesvaruindustrin inklusive vatten i flaska. Till exempel har Neogen inte dokumenterat användning av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för testning av läkemedel eller kosmetika. Neogen har inte dokumenterat användning av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för testning av ytvatten och kommunalt vatten eller vatten som används i läkemedels- eller kosmetikabranschen.

- Användningen av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för att testa vattenprover utförs uteslutande enligt den ansvarige slutanvändarens bedömning, i enlighet med lokala bestämmelser för vattentester. Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor har inte testats med alla möjliga prover på vatten i flaska, testprotokoll eller med samtliga möjliga bakteriestammar.
- Använd inte Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för diagnostisering av tillstånd hos människor och djur.
- Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor skiljer inte någon koliform bakteriestam från en annan.
- Livsmedel med högt sockernehåll kan öka potentialen för gasbildning från icke-koliform *Enterobacteriaceae*.

Se säkerhetsdatabladet för mer information.

För information om dokumentation för produktprestanda, besök vår webbplats på [www.neogen.com](http://www.neogen.com), eller kontakta din Neogen-representant eller en godkänd distributör.

## Användaransvar

Det åligger användarna att bekanta sig med produktinstruktioner och produktinformation. Besök vår webbplats på [www.neogen.com](http://www.neogen.com), eller kontakta din Neogen-representant eller en godkänd distributör för mer information.

Vid val av testmetod är det viktigt att inse att externa faktorer som provtagningsmetod, testprotokoll, provpreparering, hantering och laboratorieteknik kan påverka resultat.

Det åligger användaren att vid val av testmetoder utvärdera tillräckligt många prover med lämpliga matriser och utmaningar, för att övertyga användaren att den valda metoden uppfyller kraven.

Det åligger också användaren att fastställa att en testmetod och dess resultat uppfyller kraven från dennes kunder och leverantörer.

Liksom med alla testmetoder utgör inte resultat som erhållits från användning av någon produkt från Neogen Livsmedelshygien en garanti för kvaliteten hos de matriser eller processer som testats.

## Garantibegränsningar/begränsad ersättning

MED UNDANTAG AV VAD SOM UTTRYCKLIGEN ANGES I AVSNITT OM GARANTIBEGRÄNSNING FÖR INDIVIDUELLA FÖRPACKNINGAR, FRÅNSÄGER SIG NEOGEN ALLA UTTRYCKLIGA OCH UNDERFÖRSTÅDDA GARANTIER, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSAT TILL, ALLA GARANTIER BETRÄFFANDE SÄLJBARHET ELLER LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST ÄNDAMÅL. Om någon produkt från Neogen Livsmedelshygien är defekt kommer Neogen eller dess auktoriserade leverantör att efter eget gottfinnande ersätta produkten eller återbetala produktens inköpspris. Detta är den enda ersättning som ges. Kunden måste meddela Neogen och returnera produkten till Neogen inom sextio dagar efter upptäckt av misstänkt defekt. Kontakta din Neogen-representant eller en godkänd Neogen-distributör om du har fler frågor.

## Begränsning av Neogen:s ansvar

NEOGEN KOMMER INTE ATT PÅTA SIG NÅGOT ANSVAR FÖR FÖRLUST ELLER SKADOR, VARE SIG DIREKTA, INDIREKTA, SÄRSKILDA, TILLFÄLLIGA ELLER EFTERFÖLJANDE SKADOR, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSADE TILL, FÖRLORADE VINSTER. Under inga omständigheter ska Neogen:s ansvar i något som helst lagrum överskrida inköpspriset för den påstått defekta produkten.

## Förvaring

Oöppnade påsar med Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta ska förvaras kyllda eller i frystemperatur under eller motsvarande 8°C (46°F). Låt oöppnade påsen med Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta uppnå rumstemperatur innan den öppnas och används. Lagg tillbaka oanvända Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i påsen. Försegla påsen genom att vika den övre kanten och tejpa igen den. **För att undvika att plattorna utsätts för fukt ska öppnade påsar inte förvaras i kylskåp.** Förvara återförslutna påsar på sval och torr plats i högst fyra veckor. Det rekommenderas att återförseglade påsar med Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor förvaras i frys (se nedan) om temperaturen i laboratoriet överstiger 25°C (77°F) och/ eller laboratoriet ligger i ett område där den relativa luftfuktigheten överstiger 50 % (med undantag för luftkonditionerade byggnader).

Placera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i en förslutningsbar behållare om öppnade påsar ska förvaras i frys. Ta ut frysta Neogen Petrifilm CC-plattor för användning genom att öppna behållaren, ta ut de plattor som behövs och omedelbart lägga tillbaka återstående plattor i frysen i den förslutna behållaren för resten av hållbarhetstiden. Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor får inte användas efter utgångsdatum. Frysen som används för öppning av påse får inte ha en automatisk avfrostningscykel eftersom detta utsätter Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor för fukt som kan skada plattorna.

Använd inte Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor som visar tecken på missfärgning. Utgångsdatum och partinummer finns angivna på varje förpackning av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor. Partinumret finns även angivet på individuella Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor.

## △ Kassering

Efter användning kan Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor innehålla mikroorganismer som kan utgöra en potentiell biologisk fara.

Följ gällande branschstandarder för kassering.

## Bruksanvisning

Följ alla anvisningar noggrant. Underlåtenhet att göra detta kan leda till felaktiga resultat.

## Beredning, inkubation och tolkning av vattenprover från livsmedels- och dryckesbranschen (utom vatten på flaska), inklusive miljöprover

### Provberedning

1. Använd lämpliga sterila spädningsvätskor:

Butterfields fosfatbuffrade spädningsvatten<sup>7</sup>, 0,1% peptonvatten<sup>8</sup>, peptonsaltspädningsmedel<sup>8,9</sup>, buffrat peptonvatten<sup>8,9</sup>, saltlösning (0,85–0,90 %), Neogen<sup>®</sup> Bredspektrumneutraliserare, bisulfittfri letheen-buljong eller destillerat vatten. Se avsnittet ”**Specifika anvisningar för validerade metoder**” för särskilda krav:

**Använd inte spädningsvätskor som innehåller citrat, vätesulfit eller tiofosfat tillsammans med Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor då dessa ämnen kan hämma tillväxt.** Om citratbuffert anges i standardförfarandet, kan du ersätta den med en av buffrarna som listas ovan, uppvärmd till 40–45°C (104–113°F).

2. Blanda eller homogenisera provet.
3. För optimal tillväxt och återhämtning av mikroorganismer, justera provsuspensionens pH-värde till 6,6 - 7,2. För sura produkter, justera pH-värdet med 1 N NaOH. För alkaliska produkter, justera pH-värdet med 1N HCl.

### Applicering på platta

1. Placera Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta på en plan, jämn yta.
2. Lyft den övre filmen och fördela 1 ml av det utspädda provet med lodrät pipett över mitten av den undre filmen.
3. Rulla ned toppfilmen på provet för att förhindra att luftbubblor fångas in.
4. Placera Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> Spridare med den plana sidan nedåt på mitten av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattan. Tryck försiktigt på mitten av Neogen Petrifilm spridaren för att fördela provet jämnt. Sprid inympningsämnet över hela tillväxtområdet på Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta innan gelen bildas. Dra inte Neogen Petrifilm spridaren över filmen.
- 5, Avlägsna Neogen Petrifilm spridare och lämna Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta orörd i minst en minut för att låta gelen bildas.

## Inkubation

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i horisontalläge med den klara sidan uppåt i travar med högst 20 plattor. Flera inkubationstider och temperaturer kan användas beroende på de aktuella lokala referensmetoderna, av vilka några anges i avsnittet ”**Specifika instruktioner för validerade metoder**”.

## Tolkning

1. Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor kan räknas med en vanlig koloniräknare eller annat förstoringsglas med ljuskälla. Gas som produceras av en koliform kan avbryta kolonin så att den markerar bubblans kontur. Den ska räknas som en enda koliform. Räkna inte kolonier på skumdammen eftersom de tas bort från mediets selektiva påverkan. Räkna inte artefaktbubblor som kan vara förekomma.

Tolkningen av koliformkolonier som inte är E. coli på Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta varierar beroende på referensmetod. Till exempel:

AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

Koliformkolonier är röda och nära förenade med infångad gas (inom en kolonidiameter). Kolonier som inte är associerade med gas (ett avstånd större än en kolonidiameter mellan koloni och gasbubbla) räknas inte som koliformer.

ELLER Metoder som certifierats av NF Validation:

- Jämfört med ISO-metoden 4831<sup>2</sup> (MPN-metoden), är koliformkolonier röda och nära förenade med infångad gas (inom en kolonidiameter).
- Jämfört med ISO metod 4832<sup>1</sup> (totala koliformer) och NF V08-060<sup>3</sup> (fekala koliformer) som båda baseras på VRBL-metoder, räknas alla röda kolonier med eller utan gas.

2. Den runda tillväxtytan är cirka 20 cm<sup>2</sup>. Uppskattningar kan göras för Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor som innehåller mer än 150 kolonier genom att räkna kolonierna i en eller flera representativa rutor och fastställa det genomsnittliga antalet per ruta. Multiplicera medelantalet med 20 för att bestämma det uppskattade antalet per Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta.
3. När kolonier finns i stort antal kan Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor ha en fördjupning av gelfärgen och endera eller båda av följande egenskaper: många små, otydliga kolonier och/eller många gasbubblor. Höga koncentrationer av koliformer kan få tillväxtområdet att bli mörkrött. När detta inträffar, registrera resultaten som för många för att räkna (TNTC). När ett faktiskt antal räknas, använd en högre utspädning på odlingsplattan.
4. Vid behov kan kolonier isoleras för vidare identifiering. Lyft den övre filmen och plocka bort kolonin från gelen med lämplig testteknik. Test med standardförfaranden.



- Om Neogen Petrifilm REC Odlingsplattor inte kan räknas inom 1 timme efter uttagning ur inkubatorn, kan de förvaras för senare uppräknings genom frysning i en förseglingsbar behållare vid temperaturer lägre än eller lika med minus 15 °C (5 °F) i högst en vecka.

## Beredning, inkubation och tolkning av vattenprover i flaska

### Hydrera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor

- Placera Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta på en plan, jämn yta.
- Lyft den övre filmen och fördela 1 ml av lämplig steril hydrerande spädningsvätska över mitten av den undre filmen. Lämpliga sterila hydreringsutspädningsmedel inkluderar destillerat vatten, avjoniserat (DI) vatten och vatten med omvänd osmos (RO).
- Rulla ned toppfilmen på provet för att förhindra att luftbubblor fångas in.
- Placera Neogen Petrifilm Spridaren med den plana sidan nedåt på mitten av plattan. Tryck försiktigt på mitten av spridaren för att fördela utspädningsvätskan jämnt. Sprid ut utspädningsvätska över hela tillväxtområdet på Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta innan gelen bildas. Dra inte spridaren över filmen.
- Ta bort spridaren och låt odlingsplattorna vara stängda i minst 1 timme före användning.
- Förvara hydrerade Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i en förseglad påse eller plastpåse. Skydda odlingsplattorna mot ljus och kyl vid 2-8°C (36-46°F) i upp till 7 dagar.

### Vattenfiltrering och inkubation för odlingsplattan

- Membranfiltrera vattenprover med ett 47 mm filter med en mikron porstorlek på 0,45 bestående av blandad cellulosaester (MCE). Följ standardprocedurerna.
- Lyft försiktigt den övre filmen av Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta. Undvik att vidröra den runda tillväxtytan. Placera filtret på mitten av det hydrerade området. Minimera infångade bubblor under filtret.
- Använd en långsam rullande rörelse för att placera den övre filmen på filtret. Minimera infångade luftbubblor och skapa mellanrum mellan filtret och Neogen Petrifilm CC Odlingsplatta.
- Använd lätt tryck genom att använda Neogen Petrifilm Odlingsplatta spridare eller skjut ett finger lätt över hela skivområdet (inklusive kanter) för att säkerställa jämn kontakt med filtret med gelen och eliminera eventuella luftbubblor.
- Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor vid 35°C ± 1°C i 24 timmar ± 2 timmar<sup>11</sup> eller 36°C ± 1°C i 24 timmar ± 2 timmar<sup>12</sup> i horisontalläge med den klara sidan vänd uppåt, i staplar som inte överstiger 20.

### Tolkning

- Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor kan räknas med en vanlig koloniräknare eller annat förstoringsglas med ljuskälla. Räkna inte kolonier på skumdammen eftersom de tas bort från mediets selektiva påverkan. Räkna inte artefaktbubblor som kan vara förekomma.
- Röda kolonier associerade med gasbubblor räknas som koliformer. Gasbubblor kan bilda ett cirkulärt eller stjärnformat mönster runt kolonin. Gas som produceras av koliformer kan avbryta kolonin så att den markerar bubblans kontur. Den ska räknas som en enda koliform. Röda kolonier utan nära tillhörande gasbubblor kan vara koliformer och bör tas ut och testas med lämpliga bekräftelsemetoder<sup>11, 12</sup>.
- När kolonier finns i stort antal kan Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor få en fördjupad gelfärg förenad med många små, otydliga kolonier eller gasbubblor. När detta inträffar, registrera resultaten som för många för att räkna (TNTC).
- Vid behov kan kolonier isoleras för vidare identifiering. Lyft den övre filmen och plocka bort kolonin från gelen eller filterytan. När du lyfter upp den övre filmen, kan filtret vidhäfta vid den övre eller undre filmen. Om filtret vidhäftar på den övre filmen, separera filtret från den övre filmen och plocka ut kolonier. Test med standardförfaranden.

**Obs:** Fördröjd räkning av Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor med filter rekommenderas inte.

För ytterligare information, se motsvarande ”Neogen® Petrifilm® Tolkningssguide för odlingsplattan koliforma bakterier”. Om du har frågor om specifika tillämpningar eller procedurer kan du besöka vår hemsida på [www.neogen.com](http://www.neogen.com) eller kontakta din lokala representant eller återförsäljare för Neogen.

### Specifika anvisningar för validerade metoder

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bakterie- och koliformräkningar i mjölk, metoder med torr rehydrerbar film och 989.10 Bakterie- och koliformräkning i mejeriprodukter, metoder med torr rehydrerbar film)

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 32°C ± 1°C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 koliformer och Escherichia coli räkning i livsmedel, metoder som använder torr, rehydrerbar film)

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 35°C ± 1°C.

**AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Certifikat nr. 082101**

I en Performance Tested Method (PTM)-undersökning utförd av AOAC® Research Institute visade sig metoden med Neogen Petrifilm CC-odlingsplatta vara likvärdig med det genomsnittliga loggantalet för FDA/BAM kapitel 4, avsnitt III.D för räkning av koliformer i vatten på flaska.

**Omfattning av valideringen:**

Vatten på flaska: filtrerat vatten, behandlat källvatten, naturligt källvatten utan kolsyra, naturligt källvatten med kolsyra.

**Inkubation:**

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 35°C ± 1°C.

**NF Validation av AFNOR Certification:**

**Certifierad metod från NF Validation i enlighet med ISO 16140-2<sup>10</sup> jämfört med NF 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Omfattning av valideringen:** För testning av alla typer av livsmedelsprodukter avsedda för människor (utom råa skaldjur), djurmat och miljöprover.

Använd följande uppgifter när du implementerar ovannämnda bruksanvisning:

**Provberedning:**

Använd endast spädningsvätskor som är ISO-godkända.

**Inkubation:**

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 30°C ± 1°C eller 37°C ± 1°C.

**Tolkning:**

Beräkna antalet mikroorganismer i testprovet i enlighet med ISO 7218<sup>5</sup> för en odlingsplatta per spädningsvätska. Uppskattningar omfattas inte av NF Validation-certifieringen (jmf. stycke 2 under avsnittet Tolkning).

**Certifierad metod från NF Validation i enlighet med ISO 16140-2<sup>10</sup> jämfört med NF 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Omfattning av valideringen:** För testning av alla typer av livsmedelsprodukter avsedda för människor (utom råa skaldjur).

Använd följande uppgifter när du implementerar ovannämnda bruksanvisning:

**Provberedning:**

Använd endast spädningsvätskor som är ISO-godkända.

**Inkubation:**

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 30°C ± 1°C eller 37°C ± 1°C.

**Tolkning:**

Räkna antalet mikroorganismer i testprovet i enlighet med ISO 7218<sup>5</sup> för en platta per spädningsvätska. Uppskattningar omfattas inte av NF Validation-certifieringen (jmf. stycke 2 under avsnittet Tolkning).

**Certifierad metod från NF Validation i enlighet med ISO 16140-2<sup>10</sup> jämfört med NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Omfattning av valideringen:** För testning av alla typer av livsmedelsprodukter avsedda för människor

Använd följande uppgifter när du implementerar ovannämnda bruksanvisning:

**Provberedning:**

Använd endast spädningsvätskor som är ISO-godkända

**Inkubation:**

Inkubera Neogen Petrifilm CC Odlingsplattor i 24 timmar ± 2 timmar vid en temperatur på 44°C ± 1°C.

### Tolkning:

Räkna antalet mikroorganismer som finns i testprovet enligt ISO 7218<sup>5</sup> för en odlingsplatta per spädningvätska. Uppskattningar omfattas inte av certifieringen av NF Validation (jmf. stycke 2 under avsnittet Tolkning). Se EN ISO 7218 standarden för inympning, koloniräkning samt beräkning och uttryck för resultat.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C**  
**ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

För ytterligare information om valideringslut, läs NF VALIDATION-certifikatet som finns tillgängligt på ovan angivna webbsida.

### Referenser

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. En förteckning av reagenter för BAM finns på: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Se de aktuella versionerna av standardmetoderna som anges ovan.

### Symbolförklaringar

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC är ett registrerat varumärke som tillhör AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods är ett servicemärke som tillhör AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method är ett servicemärke som tillhör AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Produktvejledning

# Coliform Tælleplade

### Produktbeskrivelse og tilsigtet anvendelse

Neogen® Petrifilm® Coliform (CC) Tælleplade er et færdiglavet dyrkningsmediesystem bestående af Violet Red Bile-næringsstof (VRB), et geleringsmiddel, der er opløseligt i koldt vand, og en tetrazoliumindikator, der letter kolonitælling. Neogen Petrifilm CC Tælleplader bruges til tælling af coliforme bakterier i fødevarer-, drikkevare- og flaskevandsindustrien. Neogen Petrifilm CC Tællepladens komponenter er dekontamineret, men ikke steriliseret. Neogen Food Safety er certificeret iht. ISO 9001 (International Organisation for Standardisering) med hensyn til design og produktion. Neogen Petrifilm CC Tælleplade er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevarer, fødevarerprocesser, testprotokoller eller med alle mulige mikroorganismestammer.

The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> definerer coliforme bakterier som gramnegative stave, der danner syre og gas af under fermentering af laktose. Kolonier af coliforme bakterier, der vokser på Neogen Petrifilm CC Tællepladen, producerer syre, som får pH-indikatoren til at intensivere gelens farve. Gas indkapslet omkring røde kolonier angiver coliforme bakterier.

ISO definerer coliforme bakterier på deres evne til at vokse i metodespecifikke, selektive medier. ISO-metode 4832<sup>1</sup>, tælling af coliforme bakterier ved hjælp af en kolonitællingsteknik, definerer coliforme bakterier som syredannende på VRB med laktose-agar (VRBL). På Neogen Petrifilm CC Tælleplader vises disse syredannende coliforme bakterier i form af røde kolonier med eller uden gasproduktion. ISO-metode 4831<sup>2</sup>, tælling af coliforme bakterier ved hjælp af metoden med det mest sandsynlige antal (MPN), definerer coliforme bakterier på deres evne til at vokse og danne gas fra laktose i en selektiv bouillon. På Neogen Petrifilm CC Tælleplader vises disse coliforme bakterier i form af røde kolonier, der er knyttet til gas.

For prøver af flaskevand vises bekræftede kolonier af coliforme bakterier i form af røde kolonier, der er knyttet til gas, på Neogen Petrifilm CC Tælleplader. Røde kolonier uden tæt knyttede gasbobler kan være coliforme bakterier, og de skal dyrkes som subkulturer og testes med egnede bekræftelsesmetoder<sup>11,12</sup>. Der findes flere oplysninger i afsnittet Aflæsning. Karakteristiske kolonier kan dyrkes som subkulturer og testes som *Escherichia coli*.

AFNOR Certification har certificeret Neogen Petrifilm CC Tælleplade sammenlignet med ISO-metode 4831<sup>2</sup> og ISO-metode 4832<sup>1</sup> til tælling af det totale antal coliforme bakterier. AFNOR Certification har også certificeret Neogen Petrifilm CC Tælleplade sammenlignet med NF V08-060<sup>3</sup> til tælling af varmetolerante coliforme bakterier.

### Sikkerhed

Brugeren skal læse, forstå og følge alle sikkerhedsoplysninger i vejledningen til Neogen Petrifilm CC Tællepladen. Gem sikkerhedsvejledningen til fremtidig reference.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situation, som kan resultere i dødsfald eller alvorlig personskade og/eller skade på ejendele, hvis den ikke undgås

### ⚠ ADVARSEL

#### For at reducere risiciene forbundet med eksponering for biologiske farer og miljøkontaminering:

- Følg de aktuelle branchestandarder og lokale bestemmelser for bortskaffelse af biologisk farligt affald.

#### For at reducere risiciene forbundet med frigivelse af et kontamineret produkt:

- Følg alle anvisninger for produktopbevaring indeholdt i brugsanvisningen.
- Anvend ikke produktet efter udløbsdatoen.

#### For at reducere risiciene forbundet med bakterieinfektion og kontaminering på arbejdspladsen:

- Udfør analysen med Neogen Petrifilm CC Tælleplade i et korrekt udstyret laboratorium under en faglært mikrobiologs kontrol.
- Brugeren skal uddanne sit personale i de gældende korrekte prøveteknikker: for eksempel god laboratoriepraksis<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> eller ISO 17025<sup>6</sup>.

#### For at reducere risiciene forbundet med fejlaflysning af resultater:

- Neogen har ikke dokumenteret Neogen Petrifilm CC Tælleplader til anvendelse i andre industrier end fødevarer- og drikkevareindustrien, herunder flaskevand. Neogen har for eksempel ikke dokumenteret Neogen Petrifilm CC Tælleplader til analyse af lægemidler eller kosmetik. Neogen har ikke dokumenteret Neogen Petrifilm CC Tælleplader til analyse af overflade- og vandværksvand eller vand, der anvendes i lægemiddel- eller kosmetikindustrien.
- Anvendelse af Neogen Petrifilm CC Tælleplader til analyse af vandprøver i henhold til lokale regler for vandanalyse sker efter slutbrugerens eget skøn og på dennes eget ansvar. Neogen Petrifilm CC Tælleplader er ikke blevet testet med alle mulige prøver af flaskevand eller testprotokoller eller med alle mulige mikroorganismestammer.

- Undlad at anvende Neogen Petrifilm CC Tællepladerne til at diagnosticere tilstande hos mennesker eller dyr.
- Neogen Petrifilm CC Tælleplader skelner ikke mellem forskellige stammer af coliforme bakterier.
- Fødevarer med højt sukkerindhold kan øge potentialet for gasdannelse fra ikke-coliforme *Enterobacteriaceae*.

Se sikkerhedsdatabladet for at få yderligere oplysninger.

For oplysninger om dokumentation af produktperformance kan du besøge vores websted på [www.neogen.com](http://www.neogen.com) eller kontakte din Neogen-repræsentant eller autoriserede Neogen-distributør for at få flere oplysninger.

## Brugerens ansvar

Brugeren er ansvarlig for at gøre sig bekendt med produktvejledninger og -oplysninger. Besøg vores websted på [www.neogen.com](http://www.neogen.com), eller kontakt din Neogen-repræsentant eller -leverandør for at få flere oplysninger.

Når der vælges en testmetode, er det vigtigt, at man er klar over, at eksterne faktorer såsom prøveudtagningsmetoder, testprotokoller, klargøring af prøven, håndtering samt laboratorieteknikker, kan påvirke resultaterne.

Det er brugerens eget ansvar at vælge en testmetode, som evaluerer et tilstrækkeligt antal prøver med de passende matricer og mikrobielle udfordringer for derved at sikre brugeren, at den valgte testmetode lever op til brugerens krav.

Det er også brugerens eget ansvar at kontrollere, at alle testmetoder og resultater lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette Neogen Food Safety-produkt, ikke giver garanti for kvaliteten af de testede matricer og processer.

## Begrænsning af garantier/begrænset retsmiddel

BORTSET FRA HVAD DER ER UDTRYKKELIGT ANFØRT I DEN BEGRÆNSEDE GARANTI PÅ DEN INDIVIDUELLE PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER NEOGEN SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, ENHVER SALGBARHEDSGARANTI ELLER EGNETHED TIL EN BESTEMT ANVENDELSE. Hvis et Neogen Food Safety-produkt er behæftet med fejl eller mangler, vil Neogen eller en af dennes autoriserede distributører efter dennes eget skøn erstatte produktet eller refundere købsprisen. Dette er det eneste til rådighed værende retsmiddel. Du skal straks, inden for 60 dage efter at have opdaget enhver formodet fejl ved et produkt, meddele Neogen dette og returnere produktet til Neogen. Kontakt din Neogen-repræsentant eller autoriserede Neogen-distributør, hvis du har flere spørgsmål.

## Begrænsning af Neogen's ansvar

NEOGEN KAN IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR NOGEN TAB ELLER SKADER, UANSET OM DET DREJER SIG OM DIREKTE, INDIREKTE, SÆRSKILT DOKUMENTEREDE, HÆNDELIGE SKADER ELLER FØLGESKADER, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal Neogen's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen for det produkt, der efter sigende er behæftet med fejl.

## Opbevaring

Opbevar de uåbnede foliepakninger med Neogen Petrifilm CC Tælleplader nedkølet eller nedfrosset ved temperaturer på 8°C (46°F) eller lavere. Lad de uåbnede foliepakninger med Neogen Petrifilm CC Tælleplader få stuetemperatur umiddelbart inden brug. Læg ubrugte Neogen Petrifilm CC Tælleplader tilbage i foliepakningen. Forsegel foliepakningen ved at folde foliepakningens ende og sætte tape henover. **Undlad at nedkøle åbnede foliepakninger for at undgå fugt.** Opbevar genforseglede foliepakninger på et køligt, tørt sted i maks. 4 uger. Det anbefales, at genforseglede foliepakninger med Neogen Petrifilm CC Tælleplader opbevares i fryseren (se nedenfor), hvis temperaturen i laboratoriet overstiger 25°C (77°F), og/eller laboratoriet befinder sig i et område, hvor den relative luftfugtighed overstiger 50 % (her undtages faciliteter med aircondition).

Ved opbevaring af åbnede foliepakninger i en fryser skal Neogen Petrifilm CC Tællepladerne lægges i en tætsluttende beholder. Frosne Neogen Petrifilm CC-plader tages ud til brug ved at åbne beholderen, tage de plader ud, der skal bruges, og straks lægge de resterende plader tilbage i fryseren i den forseglede beholder for resten af holdbarhedsperioden. Neogen Petrifilm CC Tælleplader bør ikke anvendes efter udløbsdatoen. Den fryser, der bruges til åbne foliepakninger, må ikke have automatisk afrimning, da dette kan udsætte Neogen Petrifilm CC Tællepladerne for fugt gentagne gange, hvilket kan beskadige pladerne.

Anvend ikke Neogen Petrifilm CC Tælleplader, som er misfarvede. Udløbsdato og lot nr. findes på hver pakke med Neogen Petrifilm CC Tælleplader. Lot nr. findes også på de individuelle Neogen Petrifilm CC Tælleplader.

## ⚠ Bortskaffelse

Efter brug kan Neogen Petrifilm CC Tælleplader indeholde mikroorganismer, som kan udgøre en potentiel biologisk risiko.

Følg de gældende industristandarder for bortskaffelse.

## Brugsanvisning

Følg omhyggeligt alle vejledninger. Hvis dette ikke overholdes, kan det medføre unøjagtige resultater.

## Forberedelse, inkubation og aflæsning af prøver fra fødevarer- og drikkevarerindustrier (flaskevand undtaget), herunder miljøprøver

### Prøveforberedelse

1. Anvend velegnede sterile fortyndingsmidler:

Butterfields fosfatbufferet fortyndingsvand<sup>7</sup>, 0,1 % peptonvand<sup>8</sup>, peptonsaltfortyndingsmidler<sup>8,9</sup>, bufferet peptonvand<sup>8,9</sup>, saltopløsning (0,85 0,90 %), Neogen<sup>®</sup> bredspektret neutralisering, bisulfit-fri letheen-bouillon eller destilleret vand. Se afsnittet “**Specifik vejledning i validerede metoder**” for specifikke krav.

**Brug ikke fortyndingsvæsker, som indeholder citrat, bisulfit eller thiosulfat sammen med Neogen Petrifilm CC Tælleplader, da de kan hæmme væksten.** Hvis citratbuffer er angivet i den normale procedure, erstattes den med en af ovennævnte buffere, der opvarmes til 40-45°C (104-113°F).

2. Bland eller homogeniser prøven.
3. For at sikre optimal vækst og reetablering af mikroorganismer skal prøveopløsningens pH-værdi justeres til 6,6 - 7,2. For syreholdige produkter skal pH-værdien justeres med 1N NaOH. For basiske produkter skal pH-værdien justeres med 1N HCl.

### Udpladning

1. Anbring Neogen Petrifilm CC Tællepladen på en flad, plan overflade.
2. Løft den øverste film, og dispenser med pipetten vinkelret på podningsområdet 1 ml prøvesuspension midt på underfilmen.
3. Rul den øverste film ned på prøven for at forsøge at undgå luftbobler.
4. Anbring Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> Spreder med den flade side nedad midt på Neogen Petrifilm CC Tællepladen. Tryk forsigtigt på midten af Neogen Petrifilm Sprederen for at fordele prøven jævnt. Spred den afsatte prøve over hele Neogen Petrifilm CC Tællepladens vækstområde, før gelen dannes. Før ikke Neogen Petrifilm Sprederen hen over filmen.
5. Fjern Neogen Petrifilm Sprederen, og lad Neogen Petrifilm CC Tællepladen være uforstyrret i mindst ét minut, så gelen kan dannes.

### Inkubation

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i en vandret stilling med den klare side opad i stakke på højst 20 plader. Der kan anvendes flere inkubationstider og temperaturer afhængig af de gældende lokale referencemetoder, hvoraf nogle er angivet i afsnittet “**Specifik vejledning i validerede metoder**”.

### Aflæsning

1. Neogen Petrifilm CC Tælleplader kan tælles ved hjælp af en standardkolonitæller eller en anden lup med lys. Gas dannet af coliforme bakterier kan forstyrre kolonien, så kolonien danner et “omrids” af boblen. Den bør tælles som én coliform koloni. Tæl ikke kolonier på skumkanten, da de er uden for mediets selektive påvirkning. Eventuelle bobleartefakter skal ikke tælles.

Fortolkningen af coliforme kolonier på Neogen Petrifilm CC Tælleplade varierer efter referencemetode. For eksempel:

AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

Coliforme kolonier er røde og tæt knyttet (inden for én kolonidiameter) til indkapslet gas. Kolonier, der ikke er knyttet til gas (afstanden er større end én kolonidiameter mellem kolonien og gasboblen) tælles ikke som coliforme.

ELLER NF Validation-certificerede metoder:

- Sammenlignet med ISO-metode 4831<sup>2</sup> (MPN-metode) er coliforme kolonier røde og tæt knyttet (inden for én kolonidiameter) til indkapslet gas.
- Sammenlignet med ISO-metode 4832<sup>1</sup> (totale coliforme bakterier) og NF V08-060<sup>3</sup> (fækale coliforme bakterier), der begge er baseret på VRBL-metoder, tælles alle røde kolonier med eller uden gas.

2. Det runde vækstområde er ca. 20 cm<sup>2</sup>. Der kan foretages skøn på Neogen Petrifilm CC Tælleplader med mere end 150 kolonier ved at tælle antallet af kolonier i én eller flere repræsentative kvadrater og bestemme det gennemsnitlige antal pr. kvadrat. Gang det gennemsnitlige antal med 20 for at beregne det estimerede antal pr. Neogen Petrifilm CC Tælleplade.
3. Når kolonier forekommer i større antal, kan Neogen Petrifilm CC Tælleplader have en mere intensiv gelfarve og én eller begge af følgende kendetegn: mange små, uafgrænsede kolonier og/eller mange gasbobler. Høje koncentrationer af coliforme kolonier medfører, at vækstområdet bliver mørkerødt. Når det sker, skal resultaterne registreres som for talrige til at tælle (TNTC). Når der kræves en egentlig tælling, skal udpladning foretages med en højere fortyndingsfaktor.
4. Kolonier kan isoleres for yderligere identifikation efter behov. Løft den øverste film ved hjælp af korrekt testteknik, og vælg kolonien fra gelen. Foretag test ved hjælp af standardprocedurerne.

5. Hvis Neogen Petrifilm CC Tællepladerne ikke kan tælles inden for 1 time, efter de er taget ud af inkubatoren, kan de gemmes til senere tælling ved at fryse dem ned i en tætsluttende beholder ved temperaturer på eller under  $-15^{\circ}\text{C}$  ( $5^{\circ}\text{F}$ ) i højst en uge.

## Forberedelse, inkubation og aflæsning af prøver af flaskevand

### Hydrer Neogen Petrifilm CC Tælleplader

1. Anbring Neogen Petrifilm CC Tællepladen på en flad, plan overflade.
2. Løft den øverste film, og dispenser 1 ml af et egnet sterilt hydreringsfortyndingsmiddel midt på underfilmen. Egnede sterile hydreringsfortyndingsmidler omfatter destilleret vand, demineraliseret vand (DI) og omvendt osmose-vand (RO).
3. Rul den øverste film ned på prøven for at forsøge at undgå luftbobler.
4. Placer Neogen Petrifilm Spreder med den flade side nedad midt på pladen. Tryk forsigtigt på midten af sprederen for at fordele fortyndingsmidlet jævnt. Spred fortyndingsmidlet over hele Neogen Petrifilm Pladens vækstområde, før gelen dannes. Før ikke sprederen hen over filmen.
5. Fjern sprederen, og lad pladerne være lukket i mindst 1 time før brug.
6. Opbevar hydrerede Neogen Petrifilm CC Tælleplader i en tætlukkende foliepakning eller plastpose. Beskyt pladerne mod lys, og nedkøl dem til  $2-8^{\circ}\text{C}$  ( $36-46^{\circ}\text{F}$ ) i op til 7 dage.

### Filtrering af vand og inkubation af plader

1. Følg standardprocedurerne for vandanalyse, og membranfiltrer vandprøven ved hjælp af et 47 mm blandet celluloseester-filter (MCE) med en porestørrelse på 0,45 mikron.
2. Løft forsigtigt den øverste film af Neogen Petrifilm CC Tælleplade. Undgå at røre ved det runde vækstområde. Anbring filteret midt på det hydrerede område. Minimer bobler under filteret.
3. Rul langsomt den øverste film ned på filteret. Minimer luftbobler og mellemrum mellem filteret og Neogen Petrifilm CC Tællepladen.
4. Påfør et let tryk med sprederen til Neogen Petrifilm Plade eller ved at føre en finger let hen over hele pladeområdet (også kanterne) for at sikre ensartet kontakt mellem filteret og gelen og for at fjerne eventuelle luftbobler.
5. Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader ved  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  i 24 timer  $\pm$  2 timer<sup>11</sup> eller  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  i 24 timer  $\pm$  2 timer<sup>12</sup> i en vandret stilling med den klare side opad i stakke på højst 20.

### Aflæsning

1. Neogen Petrifilm CC Tælleplader kan tælles ved hjælp af en standardkolonitæller eller en anden lup med lys. Tæl ikke kolonier på skumkanten, da de er uden for mediets selektive påvirkning. Eventuelle bobleartefakter skal ikke tælles.
2. Røde kolonier knyttet til gasbobler tælles som coliforme bakterier. Gasbobler kan danne et cirkel- eller stjerneformet mønster omkring kolonien. Gas dannet af coliforme bakterier kan forstyrre kolonien, så kolonien danner et "omrids" af boblen. Den bør tælles som én coliform koloni. Røde kolonier uden tæt knyttede gasbobler kan være coliforme bakterier, og de skal vælges og testes med egnede bekræftelsesmetoder<sup>11,12</sup>.
3. Når kolonier forekommer i større antal, kan Neogen Petrifilm CC Tælleplader have en mere intensiv gelfarve med mange små, uafgrænsede kolonier eller gasbobler. Når det sker, skal resultaterne registreres som for talrige til at tælle (TNTC).
4. Kolonier kan isoleres for yderligere identifikation. Løft den øverste film, og vælg kolonien fra gelen eller filterets overflade. Når den øverste film løftes, kan filteret hænge fast i enten den øverste eller den nederste film. Hvis filteret sidder fast på den øverste film, skal du separere filteret fra den øverste film og vælge kolonier. Foretag test ved hjælp af standardprocedurerne.

**Bemærk:** Det anbefales ikke er udskyde tælling af Neogen Petrifilm CC Tælleplader med filtre.

Der findes flere oplysninger i den relevante "Aflæsningsguide til Neogen® Petrifilm® Coliform Tælleplade." Hvis du har spørgsmål til specifikke anvendelser eller procedurer, bedes du besøge vores websted på [www.neogen.com](http://www.neogen.com) eller kontakte din lokale Neogen-repræsentant eller -distributør.

### Specifik vejledning for validerede metoder

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> certifikatnummer 082101**

I en Performance Tested Method (PTM)-undersøgelse foretaget af AOAC® Research Institute blev Neogen Petrifilm CC Tælleplade-metoden fundet lige så god som eller bedre end de gennemsnitlige logoptællinger i henhold til metoden til tælling af det totale antal coliforme bakterier i flaskevand i FDA/BAM kapitel 4, afsnit III.D.



**Valideringsområdet:**

Flaskevand: rensset vand, behandlet kildevand, naturligt kildevand uden kulsyre, naturligt kildevand med kulsyre.

**Inkubation:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**NF Validation med AFNOR Certification:**

**NF VALIDATION-certificeret metode i overensstemmelse med ISO 16140-2<sup>10</sup> i sammenligning med ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Valideringsområdet:** Til testning af alle humane fødevarerprodukter (undtagen rå skaldyr), dyrefoder og miljøprøver. Brug følgende oplysninger ved implementering af ovennævnte brugsanvisning:

**Prøveforberedelse:**

Anvend udelukkende fortyndingsmidler, som findes på ISO-listen.

**Inkubation:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  eller  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Aflæsning:**

Beregn det antal mikroorganismer, der er til stede i testprøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plade pr. fortynding. De anslåede værdier ligger uden for NF Validation-certificeringens område (se afsnittet om aflæsning, punkt 2).

**NF Validation-certificeret metode i overensstemmelse med ISO 16140-2<sup>10</sup> i sammenligning med ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Valideringsområdet:** Til testning af alle humane fødevarerprodukter (undtagen rå skaldyr).

Brug følgende oplysninger ved implementering af ovennævnte brugsanvisning:

**Prøveforberedelse:**

Anvend udelukkende fortyndingsmidler, som findes på ISO-listen.

**Inkubation:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  eller  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Aflæsning:**

Beregn det antal mikroorganismer, der er til stede i testprøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plade pr. fortynding. De anslåede værdier ligger uden for NF Validation-certificeringens område (se afsnittet om aflæsning, punkt 2).

**NF Validation-certificeret metode i overensstemmelse med ISO 16140-2<sup>10</sup> i sammenligning med NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Valideringsområdet:** Til testning af alle humane fødevarerprodukter

Brug følgende oplysninger ved implementering af ovennævnte brugsanvisning:

**Prøveforberedelse:**

Anvend udelukkende fortyndingsmidler, som findes på ISO-listen

**Inkubation:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC Tælleplader i 24 timer  $\pm$  2 timer ved  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Aflæsning:**

Beregn det antal mikroorganismer, der er til stede i testprøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plade pr. fortynding. De anslåede værdier ligger uden for NF Validation-certificeringens område (se afsnittet om aflæsning, punkt 2). Se EN ISO 7218-standarden vedrørende inokulation, kolonitælling samt beregning og præsentation af resultater.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

For yderligere oplysninger om validering henvises der til NF VALIDATION-certifikatet, der er tilgængeligt på det ovenfor nævnte websted.

## Litteraturhenvisninger

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Der henvises til de gældende versioner af de standardmetoder, som er angivet ovenfor.

## Symbolforklaring

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC er et registreret varemærke tilhørende AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods er et servicemærke tilhørende AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method er et servicemærke tilhørende AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Produktveiledning

### For koliforme bakterier

#### Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk

Neogen® Petrifilm® for koliforme bakterier (CC) er et dyrkningsmedium som er klart til bruk, som inneholder modifiserte Violet Red Bile (VRB) næringsmidler, et kaldtvannsoloppløselig geldannende middel og en tetrazoliumindikator som forenkler telling av kolonier. Neogen Petrifilm CC plater brukes til telling av koliforme bakterier i næringsmiddel- og flaskevann-industrien. Komponentene i Neogen Petrifilm CC er dekontaminert, men ikke sterilisert. Neogen Food Safety er International Organization for Standardization (ISO) 9001-sertifisert for utforming og produksjon. Neogen Petrifilm CC er ikke evaluert med alle mulige matprodukter, matprosesser, testprotokoller eller med alle mulige stammer av mikroorganismer.

United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> definerer koliforme bakterier som Gram-negative stenger, som produserer syre og gass av laktosefermentering. Kolonier av koliforme bakterier som vokser på Neogen Petrifilm CC, produserer syre, og dette får pH-indikatoren til å mørkne gelfargen; gass innfanget rundt røde kolonier indikerer koliforme bakterier.

ISO definerer koliforme bakterier etter deres evne til å vokse i metodespesifikke, selektive media. ISO-metode 4832<sup>1</sup>, som teller koliforme bakterier ved kolonitellmetode, definerer koliforme bakterier som syreprodusenter på VRB med laktose (VRBL)-agar. På Neogen Petrifilm CC plater angis disse syreproduserende koliforme bakteriene ved røde kolonier med eller uten gassproduksjon. ISO-metode 4831<sup>2</sup>, som teller koliforme bakterier etter metoden med det mest sannsynlige antallet (MPN), definerer koliforme bakterier etter deres evne til å vokse og produsere gass av laktose i en selektiv buljong. På Neogen Petrifilm CC plater angis disse koliforme bakterier ved røde kolonier tilknyttet gass.

For flaskevannprøver angis bekreftede kolonier med koliforme bakterier med røde kolonier tilknyttet gass på Neogen Petrifilm CC plater. Røde kolonier uten nær tilknyttede gassbobler kan være koliforme bakterier og bør subdyrkes og testes med passende bekreftelsesmetoder<sup>11,12</sup>. Se tolkningsavsnitt for tilleggsdetaljer. Karakteristiske kolonier kan subdyrkes og testes som *Escherichia coli*.

AFNOR Certification har sertifisert Neogen Petrifilm CC sammenlignet med ISO-metode 4831<sup>2</sup> og ISO-metode 4832<sup>1</sup> for telling av totalt antall koliforme bakterier. AFNOR Certification har også sertifisert Neogen Petrifilm CC sammenlignet med NF V08-060<sup>3</sup>, for telling av termotolerante koliforme bakterier.

#### Sikkerhet

Brukeren må lese, forstå og følge all sikkerhetsinformasjonen i produktveiledningen for Neogen Petrifilm CC. Behold sikkerhetsveiledningen for fremtidig referanse.

**⚠ ADVARSEL:** Indikerer en farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan resultere i død eller alvorlig personskade og/eller materielle skader

#### ⚠ ADVARSEL

##### For å redusere risikoene forbundet med eksponering for biologiske farer og miljøforurensning:

- Følg gjeldende industristandarder og lokale forskrifter for kasting av biologisk risikoavfall.

##### For å redusere risikoene forbundet med utslipp av kontaminert produkt:

- Følg alle lagringsinstruksjoner som finnes i bruksanvisningen.
- Må ikke brukes etter utløpsdatoen.

##### For å redusere risikoene forbundet med bakterieinfeksjon og kontaminering på arbeidsplassen:

- Utfør Neogen Petrifilm CC tester i et riktig utstyrt laboratorium, under tilsyn av en dyktig mikrobiolog.
- Brukeren må gi opplæring i korrekte testteknikker til sitt personell: for eksempel Good Laboratory Practices<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> eller ISO 17025<sup>6</sup>.

##### For å redusere risikoene forbundet med feiltolkning av resultater:

- Neogen har ikke dokumentert Neogen Petrifilm CC plater for bruk i andre industrier enn næringsmiddel- og flaskevannindustrien. Neogen har for eksempel ikke dokumentert Neogen Petrifilm CC plater for testing av legemidler eller kosmetikk. Neogen har ikke dokumentert Neogen Petrifilm CC plater for testing av overflatevann og kommunalt vann, eller vann som brukes i legemiddel- eller kosmetikkindustrien.
- Bruk av Neogen Petrifilm CC plater til testing av vannprøver i samsvar med lokale vanntestingsforskrifter foretas ene og alene etter sluttbrukerens vurdering og ansvar. Neogen Petrifilm CC plater har ikke blitt testet på alle mulige flaskevannprøver, testprotokoller eller med alle mulige stammer av mikroorganismer.

- Ikke bruk Neogen Petrifilm CC plater i diagnostisering av tilstander hos mennesker eller dyr.
- Neogen Petrifilm CC plater skiller ikke mellom ulike stammer av koliforme bakterier.
- Mat med høyt sukkerinnhold kan øke muligheten for gassproduksjon fra ikke-koliform *Enterobacteriaceae*.

Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere informasjon.

Besøk nettstedet vårt på [www.neogen.com](http://www.neogen.com), eller kontakt Neogen-representanten din eller en autorisert distributør for mer informasjon om dokumentasjon av produktytelsen.

## Brukeransvar

Brukere er ansvarlige for å sette seg inn i produktveiledningen og informasjon om produktet. Hvis du vil ha mer informasjon, gå til nettstedet vårt [www.neogen.com](http://www.neogen.com) eller kontakt din Neogen-representant eller en autorisert Neogen-distributør.

Ved valg av testmetode er det viktig å ta hensyn til at eksterne faktorer som metoder for stikkprøver, testprotokoller, preparering av prøver, håndtering og laboratorteknikk kan påvirke resultatene.

Ved valg av testmetode er det brukerens ansvar å vurdere et tilstrekkelig antall prøver med passende matriks og mikrobielle utfordringer for å tilfredsstillte brukeren om at den valgte prøvemethoden oppfyller brukerens kriterier.

Det er også brukerens ansvar å fastslå at alle prøvemethoder og resultater tilfredsstillter kundens og leverandørens krav.

Som med alle testmetoder utgjør ikke resultatene som oppnås ved bruk av noe Neogen Food Safety-produkt, noen garanti om kvaliteten av matriksene eller prosessene som testes.

## Begrensning av garantier / begrensede rettigheter

MED MINDRE DET ER UTTRYKkelig SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER NEOGEN SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe Neogen Food Safety-produkt er defekt, vil Neogen eller dets autoriserte distributør erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Du må straks varsle Neogen innen seksti dager fra oppdagelsen av enhver mulig feil i et produkt og returnere dette produktet til Neogen. Kontakt Neogen-representanten din eller en autorisert Neogen-distributør hvis du har flere spørsmål.

## Begrensning av Neogens ansvar

NEOGEN VIL IKKE VÆRE ANSVARLIG FOR NOE TAP ELLER SKADE, DIREKTE ELLER INDIREKTE, SPESIELL, TILFELDIG ELLER FØLGESKADE, INKLUDERT, MEN IKKE BEGRENSET TIL, TAPT FORTJENESTE. Ikke under noen omstendighet skal Neogens ansvar, under noen juridisk teori, overstige kjøpesummen for et produkt som antas å være defekt.

## Oppbevaring

Lagre uåpnede poser med Neogen Petrifilm CC kjølt eller fryst ved temperaturer under eller lik 8°C (46°F). Like før bruk skal uåpnede poser med Neogen Petrifilm CC varmes opp til romtemperatur før de åpnes. Legg ubrukte Neogen Petrifilm CC plater tilbake i posen. Posen forsegles ved å brette enden på posen og tette den med tape. **For å unngå fukteksponering, skal åpnede poser ikke legges i kjøleskap.** Oppbevar åpnede poser på et kjølig, tørt sted, ikke lenger enn fire uker. Det anbefales at åpnede poser med Neogen Petrifilm CC plater lagres i en fryser (se under) hvis laboratortemperaturen overstiger 25°C (77°F) og/eller laboratoriet ligger i et område hvor den relative fuktigheten overstiger 50 % (med unntak av lokaler med aircondition).

Ved oppbevaring av åpnede poser i en fryser, legges Neogen Petrifilm CC plater i en tett beholder. For å hente ut frosne Neogen Petrifilm CC Plates for bruk åpner du beholderen, tar ut platene som trengs, og returnerer deretter umiddelbart de gjenværende platene til fryseren i den forseglede beholderen for videre oppbevaring til holdbarhetstidens utløp. Neogen Petrifilm CC plater må ikke benyttes etter utløpsdatoen. Fryseren som brukes til lagring av åpne poser, må ikke ha et automatisk avisingsprogram, for dette vil gjentatte ganger eksponere Neogen Petrifilm CC platene for fuktighet som kan ødelegge platene.

Ikke bruk Neogen Petrifilm CC plater som har blitt misfarget. Utløpsdato og lotnummer er angitt på alle pakker med Neogen Petrifilm CC plater. Lotnummeret er også merket på hver enkelt Neogen Petrifilm CC plate.

## ⚠ Avhending

Etter bruk kan Neogen Petrifilm CC plater inneholde mikroorganismer som kan utgjøre en potensiell biologisk fare.

Følg gjeldende industristandarder for kasting.

## Bruksanvisning

Følg alle instruksjonene nøye. Dersom dette ikke blir gjort, kan det føre til unøyaktige resultater.

## Preparering, inkubering og tolkning av prøver fra næringsmiddelindustrien (unntatt flaskevann) inkludert miljøprøver

### Prøvepreparering

#### 1. Bruk egnede sterile fortynningsmidler:

Butterfields fosfatbufret fortynningsvann<sup>7</sup>, 0,1 % peptonvann<sup>8</sup>, fortynningsmidler med peptonsalt<sup>8,9</sup>, bufret peptonvann<sup>8,9</sup>, saltvannsløsning (0,85–0,90 %), Neogen<sup>®</sup> bredspektrert nøytralisering, bisulfittfri letheen-buljong eller destillert vann. Se avsnittet “**Spesifikke veiledninger for validerte metoder**” for spesifikke krav.

**Ikke bruk fortynningsmidler som inneholder citrat, bisulfitt eller tiosulfat på Neogen Petrifilm CC plater, da de kan hemme vekst.** Hvis en citratbuffer er angitt i standardprosedyren, skal den erstattes med en av bufferne på listen over, oppvarmet til 40–45 °C (104–113 °F).

#### 2. Bland eller homogeniser prøven.

#### 3. For optimal vekst og gjenoppbygging av mikroorganismer, juster pH i prøvesuspensjonen til 6,6 - 7,2. For sure produkter, juster pH med 1N NaOH. For alkaliske produkter, juster pH med 1N HCl.

### Inokulering

#### 1. Plasser Neogen Petrifilm CC på en flat, plan overflate.

#### 2. Løft toppfilmen og hold pipetten vinkelrett i forhold til inokuleringsområdet og pipetter 1 mL av prøveoppløsningen på den midtre eller den nedre filmen.

#### 3. Rull toppfilmen ned på prøven for å unngå at det dannes luftbobler.

#### 4. Plasser Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> spreder med flatsiden ned midt på Neogen Petrifilm CC. Trykk forsiktig på midten av Neogen Petrifilm spreder for å spre prøven jevnt. Spre inokulatet over hele vekstområdet til Neogen Petrifilm CC før gelen dannes. Ikke la Neogen Petrifilm spreder gli over filmen.

#### 5. Fjern Neogen Petrifilm spreder og la Neogen Petrifilm CC ligge urørt i minst ett minutt slik at gelen dannes.

### Inkubering

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater i en horisontal stilling med den klare siden opp i stabler på ikke mer enn 20 filmer. Flere inkuberingstider og -temperaturer kan brukes, avhengig av gjeldende lokale referansemetoder, noen av disse står i avsnittet “**Spesifikke veiledninger for validerte metoder**”.

### Tolkning

#### 1. Neogen Petrifilm CC plater kan telles ved hjelp av en standard koloniteller eller annen belyst lupeinnretning.

Gass produsert av koliforme bakterier kan rive opp kolonien slik at kolonien “danner konturene” av boblen. Dette skal telles som en enkelt koliform bakterie. Ikke tell kolonier som vokser på skumbarrieren, da disse er adskilt fra den selektive påvirkningen av næringsmediet. Ikke tell artefaktbobler som kanskje er til stede.

Tolkningen av kolonier av koliforme bakterier på Neogen Petrifilm CC varierer avhengig av referansemetode. For eksempel:

AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

Kolonier av koliforme bakterier er røde og nær tilknyttet (innenfor én kolonidiameter) innestengt gass. Kolonier som ikke er tilknyttet gass (avstand større enn én kolonidiameter mellom koloni og gassboble), telles ikke som koliforme bakterier.

ELLER NF Validation sertifiserte metoder:

- Sammenlignet med ISO-metode 4831<sup>2</sup> (MPN- metode), er kolonier av koliforme bakterier røde og nær tilknyttet (innenfor én kolonidiameter) innestengt gass.
- Sammenlignet med ISO-metode 4832<sup>1</sup> (totalt antall koliforme bakterier) og NF V08-060<sup>3</sup> (fekale koliforme bakterier) begge basert på VRBL-metoder, telles alle røde kolonier med eller uten gass.

#### 2. Det runde vekstområdet er på omtrent 20 cm<sup>2</sup>. Estimater kan gjøres på Neogen Petrifilm CC plater som inneholder over 150 kolonier ved å telle antall kolonier i én eller flere representative ruter og bestemme gjennomsnittlig antall per rute. Multipliser gjennomsnittsantallet med 20 for det estimerte antallet per Neogen Petrifilm CC.

#### 3. Når koloniene er til stede i stort antall, kan Neogen Petrifilm CC plater ha en mørkning av gelfargen og én eller begge av følgende egenskaper: mange små, utydelige kolonier og/eller mange gassbobler. Høye konsentrasjoner av koliforme bakterier vil få vekstområdet til å bli mørkerødt. Når dette skjer, må resultatene registreres som for høye til å telle (TNTC). Når en faktisk telling er påkrevd, inokuler med en høyere fortykning.

#### 4. Om nødvendig, kan koloniene isoleres for videre identifisering. Løft toppfilmen ved bruk av riktig testeteknikk og plukk kolonien fra gelen. Test ved hjelp av standardprosedyrer.

#### 5. Hvis Neogen Petrifilm CC plater ikke kan telles i løpet av 1 time etter fjerning fra inkubatoren, kan de lagres for senere telling ved å fryse dem ned i en tett beholder ved temperaturer som er lavere eller lik negativ 15 °C (5 °F) i maksimalt en uke.

## Preparering, inkubering og tolkning av flaskevannprøver Hydrer Neogen Petrifilm CC plater

1. Plasser Neogen Petrifilm CC på en flat, plan overflate.
2. Løft opp toppfilen og pipetter 1 mL av en egnet steril hydreringsfortynner på midten av bunnfilmen. Egnede sterile hydreringsfortynnere inkluderer destillert vann, avionisert (DI) vann og omvendt osmose (RO)-vann.
3. Rull toppfilmen ned på prøven for å unngå at det dannes luftbobler.
4. Plasser Neogen Petrifilm spreder med flatsiden ned midt på platen. Trykk forsiktig på midten av sprederen for å spre fortynneren jevnt. Spre fortynneren over hele vekstområdet til Neogen Petrifilm før gelen dannes. Ikke la sprederen gli over filmen.
5. Fjern sprederen og la platene være lukket i minimum 1 time før bruk.
6. Lagre hydrerte Neogen Petrifilm CC plater i en forseglet pose eller plastpose. Beskytt platene mot lys og kjøøl dem ved 2-8 °C (36-46 °F) i inntil 7 dager.

## Vannfiltrering og plateinkubering

1. Følg standard prosedyrer for vannanalyse, membranfiltervannprøve ved bruk av en 47 mm, 0,45 mikron porestørrelse Mixed Cellulose Ester (MCE)-filter.
2. Løft forsiktig toppfilmen av Neogen Petrifilm CC. Unngå å berøre det runde vekstområdet. Plasser filteret midt på det hydrerte området. Minimer dannelse av bobler under filteret.
3. Rull toppfilmen langsomt på filteret. Minimer dannelse av luftbobler og åpninger mellom filteret og Neogen Petrifilm CC.
4. Press lett ved å bruke Neogen Petrifilm spreder eller ved å la en finger gli lett over hele diskområdet (inkludert kantene) for å sikre at filteret får jevn kontakt med gelen og å eliminere eventuelle luftbobler.
5. Inkuber Neogen Petrifilm CC plater ved 35 °C ± 1 °C i 24 timer ± 2 timer<sup>11</sup> eller 36 °C ± 1 °C i 24 timer ± 2 timer<sup>12</sup> i en horisontal stilling med den klare siden opp i stabler på ikke mer enn 20.

## Tolkning

1. Neogen Petrifilm CC plater kan telles ved hjelp av en standard koloniteller eller annen belyst lupeinnretning. Ikke tell kolonier som vokser på skumbarrieren, da disse er adskilt fra den selektive påvirkningen av næringsmediet. Ikke tell artefaktbobler som kanskje er til stede.
2. Røde kolonier tilknyttet gassbobler telles som koliforme bakterier. Gassbobler kan danne et sirkel- eller stjerneformet mønster rundt en koloni. Gass produsert av koliforme bakterier kan rive opp kolonien slik at kolonien "danner konturene" av boblen. Dette skal telles som en enkelt koliform bakterie. Røde kolonier uten nær tilknyttede gassbobler kan være koliforme bakterier og bør plukkes opp og testes med egnede bekreftelsesmetoder<sup>11,12</sup>.
3. Når koloniene er til stede i stort antall, vil Neogen Petrifilm CC plater få en mørkning av gelfargen knyttet til mange små, utydelige kolonier eller mange gassbobler. Når dette skjer, må resultatene registreres som for høye til å telle (TNTC).
4. Kolonier kan isoleres for videre identifisering. Løft toppfilmen og plukk kolonien fra gelen eller filteroverflaten. Når du løfter toppfilmen, kan filteret klebe enten til toppfilmen eller den nedre filmen. Hvis filteret kleber til toppfilmen, må du skille filteret fra toppfilmen og plukke koloniene. Test ved hjelp av standardprosedyrer.

**Merk:** Forsinket telling av Neogen Petrifilm CC plater med filtre anbefales ikke.

For mer informasjon, se "Tolkningsveiledning for Neogen® Petrifilm® for koliforme bakterier". Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, kan du besøke vårt nettsted på [www.neogen.com](http://www.neogen.com) eller ta kontakt med en lokal Neogen-representant eller -forhandler.

### Spesifikke veiledninger for validerte metoder

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bakterier og telling av koliforme bakterier i melk, tørre rehydrerbare filmmetoder og 989.10 Telling av bakterier og koliforme bakterier i melkeprodukter, tørre rehydrerbare filmmetoder)

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater 24 timer ± 2 timer ved 32°C ± 1°C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Telling av koliforme bakterier og Escherichia coli i matvarer, tørre rehydrerbare filmmetoder)

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater 24 timer ± 2 timer ved 35°C ± 1°C.

### AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> sertifikat #082101

I en AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM)-studie ble metoden Neogen Petrifilm CC funnet å være ekvivalent med gjennomsnittlige log-tellinger i metoden FDA/BAM kapittel 4, avsnitt III.D for telling av koliforme bakterier i flaskevann.



**Omfang av godkjenningen:**

Flaskevann: rensset vann, behandlet kranvann, naturlig kranvann uten kullsyre, naturlig kranvann med kullsyre.

**Inkubering:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater i 24 timer  $\pm$  2 timer ved 35 °C  $\pm$  1 °C.

**NF Validation av AFNOR Certification:**

**NF Validation sertifisert metode i samsvar med ISO 16140-2<sup>10</sup> sammenlignet med ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Omfang av godkjenningen:** For å teste alle humane matprodukter (unntatt rå skalldyr), kjæledyr og miljøprøver. Bruk følgende informasjon ved implementering av bruksanvisningen ovenfor:

**Prøvepreparering:**

Bruk bare ISO-godkjente fortynningsmidler.

**Inkubering:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater i 24 timer  $\pm$  2 timer ved 30 °C  $\pm$  1 °C eller 37 °C  $\pm$  1 °C.

**Tolkning:**

Beregn antall mikroorganismer til stede i prøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plate per oppløsning. Estimater er utenfor omfanget av NF Validation-sertifisering (jf. avlesingsdelen under punkt 2).

**NF Validation sertifisert metode i samsvar med ISO 16140-2<sup>10</sup> sammenlignet med ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Omfang av godkjenningen:** For å teste alle humane matprodukter (unntatt rå skalldyr).

Bruk følgende informasjon ved implementering av bruksanvisningen ovenfor:

**Prøvepreparering:**

Bruk bare ISO-godkjente fortynningsmidler.

**Inkubering:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater i 24 timer  $\pm$  2 timer ved 30°C  $\pm$  1°C eller 37°C  $\pm$  1°C.

**Tolkning:**

Beregn antall mikroorganismer til stede i prøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plate per oppløsning. Estimater er utenfor omfanget av NF Validation-sertifisering (jf. avlesingsdelen under punkt 2).

**NF Validation sertifisert metode i samsvar med ISO 16140-2<sup>10</sup> sammenlignet med NFV08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Omfang av godkjenningen:** For å teste alle humane matprodukter

Bruk følgende informasjon ved implementering av bruksanvisningen ovenfor:

**Prøvepreparering:**

Bruk bare ISO-godkjente fortynningsmidler

**Inkubering:**

Inkuber Neogen Petrifilm CC plater i 24 timer  $\pm$  2 timer ved 44 °C  $\pm$  1 °C.

**Tolkning:**

Beregn antall mikroorganismer til stede i prøven i henhold til ISO 7218<sup>5</sup> for én plate per oppløsning. Estimater er utenfor omfanget av NF Validation-sertifisering (jf. avlesingsdelen under punkt 2). Se EN ISO 7218-standard for inokulering, kolonitelling og beregning og fremstilling av resultater.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

For mer informasjon om utløp av validitet, henvises det til NF VALIDATION-sertifikat tilgjengelig på nettstedet nevnt over.



## Referanser

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagensindeks for BAM finnes på: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Se gjeldende versjoner av standardmetodene oppført ovenfor.

## Symbolforklaring

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC er et registrert varemerke for AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods er et servicemerke for AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method er et servicemerke for AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Tuoteseloste

# Koliformien kasvatusalusta

### Tuotteen kuvaus ja käyttötarkoitus

Neogen® Petrifilm® koliformien (CC) kasvatusalusta on näytevalmis pesäkkeiden kasvatusalustajärjestelmä, joka sisältää muunnettuja violetti-puna-sappi- eli VRB-ravinteita, kylmään veteen liukenevaa geeliainetta ja tetrazolium-indikaattorin, joka helpottaa pesäkkeiden laskemista. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja käytetään koliformien laskentaan elintarvike-, juoma- ja pullovesiteollisuudessa. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen komponentit on dekontaminoitu mutta ei steriloitu. Neogen Food Safety -osaston suunnittelu- ja valmistusmenetelmät on International Organization for Standardization (ISO) 9001 -sertifioitu. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja ei ole arvioitu kaikilla mahdollisilla elintarvikkeilla, prosesseilla, testausmenetelmillä tai kaikilla mahdollisilla mikro-organismikannoilla.

Asiakirjassa United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> määritellään koliformit gram-negatiivisiksi sauvoiksi, jotka tuottavat happoa ja kaasua laktoosin käymisen aikana. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustalla kasvavat koliformien pesäkkeet tuottavat happoa, jonka vaikutuksesta pH-indikaattori tummentaa geelin väriä; punaisten pesäkkeiden ympärille keräytynyt kaasu osoittaa koliformit.

ISO-standardissa koliformit määritellään perustuen niiden kykyyn kasvaa menetelmäkohtaisissa selektiivisissä elatusaineissa. ISO-menetelmässä 4832<sup>1</sup>, jossa koliformit lasketaan pesäkelaskentatekniikalla, määritellään koliformit hapon tuottajiksi laktoosia ja VRB:tä sisältävässä (VRBL-)agarissa. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoissa happoa tuottavat koliformit ilmaistaan kaasua tuottaneina tai tuottamattomina punaisina pesäkkeinä. ISO-menetelmässä 4831<sup>2</sup> koliformit lasketaan todennäköisimmän luvun (most probable number, MPN) menetelmällä ja määritellään koliformit niiden kyvyllä kasvaa ja tuottaa kaasua laktoosista selektiivisessä liemessä. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoissa nämä koliformit ilmaistaan punaisina pesäkkeinä, joihin liittyy kaasua.

Pullovesinäytteissä vahvistetut koliformien pesäkkeet ilmaistaan Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen punaisina pesäkkeinä, joihin liittyy kaasua. Punaiset pesäkkeet, joihin ei liity lähellä sijaitsevia kaasukuplia, voivat olla koliformeja, ja ne on viljeltävä edelleen ja testattava asianmukaisilla vahvistusmenetelmillä<sup>11,12</sup>. Katso lisätietoja Tulkinta-kohdasta. Tunnusomaiset pesäkkeet voidaan viljellä edelleen ja testata *Escherichia coli*ksi.

AFNOR Certification on sertifioinut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustan vertaillen ISO-menetelmään 4831<sup>2</sup> ja ISO-menetelmään 4832<sup>1</sup> yhteenlaskettujen koliformien laskentaa varten. AFNOR Certification on niin ikään sertifioinut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustan vertaillen standardiin NF V08-060<sup>3</sup> lämmönkestävien koliformien laskentaan.

### Turvallisuus

Käyttäjän on luettava ja ymmärrettävä kaikki Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen tuoteselosteisiin sisältyvät ohjeet ja noudatettava niitä. Säilytä turvallisuusohjeet myöhempää käyttöä varten.

⚠ **VAROITUS:** Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa kuolemaan tai vakavaan loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon

### ⚠ VAROITUS

#### Biologisille vaaratekijöille altistumiseen ja ympäristön saastumiseen liittyvien riskien vähentäminen:

- Noudata biologisen jätteen hävittämistä koskevia vallitsevia alan standardeja ja paikallisia määräyksiä.

#### Kontaminoituneen tuotteen ympäristöön pääsyyn liittyvien riskien vähentäminen:

- Noudata kaikkia käyttöohjeissa annettuja tuotteen säilytysohjeita.
- Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

#### Bakteeri-infektioon ja työtilojen kontaminoitumiseen liittyvien riskien vähentäminen:

- Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustaa tulee käyttää testaukseen vain asianmukaisesti varustetussa laboratorioissa ja ammattitaitoisen mikrobiologin valvonnassa.
- Käyttäjän on järjestettävä henkilökunnalleen koulutusta vallitsevista asianmukaisista testausmenetelmistä, joita ovat esimerkiksi: hyvät laboratoriokäytännöt<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> tai ISO 17025<sup>6</sup>.

#### Tulosten virheelliseen tulkintaan liittyvien riskien vähentäminen:

- Neogen ei ole osoittanut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja muuhun kuin elintarvike- ja juomateollisuuden, mukaan lukien pullovedet, käyttöön. Neogen ei esimerkiksi ole osoittanut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen soveltuvuutta veteen, lääkevalmisteiden tai kosmeettisten aineiden testaamiseen. Neogen ei ole osoittanut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen soveltuvuutta pinta- ja vesijohtoveden tai lääke- tai kosmetiikkateollisuudessa käytettävän veden testaamiseen.



- Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen käyttö vesinäytteiden testaamiseen paikallisten vedentestausmääräysten mukaisesti tapahtuu loppukäyttäjän harkinnan mukaisesti ja vastuulla. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja ei ole testattu kaikilla mahdollisilla pulloitetuilla vesinäytteillä, testausmenetelmillä tai kaikilla mahdollisilla mikro-organismikannoilla.
- Älä käytä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja sairauksien diagnosointiin ihmisillä tai eläimillä.
- Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat eivät erota koliformikantoja toisistaan.
- Runsaasti sokeria sisältävät elintarvikkeet voivat lisätä ei-koliformisten *Enterobacteriaceae*-bakteerien kaasunmuodostuspotentiaalia.

Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Käy verkkosivustollamme osoitteessa [www.neogen.com](http://www.neogen.com) tai ota yhteyttä NEOGEN-edustajaasi tai valtuutettuun jälleenmyyjään saadaksesi tietoja tuotteiden suorituskyvyn dokumentoinnista.

## Käyttäjän vastuu

Käyttäjän vastuulla on tutustua tuoteselosteeseen ja -tietoihin. Käy verkkosivustollamme osoitteessa [www.neogen.com](http://www.neogen.com) tai ota yhteyttä Neogen-edustajaasi tai valtuutettuun jälleenmyyjään, jos tarvitset lisätietoja.

Testausmenetelmää valitessa on tärkeää ottaa huomioon, että ulkoiset tekijät, kuten näytteenottomenetelmät, testausprotokollat, näytteiden valmistus, käsittely ja laboratoriotekniikat, voivat vaikuttaa testaustuloksiin.

Käyttäjä on aina testausmenetelmää valitessaan vastuussa siitä, että hän arvioi riittävän määrän näytteitä kyseisistä elintarvikkeista ja mikrobiologistuksista käyttäjän kriteerien täyttymisen varmistamiseksi.

Käyttäjän vastuulla on myös varmistaa, että testausmenetelmät ja tulokset täyttävät hänen asiakkaidensa tai toimittajiensa vaatimukset.

Kuten kaikkien testausmenetelmien kohdalla, minkä tahansa Neogen Food Safety -tuotteen käytöstä saavutetut tulokset eivät ole takuu matriisien tai testattujen prosessien laadusta.

## Takuun rajoitus / rajoitettu korvausvelvollisuus

NEOGEN KIISTÄÄ KAIKKI NIMENOMAISET JA EPÄSUORAT TAKUUT, MUKAAN LUKIEN KAIKKI TAKUUT KÄYPYYDESTÄ TAI SOPIVUUDESTA TIETTYYN KÄYTTÖTARKOITUKSEEN, PAITSI JOS TUOTEPAKKAUKSEN TAKUUOSIOSSA TOISIN MAINITAAN. Jos mikä tahansa Neogen Food Safety -tuote on viallinen, Neogen tai sen valtuutettu jälleenmyyjä joko korvaa tuotteen tai palauttaa sen ostohinnan. Nämä ovat ainoat myönnetyt korvaukset. Käyttäjä on ilmoitettava Neogen:lle viipymättä kuudenkymmenen päivän sisällä kaikista epäilyistä tuotevirheistä ja palautettava tuote Neogen:lle. Ota yhteyttä NEOGEN-edustajaasi tai valtuutettuun NEOGEN-jälleenmyyjään, jos sinulla on kysyttävää.

## Neogen:N vastuun rajoitukset

NEOGEN EI OLE VASTUUSSA MENETYKSISTÄ TAI VAHINGOISTA, OLIVAT NE SITTEN SUORIA, EPÄSUORIA, ERITYISLAATUISIA, SATUNNAISIA TAI VÄLILLISIÄ, MUKAAN LUKIEN VOITONMENETYKSET. Missään tapauksessa Neogen:n vastuu ei minkään laillisen perusteen mukaan ole suurempi kuin vialliseksi väitetyn tuotteen hinta.

## Säilytys

Säilytä avaamattomia Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustapusseja jäähdytettyinä tai jäädytettyinä lämpötiloissa, jotka ovat pienempiä tai yhtä suuria kuin 8 °C (46 °F). Anna avaamattomien Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustapussien lämmitä huoneenlämpöön ennen niiden avaamista. Laita käyttämättömät Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat takaisin pussiin. Sulje pussin suu taittamalla reuna kaksinkerroin ja teippaamalla se kiinni. **Älä säilytä avattuja pusseja jääkaapissa, jotta ne eivät altistu kosteudelle.** Uudelleen suljettu pussi säilyy kuivassa ja viileässä enintään neljä viikkoa. On suositeltavaa säilyttää avatut, uudelleen suljetut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustapussit pakastimessa (katso alla), mikäli laboratorion lämpötila ylittää 25 °C (77 °F) ja/tai laboratorio sijaitsee alueella, jossa suhteellinen kosteus ylittää 50 % (poikkeuksena ilmastoidut tilat).

Laita Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat tiiviisti suljettuun rasiaan, kun säilytät avattuja pakkauksia pakastimessa. Poista käytettävät pakastetut Neogen Petrifilm CC -levyt avaamalla säiliö, poistamalla tarvittavat levyt ja asettamalla loput levyt välittömästi takaisin pakastimeen suljetussa astiassa jäljellä olevaksi säilyvyysajaksi. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja ei saa käyttää niiden viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen. Avattujen pussien säilytykseen käytettävässä pakastimessa ei saa olla automaattista sulatusta, koska se altistaa Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat toistuvasti kosteudelle, joka voi vahingoittaa alustoja.

Älä käytä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja, jos niissä näkyy värimuutoksia. Viimeinen käyttöajankohta ja eränumero on merkitty jokaiseen Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen pakkaukseen. Eränumero on myös merkitty yksittäisiin Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoihin.



## △ Hävittäminen

Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat voivat sisältää mahdollisesti tartuntavaarallisia mikro-organismeja.

Noudata hävittämisessä voimassa olevia alan standardeja.

## Käyttöohjeet

Noudata huolellisesti kaikkia ohjeita. Jos ohjeita ei noudateta, tulokset saattavat olla epätarkkoja.

## Elintarvike- ja juomanäytteiden, mukaan lukien ympäristönäytteet, valmistaminen ja Tulkinta (pullovettä lukuun ottamatta)

### Näytteen valmistus

#### 1. Käytä sopivaa steriiliä laimenninta:

Butterfieldin fosfaattipuskuroitu laimennusvesi<sup>7</sup>, 0,1-prosenttinen peptonivesi<sup>8</sup>, peptonisuolalaimentimet<sup>8,9</sup>, puskuroitu peptonivesi<sup>8,9</sup>, suolaliuos (0,85–0,90-prosenttinen), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfiititon Lethen Broth tai tislattu vesi. Katso erityisvaatimukset kohdasta ”Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten”.

**Älä käytä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen kanssa laimentimia, jotka sisältävät sitraattia, bisulfiittia tai tiosulfaattia, sillä ne voivat estää kasvua.** Jos sitraattipuskuri on indikoitu vakiomenettelyssä, korvaa se jollain edellä luetelluista puskureista lämmitettynä 40–45 °C:n (104–113 °F:n) lämpötilaan.

#### 2. Sekoita tai homogeneroi näyte.

#### 3. Säädä näytesuspension pH:ksi 6,6–7,2 mikro-organismien kasvun ja elpymisen optimoimiseksi. Säädä happamissa tuotteissa pH käyttämällä 1N NaOH-liuosta. Säädä happamissa tuotteissa pH käyttämällä 1N HCl-liuosta.

### Kasvatusalustaan asettaminen

#### 1. Aseta Neogen Petrifilm CC -kasvatusalusta tasaiselle pinnalle vaakatasoon.

#### 2. Nosta päällyskalvoa ja annostele pipetillä kohtisuoraan inokulointialueelle 1 ml näytesuspensiota pohjakalvon keskelle.

#### 3. Kierrä päällyskalvo näytteen päälle ilmakuplien muodostumisen ehkäisemiseksi.

#### 4. Aseta Neogen® Petrifilm® -levitin litteä puoli alaspäin keskelle Neogen Petrifilm CC -kasvatusalusta. Levitä näyte tasaisesti painamalla varovasti Neogen Petrifilm -levittimen keskeltä. Levitä inokulaattia Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustan koko kasvualueelle, ennen kuin geeli jähmettyy. Älä vedä Neogen Petrifilm -levitintä kalvoa pitkin.

#### 5. Poista Neogen Petrifilm -levitin ja jätä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalusta rauhaan vähintään yhden minuutin ajaksi, jotta geeliytyminen ehtii tapahtua.

## Inkubointi

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja vaakasuorassa asennossa kirkas puoli ylöspäin enintään 20 kappaleen pinoissa. Vallitsevien paikallisten viitemenetelmien mukaan voidaan käyttää useita eri inkubointiaikoja ja -lämpötiloja, joista osa on lueteltu kohdassa ”Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten”.

## Tulkinta

#### 1. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat voidaan laskea tavallisella pesäkelaskurilla tai muulla valaistulla suurennuslasilla. Koliformin tuottama kaasu voi hajottaa pesäkkeen niin, että pesäke ”ympäröi” kuplaa. Tällainen on laskettava yhdeksi ainoaksi koliformiksi. Älä laske vaahdon pinnalla olevia pesäkkeitä, sillä elatusaineen selektiivinen vaikutus ei kohdistu niihin. Älä laske mahdollisia artefaktikuplia.

Koliformisten pesäkkeiden tulkinta Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustalla vaihtelee vertailumenetelmän mukaan. Esimerkki:

#### AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Koliformien pesäkkeet ovat punaisia ja lähellä kaasukeräymää (enintään yhden pesäkkeen läpimitan päässä). Pesäkkeitä, joihin ei liity kaasua (pesäkkeen ja kaasukuplan välinen etäisyys on suurempi kuin yhden pesäkkeen läpimita), ei lasketa koliformeiksi.

#### TAI NF Validationin sertifioimat menetelmät:

- ISO-menetelmään 4831<sup>2</sup> verraten (MPN-menetelmä), koliformien pesäkkeet ovat punaisia ja lähellä kaasukeräymää (yhden pesäkkeen läpimitan päässä).
- ISO-menetelmään 4832<sup>1</sup> (yhteenlasketut koliformit) ja NF V08-060<sup>3</sup> (fekaaliset koliformit) verraten, jotka kumpikin perustuvat VRBL-menetelmiin, lasketaan kaikki kaasua tuottaneet ja tuottamattomat punaiset pesäkkeet.

#### 2. Pyöreä kasvualue on kooltaan noin 20 cm<sup>2</sup>. Arvioita voidaan tehdä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoista, joissa on yli 150 pesäkettä, laskemalla yhden tai useamman edustavan neliön pesäkkeiden määrä ja määrittämällä pesäkkeiden keskimääräinen lukumäärä neliötä kohti. Arvioitu luku yhtä Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustaa kohden määritetään kertomalla keskimääräinen lukumäärä 20:llä.

#### 3. Kun pesäkkeitä on runsaasti, Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen geelin väri voi tummentua ja voi esiintyä jompikumpi tai kumpikin seuraavista piirteistä: paljon pieniä, epäselviä pesäkkeitä ja/tai paljon kaasukuplia. Suuret koliformipitoisuudet aiheuttavat kasvualueen muuttumisen tummanpunaiseksi. Mikäli näin tapahtuu, kirjaa tulokset liian suuriksi laskea (TNTC). Jos halutaan todellinen pesäkeluku, tee maljaus käyttämällä suurempaa laimennosta.



4. Pesäkkeet voi tarvittaessa eristää myöhempää tunnistusta varten. Nosta päällyskalvoa asianmukaisen testausmenetelmän mukaisesti ja poimi pesäke geelistä. Testaa vakiomenetelmillä.
5. Jos Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja ei voida laskea 1 tunnin kuluessa inkubaattorista ottamisesta, ne voidaan säilyttää myöhempää laskentaa varten jäädyttämällä ne suljettavassa rasiassa lämpötilaan, joka on pienempi tai yhtä suuri kuin  $-15\text{ °C}$  ( $5\text{ °F}$ ), enintään viikon ajaksi.

## Pullovesinäytteiden valmistaminen, inkubointi ja tulkinta

### Hydratoi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat

1. Aseta Neogen Petrifilm CC -kasvatusalusta tasaiselle pinnalle vaakatasoon.
2. Nosta päällyskalvoa ja annostele 1 ml sopivaa steriiliä laimenninta pohjakalvon keskelle. Sopiviin steriileihin hydratoitilaimentimiin kuuluvat tislattu vesi, deionisoitu vesi (DI) ja käänteisosmoosivesi (RO).
3. Kierrä päällyskalvo näytteen päälle ilmakuplien muodostumisen ehkäisemiseksi.
4. Aseta Neogen Petrifilm -levitin litteä puoli alaspäin keskelle kasvatusalustaa. Levitä laimennin tasaisesti painamalla varovasti levittimen keskeltä. Levitä laimenninta Neogen Petrifilm -kasvatusalustan koko kasvualueelle, ennen kuin geeli jähmettyy. Älä vedä levitintä kalvoa pitkin.
5. Poista levitin ja pidä kasvatusalustat suljettuina vähintään 1 tunnin ajan ennen käyttöä.
6. Säilytä hydratoituidut Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat suljetussa pussissa tai muovipussissa. Suojaa kasvualustat valolta ja jäädytä  $2-8\text{ °C}$ :n ( $36-46\text{ °F}$ :n) lämpötilaan enintään 7 päiväksi.

### Veden suodattaminen ja kasvualustan inkubointi

1. Noudata vesianalyysin vakiomenetelmiä, kalvosuodata vesinäyte käyttäen 47 mm:n, huokoskooltaan 0,45 mikronin sekaselluloosaesterisuodatinta (MCE).
2. Nosta varovasti Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustan päällyskalvoa. Vältä pyöreän kasvualueen koskettamista. Aseta suodatin keskelle hydratoitua aluetta. Minimoi suodattimen alle muodostuvat ilmakuplat.
3. Kierrä päällyskalvo hitaasti suodattimen päälle. Minimoi muodostuvat ilmakuplat ja raot suodattimen ja Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustan välissä.
4. Paina kevyesti käyttäen Neogen Petrifilm -kasvatusalustan levitintä tai liu'uttaen sormeaa kevyesti koko kiekon alueen poikki (reunat mukaan lukien), jotta suodattimen kosketus geeliin on tasainen ja ilmakuplat häviävät.
5. Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja  $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ :n lämpötilassa  $24 \pm 2$  tuntia<sup>11</sup> tai  $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ :n lämpötilassa  $24 \pm 2$  tuntia<sup>12</sup> vaakasuorassa asennossa kirkas puoli ylöspäin enintään 20 kappaleen pinoissa.

### Tulkinta

1. Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustat voidaan laskea tavallisella pesäkelaskurilla tai muulla valaistulla suurennuslasilla. Älä laske vaahdon pinnalla olevia pesäkkeitä, sillä elatusaineen selektiivinen vaikutus ei kohdistu niihin. Älä laske mahdollisia artefaktikuplia.
2. Punaiset pesäkkeet, joihin liittyy kaasukuplia, lasketaan koliformeiksi. Kaasukuplat voivat muodostaa pyöreän tai tähtimäisen kuvion pesäkkeen ympärille. Koliformien tuottama kaasu voi hajottaa pesäkkeen niin, että pesäke ”ympäröi” kuplaa. Tällainen on laskettava yhdeksi ainoaksi koliformiksi. Punaiset pesäkkeet, joihin ei liity lähellä sijaitsevia kaasukuplia, voivat olla koliformeja, ja ne on poimittava ja testattava asianmukaisilla vahvistusmenetelmillä<sup>11,12</sup>.
3. Kun pesäkkeitä on runsaasti, Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen geelin väri voi tummentua ja voi esiintyä paljon pieniä, epäselviä pesäkkeitä tai kaasukuplia. Mikäli näin tapahtuu, kirjaa tulokset liian suuriksi laskea (TNTC).
4. Pesäkkeet voidaan eristää myöhempää tunnistusta varten. Nosta päällyskalvoa ja poimi pesäke geelistä tai suodattimen pinnalta. Päällyskalvoa nostettaessa suodatin voi tarttua joko päällyskalvoon tai pohjakalvoon. Jos suodatin tarttuu päällyskalvoon, erota suodatin päällyskalvosta ja poimi pesäkkeet. Testaa vakiomenetelmillä.

**Huomio:** Suodattimia sisältävien Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustojen laskennan lykkäämistä ei suositella.

Katso lisätietoja ”Neogen® Petrifilm® koliformien kasvatusalustan tulkintaoppaasta”. Jos sinulla on jotain tiettyä sovellusta tai menetelmää koskevia kysymyksiä, käy verkkosivuillamme osoitteessa [www.neogen.com](http://www.neogen.com) tai ota yhteyttä paikalliseen Neogen-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

### Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja  $24 \pm 2$  tuntia  $32\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ :n lämpötilassa.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja  $24 \pm 2$  tuntia  $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ :n lämpötilassa.

**AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> -sertifikaatti #082101**

Tutkimuslaitos AOAC®:n Performance Tested Method (PTM) -tutkimuksessa Neogen Petrifilm CC -kasvatusalusta -menetelmän todettiin vastaavan keskimääräisiä kirjausmääriä seuraavien asiakirjojen mukaisesti: FDA/BAM luku 4, kappale III.D, menetelmä koliformien laskentaan pullovedestä.

**Validoinnin soveltamisala:**

Pullotettu vesi: puhdistettu vesi, käsitelty lähdevesi, hiilihapoton luonnonlähdevesi, hiilihapotettu luonnonlähdevesi.

**Inkubointi:**

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja 24 ± 2 tuntia 35 °C ± 1 °C:n lämpötilassa.

**AFNOR Certificationin myöntämä NF Validation -sertifikaatti:**

**NF Validation -sertifioitu ISO 16140-2<sup>10</sup> -standardin mukainen menetelmä verrattuna ISO 4832<sup>1</sup> -standardiin (3M-01/02-09/89 A)**

**Validoinnin soveltamisala:** Kaikkien ihmisravinnoksi tarkoitettujen elintarvikkeiden (raakoja simpukoita lukuun ottamatta), lemmikkieläinten ruoan ja ympäristönäytteiden testaamiseen.

Edellä annettuja käyttöohjeita sovellettaessa on huomioitava seuraavat seikat:

**Näytteiden valmistaminen:**

Käytä vain ISO-hyväksytyjä laimentimia.

**Inkubointi:**

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja 24 ± 2 tuntia 30 °C ± 1 °C:n tai 37 °C ± 1 °C:n lämpötilassa.

**Tulkinta:**

Laske testinäytteessä olevien mikro-organismien määrä standardin ISO 7218<sup>5</sup> mukaan, yksi alusta laimennusta kohti. Arviot ovat NF Validation -sertifioinnin soveltamisalan ulkopuolella (katso tulkintaosan kohta 2).

**NF Validation -sertifioitu ISO 16140-2<sup>10</sup> -standardin mukainen menetelmä verrattuna ISO 4831<sup>2</sup> -standardiin (3M-01/02-09/89 B)**

**Validoinnin soveltamisala:** Kaikkien ihmisravinnoksi tarkoitettujen elintarvikkeiden testaamiseen (raakoja simpukoita lukuun ottamatta).

Edellä annettuja käyttöohjeita sovellettaessa on huomioitava seuraavat seikat:

**Näytteiden valmistaminen:**

Käytä vain ISO-hyväksytyjä laimentimia.

**Inkubointi:**

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja 24 ± 2 tuntia 30 °C ± 1 °C:n tai 37 °C ± 1 °C:n lämpötilassa.

**Tulkinta:**

Laske testinäytteessä olevien mikro-organismien määrä standardin ISO 7218<sup>5</sup> mukaan, yksi alusta laimennusta kohti. Arviot ovat NF Validation -sertifioinnin soveltamisalan ulkopuolella (katso tulkintaosan kohta 2).

**NF Validation -sertifioitu ISO 16140-2<sup>10</sup> -standardin mukainen menetelmä verrattuna NF V08-060<sup>3</sup> -standardiin (3M-01/02-09/89 C)**

**Validoinnin soveltamisala:** Kaikkien ihmisravinnoksi tarkoitettujen elintarvikkeiden testaamiseen

Edellä annettuja käyttöohjeita sovellettaessa on huomioitava seuraavat seikat:

**Näytteiden valmistaminen:**

Käytä vain ISO-hyväksytyjä laimentimia

**Inkubointi:**

Inkuboi Neogen Petrifilm CC -kasvatusalustoja 24 ± 2 tuntia 44 °C ± 1 °C:n lämpötilassa.

**Tulkinta:**

Laske testinäytteessä olevien mikro-organismien määrä standardin ISO 7218<sup>5</sup> mukaan, yksi alusta laimennusta kohti. Arviot ovat NF Validation -sertifiointin soveltamisalan ulkopuolella (katso tulkintaosan kohta 2). Tee inokulointi, pesäkelaskenta sekä tulosten laskenta ja ilmaisu standardin EN ISO 7218 mukaisesti.

**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Lisätietoja validointiajan päättymisestä on NF VALIDATION -sertifikaatissa, joka on saatavissa edellä mainitulta verkkosivustolta.

**Viitteet**

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Tarkista edellä mainittujen standardien mukaisten menetelmien ajantasaiset versiot.

**Merkkien selitykset**

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC on AOAC INTERNATIONAL -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.

Official Method on AOAC INTERNATIONALin palvelumerkki.

Performance Tested Method on AOAC INTERNATIONALin palvelumerkki.



# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Instruções do produto

# Placa para Contagem de Coliformes

### Descrição e uso recomendado do produto

A Placa Neogen® Petrifilm® para Contagem de Coliformes (CC) é um sistema de meio de cultura de amostra pronto, que contém nutrientes modificados de Violet Red Bile (VRB), um agente gelificante solúvel em água fria e um indicador tetrazóico que facilita a enumeração das colônias. As Placas Neogen Petrifilm CC são usadas para a enumeração de coliformes no setor de alimentos, bebidas e águas engarrafadas. Os componentes da Placa Neogen Petrifilm CC são descontaminados, mas não esterilizados. A Neogen Food Safety é certificada pela Organização Internacional de Normalização (ISO) 9001 para projeto e fabricação. A Placa Neogen Petrifilm CC não foi avaliada com todos os possíveis produtos ou processos alimentícios, protocolos de testes nem todas as linhagens possíveis de micro-organismos.

O Bacteriological Analytical Manual (BAM) da United States Food and Drug Administration (FDA)<sup>7</sup> define coliformes como bastonetes gram-- negativos, os quais produzem ácido e gases a partir da lactose durante a fermentação metabólica. As colônias de coliformes que crescem na Placa Neogen Petrifilm CC produzem ácidos, que fazem com que o indicador de pH escureça a cor do gel; o gás preso ao redor de colônias vermelhas indica coliformes.

A ISO define coliformes de acordo com sua capacidade de crescimento em meios seletivos e específicos do método. Método ISO 4832<sup>1</sup>, enumeração de coliformes por técnica de contagem de colônia, define os coliformes como produtores de ácidos em VRB com ágar de lactose (VRBL). Nas placas Neogen Petrifilm CC estes coliformes produtores de ácidos são indicados por colônias vermelhas com ou sem produção de gás. Método ISO 4831<sup>2</sup>, enumeração de coliformes pelo método de número mais provável (MPN), define os coliformes pela sua capacidade de crescer e produzir gás a partir de lactose em um caldo selecionado. Nas placas Neogen Petrifilm CC estes coliformes são indicados por colônias vermelhas associadas ao gás.

Para amostras de água engarrafada, as colônias de coliformes confirmadas são indicadas por colônias vermelhas associadas ao gás nas Placas Neogen Petrifilm CC. Colônias vermelhas sem bolhas de gás associadas próximas podem ser coliformes e devem ser subdivididas em outra cultura e testadas com os métodos adequados de confirmação<sup>11,12</sup>. Consulte a seção Interpretação para mais detalhes. Colônias características podem ser subdivididas em outra cultura e testadas para *Escherichia coli*.

A AFNOR Certification certificou a Placa Neogen Petrifilm CC em comparação ao método ISO 4831<sup>2</sup> e ao método ISO 4832<sup>1</sup> para enumeração de coliformes totais. A AFNOR Certification também certificou a Placa Neogen Petrifilm CC em comparação com o NF V08-060<sup>3</sup>, para enumeração de coliformes termotolerantes.

### Segurança

É dever do usuário ler, compreender e seguir todas as informações de segurança contidas nas instruções da Placa Neogen Petrifilm CC. Guarde as instruções sobre segurança para consulta posterior.

⚠ **ADVERTÊNCIA:** indica uma situação de perigo que, se não for evitada, pode resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos

### ⚠ ADVERTÊNCIA

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

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

#### Para reduzir os riscos associados à liberação de produtos contaminados:

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

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

- Realize os testes com as Placas Neogen Petrifilm CC em um laboratório devidamente equipado, sob a supervisão de um microbiologista qualificado.
- O usuário deve treinar sua equipe em técnicas de testes atuais adequadas, por exemplo: Boas Práticas de Laboratório<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> ou ISO 17025<sup>6</sup>.

#### Para reduzir os riscos associados à interpretação errônea dos resultados:

- A Neogen não registrou as Placas Neogen Petrifilm CC para uso em outros setores além do segmento de alimentos e bebidas, incluindo água engarrafada. Por exemplo, a Neogen não registrou as Placas Neogen Petrifilm CC para testes de água, produtos farmacêuticos ou cosméticos. A Neogen não registrou as Placas Neogen Petrifilm CC para teste de superfície e águas municipais ou águas utilizadas nos setores farmacêutico ou cosmético.

- O uso de Placas Neogen Petrifilm CC para testar amostras em conformidade com regulamentos locais de teste de água fica a critério e responsabilidade do usuário final. As Placas Neogen Petrifilm CC não foram testadas com todas as amostras possíveis de água engarrafada, protocolos de testes e também não em todas as linhagens possíveis de micro-organismos.
- Não use as Placas Neogen Petrifilm CC no diagnóstico de doenças de seres humanos ou animais.
- As Placas Neogen Petrifilm CC não distinguem uma linhagem de coliforme da outra.
- Alimentos com alto teor de açúcar podem aumentar o potencial de produção de gases por *Enterobacteriaceae* não coliformes.

Consulte a Folha de dados de segurança para obter mais informações.

Para obter mais informações sobre documentação de desempenho dos produtos, visite o nosso site em [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou entre em contato com seu representante ou distribuidor autorizado da Neogen.

## Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as informações e instruções do produto. Acesse o nosso site em [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou entre em contato com o representante ou distribuidor autorizado da Neogen para obter mais informações.

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

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

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados atendem às exigências de seus clientes e fornecedores.

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

## Limitação de garantias/recurso limitado

SALVO CONFORME DECLARADO EXPRESSAMENTE EM UMA SEÇÃO DE GARANTIA DE EMPACOTAMENTO DE PRODUTO INDIVIDUAL, A NEOGEN REJEITA TODAS AS GARANTIAS EXPRESSAS E IMPLÍCITAS, INCLUINDO, ENTRE OUTRAS, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da Neogen Food Safety se encontra defeituoso, a Neogen ou seu distribuidor autorizado procederá à respectiva substituição ou, se assim o decidir, restituirá o dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A Neogen deverá ser prontamente notificada em até sessenta dias após a descoberta de qualquer defeito suspeito no produto, o qual deverá ser devolvido à Neogen. Entre em contato com seu representante da Neogen ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

## Limitações de responsabilidade da Neogen

A NEOGEN NÃO SE RESPONSABILIZARÁ POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQUENTES, INCLUINDO, ENTRE OUTROS, PERDA DE LUCROS. Em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de qualquer teoria jurídica, a responsabilidade da Neogen deverá exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

## Armazenamento

Armazene os pacotes fechados da Placa Neogen Petrifilm CC em temperaturas de congelamento ou resfriamento inferiores ou iguais a 8 °C (46 °F). Momentos antes do uso, deixe os pacotes fechados da Placa Neogen Petrifilm CC atingirem a temperatura ambiente antes de abri-los. Coloque de volta no pacote as Placas Neogen Petrifilm CC não utilizadas. Para selar, dobre a extremidade aberta do pacote e cole com fita adesiva. **Para evitar exposição à umidade, não refrigere os pacotes que tenham sido abertos.** Armazene os pacotes que tenham sido lacrados novamente em um local fresco e seco pelo período máximo de quatro semanas. Recomenda-se que os pacotes de Placas Neogen Petrifilm CC que tenham sido lacrados novamente sejam armazenados em um congelador (veja abaixo) caso a temperatura do laboratório exceda 25 °C (77 °F) ou o laboratório esteja localizado em uma região onde a umidade relativa do ar ultrapasse 50% (com a exceção de locais refrigerados).

Para guardar os sacos abertos em um congelador, coloque as Placas Neogen Petrifilm CC em um recipiente selável. Para remover as placas Neogen Petrifilm CC congeladas para uso, abra o recipiente, remova as placas que são necessárias e devolva imediatamente as placas restantes ao freezer no recipiente selado pelo restante do prazo de validade. As Placas Neogen Petrifilm CC não devem ser utilizadas após a data de validade. O congelador utilizado para armazenar os pacotes abertos não pode ter um ciclo de degelo automático, uma vez que isso causaria a exposição repetida das Placas Neogen Petrifilm CC à umidade, o que pode causar dano a elas.

Não utilize Placas Neogen Petrifilm CC que apresentarem descoloração. A data de validade e o número do lote estão impressos em cada embalagem das Placas Neogen Petrifilm CC. O número do lote também está impresso em cada Placa Neogen Petrifilm CC.



### △ Descarte

Após serem usadas, as Placas Neogen Petrifilm CC podem conter micro-organismos que representem um possível risco biológico.

Siga as normas industriais vigentes para descarte.

### Instruções de uso

Siga todas as instruções com atenção. Caso contrário, pode haver resultados imprecisos.

## Preparação, incubação e interpretação de amostras dos setores de alimentos e bebidas (exceto água engarrafada), incluindo amostras ambientais

### Preparo da amostra

1. Use diluentes estéreis adequados:

Água de diluição tamponada de fosfato de Butterfield<sup>7</sup>, água peptonada a 0,1%<sup>8</sup>, diluentes de sal peptonado<sup>8,9</sup>, água peptona tamponada<sup>8,9</sup>, solução salina (0,85-0,90%), neutralizador de amplo espectro Neogen<sup>®</sup>, caldo de Letheen sem bissulfito ou água destilada. Consulte a seção “**Instruções Específicas para Métodos Comprovados**” para obter os requisitos específicos.

**Não utilize diluentes que contenham citrato, bissulfito ou tiossulfato com as Placas Neogen Petrifilm CC, pois podem inibir o crescimento.** Se o tampão de citrato for indicado no procedimento padrão, substitua-o por um dos tampões listados acima, aquecido a 40-45 °C(104-113 °F).

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

### Plaqueamento

1. Coloque a Placa Neogen Petrifilm CC sobre uma superfície plana e nivelada.
2. Levante o filme superior e, com a pipeta perpendicular à área de inoculação, aplique 1 mL da suspensão da amostra no centro do filme inferior.
3. Role o filme superior para baixo, na direção da amostra, para impedir a captura de bolhas de ar.
4. Coloque o difusor Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> com o lado plano para baixo no centro da Placa Neogen Petrifilm CC. Pressione devagar o centro do difusor Neogen Petrifilm para distribuir a amostra uniformemente. Espalhe o inóculo sobre toda a área de crescimento da Placa Neogen Petrifilm CC antes que o gel se forme. Não deslize o difusor Neogen Petrifilm sobre o filme.
5. Remova o Difusor Neogen Petrifilm e deixe a Placa Neogen Petrifilm CC em descanso por pelo menos um minuto para permitir a formação do gel.

### Incubação

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC na posição horizontal com o lado transparente para cima em pilhas de até 20 placas. Vários tempos de incubação e temperaturas podem ser usados dependendo dos métodos de referência locais atuais, alguns dos quais estão listados na seção de “**Instruções Específicas para Métodos Comprovados**”.

### Interpretação

1. As Placas Neogen Petrifilm CC podem ser contadas usando um contador de colônias comum ou qualquer outro amplificador iluminado. O gás produzido pelos coliformes pode romper a colônia de forma que ela “contorne” a bolha. Isto deve ser contado como um único coliforme. Não conte as colônias presentes na barreira de espuma, pois elas não estão sob a influência seletiva do meio. Não conte bolhas artificiais que possam estar presentes.

A interpretação das colônias de coliformes na Placa Neogen Petrifilm CC varia de acordo com o método de referência. Por exemplo:

#### AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup>:

As colônias de coliformes são vermelhas e intimamente associadas (com até o diâmetro de uma colônia) a gases aprisionados. As colônias não associadas ao gás (com uma distância superior a um diâmetro de colônia entre a colônia e a bolha de gás) não são contadas como coliformes.

#### OU Métodos certificados de NF Validation:

- Em comparação com o método ISO 4831<sup>2</sup> (método MPN), as colônias de coliformes são vermelhas e intimamente associadas (com até o diâmetro de uma colônia) aos gases aprisionados.
- Em comparação com o método ISO 4832<sup>1</sup> (coliformes totais) e NF V08-060<sup>3</sup> (coliformes fecais) ambos baseados em métodos de VRBL, contando todas as colônias vermelhas, com ou sem gás.

2. A área de crescimento circular tem aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. Podem ser feitas estimativas nas Placas Neogen Petrifilm CC contendo mais de 150 colônias, contando o número de colônias em um ou mais quadrados representativos e determinando o número médio por quadrado. Multiplique a média por 20 para determinar a contagem estimada para cada Placa Neogen Petrifilm CC.



3. Quando houver um grande número de colônias presentes, as Placas Neogen Petrifilm CC podem ter um escurecimento na cor do gel, e uma ou mais das características: muitas colônias pequenas indistintas e/ou muitas bolhas de gás. Altas concentrações de coliformes farão com que a área de crescimento se torne vermelha escura. Quando isso acontecer, registre os resultados como muito numerosos para contar (TNTC). Quando for necessária uma contagem real, faça uma diluição maior da placa.
4. Quando necessário, as colônias podem ser isoladas para identificação posterior. Levante o filme superior usando uma técnica de teste adequada e colete a colônia do gel. Teste usando procedimentos padrão.
5. Se as Placas Neogen Petrifilm CC não puderem ser contadas em até 1 hora após a remoção da incubadora, elas podem ser armazenadas para enumeração posterior, congeladas em um recipiente lacrado em temperaturas inferiores ou iguais a 15 °C (5 °F) negativos pelo período máximo de uma semana.

## Preparação, incubação e interpretação de amostras de água engarrafada

### Hidrate as Placas Neogen Petrifilm CC

1. Coloque a Placa Neogen Petrifilm CC sobre uma superfície plana e nivelada.
2. Levante o filme superior e aplique 1 mL de um diluente de hidratação estéril apropriado no centro do filme inferior. Os diluentes de hidratação estéril adequados incluem água destilada, água desionizada (DI) e água de osmose reversa (RO).
3. Role o filme superior para baixo, na direção da amostra, para impedir a captura de bolhas de ar.
4. Coloque o difusor Neogen Petrifilm com o lado plano para baixo no centro da Placa. Pressione devagar o centro do difusor para distribuir o diluente uniformemente. Espalhe o diluente sobre toda a área de crescimento da Placa Neogen Petrifilm antes que o gel se forme. Não deslize o difusor sobre o filme.
5. Remova o difusor e mantenha as placas fechadas por, no mínimo, 1 hora antes do uso.
6. Armazene as Placas Neogen Petrifilm CC hidratadas em um pacote ou saco plástico lacrados. Proteja as placas da luz e refrigere-as a uma temperatura entre 2-8 °C (36-46 °F) por até 7 dias.

### Filtragem de água e incubação da placa

1. De acordo com procedimentos padrão para análise de água, filtre com membrana a amostra de água usando um filtro de éster de celulose mista (MCE) de 47 mm com tamanho do poro 0,45 microm.
2. Levante cuidadosamente o filme superior da Placa Neogen Petrifilm CC. Evite tocar na área de crescimento circular. Coloque o filtro no centro da área hidratada. Minimizar as bolhas presas sob o filtro.
3. Role o filme superior lentamente no filtro. Minimizar a criação de bolhas de ar e lacunas entre o filtro e a Placa Neogen Petrifilm CC.
4. Aplique uma leve pressão usando o difusor da placa Neogen Petrifilm ou deslize um dedo levemente por toda a área do disco (incluindo as bordas) para garantir um contato uniforme do filtro com o gel e para eliminar quaisquer bolhas de ar.
5. Incube as placas Neogen Petrifilm CC a 35 °C ± 1 °C por 24 horas ± 2 horas<sup>11</sup> ou 36 °C ± 1 °C por 24 horas ± 2 horas<sup>12</sup> em uma posição horizontal com o lado transparente para cima em pilhas de até 20 placas.

### Interpretação

1. As Placas Neogen Petrifilm CC podem ser contadas usando um contador de colônias comum ou qualquer outro amplificador iluminado. Não conte as colônias presentes na barreira de espuma, pois elas não estão sob a influência seletiva do meio. Não conte bolhas artificiais que possam estar presentes.
2. Colônias vermelhas associadas a bolhas de gás são contadas como coliformes. Bolhas de gás podem formar um padrão circular ou em formato de estrela ao redor da colônia. O gás produzido pelos coliformes pode romper a colônia de forma que ela “contorne” a bolha. Isto deve ser contado como um único coliforme. Colônias vermelhas sem bolhas de gás associadas próximas podem ser coliformes e devem coletadas e testadas com os métodos adequados de confirmação<sup>11,12</sup>.
3. Quando houver um grande número de colônias presentes, as Placas Neogen Petrifilm CC sofrerão um escurecimento da cor do gel associado a muitas colônias pequenas indistintas ou bolhas de gás. Quando isso acontecer, registre os resultados como muito numerosos para contar (TNTC).
4. As colônias podem ser isoladas para identificação posterior. Levante o filme superior e colete a colônia do gel ou da superfície do filtro. Ao levantar o filme superior, o filtro pode aderir ao filme superior ou inferior. Se o filtro aderir ao filme superior, separe o filtro do filme superior e colete as colônias. Teste usando procedimentos padrão.

**Nota:** A contagem atrasada das Placas Neogen Petrifilm CC não é recomendada.

Para obter mais informações, consulte o “Guia de Interpretação da Placa para Contagem de Coliformes Neogen® Petrifilm®”. Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, acesse nosso site [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local Neogen.



### Instruções específicas para métodos comprovados

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Contagem de bactérias e coliformes em leite, Método de filme rehidratável a seco e 989.10 Contagem de bactérias e coliformes em produtos derivados de leite, métodos de filme rehidratável a seco)

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 32 °C  $\pm$  1 °C.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Contagem de coliformes e Escherichia coli em alimentos, métodos de filme rehidratável a seco)

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1 °C.

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Certificado N° 082101**

Em um estudo Performance Tested Method (PTM) do AOAC® Research Institute, o método da Placa Neogen Petrifilm CC se mostrou equivalente às contagens logarítmicas médias do método do BAM, Capítulo 4, Seção III.D da FDA para enumerar a contagem de coliformes em água engarrafada.



#### **Escopo da validação:**

Água engarrafada: água purificada, água de nascente tratada, água de nascente natural sem gás, água de nascente natural gaseificada.

#### **Incubação:**

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC por 24 horas  $\pm$  2 horas a 35 °C  $\pm$  1 °C.

#### **NF Validation da AFNOR Certification:**

**Método certificado de NF Validation em conformidade com a ISO 16140-2<sup>10</sup> em comparação com a ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Escopo da validação:** Para testar todos os produtos alimentícios humanos (exceto mariscos crus), alimentos para pets e amostras ambientais.

Leve em consideração os detalhes a seguir ao implementar as instruções de uso acima:

#### **Preparo da amostra:**

Utilize apenas diluentes listados na ISO.

#### **Incubação:**

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC por 24 horas  $\pm$  2 horas a 30 °C  $\pm$  1 °C ou 37 °C  $\pm$  1 °C.

#### **Interpretação:**

Calcule o número de micro-organismos presentes na amostra para análise, de acordo com a ISO 7218<sup>5</sup>, para uma placa por diluição. As estimativas estão fora do âmbito da certificação NF Validation (veja a seção de interpretação, item 2).

**Método certificado de NF Validation em conformidade com a ISO 16140-2<sup>10</sup> em comparação com a ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Escopo da validação:** Para testar todos os produtos alimentícios humanos (exceto mariscos crus).

Leve em consideração os detalhes a seguir ao implementar as instruções de uso acima:

#### **Preparo da amostra:**

Utilize apenas diluentes listados na ISO.

#### **Incubação:**

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC por 24 horas  $\pm$  2 horas a 30 °C  $\pm$  1 °C ou 37 °C  $\pm$  1 °C.

#### **Interpretação:**

Calcule o número de micro-organismos presentes na amostra para análise, de acordo com a ISO 7218<sup>5</sup>, para uma placa por diluição. As estimativas estão fora do âmbito da certificação NF Validation (veja a seção de interpretação, item 2).

**Método NF Validation certificado em conformidade com a ISO 16140-2<sup>10</sup> em comparação com a NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Escopo da validação:** Para testar todos os produtos alimentícios humanos

Leve em consideração os detalhes a seguir ao implementar as instruções de uso acima:

#### **Preparo da amostra:**

Utilize apenas diluentes listados na ISO

#### **Incubação:**

Incube as Placas Neogen Petrifilm CC por 24 horas  $\pm$  2 a 44 °C  $\pm$  1 °C.

### Interpretação:

Calcule o número de micro-organismos presentes na amostra para análise, de acordo com a ISO 7218<sup>5</sup>, para uma placa por diluição. As estimativas estão fora do âmbito da certificação NF Validation (veja a seção de interpretação, item 2). Consulte o padrão EN ISO 7218 para inoculação, cálculo e contagem de colônias e expressão dos resultados.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C**  
**ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Para obter mais informações sobre o término da validade, consulte o certificado NF VALIDATION disponível no site supracitado.

### Referências

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Índice de reagentes para BAM encontrado em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Consulte as versões atuais dos métodos padrão listados acima.

### Explicação dos símbolos

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC é uma marca comercial registrada da AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods é uma marca de serviço da AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method é uma marca de serviço da AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A



## Πληροφορίες προϊόντος

# Πλακίδιο Καταμέτρησης Κολοβακτηριδίων

### Περιγραφή του προϊόντος και σκοπός χρήσης

Το Neogen® Petrifilm® Πλακίδιο Καταμέτρησης Κολοβακτηριδίων (CC) είναι ένα σύστημα έτοιμο για δειγματοληψία καλλιεργητικού μέσου που περιέχει τροποποιημένα θρεπτικά συστατικά Violet Red Bile (VRB), έναν παράγοντα σχηματισμού γέλης διαλυτό σε κρύο νερό και έναν δείκτη τετραζολίου που διευκολύνει την καταμέτρηση της αποικίας. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC χρησιμοποιούνται για την καταμέτρηση κολοβακτηριδίων στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών και εμφιαλωμένου νερού. Τα συστατικά των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC έχουν απολυμανθεί, όχι όμως αποστειρωθεί. Η Neogen Food Safety φέρει πιστοποίηση σύμφωνα με το πρότυπο του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) 9001 για σχεδιασμό και παραγωγή. Το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη μικροοργανισμών.

Στο εγχειρίδιο United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup>, τα κολοβακτηρίδια ορίζονται ως αρνητικά κατά Gram βακτήρια που παράγουν οξύ και αέριο από τη ζύμωση λακτόζης. Οι αποικίες κολοβακτηριδίων που αναπτύσσονται στο Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC παράγουν οξύ, το οποίο προκαλεί σκουρότερο χρώμα της γέλης από τον δείκτη pH. Το αέριο που παγιδεύεται γύρω από τις κόκκινες αποικίες υποδεικνύει κολοβακτηρίδια.

Το ISO ορίζει τα κολοβακτηρίδια σύμφωνα με την ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε επιλεγμένα μέσα συγκεκριμένης μεθόδου. Η μέθοδος ISO 4832<sup>1</sup>, με απαρίθμηση των κολοβακτηριδίων με την τεχνική καταμέτρησης αποικιών ορίζει τα κολοβακτηρίδια ως παραγωγούς οξέος στο VRB με άγαρ λακτόζης (VRBL). Στα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC, αυτά τα κολοβακτηρίδια που παράγουν οξύ υποδεικνύονται από κόκκινες αποικίες, με ή χωρίς παραγωγή αερίου. Η μέθοδος ISO 4831<sup>2</sup>, με απαρίθμηση των κολοβακτηριδίων με τη μέθοδο του πιθανότερου αριθμού (MPN), ορίζει τα κολοβακτηρίδια σύμφωνα με την ικανότητά τους να αναπτύσσονται και να παράγουν αέριο από τη λακτόζη σε επιλεκτικό ζωμό. Στα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC, αυτά τα κολοβακτηρίδια υποδεικνύονται από κόκκινες αποικίες που σχετίζονται με αέριο.

Για τα δείγματα εμφιαλωμένου νερού, οι επιβεβαιωμένες αποικίες κολοβακτηριδίων υποδεικνύονται από κόκκινες αποικίες που σχετίζονται με αέριο στα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC. Οι κόκκινες αποικίες χωρίς στενό συσχετισμό φυσαλίδων αερίου μπορεί να αποτελούν κολοβακτηρίδια και θα πρέπει να υποκαλλιεργούνται και να ελέγχονται με τις κατάλληλες μεθόδους επιβεβαίωσης<sup>11,12</sup>. Ανατρέξτε στην ενότητα «Ερμηνεία» για περισσότερες λεπτομέρειες. Οι χαρακτηριστικές αποικίες μπορούν να υποκαλλιεργηθούν και να ελεγχθούν ως *Escherichia coli*.

Η AFNOR Certification πιστοποίησε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC σε σύγκριση με τη μέθοδο ISO 4831<sup>2</sup> και τη μέθοδο ISO 4832<sup>1</sup> για καταμέτρηση του συνόλου των κολοβακτηριδίων. Η AFNOR Certification πιστοποίησε επίσης το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC σε σύγκριση με το NF V08-060<sup>3</sup>, για απαρίθμηση θερμοανεκτικών κολοβακτηριδίων.

### Ασφάλεια

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, να κατανοήσει και να ακολουθήσει όλες τις πληροφορίες ασφάλειας που αναφέρονται στις Οδηγίες προϊόντος για το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC. Φυλάξτε τις οδηγίες ασφάλειας για μελλοντική αναφορά.

**⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:** Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και υλική ζημιά.

### ⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

**Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με την έκθεση σε βιολογικούς κινδύνους και τη μόλυνση του περιβάλλοντος:**

- Ακολουθείτε τα τρέχοντα πρότυπα της βιομηχανίας και τους τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων.

**Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με την αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:**

- Ακολουθήστε όλες τις οδηγίες αποθήκευσης προϊόντος που περιέχονται στις οδηγίες χρήσης.
- Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης.

### Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με βακτηριακή λοίμωξη και επιμόλυνση του χώρου εργασίας:

- Πραγματοποιήστε τον έλεγχο με το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC σε κατάλληλα εξοπλισμένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη ειδικευμένου μικροβιολόγου.
- Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδευτεί το προσωπικό του στις κατάλληλες τεχνικές ελέγχου: Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> ή ISO 17025<sup>6</sup>.

### Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με παρερμηνεία των αποτελεσμάτων:

- Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για χρήση σε βιομηχανίες άλλες εκτός τροφίμων και ποτών, συμπεριλαμβανομένου του εμφιαλωμένου νερού. Για παράδειγμα, η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC για έλεγχο φαρμακευτικών προϊόντων ή καλλυντικών. Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC για έλεγχο επιφανειακών και δημοτικών υδάτων ή υδάτων που χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες φαρμακευτικών προϊόντων ή καλλυντικών.
- Η χρήση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC για τον έλεγχο δειγμάτων νερού σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς ελέγχου νερού έγκειται στην αποκλειστική ευχέρεια και ευθύνη του τελικού χρήστη. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC δεν έχουν αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά δείγματα εμφιαλωμένου νερού, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη μικροοργανισμών.
- Μη χρησιμοποιείτε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC στη διάγνωση παθήσεων σε ανθρώπους ή ζώα.
- Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC δεν διαφοροποιούν ένα στέλεχος κολοβακτηριδίου από ένα άλλο.
- Τροφές με υψηλό περιεχόμενο σε σάκχαρα μπορεί να αυξήσουν τις πιθανότητες παραγωγής αερίων από *Enterobacteriaceae* μη κολοβακτηριδίων.

Συμβουλευτείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες πληροφορίες.

Για πληροφορίες σχετικά με την τεκμηρίωση απόδοσης των προϊόντων, επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στη διεύθυνση [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen.

### Ευθύνη του χρήστη

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφτείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ή επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο ή τον εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen για περισσότερες πληροφορίες.

Κατά την επιλογή μιας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων και η εργαστηριακή τεχνική μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επιλογή οποιαδήποτε μεθόδου ή προϊόντος ελέγχου, για να αξιολογήσει έναν επαρκή αριθμό δειγμάτων με κατάλληλα είδη τροφίμων και μικροβιακές προκλήσεις, ώστε η επιλεγμένη μέθοδος να ικανοποιεί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμασίας και τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των πελατών και των προμηθευτών του.

Όπως και με κάθε μέθοδο ελέγχου, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη χρήση οποιουδήποτε προϊόντος Neogen Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των σχετικών τροφίμων ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

### Περιορισμός εγγυήσεων / Περιορισμένη αποκατάσταση

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΕΓΓΥΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η ΝΕΟΓΕΝ ΠΑΡΑΙΤΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν Neogen Food Safety είναι ελαττωματικό, η Neogen ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, σύμφωνα με την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την αξία αγοράς του προϊόντος. Αυτοί είναι οι αποκλειστικοί τρόποι αποκατάστασης. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην Neogen την ανεύρεση των πιθανολογούμενων ελαττωμάτων του προϊόντος και να επιστρέψετε το προϊόν στην Neogen. Επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο της Neogen ή τον εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen για περαιτέρω ερωτήσεις.

### Περιορισμός της ευθύνης της Neogen

Η ΝΕΟΓΕΝ ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της Neogen δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την αξία αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι ελαττωματικό.

## Αποθήκευση

Φυλάσσετε τα μη ανοιγμένα σακουλάκια Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC σε θερμοκρασία κατάψυξης ή ψυγείου, χαμηλότερες από ή ίσες με 8°C (46°F). Πριν από τη χρήση, αφήστε τα μη ανοιγμένα σακουλάκια Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν τα ανοίξετε. Επιστρέψτε τα μη χρησιμοποιημένα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC στο σακουλάκι. Σφραγίστε το σακουλάκι διπλώνοντας το πάνω μέρος του και κολλώντας με ταινία. **Για να αποφευχθεί η έκθεση σε υγρασία, μην τοποθετείτε στο ψυγείο τα ανοιγμένα σακουλάκια.** Αποθηκεύστε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια σε ψυχρό και ξηρό μέρος για όχι περισσότερο από τέσσερις εβδομάδες. Συνιστάται να αποθηκεύετε τα ερμητικά κλεισμένα σακουλάκια με Neogen Petrifilm Πλακίδια CC σε καταψύκτη (βλ. παρακάτω) εάν η θερμοκρασία του εργαστηρίου υπερβαίνει τους 25°C (77°F) ή/και εάν το εργαστήριο βρίσκεται σε περιοχή όπου η σχετική υγρασία υπερβαίνει το 50% (με εξαίρεση τους κλιματιζόμενους χώρους).

Για να αποθηκεύσετε ανοιγμένα σακουλάκια στην κατάψυξη, τοποθετήστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC σε ένα σφραγισμένο δοχείο. Για να αφαιρέσετε τις κατεψυγμένες πλάκες Neogen Petrifilm CC για χρήση, ανοίξτε το δοχείο, αφαιρέστε τις πλάκες που χρειάζονται και επιστρέψτε αμέσως τις υπόλοιπες πλάκες στον καταψύκτη στο σφραγισμένο δοχείο για το υπόλοιπο της διάρκειας ζωής. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης. Ο καταψύκτης που χρησιμοποιείται για την αποθήκευση των ανοιγμένων σακουλακίων δεν πρέπει να έχει αυτόματο κύκλο απόψυξης, καθώς κάτι τέτοιο θα εξέθετε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC στην υγρασία και σε ενδεχόμενη φθορά των πλακιδίων.

Μη χρησιμοποιήσετε Neogen Petrifilm Πλακίδια CC που παρουσιάζουν αποχρωματισμό. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας σημειώνονται σε κάθε συσκευασία των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC. Ο αριθμός παρτίδας επισημαίνεται επίσης στα μεμονωμένα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC.

## Δ Απόρριψη

Μετά τη χρήση, τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC μπορεί να περιέχουν μικροοργανισμούς που ενδέχεται να αποτελούν πιθανό βιολογικό κίνδυνο.

Ακολουθείτε τα τρέχοντα πρότυπα της βιομηχανίας για την απόρριψη.

## Οδηγίες χρήσης

Τηρείτε προσεκτικά όλες τις οδηγίες. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

## Προπαρασκευή, επώαση και ερμηνεία δειγμάτων από τις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών (εκτός εμφιαλωμένου νερού), συμπεριλαμβανομένων περιβαλλοντικών δειγμάτων Προπαρασκευή δείγματος

1. Χρησιμοποιήστε κατάλληλα αποστειρωμένα αραιωτικά:

Νερό αραίωσης με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων<sup>7</sup>, 0,1% νερό πεπτόνης<sup>8</sup>, αραιωτικά άλατος πεπτόνης<sup>8,9</sup>, Νερό ρυθμιστικού διαλύματος πεπτόνης<sup>8,9</sup>, αλατούχο διάλυμα (0,85-0,90%), Εξουδετερωτικό ευρέως φάσματος Neogen®, ζώμος λεθαίνης χωρίς δισουλφίτη ή απεσταγμένο νερό. Βλέπε την ενότητα «**Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους**» για τις ειδικές απαιτήσεις.

**Μη χρησιμοποιείτε αραιωτικά που περιέχουν κιτρικά ιόντα, θειώδη ή θειοθειικά ιόντα με τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC, διότι μπορούν να εμποδίσουν την ανάπτυξη.** Εάν ενδείκνυται ρυθμιστικό κιτρικό στην τυπική διαδικασία, αντικαταστήστε το με ένα από τα ρυθμιστικά διαλύματα που αναφέρονται παραπάνω, θερμασμένο στους 40-45°C (104-113°F).

2. Αναμείξτε ή ομογενοποιήστε το δείγμα.

3. Για βέλτιστη ανάπτυξη και ανάκτηση μικροοργανισμών, προσαρμόστε το pH του εναιωρήματος δείγματος σε τιμές 6,6-7,2. Για όξινα προϊόντα, προσαρμόστε το pH με 1N NaOH. Για όξινα προϊόντα, προσαρμόστε το pH με 1N HCl.

## Επίστρωση

1. Τοποθετήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC σε επίπεδη επιφάνεια.

2. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη και με την πιπέτα σε κατακόρυφη θέση ως προς την περιοχή έγχυσης, χορηγήστε 1 mL του εναιωρήματος δείγματος στο κέντρο της κάτω μεμβράνης.

3. Καλύψτε με την επάνω μεμβράνη στο δείγμα, για να μην παγιδευτούν φυσαλίδες αέρα.

4. Τοποθετήστε τον Neogen® Petrifilm® Διασκορπιστή με την επίπεδη πλευρά προς τα κάτω στο κέντρο του Neogen Petrifilm Πλακιδίου CC. Πιέστε απαλά στο κέντρο του Neogen Petrifilm Διασκορπιστή ώστε να διανείμει το δείγμα ομαλά. Απλώστε το εμβολίασμα επάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια ανάπτυξης του Neogen Petrifilm Πλακιδίου CC πριν να σχηματισθεί γέλη. Μην σύρετε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή κατά μήκος της μεμβράνης.

5. Αφαιρέστε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή και αφήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC ανενόχλητο για τουλάχιστον ένα λεπτό για να επιτρέψετε το σχηματισμό γέλης.

## Επώαση

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC σε οριζόντια θέση με τη διάφανη πλευρά προς τα επάνω σε στοιβάδες μέχρι 20 πλακίδια. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι χρόνοι και θερμοκρασίες επώασης ανάλογα με τις τρέχουσες τοπικές μεθόδους αναφοράς, ορισμένες από τις οποίες αναφέρονται στην ενότητα «**Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους**».

## Ερμηνεία

1. Οι αποικίες στα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC μπορούν να μετρηθούν με χρήση τυπικού απαριθμητή αποικιών ή άλλης φωτεινής συσκευής μεγέθυνσης. Το αέριο που παράγεται από τα κολοβακτηρίδια μπορεί να διαταράξει την αποικία, με τρόπο όπου η αποικία «περιβάλλει» τη φυσαλίδα. Σε αυτήν την περίπτωση θα πρέπει να γίνεται καταμέτρηση ως ένα κολοβακτηρίδιο. Μην καταμετράτε αποικίες επάνω σε φράκτη αφρού, καθώς αυτές έχουν απομακρυνθεί από την επιλεκτική επιρροή του μέσου. Μην καταμετράτε φυσαλίδες ατελειών που μπορεί να εμφανιστούν.

Η ερμηνεία των αποικιών κολοβακτηριδίων στο Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC διαφέρει ανάλογα με τη μέθοδο αναφοράς. Για παράδειγμα:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Οι αποικίες κολοβακτηριδίων είναι κόκκινες και σχετίζονται στενά (με διάμετρο μίας αποικίας) με το παγιδευμένο αέριο. Οι αποικίες που δεν σχετίζονται με το αέριο (απόσταση μεγαλύτερη από διάμετρο μίας αποικίας μεταξύ της αποικίας και της φυσαλίδας αερίου) δεν καταμετρώνται ως κολοβακτηρίδια.

Η Πιστοποιημένες από την NF Validation μέθοδοι:

- Σε σύγκριση με τη μέθοδο ISO 4831<sup>2</sup> (μέθοδος MPN), οι αποικίες κολοβακτηριδίων είναι κόκκινες και σχετίζονται στενά (με διάμετρο μίας αποικίας) με το παγιδευμένο αέριο.
- Σε σύγκριση με τη μέθοδο ISO 4832<sup>1</sup> (σύνολο κολοβακτηριδίων) και NF V08-060<sup>3</sup> (περιττωματικά κολοβακτηρίδια), και οι δύο εκ των οποίων βασίζονται σε μεθόδους VRBL, καταμετρήστε όλες τις κόκκινες αποικίες με ή χωρίς αέριο.

2. Η κυκλική επιφάνεια ανάπτυξης είναι περίπου 20 cm<sup>2</sup>. Μπορούν να γίνουν εκτιμήσεις σε Neogen Petrifilm Πλακίδια CC που περιέχουν περισσότερες από 150 αποικίες, καταμετρώντας τον αριθμό των αποικιών σε ένα ή περισσότερα αντιπροσωπευτικά τετραγωνίδια και προσδιορίζοντας το μέσο όρο ανά τετραγωνίδιο. Πολλαπλασιάστε τον μέσο αριθμό με το 20, για να προσδιορίσετε τον εκτιμώμενο αριθμό ανά Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC.
3. Όταν υπάρχουν αποικίες σε μεγάλους αριθμούς, τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC μπορεί να παρουσιάζουν περισσότερο σκούρο χρώμα γέλης και ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω χαρακτηριστικά: πολλές μικρές, απροσδιόριστες αποικίες ή/και πολλές φυσαλίδες αερίου. Οι υψηλές συγκεντρώσεις κολοβακτηριδίων προκαλούν αλλαγή του χρώματος της επιφάνειας ανάπτυξης σε σκούρο κόκκινο. Αν συμβεί αυτό, καταγράψτε το αποτέλεσμα ως υπερβολικά μεγάλος αριθμός αποικιών (TNTC). Όταν απαιτείται κανονική καταμέτρηση, τοποθετήστε σε πλακίδιο σε υψηλότερη αραιώση.
4. Όπου είναι απαραίτητο, οι αποικίες μπορούν να απομονωθούν για περαιτέρω ταυτοποίηση. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη, εφαρμόζοντας κατάλληλη τεχνική ελέγχου και πάρτε την αποικία από τη γέλη. Κάντε τη δοκιμή σύμφωνα με τις τυπικές διαδικασίες.
5. Αν τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC δεν μπορούν να καταμετρηθούν εντός 1 ώρας από την αφαίρεση από τον επωαστήρα, μπορείτε να τα αποθηκεύσετε για μετέπειτα καταμέτρηση, καταψύχοντάς τα σε ένα σφραγισμένο δοχείο σε θερμοκρασίες μικρότερες ή ίσες με -15°C (5°F), όχι για πάνω από μία εβδομάδα.

## Προπαρασκευή, επώαση και ερμηνεία δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού

### Ενυδατώστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC

1. Τοποθετήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο CC σε επίπεδη επιφάνεια.
2. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη και χορηγήστε 1 mL κατάλληλου αποστειρωμένου αραιωτικού ενυδάτωσης στο κέντρο της κάτω μεμβράνης. Τα κατάλληλα αποστειρωμένα αραιωτικά ενυδάτωσης περιλαμβάνουν αποσταγμένο νερό, απιονισμένο (DI) νερό και νερό αντιστροφής ώσμωσης (RO).
3. Καλύψτε με την επάνω μεμβράνη στο δείγμα, για να μην παγιδευτούν φυσαλίδες αέρα.
4. Τοποθετήστε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή με την επίπεδη πλευρά προς τα κάτω στο κέντρο του πλακιδίου. Πιέστε απαλά στο κέντρο του διασκορπιστή ώστε να διανεμίσετε το αραιωτικό ομαλά. Απλώστε το αραιωτικό επάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια ανάπτυξης του Neogen Petrifilm Πλακιδίου πριν να σχηματισθεί γέλη. Μην σύρετε τον διασκορπιστή κατά μήκος της μεμβράνης.
5. Αφαιρέστε τον διασκορπιστή και αφήστε τα πλακίδια κλειστά για τουλάχιστον 1 ώρα πριν από τη χρήση.
6. Φυλάσσετε τα ενυδατωμένα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC σε σφραγισμένο σακουλάκι ή πλαστική σακούλα. Προστατεύστε τα πλακίδια από το φως και τοποθετήστε τα σε ψυγείο στους 2-8°C (36-46°F) για έως 7 ημέρες.



## Διήθηση νερού και επώαση πλακιδίων

1. Ακολουθώντας τις τυπικές διαδικασίες ανάλυσης νερού, διηθήστε με μεμβράνη το δείγμα νερού, χρησιμοποιώντας φίλτρο Ανάμικτων Εστέρων Κυτταρίνης (MCE) 47 mm, με μέγεθος πόρου 0,45 micron.
2. Ανασηκώστε προσεκτικά την επάνω μεμβράνη του Neogen Petrifilm Πλακιδίου CC. Αποφύγετε να αγγίξετε την κυκλική επιφάνεια ανάπτυξης. Τοποθετήστε το φίλτρο στο κέντρο της ενυδατωμένης επιφάνειας. Ελαχιστοποιήστε την παγίδευση φυσαλίδων κάτω από το φίλτρο.
3. Καλύψτε αργά με την επάνω μεμβράνη το φίλτρο. Ελαχιστοποιήστε την παγίδευση φυσαλίδων αέρα και τη δημιουργία κενών μεταξύ του φίλτρου και του Neogen Petrifilm Πλακιδίου CC.
4. Ασκήστε ελαφριά πίεση χρησιμοποιώντας τον διασκορπιστή Neogen Petrifilm Πλακιδίων ή περνώντας ελαφρά ένα δάχτυλο σε όλη την επιφάνεια του δίσκου (συμπεριλαμβανομένων των άκρων) για να εξασφαλίσετε ενιαία επαφή του φίλτρου με τη γέλη και να εξαλείψετε τυχόν φυσαλίδες αέρα.
5. Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC στους  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  για 24 ώρες  $\pm 2$  ώρες<sup>11</sup> ή στους  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  για 24 ώρες  $\pm 2$  ώρες<sup>12</sup> σε οριζόντια θέση με τη διάφανη πλευρά προς τα επάνω σε στοιβάδες μέχρι 20 πλακίδια.

## Ερμηνεία

1. Οι αποικίες στα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC μπορούν να μετρηθούν με χρήση τυπικού απεριθμητή αποικιών ή άλλης φωτεινής συσκευής μεγέθυνσης. Μην καταμετράτε αποικίες επάνω σε φράκτη αφρού, καθώς αυτές έχουν απομακρυνθεί από την επιλεκτική επιρροή του μέσου. Μην καταμετράτε φυσαλίδες ατελειών που μπορεί να εμφανιστούν.
2. Οι κόκκινες αποικίες που συσχετίζονται με φυσαλίδες αερίου καταμετρούνται ως κολοβακτηρίδια. Οι φυσαλίδες αερίου μπορεί να σχηματίσουν ένα κυκλικό ή αστεροειδές μοτίβο γύρω από την αποικία. Το αέριο που παράγεται από τα κολοβακτηρίδια μπορεί να διαταράξει την αποικία, με τρόπο όπου η αποικία «περιβάλλει» τη φυσαλίδα. Σε αυτήν την περίπτωση θα πρέπει να γίνεται καταμέτρηση ως ένα κολοβακτηρίδιο. Οι κόκκινες αποικίες χωρίς στενό συσχετισμό φυσαλίδων αερίου μπορεί να αποτελούν κολοβακτηρίδια και θα πρέπει να επιλέγονται και να ελέγχονται με τις κατάλληλες μεθόδους επιβεβαίωσης<sup>11,12</sup>.
3. Όταν υπάρχουν αποικίες σε μεγάλους αριθμούς, τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC παρουσιάζουν περισσότερο σκούρο χρώμα γέλης σε συσχετισμό με πολλές μικρές, απροσδιόριστες αποικίες ή φυσαλίδες αερίου. Αν συμβεί αυτό, καταγράψτε το αποτέλεσμα ως υπερβολικά μεγάλος αριθμός αποικιών (TNTC).
4. Οι αποικίες μπορούν να απομονωθούν για περαιτέρω ταυτοποίηση. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη και πάρτε την αποικία από τη γέλη ή την επιφάνεια του φίλτρου. Όταν ανασηκώνετε την επάνω μεμβράνη, το φίλτρο μπορεί να προσκολληθεί είτε στην επάνω είτε στην κάτω μεμβράνη. Εάν το φίλτρο προσκολληθεί στην επάνω μεμβράνη, διαχωρίστε το από αυτήν και επιλέξτε αποικίες. Κάντε τη δοκιμή σύμφωνα με τις τυπικές διαδικασίες.

**Σημείωση:** Δεν προτείνεται η καθυστερημένη καταμέτρηση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων CC με φίλτρα.

Για περαιτέρω πληροφορίες, ανατρέξτε στον κατάλληλο «Οδηγό ερμηνείας Neogen® Petrifilm® Πλακιδίων Καταμέτρησης Κολοβακτηριδίων». Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.neogen.com](http://www.neogen.com) ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen.

### Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Καταμετρήσεις Βακτηρίων και Κολοβακτηριδίων σε Γάλα, Μέθοδοι Ξηρής Επανυδατούμενης Μεμβράνης και 989.10 Καταμετρήσεις Βακτηρίων και Κολοβακτηριδίων σε Γαλακτοκομικά Προϊόντα, Μέθοδοι Ξηρής Επανυδατούμενης Μεμβράνης)

Επώαστε Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες  $\pm 2$  ώρες στους  $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Καταμετρήσεις Κολοβακτηριδίων και *Escherichia coli* σε Τρόφιμα, Μέθοδοι Ξηρής Επανυδατούμενης Μεμβράνης)

Επώαστε Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες  $\pm 2$  ώρες στους  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Πιστοποιητικό #082101**

Σε μια μελέτη του Ερευνητικού Ινστιτούτου AOAC® Research Institute για Performance Tested Method (PTM), διαπιστώθηκε ότι η μέθοδος Neogen Petrifilm Πλακιδίου CC ισοδυναμούσε με τους μέσους αριθμούς που καταγράφηκαν στο Κεφάλαιο 4 του FDA/BAM, Ενότητα III μέθοδος D για την καταμέτρηση κολοβακτηριδίων σε εμφιαλωμένο νερό.



**Πεδίο εγκυρότητας:**

Εμφιαλωμένο νερό: εξαγνισμένο νερό, επεξεργασμένο νερό πηγής, μη ανθρακούχο φυσικό νερό πηγής, ανθρακούχο φυσικό νερό πηγής.

**Επώαση:**

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες ± 2 ώρες στους 35°C ± 1°C.

**NF Validation από την AFNOR Certification:**

**Μέθοδος πιστοποίησης NF Validation σύμφωνα με το πρότυπο ISO 16140-2<sup>10</sup> σε σύγκριση με το ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Πεδίο εγκυρότητας:** Για τον έλεγχο όλων των ανθρώπινων προϊόντων τροφίμων (εκτός των νωπών θαλασσινών), τροφής κατοικίδιων και περιβαλλοντικών δειγμάτων.

Χρησιμοποιήστε τις λεπτομέρειες που ακολουθούν όταν εφαρμόζετε τις παραπάνω Οδηγίες Χρήσης:

**Προετοιμασία δείγματος:**

Χρησιμοποιείτε μόνο αραιωτικά καταχωρημένα κατά ISO.

**Επώαση:**

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες ± 2 ώρες στους 30°C ± 1°C ή στους 37°C ± 1°C.

**Ερμηνεία:**

Υπολογίστε τον αριθμό των μικροοργανισμών που είναι παρόντες στο δοκιμαστικό δείγμα σύμφωνα με το ISO 7218<sup>5</sup> για ένα πλακίδιο ανά αραιώση. Οι εκτιμήσεις είναι εκτός του πεδίου της πιστοποίησης NF Validation Certification (βλέπε ενότητα για την ερμηνεία, παράγραφος 2).

**Μέθοδος πιστοποίησης NF Validation σύμφωνα με το πρότυπο ISO 16140-2<sup>10</sup> σε σύγκριση με το ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Πεδίο εγκυρότητας:** Για τον έλεγχο όλων των ανθρώπινων προϊόντων τροφίμων (εκτός των νωπών θαλασσινών).

Χρησιμοποιήστε τις λεπτομέρειες που ακολουθούν όταν εφαρμόζετε τις παραπάνω Οδηγίες Χρήσης:

**Προετοιμασία δείγματος:**

Χρησιμοποιείτε μόνο αραιωτικά καταχωρημένα κατά ISO.

**Επώαση:**

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες ± 2 ώρες στους 30°C ± 1°C ή στους 37°C ± 1°C.

**Ερμηνεία:**

Υπολογίστε τον αριθμό των μικροοργανισμών που είναι παρόντες στο δοκιμαστικό δείγμα σύμφωνα με το ISO 7218<sup>5</sup> για ένα πλακίδιο ανά αραιώση. Οι εκτιμήσεις είναι εκτός του πεδίου της πιστοποίησης NF Validation Certification (βλέπε ενότητα για την ερμηνεία, παράγραφος 2).

**Μέθοδος πιστοποίησης NF Validation σύμφωνα με το πρότυπο ISO 16140-2<sup>10</sup> σε σύγκριση με το NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Πεδίο εγκυρότητας:** Για τον έλεγχο όλων των ανθρώπινων προϊόντων τροφίμων

Χρησιμοποιήστε τις λεπτομέρειες που ακολουθούν όταν εφαρμόζετε τις παραπάνω Οδηγίες Χρήσης:

**Προετοιμασία δείγματος:**

Χρησιμοποιείτε μόνο αραιωτικά καταχωρημένα κατά ISO.

**Επώαση:**

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια CC για 24 ώρες ± 2 ώρες στους 44°C ± 1°C.

**Ερμηνεία:**

Υπολογίστε τον αριθμό των μικροοργανισμών που είναι παρόντες στο δοκιμαστικό δείγμα σύμφωνα με το ISO 7218<sup>5</sup> για ένα πλακίδιο ανά αραιώση. Οι εκτιμήσεις είναι εκτός του πεδίου της πιστοποίησης NF Validation Certification (βλέπε ενότητα για την ερμηνεία, παράγραφος 2). Ανατρέξτε στο πρότυπο EN ISO 7218 για έγχυση, καταμέτρηση και υπολογισμό αποικιών και εμφάνιση αποτελεσμάτων.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C**  
**ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη λήξη της επικύρωσης, παρακαλούμε ανατρέξτε στο πιστοποιητικό NF VALIDATION που διατίθεται στον ιστότοπο που αναφέρεται παραπάνω.

## Παραπομπές

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20<sup>th</sup> Ed. Method 9222B2a.

Ανατρέξτε στην τελευταία έκδοση των πρότυπων μεθόδων που αναφέρονται παραπάνω.

## Επεξήγηση συμβόλων

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

To AOAC αποτελεί εγγεγραμμένο εμπορικό σήμα της AOAC INTERNATIONAL.

To Official Methods αποτελεί σήμα κατατεθέν της AOAC INTERNATIONAL.

To Performance Tested Method αποτελεί σήμα κατατεθέν της AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A



## Informacje o produkcie

# Płytki do oznaczania liczby bakterii z grupy coli

### Opis i przeznaczenie produktu

Płytki Neogen® Petrifilm® do oznaczania liczby bakterii z grupy coli (CC) to gotowy do użytku zestaw pożywek hodowlanych, który zawiera zmodyfikowane składniki odżywcze Violet Red Bile (VRB), substancję żelującą rozpuszczalną w zimnej wodzie oraz wskaźnik tetrazolowy, który ułatwia zliczanie kolonii. Płytki Neogen Petrifilm CC stosuje się do oznaczania liczby bakterii z grupy coli w produktach spożywczych i napojach oraz wodzie butelkowanej. Składniki płytki Neogen Petrifilm CC są zdekontaminowane, lecz nie wyjąłowane. Firma Neogen Food Safety uzyskała certyfikat ISO (International Organization for Standardization) 9001 dotyczący projektowania i produkcji. Płytki Neogen Petrifilm CC nie oceniono przy użyciu wszystkich możliwych produktów spożywczych, procesów przetwarzania żywności, protokołów testowych ani przy użyciu wszystkich dostępnych szczepów drobnoustrojów.

Podręcznik The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> definiuje bakterie z grupy coli jako Gram-ujemne pałeczki, które wytwarzają kwas i gaz z laktozy poprzez fermentację. Kolonie bakterii z grupy coli na płytce Neogen Petrifilm CC wytwarzają kwas, który powoduje, że wskaźnik pH przyciemnia kolor żelu; gaz uwięziony wokół czerwonych kolonii wskazuje bakterie z grupy coli.

Norma ISO definiuje bakterie z grupy coli na podstawie ich zdolności do wzrostu na swoistych dla metody, selektywnych podłożach. Metoda ISO 4832<sup>1</sup>, umożliwiająca oznaczanie bakterii z grupy coli techniką liczenia kolonii, definiuje je jako bakterie produkujące kwas na agarze Violet Red Bile Lactose (VRBL). Na płytkach Neogen Petrifilm CC te produkujące kwas bakterie z grupy coli są oznaczane poprzez czerwone kolonie wytwarzające gaz i niewytwarzające gazu. Metoda ISO 4831<sup>2</sup>, umożliwiająca oznaczanie bakterii z grupy coli metodą MPN (Most Probable Number), definiuje je na podstawie ich zdolności do wzrostu i wytwarzania gazu z laktozy w selektywnym bulionie. Na płytkach Neogen Petrifilm CC te bakterie z grupy coli są oznaczane poprzez czerwone kolonie powiązane z gazem.

W przypadku próbek wody butelkowanej CC potwierdzone kolonie bakterii z grupy coli są oznaczane na płytkach Neogen Petrifilm poprzez czerwone kolonie powiązane z gazem. Czerwone kolonie bez pęcherzyków powietrza ściśle powiązanych z gazem mogą być bakteriami z grupy coli, w związku z czym należy je wysiać na świeżą pożywkę i zbadać odpowiednimi metodami potwierdzającymi<sup>11,12</sup>. Więcej informacji znajduje się w sekcji Interpretacja. Charakterystyczne kolonie mogą zostać wysiane na świeżą pożywkę i zbadane jako bakterie *Escherichia coli*.

Płytki Neogen Petrifilm CC otrzymała certyfikat AFNOR Certification przy porównaniu do metod wg normy ISO 4831<sup>2</sup> i ISO 4832<sup>1</sup> w zakresie oznaczania łącznej ilości bakterii z grupy coli. Płytki Neogen Petrifilm CC również otrzymała certyfikat AFNOR Certification przy porównaniu do metody wg normy NF V08-060<sup>3</sup> w zakresie oznaczania termotolerancyjnych bakterii z grupy coli.

### Bezpieczeństwo

Użytkownik powinien przeczytać i zrozumieć wszystkie wskazówki bezpieczeństwa zamieszczone w instrukcji dla płytek Neogen Petrifilm CC, a także ich przestrzegać. Instrukcję bezpieczeństwa należy zachować do przyszłego wykorzystania.

**⚠ OSTRZEŻENIE:** Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie braku podjęcia środków zapobiegawczych, mogą być poważne obrażenia ciała lub śmierć i/lub uszkodzenie mienia.

#### ⚠ OSTRZEŻENIE

#### Aby ograniczyć ryzyko związane z narażeniem na zagrożenia biologiczne i ze skażeniem środowiska:

- Przestrzegać aktualnych norm branżowych i przepisów miejscowych dotyczących utylizacji odpadów stanowiących zagrożenie biologiczne.

#### Aby zmniejszyć ryzyko związane z uwolnieniem zanieczyszczonego produktu:

- Przestrzegać wszystkich instrukcji dotyczących przechowywania produktu zawartych w instrukcjach użycia.
- Nie używać produktu po upływie terminu ważności.

#### Aby ograniczyć ryzyko związane z infekcją bakteryjną i skażeniem w miejscu pracy:

- Testowanie z użyciem płytek Neogen Petrifilm CC przeprowadzać w odpowiednio wyposażonym laboratorium i pod nadzorem wykwalifikowanego mikrobiologa.
- Obowiązkiem użytkownika jest przeszkolenie personelu w zakresie aktualnych, odpowiednich technik badań: na przykład w zakresie dobrych praktyk laboratoryjnych<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> lub ISO 17025<sup>6</sup>.



### Aby ograniczyć ryzyko związane z błędną interpretacją wyników:

- Firma Neogen nie zatwierdziła stosowania płytek Neogen Petrifilm CC w przemysłach innych niż spożywczy, z uwzględnieniem wody butelkowanej. Firma Neogen nie zatwierdziła płytek Neogen Petrifilm CC na przykład do testowania farmaceutyków ani kosmetyków. Firma Neogen nie zatwierdziła stosowania płytki Neogen Petrifilm CC do testowania wód powierzchniowych i miejskich ani wód stosowanych w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.
- Używanie płytki Neogen Petrifilm CC do badania próbek wody zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi testowania wody leży w wyłącznej gestii użytkownika końcowego, który ponosi pełną odpowiedzialność za ten proces. Płytek Neogen Petrifilm CC nie oceniono przy użyciu wszystkich możliwych próbek wody butelkowanej, protokołów testowych ani przy użyciu wszystkich dostępnych szczepów drobnoustrojów.
- Nie należy używać płytek Neogen Petrifilm CC do testów diagnostycznych u ludzi i zwierząt.
- Płytki Neogen Petrifilm CC nie umożliwiają rozróżniania poszczególnych szczepów bakterii z grupy coli.
- Produkty spożywcze o wysokiej zawartości cukru mogą zwiększać zdolność do wytwarzania gazu w przypadku *Enterobacteriaceae* innych niż z grupy coli.

Aby uzyskać dodatkowe informacje, należy zapoznać się z kartą charakterystyki.

W celu uzyskania informacji na temat dokumentacji dotyczącej działania produktu należy odwiedzić naszą witrynę internetową pod adresem [www.neogen.com](http://www.neogen.com), skontaktować się z przedstawicielem firmy Neogen albo autoryzowanym dystrybutorem.

### Obowiązki użytkownika

Użytkownicy są zobowiązani do zapoznania się z instrukcjami oraz informacjami dotyczącymi produktu. Odwiedź naszą stronę internetową [www.neogen.com](http://www.neogen.com) lub skontaktuj się z przedstawicielem Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem, aby uzyskać więcej informacji.

Przy wyborze metody testowania należy pamiętać, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbki, dalsze postępowanie i technika laboratoryjna mogą wpływać na uzyskiwane wyniki.

Obowiązkiem użytkownika przy wyborze jakiegokolwiek metody testowania lub produktu jest poddanie ocenie dostatecznej liczby próbek z właściwymi macierzami i z uwzględnieniem zagrożeń powodowanych przez mikroorganizmy, tak aby zastosowana metoda mogła spełnić oczekiwania użytkownika i ustalone przez niego kryteria.

Obowiązkiem użytkownika jest również dopilnowanie, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Podobnie jak w przypadku każdej metody testowania wyniki uzyskiwane za pomocą produktu firmy Neogen Food Safety nie stanowią gwarancji jakości testowanych macierzy ani procesów.

### Wyłączenia gwarancji / Ograniczone środki zaradcze

JESLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. OGRANICZONEJ GWARANCJI POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW, FIRMA NEOGEN WYŁĄCZA WSZELKIE GWARANCJE WYRAŹNE I DOROZUMIANE, W TYM MIĘDZY INNYMI WSZELKIE GWARANCJE ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. W razie wad jakiegokolwiek produktu firmy Neogen Food Safety firma Neogen lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni taki produkt lub, wedle własnego uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W ciągu 60 dni od wykrycia jakiegokolwiek podejrzanego wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę Neogen oraz zwrócić produkt. W przypadku dalszych pytań prosimy o kontakt z przedstawicielem firmy Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem firmy Neogen.

### Ograniczenie odpowiedzialności firmy Neogen

FIRMA NEOGEN NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY ANI STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy Neogen z mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu rzekomo wadliwego produktu.

### Przechowywanie

Woreczki z płytkami Neogen Petrifilm CC należy przechowywać schłodzone lub zamrożone w temperaturze poniżej lub równej 8°C (46°F). Bezpośrednio przed użyciem nieotwarte woreczki z płytkami Neogen Petrifilm CC należy pozostawić do osiągnięcia temperatury pokojowej. Niewykorzystane płytki Neogen Petrifilm CC włożyć z powrotem do woreczka. Zamknąć szczelnie, zaginając brzeg woreczka i zaklejając taśmą klejącą. **Aby zapobiec narażeniu na działanie wilgoci, nie schładzać otwartych woreczków.** Ponownie zamknięte woreczki należy przechowywać w chłodnym, suchym miejscu nie dłużej niż przez cztery tygodnie. Zaleca się, aby ponownie zamknięte woreczki z płytkami Neogen Petrifilm CC przechowywać w zamrażarce (patrz poniżej), jeśli temperatura w laboratorium przekracza 25°C (77°F) i/lub jeśli laboratorium jest położone w regionie, w którym wilgotność względna przekracza 50% (z wyjątkiem pomieszczeń klimatyzowanych).

W celu przechowywania otwartych woreczków w zamrażarce umieścić płytki Neogen Petrifilm CC w pojemnikach, które można szczelnie zamknąć. Aby wyjąć zamrożone płytki Neogen Petrifilm CC w celu użycia, należy otworzyć pojemnik, wyjąć potrzebne płytki i natychmiast umieścić pozostałe płytki w zamrażarce w szczelnie zamkniętym pojemniku na pozostałą część okresu przydatności do użycia. Nie należy stosować płytek Neogen Petrifilm CC po upływie ich daty ważności. Zamrażarka używana do przechowywania otwartych woreczków nie może korzystać z automatycznego cyklu odszraniania, ponieważ w takim przypadku płytki Neogen Petrifilm CC byłyby wielokrotnie wystawiane na działanie wilgoci, co może uszkodzić płytki.

Nie używać płytek Neogen Petrifilm CC, które noszą ślady odbarwień. Data ważności oraz numer serii znajdują się na każdym opakowaniu płytek Neogen Petrifilm CC. Numer serii jest również podany na poszczególnych płytkach Neogen Petrifilm CC.

### △ Utylizacja

Wykorzystane płytki Neogen Petrifilm CC mogą zawierać mikroorganizmy, które mogą stanowić potencjalne zagrożenie biologiczne.

Należy postępować zgodnie z bieżącymi normami branżowymi dotyczącymi utylizacji.

### Instrukcja użycia

Należy dokładnie przestrzegać wszystkich instrukcji. W przeciwnym razie wyniki mogą być niedokładne.

## Przygotowanie, inkubacja i interpretacja próbek z przemysłu spożywczego (z wyjątkiem wody butelkowanej), w tym próbek środowiskowych

### Przygotowanie próbki

1. Stosować odpowiednie jałowe rozcieńczalniki:

Bufor fosforanowy Butterfield'a<sup>7</sup>, 0,1% woda peptonowa<sup>8</sup>, rozcieńczalniki soli peptonu<sup>8,9</sup>, buforowana woda peptonowa<sup>8,9</sup>, roztwór soli fizjologicznej (0,85-0,90%), roztwór neutralizujący Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bulion Lethen niezawierający wodorosiarczynów lub woda destylowana. Szczegółowe wymagania opisano w części „Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod”:

**Nie stosować z płytkami Neogen Petrifilm CC rozcieńczalników zawierających cytrynian, wodorosiarczyn lub tiosiarczan, ponieważ mogą one hamować wzrost.** Jeśli w standardowej procedurze wskazane jest zastosowanie buforu na bazie cytrynianu, należy zastąpić go jednym z buforów podanych powyżej, podgrzanym do temperatury 40–45°C (104–113°F).

2. Zmieszać próbkę lub poddać ją homogenizacji.
3. W celu uzyskania optymalnego wzrostu i odzysku mikroorganizmów zmodyfikować pH zawiesiny próbki do wartości 6,6–7,2. W przypadku produktów kwasowych zmodyfikować pH za pomocą 1N NaOH. W przypadku produktów kwasowych zmodyfikować pH za pomocą 1N HCl.

### Stosowanie płytek

1. Umieścić płytkę Neogen Petrifilm CC na płaskiej, równej powierzchni.
2. Podnieść wierzchnią folię i za pomocą pipety dozować, prostopadle do powierzchni posiewu, 1 ml zawiesiny próbki na środek dolnej folii.
3. Rozwinąć górną folię na próbce, aby zapobiec uwięzieniu pęcherzyków powietrza.
4. Umieścić głaszczkę Neogen® Petrifilm® na środku płytki Neogen Petrifilm CC, płaską stroną do dołu. Delikatnie nacisnąć na środek głaszczki Neogen Petrifilm, aby równomiernie rozprowadzić próbkę. Rozprowadzić materiał posiewowy po całej powierzchni wzrostu płytki Neogen Petrifilm CC, zanim nastąpi żelowanie. Nie przesuwac głaszczki Neogen Petrifilm po folii.
5. Usunąć głaszczkę Neogen Petrifilm i pozostawić płytkę Neogen Petrifilm CC na co najmniej jedną minutę, aby umożliwić wytworzenie się żelu.

### Inkubacja

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC w położeniu poziomym, ułożone przezroczystą stroną do góry, w stosach składających się z maksymalnie 20 płytek. W zależności od aktualnych lokalnych metod referencyjnych można zastosować kilka czasów inkubacji i temperatur, z których niektóre wskazano w części „Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod”.

## Interpretacja wyników

1. Płytki Neogen Petrifilm CC można zliczać za pomocą standardowego licznika kolonii lub innego podświetlanego urządzenia powiększającego. Gaz wytwarzany przez bakterie z grupy coli może spowodować zaburzenie kolonii, co spowoduje, że na kolonii „pojawi się” pęcherzyk. Taki przypadek należy zliczyć jako pojedynczą bakterię z grupy coli. Nie liczyć kolonii wyrosłych na pianie, ponieważ zostały one oddzielone od selektywnego podłoża. Nie liczyć artefaktowych pęcherzyków, które mogą być obecne.

Interpretacja kolonii bakterii z grupy coli na płytce Neogen Petrifilm CC różni się w zależności od metody referencyjnej. Na przykład:

Metody AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Kolonie bakterii z grupy coli są czerwone i ściśle powiązane (w obrębie jednej średnicy kolonii) z uwiecznionym gazem. Kolonie niepowiązane z gazem (odległość większa niż jedna średnica kolonii między kolonią a pęcherzykiem gazu) nie są liczone jako bakterie z grupy coli.

LUB Certyfikowane metody NF Validation:

- W porównaniu do metody ISO 4831<sup>2</sup> (metoda MPN) kolonie bakterii z grupy coli są czerwone i ściśle powiązane (w obrębie jednej średnicy kolonii) z uwiecznionym gazem.
- W porównaniu do metod ISO 4832<sup>1</sup> (łącna ilość bakterii z grupy coli) i NF V08-060<sup>3</sup> (bakterie z grupy coli z odchodami), które opierają się na metodach VRBL, należy zliczyć wszystkie czerwone kolonie wytwarzające lub niewytwarzające gazu.

2. Okrągły obszar wzrostu ma powierzchnię około 20 cm<sup>2</sup>. Oszacowania można dokonać na płytkach Neogen Petrifilm CC zawierających ponad 150 kolonii, zliczając liczbę kolonii w co najmniej jednym reprezentatywnym kwadracie i określając średnią liczbę na kwadrat. Pomnożyć średnią liczbę przez 20, aby określić szacunkową liczbę na płytce Neogen Petrifilm CC.
3. Jeśli kolonie występują w dużych ilościach, płytki Neogen Petrifilm CC mogą mieć ciemny kolor żelu i jedną albo obie z poniższych cech: wiele małych, niewyraźnych kolonii i/lub wiele pęcherzyków gazu. Wysokie stężenie bakterii z grupy coli spowoduje, że obszar wzrostu przybierze ciemny czerwony kolor. W takim przypadku zapisać liczbę jako zbyt dużą do zliczenia (TNTC). Jeśli wymagana jest wyższa liczba, zastosować wyższe rozcieńczenie na płytce.
4. Jeśli to konieczne, kolonie mogą zostać odizolowane w celu dalszej identyfikacji. Podnieść wierzchnią folię za pomocą odpowiedniej techniki badań i pobrać kolonię z żelu. Przetestować, stosując standardowe procedury.
5. Jeśli bakterii na płytkach Neogen Petrifilm CC nie można policzyć w ciągu 1 godziny po wyciągnięciu z inkubatora, płytki można przechowywać na potrzeby późniejszego zliczenia poprzez zamrożenie w zamkniętym pojemniku w temperaturze niższej lub równej -15°C (5°F) nie dłużej niż tydzień.

## Przygotowanie, inkubacja i interpretacja próbek wody butelkowanej

### Nawodnianie płytek Neogen Petrifilm CC

1. Umieścić płytkę Neogen Petrifilm CC na płaskiej, równej powierzchni.
2. Podnieść górną folię i dozować 1 ml odpowiedniego jałowego rozcieńczalnika do uwadniania na środek dolnej folii. Odpowiednie jałowe rozcieńczalniki do uwadniania zawierają wodę destylowaną, wodę dejonizowaną (DI) i wodę o odwróconej osmozie (RO).
3. Rozwinąć górną folię na próbce, aby zapobiec uwiecznieniu pęcherzyków powietrza.
4. Umieścić głaszczkę Neogen Petrifilm na środku płytki, płaską stroną do dołu. Delikatnie nacisnąć na środek głaszczki, aby równomiernie rozprowadzić rozcieńczalnik. Rozprowadzić rozcieńczalnik po całej powierzchni wzrostu płytki Neogen Petrifilm, zanim nastąpi żelowanie. Nie przesuwaj głaszczki po folii.
5. Usunąć głaszczkę i pozostawić płytki w zamknięciu na co najmniej 1 godzinę przed rozpoczęciem użytkowania.
6. Przechowywać nawodnione płytki Neogen Petrifilm CC w zamkniętym woreczku lub woreczku z tworzywa sztucznego. Zabezpieczyć płytki przed światłem i przechowywać w temperaturze chłodzenia 2–8°C (36–46°F) maksymalnie przez 7 dni.

### Filtrowanie wody i inkubacja płytek

1. Po wykonaniu standardowych procedur z zakresu analizy wody przefiltrować próbkę wody przez filtr membranowy, używając filtra MCE (Mixed Cellulose Ester) 47 mm o rozmiarze porów 0,45 mikrona.
2. Ostrożnie podnieść górną folię płytki Neogen Petrifilm CC. Unikać dotykania okrągłego obszaru wzrostu. Umieścić filtr na środku nawadnianego obszaru. Ograniczyć gromadzenie się pęcherzyków powietrza pod filtrem.
3. Powoli rozwinąć górną folię na filtrze. Ograniczyć gromadzenie się pęcherzyków powietrza i powstawanie szczelin między filtrem i płytką Neogen Petrifilm CC.
4. Delikatnie docisnąć za pomocą głaszczki do płytki Neogen Petrifilm lub poprzez lekkie przesunięcie palcem po całym obszarze dysku (wraz z krawędziami), aby upewnić się, że filtr równomiernie przylega do żelu i usunąć pęcherzyki powietrza.

5. Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  przez  $24 \pm 2$  godziny<sup>11</sup> lub  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  przez  $24 \pm 2$  godziny<sup>12</sup> w położeniu poziomym, ułożone przezroczystą stroną do góry, w stosach składających się z maksymalnie 20 płytek.

## Interpretacja wyników

1. Płytki Neogen Petrifilm CC można zliczać za pomocą standardowego licznika kolonii lub innego podświetlanego urządzenia powiększającego. Nie liczyć kolonii wyrosłych na piance, ponieważ zostały one oddzielone od selektywnego podłoża. Nie liczyć artefaktowych pęcherzyków, które mogą być obecne.
2. Czerwone kolonie powiązane z pęcherzykami gazu są zliczane jako bakterie z grupy coli. Pęcherzyki gazu mogą mieć okrągły lub gwiazdkowaty kształt wokół kolonii. Gaz wytwarzany przez bakterie z grupy coli może spowodować zaburzenie kolonii, co spowoduje, że na kolonii „pojawi się” pęcherzyk. Taki przypadek należy zliczyć jako pojedynczą bakterię z grupy coli. Czerwone kolonie bez pęcherzyków powietrza ściśle powiązanych z gazem mogą być bakteriami z grupy coli, w związku z czym należy je zebrać i zbadać odpowiednimi metodami potwierdzającymi<sup>11,12</sup>.
3. Jeśli kolonie występują w dużych ilościach, płytki Neogen Petrifilm CC będą miały ciemny kolor żelu, który jest powiązany z wieloma małymi, niewyraźnymi koloniami i/lub wieloma pęcherzykami gazu. W takim przypadku zapisać liczbę jako zbyt dużą do zliczenia (TNTC).
4. Kolonie mogą zostać odizolowane w celu dalszej identyfikacji. Podnieść górną folię i pobrać kolonię z żelu lub powierzchni filtra. Podczas podnoszenia górnej folii filtr może przylegać do górnej lub dolnej folii. Jeśli filtr przylega do górnej folii, należy go oddzielić, aby zebrać kolonie. Przetestować, stosując standardowe procedury.

**Uwaga:** nie zaleca się opóźnionego zliczania płytek Neogen Petrifilm CC z filtrami.

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednim dokumentem „Przewodnik interpretacji do płytek Neogen® Petrifilm® do oznaczania liczby bakterii z grupy coli”. W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę [www.neogen.com](http://www.neogen.com) lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

## Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez  $24 \pm 2$  godziny w temperaturze  $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez  $24 \pm 2$  godziny w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup>, certyfikat nr 082101**

W badaniu AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) stwierdzono, że metoda z użyciem płytki Neogen Petrifilm CC jest równoważna średniej liczbie metodami referencyjnymi według publikacji FDA/BAM Rozdział 4, Sekcja III.D do obliczania liczby bakterii z grupy coli w wodzie butelkowanej.



## Zakres walidacji:

Woda butelkowana: woda oczyszczona, uzdatniona woda źródłana, naturalna woda źródłana niegazowana, naturalna woda źródłana gazowana.

## Inkubacja:

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez 24 h  $\pm 2$  h w temperaturze  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

## Certyfikacja NF Validation instytutu AFNOR Certification:

**Metoda certyfikowana według NF VALIDATION zgodnie z normą ISO 16140-2<sup>10</sup> w porównaniu do normy ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**Zakres walidacji:** testowanie wszystkich produktów żywnościowych przeznaczonych dla ludzi (z wyjątkiem surowych owoców morza), karmy dla zwierząt i próbek środowiskowych.

Podczas wdrażania powyższych instrukcji użycia należy skorzystać z poniższych informacji szczegółowych:

## Przygotowanie próbki:

Stosować wyłącznie rozcieńczalniki z listy ISO.

## Inkubacja:

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez  $24 \pm 2$  godziny w temperaturze  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  lub  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

## Interpretacja wyników:

Zliczyć liczbę mikroorganizmów znajdujących się w testowanej próbce na jednej płytce na rozcieńczenie, zgodnie z normą ISO 7218<sup>5</sup>. Oszacowania wykraczają poza zakres certyfikacji NF Validation (patrz ustęp 2 części Interpretacja wyników).

**Metoda certyfikowana według NF VALIDATION zgodnie z normą ISO 16140-2<sup>10</sup> w porównaniu do normy ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**Zakres walidacji:** testowanie wszystkich produktów żywnościowych przeznaczonych dla ludzi (z wyjątkiem surowych owoców morza).

Podczas wdrażania powyższych instrukcji użycia należy skorzystać z poniższych informacji szczegółowych:

**Przygotowanie próbki:**

Stosować wyłącznie rozcieńczalniki z listy ISO.

**Inkubacja:**

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez 24 ±2 godziny w temperaturze 30°C ±1°C lub 37°C ±1°C.

**Interpretacja wyników:**

Zliczyć liczbę mikroorganizmów znajdujących się w testowanej próbce na jednej płytce na rozcieńczenie, zgodnie z normą ISO 7218<sup>5</sup>. Oszacowania wykraczają poza zakres certyfikacji NF Validation (patrz ustęp 2 części Interpretacja wyników).

**Metoda certyfikowana według NF VALIDATION zgodnie z normą ISO 16140-2<sup>10</sup> w porównaniu do normy NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**Zakres walidacji:** testowanie wszystkich produktów żywnościowych przeznaczonych dla ludzi.

Podczas wdrażania powyższych instrukcji użycia należy skorzystać z poniższych informacji szczegółowych:

**Przygotowanie próbki:**

Stosować wyłącznie rozcieńczalniki z listy ISO.

**Inkubacja:**

Inkubować płytki Neogen Petrifilm CC przez 24 ±2 godz. w temperaturze 44°C ±1°C.

**Interpretacja wyników:**

Zliczyć liczbę mikroorganizmów znajdujących się w testowanej próbce na jednej płytce na rozcieńczenie, zgodnie z normą ISO 7218<sup>5</sup>. Oszacowania wykraczają poza zakres certyfikacji NF Validation (patrz ustęp 2 części Interpretacja wyników). Informacje dotyczące inokulacji, zliczania kolonii i obliczania oraz przedstawienia wyników można znaleźć w normie EN ISO 7218.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C**  
**ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Dodatkowe informacje na temat końca ważności można znaleźć w certyfikacie NF VALIDATION dostępnym na wskazanej powyżej stronie internetowej.

## Źródła

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Należy skorzystać z bieżących wersji wymienionych powyżej standardowych metod.

## Objaśnienie symboli

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods jest znakiem usługowym firmy AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method jest znakiem usługowym firmy AOAC INTERNATIONAL.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A



## Инструкции к продукту

# Тест-пластина для подсчета колиформных бактерий

### Описание продукта и его назначение

Тест-пластина Neogen® Petrifilm® для подсчета колиформных бактерий (CC) — это готовая культуральная среда, содержащая питательные компоненты на основе модифицированного фиолетового красного с желчью (VRB), растворимый в холодной воде гелеобразующий агент и тетразолиевый индикатор, облегчающий подсчет колоний. Тест-пластины Neogen Petrifilm CC предназначены для подсчета колиформных бактерий при производстве пищевых продуктов, напитков и бутилированной воды. Компоненты тест-пластин Neogen Petrifilm CC дезинфицированы, однако не стерилизованы. Процессы разработки и производства компании Neogen Food Safety сертифицированы по стандарту Международной организации по стандартизации (ISO) 9001. Тест-пластина Neogen Petrifilm CC не испытывалась применительно ко всем возможным пищевым продуктам, технологиям производства пищевых продуктов, протоколам анализа, а также всем возможным штаммам микроорганизмов.

В руководстве по методам бактериологического анализа (BAM) Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) <sup>7</sup> колиформные бактерии определяются как граммотрицательные палочки, ферментирующие лактозу до кислоты и газа. Колонии колиформных бактерий, растущие на тест-пластине Neogen Petrifilm CC, вырабатывают кислоту, под действием которой индикатор уровня pH делает более интенсивным цвет геля; скопление газа вокруг колоний красного цвета указывает на присутствие колиформных бактерий.

В стандарте ISO колиформные бактерии определяются по критерию способности расти в специфических для метода селективных средах. В описании метода 4832 по ISO <sup>1</sup>, предполагающего подсчет колиформных бактерий путем подсчета колоний, эти бактерии определяются как производящие кислоту на VRB-агаре с лактозой (VRBL). На тест-пластинах Neogen Petrifilm CC на присутствие таких вырабатывающих кислоту колиформных бактерий указывает красный цвет колоний при наличии либо отсутствии газа. В описании метода 4831 по ISO <sup>2</sup>, предполагающего подсчет колиформных бактерий путем расчета наиболее вероятной численности (MPN), колиформные бактерии определяются по критерию способности расти и производить газ из лактозы в селективном бульоне. На тест-пластинах Neogen Petrifilm CC на присутствие этих колиформных бактерий указывает красный цвет колоний, который соотносится с наличием газа.

В образцах бутилированной воды на присутствие колоний колиформных бактерий достоверно указывает соотносящийся с наличием газа красный цвет колоний на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC. Колонии, красный цвет которых не соотносится непосредственно с наличием пузырьков газа, могут являться колониями колиформных бактерий. Их следует субкультивировать и подвергать дальнейшему анализу, используя надлежащие методы подтверждения <sup>11,12</sup>. См. дополнительную информацию в разделе об интерпретации результатов. Характеристические колонии можно субкультивировать и подвергать анализу как *Escherichia coli*.

Организацией AFNOR Certification тест-пластина Neogen Petrifilm CC сертифицирована по результатам сопоставления с методом 4831 по ISO <sup>2</sup> и методом 4832 по ISO <sup>1</sup> применительно к подсчету общей численности колиформных бактерий. Организацией AFNOR Certification тест-пластина Neogen Petrifilm CC сертифицирована также по результатам сопоставления с NF V08-060 <sup>3</sup> применительно к подсчету численности термотолерантных колиформных бактерий.

### Техника безопасности

Пользователь должен прочесть, понять и соблюдать все указания по технике безопасности в инструкциях к тест-пластине Neogen Petrifilm CC. Сохраните инструкции по технике безопасности для использования в дальнейшем.

**⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ.** Указывает на опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к смерти, тяжелой травме и (или) повреждению имущества

## ▲ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

**Для снижения рисков, связанных с воздействием биологически опасных веществ и загрязнением окружающей среды, необходимо соблюдать следующие правила.**

- Утилизируйте биологически опасные отходы в соответствии с действующими отраслевыми стандартами и местными нормативами.

**Для снижения рисков, связанных с выпуском зараженного продукта, придерживайтесь приведенных далее рекомендаций.**

- Соблюдайте все инструкции по хранению изделия, содержащиеся в этих инструкциях по применению.
- Не используйте продукт по истечении его срока годности.

**Для снижения рисков, связанных с бактериальным инфицированием и загрязнением рабочего места, необходимо соблюдать следующие правила.**

- Выполняйте процедуры анализа с использованием тест-пластины Neogen Petrifilm CC в надлежащем образом оборудованной лаборатории под контролем квалифицированного микробиолога.
- Пользователь обязан обучить персонал надлежащим методикам проведения анализа, например излагаемым в документе Good Laboratory Practices <sup>4</sup>, ISO 7218 <sup>5</sup> или ISO 17025 <sup>6</sup>.

**Для снижения рисков, связанных с неправильной интерпретацией результатов, необходимо учитывать следующую информацию.**

- Тест-пластины Neogen Petrifilm CC не зарегистрированы компанией Neogen применительно к использованию в каких-либо отраслях, кроме производства пищевых продуктов и напитков, в том числе бутилированной воды. В частности, тест-пластины Neogen Petrifilm CC не зарегистрированы Neogen применительно к исследованию фармацевтических препаратов и косметики. Тест-пластины Neogen Petrifilm CC не зарегистрированы Neogen применительно к исследованию поверхностных вод и водопроводной воды, а также воды, используемой в фармацевтической и косметической промышленности.
- Использование тест-пластин Neogen Petrifilm CC для анализа образцов воды в соответствии с местными нормативами для исследования воды осуществляется исключительно по усмотрению конечного пользователя, который несет исключительную ответственность за такое использование. Тест-пластины Neogen Petrifilm CC не испытывались применительно к всем возможным образцам бутилированной воды, протоколам анализа, а также всем возможным штаммам микроорганизмов.
- Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC при диагностировании заболеваний у человека и животных.
- Тест-пластины Neogen Petrifilm CC не позволяют дифференцировать никакие штаммы колиформных бактерий.
- Пищевые продукты с высоким содержанием сахара могут увеличивать способность к газообразованию у *Enterobacteriaceae* неколиформного типа.

Дополнительную информацию см. в паспорте безопасности продукта.

Чтобы узнать о документации, касающейся рабочих характеристиках продукта, посетите наш веб-сайт [www.neogen.com](http://www.neogen.com) либо обратитесь к местному представителю или официальному дилеру Neogen.

### Ответственность пользователей

Пользователи обязаны ознакомиться с информацией и инструкциями к изделию. Для получения дополнительной информации посетите наш веб-сайт [www.neogen.com](http://www.neogen.com) либо обратитесь к местному представителю или официальному дистрибьютору Neogen.

При выборе метода исследования важно понимать, что на результаты исследования могут влиять внешние факторы, например метод забора проб, протокол исследования, подготовка проб к исследованию, способы обработки проб во время исследования, а также используемое оборудование.

За выбор метода исследования и исследуемого продукта отвечает пользователь, который должен на основании исследования достаточного количества образцов с помощью надлежащих матриц и микробных провокационных проб определить, отвечает ли выбранный метод исследования необходимым ему критериям.

Пользователь также обязан установить, что выбранный им метод анализа, а также полученные результаты отвечают требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта Neogen Food Safety (как и при использовании любого другого метода исследований), не гарантируют качество матриц или технологических процессов, подвергавшихся исследованиям.

## Ограничение гарантий и средств судебной защиты

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, NEOGEN НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если в изделии компании Neogen Food Safety обнаруживаются дефекты, компания Neogen или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить это изделие или возместить стоимость его покупки. Это единственный способ правовой защиты. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию Neogen в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения и вернуть дефектное изделие в компанию Neogen. По любым дополнительным вопросам обращайтесь к представителю или официальному дилеру Neogen.

## Ограничение ответственности компании Neogen

КОМПАНИЯ NEOGEN НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании Neogen ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость изделия.

## Хранение

Невскрытые упаковки с тест-пластинами Neogen Petrifilm CC подлежат хранению в холодильной или морозильной камере при температурах не выше 8 °C (46 °F). Перед вскрытием упаковки с тест-пластинами Neogen Petrifilm CC доведите ее до комнатной температуры. Неиспользованные тест-пластины Neogen Petrifilm CC помещайте обратно в упаковку. Запечатывайте открытый край пакета, завернув его и заклеив клейкой лентой. **Во избежание воздействия влаги не охлаждайте вскрытые пакеты.** Храните повторно запечатанные пакеты с тест-пластинами в сухом прохладном месте не более четырех недель. Если температура в лаборатории превышает 25 °C (77 °F) и (или) лаборатория расположена в регионе с относительной влажностью выше 50 % (за исключением кондиционируемых помещений), повторно запечатанные пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm CC рекомендуется хранить в морозильной камере (см. ниже).

Хранить вскрытые пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm CC в морозильной камере следует в герметизируемом контейнере. Чтобы извлечь замороженные пластины Neogen Petrifilm CC для использования, откройте контейнер, извлеките нужное количество пластин, а оставшиеся пластины в герметизированном контейнере немедленно поместите обратно в морозильную камеру, где они должны находиться в течение всего периода хранения. Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC после истечения срока годности. Морозильная камера, используемая для хранения вскрытых пакетов, не должна иметь автоматический цикл размораживания, поскольку в этом случае тест-пластины Neogen Petrifilm CC будут неоднократно подвергаться воздействию влаги, которая может их повредить.

Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC, цвет которых изменился. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на каждой упаковке тест-пластин Neogen Petrifilm CC. Номер партии также указан на каждой тест-пластине Neogen Petrifilm CC.

## △ Утилизация

После использования тест-пластины Neogen Petrifilm CC могут содержать микроорганизмы, которые могут представлять биологическую опасность.

Утилизируйте продукт в соответствии с действующими отраслевыми стандартами.

## Инструкции по применению

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

## Приготовление и инкубация образцов пищевых продуктов и напитков (за исключением бутилированной воды), в том числе образцов окружающей среды, и интерпретация результатов анализа.

### Приготовление образца

1. Используйте подходящие стерильные разбавители:

Фосфатный буферный водянной раствор по Баттерфилду<sup>7</sup>, пептонная вода 0,1 %<sup>8</sup>, пептонные солевые растворители<sup>8,9</sup>, буферная пептонная вода<sup>8,9</sup>, соляной раствор (0,85–0,90 %), нейтрализатор широкого спектра Neogen<sup>®</sup>, безбисульфитный летиновый бульон или дистиллированная вода. Особые требования см. в разделе «Особые инструкции для утвержденных методов».

**Не используйте с тест-пластинами Neogen Petrifilm CC разбавители, содержащие цитраты, бисульфиты или тиосульфаты, поскольку эти вещества могут замедлить рост бактерий.** Если стандартная методика предполагает использование цитратного буфера, его необходимо заменить буфером из списка выше, нагретым до температуры 40–45 °C (104–113 °F).

2. Перемешайте или гомогенизируйте образец.
3. Для обеспечения оптимального роста и выхода микроорганизмов доведите pH суспензии образца до уровня 6.6–7.2. Для кислых продуктов отрегулируйте уровень pH с помощью 1N NaOH. Для щелочных продуктов отрегулируйте уровень pH с помощью 1N HCl.

### Посев

1. Поместите тест-пластину Neogen Petrifilm CC на плоскую горизонтальную поверхность.
2. Поднимите покрывающую пленку и пипеткой, расположенной перпендикулярно к зоне посева, нанесите на центральную часть подложной пленки 1 мл суспензии образца.
3. Осторожно опустите верхнюю пленку на образец, не допуская образования пузырьков воздуха.
4. Поместите распределитель Neogen® Petrifilm® плоской стороной вниз в центре тест-пластины Neogen Petrifilm CC. Осторожно надавите на центральную часть распределителя Neogen Petrifilm, чтобы равномерно распределить образец. Распределите посевной материал по всей области роста на тест-пластине Neogen Petrifilm CC до образования геля. Не разглаживайте пленку распределителем Neogen Petrifilm.
5. Для образования геля уберите распределитель Neogen Petrifilm и не прикасайтесь к тест-пластине Neogen Petrifilm CC не менее одной минуты.

### Инкубация

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх в стопках не более чем по 20 тест-пластин. Можно использовать разные периоды инкубации и температуры в зависимости от используемых в текущий момент в регионе эталонных методов, некоторые из которых перечисляются в разделе «**Особые инструкции для утвержденных методов**».

### Интерпретация результатов

1. Подсчет микроорганизмов на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC можно выполнять с помощью стандартного счетчика колоний или другого подсвечиваемого увеличителя. Газ, вырабатываемый колиформными бактериями, может разрушить колонию, в результате чего она будет «окаймлять» пузырек. Такую колонию следует считать одной колонией колиформных бактерий. При подсчете не учитывайте колонии на пенной перемычке, поскольку они не подвергались селективному воздействию питательной среды. При подсчете не учитывайте артефактные пузырьки.

Интерпретация результатов подсчета колоний колиформных бактерий на тест-пластине Neogen Petrifilm CC различна в зависимости от используемого эталонного метода подсчета. Примерами могут служить следующие источники.

АОАС® Official Methods<sup>SM</sup>.

Колонии колиформных бактерий имеют красный цвет и непосредственно связаны (в пределах одного диаметра колонии) с пузырьками газа. Колонии, не связанные с газом (расстояние между колонией и пузырьком газа больше одного диаметра колонии), не учитываются при подсчете как колонии колиформных бактерий.

ИЛИ

Методы, сертифицированные NF Validation.

- В отличие от метода 4831 по ISO<sup>2</sup> (метод MPN) предполагается, что колиформные бактерии имеют красный цвет и непосредственно связаны (в пределах одного диаметра колонии) с пузырьками газа.
- В отличие от метода 4832 по ISO<sup>1</sup> (общее количество колиформных бактерий) и NF V08-060<sup>3</sup> (колиформные бактерии в фекалиях), которые основаны на использовании VRBL, считаются все красные колонии с пузырьками газа и без них.

2. Площадь круглой области роста составляет приблизительно 20 см<sup>2</sup>. Проводить оценку на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC, содержащих более 150 колоний, можно путем подсчета количества колоний на одном или более репрезентативных квадратах и определения среднего количества на квадрат. Умножьте среднее число на 20, чтобы определить расчетное количество на тест-пластину Neogen Petrifilm CC.
3. Если колонии присутствуют в больших количествах, то на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC возможно увеличение интенсивности цвета геля, а также наличие одного из или обоих следующих признаков: множество небольших, нечетких колоний и (или) множество пузырьков газа. При высоких концентрациях колиформных бактерий область роста приобретает темно-красный цвет. В таких случаях результат следует записывать как слишком большое для подсчета количество (TNTC). Если требуется подсчет фактического количества бактерий, сделайте посев при большем разведении.
4. При необходимости колонии можно изолировать для дальнейшего исследования. Поднимите покрывающую пленку, используя надлежащую методику проведения анализа, и извлеките колонию из геля. Проводите анализ по стандартным правилам.
5. При невозможности подсчета бактерий на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC в течение 1 часа после извлечения из инкубатора их можно хранить для последующего подсчета в морозильной камере в герметичном контейнере при температуре не выше минус 15 °C (5 °F) не более одной недели.

## Приготовление и инкубация образцов бутилированной воды, интерпретация результатов анализа

### Смочите тест-пластины Neogen Petrifilm CC

1. Поместите тест-пластину Neogen Petrifilm CC на плоскую горизонтальную поверхность.
2. Поднимите покрывающую пленку и внесите 1 мл надлежащего стерильного разбавителя для смачивания по центру подложной пленки. К надлежащим стерильным разбавителям для смачивания относятся: дистиллированная вода, деионизированная (DI) вода и обратноосмотическая (RO) вода.
3. Осторожно опустите верхнюю пленку на образец, не допуская образования пузырьков воздуха.
4. Поместите распределитель Neogen Petrifilm плоской стороной вниз в центре тест-пластины. Осторожно надавите на центральную часть распределителя, чтобы равномерно распределить разбавитель. Распределите разбавитель по всей области роста на тест-пластине Neogen Petrifilm до образования геля. Не разглаживайте пленку распределителем.
5. Снимите распределитель и оставьте тест-пластины закрытыми не менее чем на 1 час, прежде чем продолжить работу с ними.
6. Храните смоченные тест-пластины Neogen Petrifilm CC в запечатанной упаковке или полиэтиленовом пакете. Защищайте тест-пластины от солнечного света и храните их в холодильной камере при температуре 2–8 °C (36–46 °F) не более 7 дней.

### Фильтрация воды и инкубация тест-пластин

1. Следуя стандартным правилам исследования воды, отфильтруйте образец воды через мембранный фильтр. Используйте фильтр из смеси сложных эфиров целлюлозы (MCE) 47 мм с порами размером 0,45 микрона.
2. Осторожно поднимите покрывающую пленку тест-пластины Neogen Petrifilm CC. Не прикасайтесь к круглой области роста. Поместите фильтр в центр смоченной области. Сведите к минимуму образование пузырьков под фильтром.
3. Медленно опустите покрывающую пленку на фильтр. Сведите к минимуму образование пузырьков воздуха и зазоров между фильтром и тест-пластиной Neogen Petrifilm CC.
4. Слегка надавите сверху распределителем тест-пластины Neogen Petrifilm или осторожно проведя пальцем по всей площади диска (включая края), чтобы обеспечить равномерный контакт фильтра с гелем и удалить пузырьки воздуха.
5. Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC при температуре 35 °C ± 1 °C в течение 24 ± 2 часов<sup>11</sup> или 36 °C ± 1 °C в течение 24 ± 2 часов<sup>12</sup> в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх в стопках не более чем по 20 тест-пластин.

### Интерпретация результатов

1. Подсчет микроорганизмов на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC можно выполнять с помощью стандартного счетчика колоний или другого подсвечиваемого увеличителя. При подсчете не учитывайте колонии на пенной перемычке, поскольку они не подвергались селективному воздействию питательной среды. При подсчете не учитывайте артефактные пузырьки.
2. Колонии красного цвета, связанные с пузырьками газа, считаются колониями колиформных бактерий. Пузырьки газа могут располагаться вокруг колонии в виде кольца или звездообразно. Газ, вырабатываемый колиформными бактериями, может разрушить колонию, в результате чего она будет «окаймлять» пузырек. Такую колонию следует считать одной колонией колиформных бактерий. Колонии, красный цвет которых не соотносится непосредственно с наличием пузырьков газа, могут являться колониями колиформных бактерий. Их следует отделять и подвергать дальнейшему анализу, используя надлежащие методы подтверждения<sup>11,12</sup>.
3. Если колонии присутствуют в больших количествах, то на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC возможно увеличение интенсивности цвета геля, а также наличие множества небольших, нечетких колоний и или пузырьков газа. В таких случаях результат следует записывать как слишком большое для подсчета количество (TNTC).
4. Колонии можно изолировать для дальнейшего исследования. Поднимите покрывающую пленку и извлеките из геля или снимите с поверхности фильтра колонию. При поднятии покрывающей пленки фильтр может прилипнуть к покрывающей или подложной пленке. Если фильтр прилип к покрывающей пленке, отделите фильтр от покрывающей пленки и снимите колонии. Проводите анализ по стандартным правилам.

**Примечание.** Откладывание подсчета бактерий на тест-пластинах Neogen Petrifilm CC с фильтрами не рекомендуется.

Подробнее см. в соответствующем руководстве по интерпретации результатов, полученных с помощью тест-пластин Neogen® Petrifilm® для подсчета колиформных бактерий. Если у вас возникли вопросы по каким-либо областям или методикам применения продукта, посетите наш веб-сайт по адресу [www.neogen.com](http://www.neogen.com) или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании Neogen.

#### **Особые инструкции к утвержденным методам**

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Подсчет колиформных и других бактерий в молоке, методы с использованием сухих регидратируемых пленок, и 989.10 Подсчет колиформных и других бактерий в молочных продуктах, методы с использованием сухих регидратируемых пленок)

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $32 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Подсчет колиформных бактерий и *Escherichia coli* в пищевых продуктах, методы с использованием сухих регидратируемых пленок)

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **Сертификат AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> № 082101**

В исследовании AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) было установлено, что метод с использованием тест-пластины Neogen Petrifilm CC эквивалентен методу определения среднего значения с помощью логарифма FDA/BAM, глава 4, раздел III.D для подсчета колиформных бактерий в бутилированной воде.



#### **Объект валидации**

Бутилированная вода: очищенная вода, очищенная родниковая вода, негазированная природная родниковая вода, газированная природная родниковая вода.

#### **Инкубация**

Инкубировать тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **NF Validation от AFNOR Certification**

**Сертифицированный NF Validation метод по стандарту ISO 16140-2<sup>10</sup> в отличие от ISO 4832<sup>1</sup> (ЗМ-01/02-09/89 А)**

#### **Объект валидации**

Для исследования образцов всех пищевых продуктов, предназначенных для человека (за исключением сырых моллюсков и ракообразных), кормов для домашних животных и образцов окружающей среды.

При работе по вышеизложенным инструкциям придерживайтесь следующих рекомендаций.

#### **Приготовление образца:**

Пользуйтесь только предусмотренными ISO разбавителями.

#### **Инкубация:**

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  или  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **Интерпретация результатов**

Подсчитайте количество микроорганизмов в исследуемом образце методом ISO 7218<sup>5</sup> для одной тест-пластины на каждое разведение. Приблизительные подсчеты не являются объектом сертификации NF Validation (ср. пункт 2 раздела об интерпретации результатов).

**Сертифицированный NF Validation метод по стандарту ISO 16140-2<sup>10</sup> в отличие от ISO 4831<sup>2</sup> (ЗМ-01/02-09/89 В)**

#### **Объект валидации**

Для исследования образцов всех пищевых продуктов, предназначенных для человека (за исключением сырых моллюсков и ракообразных).

При работе по вышеизложенным инструкциям придерживайтесь следующих рекомендаций.

#### **Приготовление образца**

Пользуйтесь только предусмотренными ISO разбавителями.

#### **Инкубация**

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  или  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### **Интерпретация результатов**

Подсчитайте количество микроорганизмов в исследуемом образце методом ISO 7218<sup>5</sup> для одной тест-пластины на каждое разведение. Приблизительные подсчеты не являются объектом сертификации NF Validation (ср. пункт 2 раздела об интерпретации результатов).

### **Сертифицированный NF Validation метод по стандарту ISO 16140-2<sup>10</sup> в отличие от NF V08-060<sup>3</sup> (ЗМ-01/02-09/89 С)**

#### **Объект валидации**

Для исследования образцов всех пищевых продуктов, предназначенных для человека

При работе по вышеизложенным инструкциям придерживайтесь следующих рекомендаций.

#### **Приготовление образца**

Пользуйтесь только предусмотренными ISO разбавителями.

#### **Инкубация**

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm CC в течение  $24 \pm 2$  часов при температуре  $44 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **Интерпретация результатов**

Подсчитайте количество микроорганизмов в исследуемом образце методом ISO 7218<sup>5</sup> для одной тест-пластины на каждое разведение. Приблизительные подсчеты не являются объектом сертификации NF Validation (ср. пункт 2 раздела об интерпретации результатов). Информацию о посевах, определении количества колоний, вычислениях и интерпретации результатов см. в стандарте EN ISO 7218.



**ЗМ 01/02 – 09/89А, В, and С**  
**АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЛЯ АГРОПРОМЫШЛЕННОСТИ**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

Подробнее о сроке действия см. в сертификате NF VALIDATION на указанном выше веб-сайте.

## Ссылки

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

См. действующие версии указанных выше стандартных методов.

## Пояснения к символам

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

АОАС – зарегистрированный товарный знак AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods — марка обслуживания AOAC INTERNATIONAL.

Performance Tested Method является знаком обслуживания AOAC INTERNATIONAL.



# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## Ürün Talimatları

### Koliform Sayım Plakası

#### Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı

Neogen® Petrifilm® Koliform Sayım (CC) Plakası; soğuk suda çözünen jelleştirici bir madde olan modifiye edilmiş Violet Red Bile (VRB) besin maddeleri ve koloni sayımını kolaylaştıran bir tetrazolyum göstergesini içeren numune almaya hazır kültür besiyeri sistemidir. Neogen Petrifilm CC Plakaları, gıda, içecek ve şişelenmiş su endüstrilerinde koliform sayımı için kullanılır. Neogen Petrifilm CC Plakası bileşenleri dekontamine edilmiştir ama sterilize değildir. Neogen Gıda Güvenliği, Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı (ISO) 9001 tasarım ve üretim sertifikasına sahiptir. Neogen Petrifilm CC Plakası, tüm olası gıda ürünleri, gıda prosesleri, test protokolleri veya tüm olası mikroorganizma suşlarıyla değerlendirmeye tabi tutulmamıştır.

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Bakteriyolojik Analiz Kılavuzu (BAM)<sup>7</sup> koliformları, laktoz fermentasyonundan asit ve gaz üreten gram-negatif çomaklar olarak tanımlar. Neogen Petrifilm CC Plakasının üzerinde üreyen koliform kolonileri asit üretir bu da pH göstergesinin jel rengini derinleştirmesine yol açar. Kırmızı kolonilerin etrafına sıkışan gaz koliform varlığını gösterir.

ISO, koliformları yöntem özüğü, seçici besiyerindeki üreme özelliklerine göre tanımlar. Koliformları koloni sayım tekniğine göre sayan ISO yöntemi 4832<sup>1</sup>, koliformları laktozlu VRB (VRBL) agarı üzerinde asit üreticileri olarak tanımlar. Neogen Petrifilm CC Plakalarının üzerinde bu asit üreten koliformlar gaz üretimi olan ve olmayan kırmızı kolonilerle gösterilir. Koliformları en yüksek olasılıklı sayı (MPN) yöntemine göre sayan ISO yöntemi 4831<sup>2</sup>, koliformları seçici sıvı besiyerinde üreme ve laktozdan gaz üretme yeteneğine göre tanımlar. Neogen Petrifilm CC Plakalarının üzerinde bu koliformlar gazla ilişkili kırmızı kolonilerle gösterilir.

Şişelenmiş su örnekleri için, doğrulanmış koliform kolonileri Neogen Petrifilm CC Plakalarının üzerinde gazla ilişkili kırmızı kolonilerle gösterilir. Yakından ilişkilendirilmiş gaz kabarcıkları olmayan kırmızı koloniler koliform olabilir ve uygun doğrulama yöntemleri ile alt kültürleme yapılmalı ve test edilmelidir<sup>11,12</sup>. Ek ayrıntılar için Yorumlama bölümüne bakın. Karakteristik koloniler *Escherichia coli* olarak alt kültürlenebilir ve test edilebilir.

AFNOR Certification, toplam koliformların sayımı için Neogen Petrifilm CC Plakasını ISO yöntemi 4831<sup>2</sup> ve ISO yöntemi 4832<sup>1</sup>'ye kıyasla onaylamıştır. AFNOR Certification aynı zamanda sıcaklığa dayanıklı olan koliformların sayımı için Neogen Petrifilm CC Plakasını NF V08-060<sup>3</sup>'a kıyasla onaylamıştır.

#### Güvenlik

Kullanıcı, Neogen Petrifilm CC Plakası talimatlarındaki tüm güvenlik bilgilerini okumalı, anlamalı ve bunlara uymalıdır. Güvenlik talimatlarını ileride başvurmak üzere saklayın.

**⚠ UYARI:** Önlenmemesi halinde ölüm ya da ciddi yaralanma ve/veya mal zararı ile sonuçlanabilecek tehlikeli bir durumu gösterir

#### ⚠ UYARI

##### Biyolojik tehlikelere ve çevresel kontaminasyona maruz kalmayla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Biyolojik tehlike teşkil eden atıkların atılmasında geçerli endüstri standartlarına ve yerel düzenlemelere uyun.

##### Kontamine ürünün piyasaya sürülmesiyle ilişkili riskleri azaltmak için:

- Kullanım talimatlarında yer alan tüm ürün saklama talimatlarına uyun.
- Son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanmayın.

##### Bakteriyel enfeksiyon ve iş yeri kontaminasyonu ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Neogen Petrifilm CC Plakası testini, uzman bir mikrobiyoloğun kontrolü altında uygun şekilde donatılmış bir laboratuvarında gerçekleştirin.
- Kullanıcı, personelinin mevcut doğru test teknikleri konusunda eğitmelidir; örneğin, İyi Laboratuvar Uygulamaları<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup> veya ISO 17025<sup>6</sup>.

##### Sonuçların yanlış yorumlanmasına ilişkin riskleri azaltmak için:

- Neogen, Neogen Petrifilm CC Plakalarının şişelenmiş sular dahil olmak üzere yiyecek ve içecek dışındaki sektörlerde kullanımını belgelendirmemiştir. Örneğin Neogen, Neogen Petrifilm CC Plakalarını, farmasötik veya kozmetik ürünlerin test edilmesi için belgelendirmemiştir. Neogen, Neogen Petrifilm CC Plakalarını yüzey suları ve şebeke sularının veya farmasötik veya kozmetik endüstrilerinde kullanılan suların test edilmesi için belgelendirmemiştir.
- Yerel su kaynaklarının test edilmesiyle ilgili düzenlemelere uygun olarak su numunelerini test etmek için Neogen Petrifilm CC Plakalarının kullanılması tamamıyla son kullanıcının takdirine bağlıdır ve onun sorumluluğundadır. Neogen Petrifilm CC Plakaları, olabilecek tüm şişelenmiş su numuneleriyle, test protokolleriyle veya tüm olası mikroorganizma suşlarıyla test edilmemiştir.



(Türkçe)



- Neogen Petrifilm CC Plakalarını insan ya da hayvan sağlık sorunlarının tanısında kullanmayın.
- Neogen Petrifilm CC Plakaları bir koliform suşunu başka bir koliform suşundan ayırt etmez.
- Yüksek şeker içeriğine sahip gıdalar, koliform olmayan *Enterobacteriaceae*'den gaz üretimi potansiyelini artırabilir.

Detaylı bilgi için Güvenlik Veri Formuna başvurun.

Ürün performansı belgeleri hakkında bilgi için [www.neogen.com](http://www.neogen.com) adresindeki web sitemizi ziyaret edin ya da Neogen temsilciniz veya yetkili distribütörünüz ile iletişim kurun.

## Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar ürün talimatları ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için [www.neogen.com](http://www.neogen.com) adresindeki web sitemizi ziyaret edin ya da Neogen temsilciniz veya yetkili distribütörünüz ile iletişim kurun.

Bir test yöntemi seçilirken, numune alma yöntemleri, test protokolleri, numunenin hazırlanması, işlem yapılması ve laboratuvar tekniği gibi dış faktörlerin sonuçları etkileyebileceği bilinmelidir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek uygun matrisler ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin seçilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinin ve sonuçlarının müşteri ve tedarikçi gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir Neogen Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasından elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

## Garantilerin Sınırlandırılması/Sınırlı Çözüm

NEOGEN, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR AÇIK VEYA ZİMNİ GARANTİYİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir Neogen Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, Neogen veya yetkili dağıtıcısı, tercihinine göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Üründe mevcut olduğundan kuşku duyulan herhangi bir kusurun fark edilmesinden sonraki altmış gün içinde durumu Neogen'e bildirin veya ürünü Neogen'e iade edin. Diğer her türlü sorunuz için lütfen Neogen temsilciniz veya yetkili Neogen distribütörünüz ile iletişim kurun.

## Neogen'in Sınırlı Sorumluluğu

NEOGEN DOĞRUDAN, DOLAYLI, ÖZEL, ARIZİ VEYA NETİCE KABİLİNDEN DOĞMUŞ, KAYBEDİLMİŞ KAZANÇLAR DAHİL ANCAK BUNUNLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR KAYIP VEYA ZARARDAN SORUMLU OLMAYACAKTIR. Hiçbir durumda Neogen'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

## Saklama

Açılmamış Neogen Petrifilm CC Plakası poşetlerini 8°C'ye (46°F) eşit veya bundan daha düşük sıcaklıklarda soğutulmuş veya dondurulmuş olarak muhafaza edin. Kullanım öncesinde, açılmamış Neogen Petrifilm CC Plakası poşetlerini açmadan önce poşetlerin oda sıcaklığına gelmesini bekleyin. Kullanılmamış Neogen Petrifilm CC Plakalarını poşete geri koyun. Poşetin ucunu katlayıp yapıştırıcı bant uygulayarak ağzını kapatın. **Ürünün neme maruz kalmasını önlemek için açılmış poşetleri soğutucuya koymayın.** Yeniden kapatılmış poşetleri dört haftadan uzun olmamak kaydıyla serin ve kuru bir yerde saklayın. Laboratuvar sıcaklığı 25°C'yi (77°F) aşılırsa ve/veya laboratuvar, bağıl nemin %50'yi aştığı bir bölgedeyse (klimalı tesisler hariç), ağzı yeniden kapatılmış Neogen Petrifilm CC Plakası poşetlerinin bir dondurucuda (aşağıya bakın) saklanması önerilir.

Ağzı açılmış poşetleri bir dondurucuda saklamak için Neogen Petrifilm CC Plakalarını hava sızdırmayan bir kutuya koyun. Kullanmak üzere dondurulmuş Neogen Petrifilm CC Plakalarını çıkarmak için kabı açın, gerekli olan plakaları çıkarın ve kalan raf ömrü için kalan plakaları derhal yalıtımlı kap içinde dondurucuya geri koyun. Neogen Petrifilm CC Plakaları son kullanma tarihinden sonra kullanılmamalıdır. Açık poşetin saklanması için kullanılan dondurucu otomatik bir buz çözme döngüsüne sahip olmamalıdır; aksi halde bu durum Neogen Petrifilm CC Plakalarını tekrarlı olarak plakalara zarar verebilecek neme maruz bırakacaktır.

Rengi değişmiş olan Neogen Petrifilm CC Plakalarını kullanmayın. Son kullanma tarihi ve lot numarası, her bir Neogen Petrifilm CC Plakası paketi üzerinde belirtilmiştir. Lot numarası ayrıca Neogen Petrifilm CC Plakalarının her birinde bulunur.

## ⚠ Atma

Kullanım sonrasında, Neogen Petrifilm CC Plakaları biyolojik tehlike oluşturma potansiyeline sahip mikroorganizmalar içerebilir.

Ürünün atılması ile ilgili geçerli endüstri standartlarına uyun.

## Kullanım Talimatları

Tüm talimatlara dikkatle uyun. Bu uyarının dikkate alınmaması hatalı sonuçlara neden olabilir.



# Çevreden Alınan Numuneler Dahil (Şişelenmiş Sular Hariç) Yiyecek ve İçecek Endüstrilerinden Alınan Numunelerin Hazırlanması, İnkübasyonu ve Yorumlanması

## Numune Hazırlama

### 1. Uygun steril seyrelticiler kullanın:

Butterfield fosfat tamponlanmış seyreltme suyu<sup>7</sup>, %0,1 peptonlu su<sup>8</sup>, peptonlu tuz seyrelticileri<sup>8,9</sup>, Tamponlanmış Peptonlu Su<sup>8,9</sup>, salin çözeltisi (%0,85 %0,90), Neogen® Geniş Spektrumlu Nötrleştirici, bisülfid içermeyen letheen suyu veya damıtılmış su. Özel gereksinimler için “**Valide Edilmiş Yöntemler için Özel Talimatlar**” bölümüne bakın.

**Üremeyi engelleyebileceğinden, sitrat, bisülfid veya tiyosülfat içeren seyrelticileri Neogen Petrifilm CC Plakalarıyla kullanmayın.** Standart prosedürde sitratlı tampon belirtilmişse bunun yerine 40-45°C'ye (104-113°F) ısıtılmış yukarıda belirtilen tamponlardan birisini kullanın.

### 2. Numuneyi karıştırın veya homojenize edin.

### 3. Mikroorganizmaların optimum üremesi ve geri kazanımı için numune süspansiyonunun pH'ını 6,6-7,2 aralığına ayarlayın. Asidik ürünler için pH'ı 1N NaOH ile ayarlayın. Alkalın ürünler için pH'ı 1N HCl ile ayarlayın.

## Kaplama

### 1. Neogen Petrifilm CC Plakasını düz, eğimsiz bir yüzeye yerleştirin.

### 2. Üstteki film tabakasını kaldırın ve pipeti inokülasyon alanına dik tutarak numune süspansiyonundan 1 mL alıp alttaki film tabakasının ortasına dağıtın.

### 3. Hava kabarcıklarının yakalanmasını önlemek için üst film tabakasını numunenin üstüne yuvarlayarak yerleştirin.

### 4. Neogen® Petrifilm® Dağıtıcıyı, düz tarafı aşağı bakacak şekilde Neogen Petrifilm CC Plakasının ortasına yerleştirin. Numuneyi eşit şekilde dağıtmak için Neogen Petrifilm Dağıtıcının ortasına hafifçe bastırın. Jel oluşmadan önce inokülümü Neogen Petrifilm CC Plakasının tüm üreme alanına yayın. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı film tabakasının üzerinde kaydırmayın.

### 5. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı kaldırın ve Neogen Petrifilm CC Plakasını hiç kıpırdatmadan en az bir dakika kadar jelin oluşmasını bekleyin.

## İnkübasyon

Neogen Petrifilm CC Plakalarını yatay bir konumda, temiz kısmı yukarı bakacak ve üst üste 20 plakadan fazla olmayacak şekilde inkübe edin. Mevcut yerel referans yöntemlere göre farklı inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları kullanılabilir; bunların bir kısmı “**Valide Edilmiş Yöntemler için Özel Talimatlar**” bölümünde listelenmiştir.

## Yorumlama

### 1. Neogen Petrifilm CC Plakaları, standart bir koloni sayacı veya başka bir aydınlatmalı büyüteç kullanarak sayılabilir. Koliform tarafından üretilen gaz koloniyi bozabilir bu da koloninin kabarcığın “etrafında çizgi oluşturmaya” yol açar. Bu tek bir koliform olarak sayılmalıdır. Köpük seti üzerindeki koloniler, besiyerinin seçici etkisinden çıktığı için bu kolonileri saymayın. Mevcut olabilecek yapay kabarcıkları saymayın.

Neogen Petrifilm CC Plakası üzerindeki koliform kolonilerinin yorumlanması, referans yönteme göre farklılık gösterir. Örneğin:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

Koliform kolonileri kırmızıdır ve sıkışmış gazla yakından ilişkilidir (bir koloni çapı içinde). Gazla ilişkili olmayan koloniler (koloni ile gaz kabarcığı arasında bir koloni çapından daha büyük bir mesafe) koliform olarak sayılmaz.

YA DA NF Validation onaylı yöntemler:

- ISO yöntemi 4831<sup>2e</sup> (MPN yöntemi) göre koliform kolonileri kırmızı renklidir ve sıkışmış gazla yakından ilişkilidir (bir koloni çapı içinde).
- Her ikisi de VRBL yöntemlerine dayalı olan ISO yöntemi 4832<sup>1</sup> (toplam koliform) ve NF V08-060<sup>3</sup> (fokal koliformlar) yöntemlerine kıyasla, gazlı veya gazsız olarak tüm kırmızı koloniler sayılır.

### 2. Dairesel üreme alanı yaklaşık 20 cm<sup>2</sup>'dir. Tahminler, bir veya daha fazla temsili karedeki koloni sayısı sayılarak ve her kare için ortalama sayı belirlenerek 150'den fazla koloni içeren Neogen Petrifilm CC Plakaları üzerinde yapılabilir. Neogen Petrifilm CC Plakası başına tahmini sayımı belirlemek için ortalama sayıyı 20 ile çarpın.

### 3. Çok sayıda koloni varsa, Neogen Petrifilm CC Plakalarında jel rengi derinleşebilir ve aşağıdaki özelliklerden birine veya her ikisine birden sahip olabilir: çok sayıda küçük, belli belirsiz koloniler ve/veya çok fazla gaz kabarcığı. Yüksek konsantrasyonlara sahip koliformlar üreme alanının koyu kırmızıya dönmesine neden olacaktır. Bu durum gerçekleşirse, sonuçları sayılamayacak kadar çok (TNTC) olarak kaydedin. Gerçek bir sayım gerekiyorsa test işlemi daha yüksek seyreltmelerde gerçekleştirin.

### 4. Gerektiğinde daha net tanımlama için koloniler izole edilebilir. Doğru test tekniğini kullanarak üstteki tabakayı kaldırın ve koloniyi jelden alın. Standart prosedürleri kullanarak test edin.

### 5. Neogen Petrifilm CC Plakaları inkübatörden çıkarıldıktan sonra 1 saat içinde sayılmazsa, daha sonra sayım için bir haftadan daha uzun olmamak kaydıyla eksi 15°C'ye (5°F) eşit veya bu değerden daha düşük sıcaklıklarda kapatılabilir bir kutuda dondurularak saklanabilir.



## Şişelenmiş Su Örneklerinin Hazırlanması, İnkübasyonu ve Yorumlanması Neogen Petrifilm CC Plakalarının Hidratlanması

1. Neogen Petrifilm CC Plakasını düz, eğimsiz bir yüzeye yerleştirin.
2. Üstteki film tabakasını kaldırın ve uygun steril hidrasyon seyrelticisinden 1 mL alıp alttaki film tabakasının ortasına uygulayın. Uygun steril hidrasyon seyrelticiyi distile su, deiyonize edilmiş (DI) su ve ters ozmos (RO) suyu içerir.
3. Hava kabarcıklarının yakalanmasını önlemek için üst film tabakasını numunenin üstüne yuvarlayarak yerleştirin.
4. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı, düz tarafı aşağı bakacak şekilde plakanın ortasına yerleştirin. Seyrelticiyi eşit şekilde dağıtmak için dağıtıcının ortasına hafifçe bastırın. Jel oluşmadan önce seyrelticiyi Neogen Petrifilm Plakasının tüm üreme alanına sürün. Dağıtıcıyı film tabakasının üzerinde kaydırmayın.
5. Dağıtıcıyı kaldırın ve plakaları kullanmadan önce en az 1 saat süreyle kapalı şekilde bırakın.
6. Hidratlanmış Neogen Petrifilm CC Plakalarını kapatılmış bir poşet veya plastik kese içinde saklayın. Plakaları ışıktan koruyun ve 2-8°C (36-46°F) arasında 7 güne kadar soğutulmuş olarak saklayın.

## Su Filtrasyonu ve Plaka İnkübasyonu

1. Su analizi için standart prosedürleri izleyerek, 47 mm, 0,45 mikron gözenekli Karışık Selüloz Esteri (MCE) filtresi kullanarak su numunesini membran filtreyle filtreleyin.
2. Neogen Petrifilm CC Plakasının üst film tabakasını dikkatli bir şekilde kaldırın. Dairesel üreme alanına dokunmayın. Filtreyi hidratlanmış alanın ortasına yerleştirin. Filtrenin altında kabarcık oluşumunu minimize edin.
3. Üstteki film tabakayı yavaşça filtrenin üzerine yuvarlayın. Hava kabarcığı oluşumunu ve filtre ve Neogen Petrifilm CC Plakası arasında boşluk oluşumunu minimize edin.
4. Filtrenin jel ile eşit bir şekilde temas etmesini ve hava kabarcığı oluşmamasını sağlamak için Neogen Petrifilm Plakasının dağıtıcısını kullanarak veya bir parmağınızı tüm disk alanı boyunca yavaşça kaydırarak hafifçe baskı uygulayın (kenarlar dahil olmak üzere).
5. Neogen Petrifilm CC Plakalarını 24 ± 2 saat<sup>11</sup> boyunca 35°C ± 1°C veya 24 ± 2 saat<sup>12</sup> boyunca 36°C ± 1°C sıcaklıkta yatay bir konumda, temiz kısmı yukarı bakacak ve üst üste 20 taneden fazla olmayacak şekilde inkübe edin.

## Yorumlama

1. Neogen Petrifilm CC Plakaları, standart bir koloni sayacı veya başka bir aydınlatmalı büyüteç kullanarak sayılabilir. Köpük seti üzerindeki koloniler, besiyerinin seçici etkisinden çıktığı için bu kolonileri saymayın. Mevcut olabilecek yapay kabarcıkları saymayın.
2. Gaz kabarcıklarıyla ilişkilendirilen kırmızı koloniler koliform olarak sayılır. Gaz kabarcıkları koloninin etrafında dairesel veya yıldız şeklinde bir desen oluşturabilir. Koliformlar tarafından üretilen gaz koloniyi bozabilir bu da koloninin kabarcığın “etrafında çizgi oluşturmaya” yol açar. Bu tek bir koliform olarak sayılmalıdır. Yakından ilişkilendirilmiş gaz baloncukları olmayan kırmızı koloniler koliform olabilir ve alınmalı ve uygun doğrulama yöntemleri ile test edilmelidir<sup>11,12</sup>.
3. Çok sayıda koloni varsa, Neogen Petrifilm CC Plakalarında jel rengi derinleşir; bu durum çok sayıda küçük, belli belirsiz koloniler veya gaz kabarcıklarıyla ilişkilendirilmektedir. Bu durum gerçekleşirse, sonuçları sayılmayacak kadar çok (TNTC) olarak kaydedin.
4. Daha net tanımlama için koloniler izole edilebilir. Üstteki tabakayı kaldırın ve koloniyi jelden veya filtre yüzeyinden alın. Üstteki tabakayı kaldırırken, filtre üstteki veya alttaki film tabakaya yapışabilir. Filtre üstteki tabakaya yapışarsa, filtreyi üstteki film tabakadan ayırın ve kolonileri alın. Standart prosedürleri kullanarak test edin.

**Not:** Filtrelerin bulunduğu Neogen Petrifilm CC Plakalarının sayılmasının geciktirilmesi önerilmez.

Daha fazla bilgi için “Neogen® Petrifilm® Koliform Sayım Plakası Yorumlama Kılavuzu”na bakın. Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa [www.neogen.com](http://www.neogen.com) adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel Neogen temsilcisi ya da distribütörü ile iletişim kurun.

## Valide Edilmiş Yöntemler için Özel Talimatlar

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 Bacteria and Coliform Counts in Milk, Dry Rehydratable Film Methods and 989.10 Bacterial and Coliforms Counts in Dairy Products, Dry Rehydratable Film Methods)

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 24 ± 2 saat boyunca 32°C ± 1°C’de inkübe edin.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Foods, Dry Rehydratable Film Methods)

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 24 ± 2 saat boyunca 35°C ± 1°C’de inkübe edin.

## **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Certificate #082101**

AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) çalışmasında, şişelenmiş suda koliform sayımının hesaplanması için Neogen Petrifilm CC Plakası yönteminin FDA/BAM Bölüm 4, Kısım III.D yöntemindeki ortalama log sayımlarına eşdeğer olduğu bulunmuştur.

**Validasyonun Kapsamı:**

Şişelenmiş su: saf su, işlenmiş kaynak suyu, gazsız doğal kaynak suyu, gazlı doğal kaynak suyu.

**İnkübasyon:**

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 35°C ± 1°C'de 24 ± 2 saat inkübe edin.

**AFNOR Certification ile NF Validation:**

**ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)'ya kıyasla ISO 16140-2<sup>10</sup>'ye uygun NF Validation onaylı yöntem**

**Validasyonun kapsamı:** Tüm insan yiyeceği ürünlerinin (pişirilmemiş kabuklu deniz ürünleri hariç), evcil hayvan yiyeceklerinin ve çevreden alınan numunelerin test edilmesi için.

Yukarıdaki Kullanım Talimatlarını yerine getirirken aşağıdaki ayrıntılardan faydalanın:

**Numune hazırlama:**

Sadece ISO listesinde bulunan seyrelticileri kullanın.

**İnkübasyon:**

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 30°C ± 1°C veya 37°C ± 1°C'de 24 ± 2 saat inkübe edin.

**Yorumlama:**

ISO 7218<sup>5</sup> uyarınca seyrelti başına bir plaka için test numunesinde bulunan mikroorganizma sayısını hesaplayın. Tahminler, NF Validation onayı dışındadır (yorumlama bölümü 2. paragraf ile kıyaslayın).

**ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)'ye kıyasla ISO 16140-2<sup>10</sup>'ye uygun NF Validation onaylı yöntem**

**Validasyonun kapsamı:** Tüm insan yiyeceği ürünlerinin (pişirilmemiş kabuklu deniz ürünleri hariç) test edilmesi için.

Yukarıdaki Kullanım Talimatlarını yerine getirirken aşağıdaki ayrıntılardan faydalanın:

**Numune hazırlama:**

Sadece ISO listesinde bulunan seyrelticileri kullanın.

**İnkübasyon:**

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 30°C ± 1°C veya 37°C ± 1°C'de 24 ± 2 saat inkübe edin.

**Yorumlama:**

ISO 7218<sup>5</sup> uyarınca seyrelti başına bir plaka için test numunesinde bulunan mikroorganizma sayısını hesaplayın. Tahminler, NF Validation onayı dışındadır (yorumlama bölümü 2. paragraf ile kıyaslayın).

**ISO V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)'ye kıyasla ISO 16140-2<sup>10</sup>'ye uygun NF Validation onaylı yöntem**

**Validasyonun kapsamı:** Tüm insan yiyeceği ürünlerinin test edilmesi için

Yukarıdaki Kullanım Talimatlarını yerine getirirken aşağıdaki ayrıntılardan faydalanın:

**Numune hazırlama:**

Sadece ISO listesinde bulunan seyrelticileri kullanın

**İnkübasyon:**

Neogen Petrifilm CC Plakalarını 44°C ± 1°C'de 24 ± 2 saat inkübe edin.

**Yorumlama:**

ISO 7218<sup>5</sup> uyarınca seyrelti başına bir plaka için test numunesinde bulunan mikroorganizma sayısını hesaplayın. Tahminler, NF Validation onayı dışındadır (yorumlama bölümü 2. paragraf ile kıyaslayın). İnkübasyon, koloni sayımı ve sonuçların hesaplanması ve sunumu hakkında bilgi için EN ISO 7218 standardına başvurun.



**3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

Validasyonun bitiş tarihi ve geçerliliği ile ilgili daha fazla bilgi için lütfen yukarıda bahsi geçen web sitesindeki NF VALIDATION sertifikasına bakın.

## Referanslar

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

Yukarıda listelenen standart yöntemlerin güncel versiyonlarına başvurun.

## Sembollerin Açıklaması

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC, AOAC INTERNATIONAL şirketinin tescilli ticari markasıdır.

Official Methods, AOAC INTERNATIONAL şirketinin hizmet markasıdır.

Performance Tested Method, AOAC INTERNATIONAL şirketinin hizmet markasıdır.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A



## 製品情報

## 大腸菌群数測定用プレート

## 製品の説明および用途

Neogen® ペトリフィルム® 大腸菌群数測定用プレート (Ccプレート) は、改良型バイオレットレッド胆汁 (VRB) 培地の栄養成分、冷水可溶性ゲル化剤、およびコロニー数を数えやすくするテトラゾリウム指示薬を含む培養システムで、検体をそのまま検査できます。NeogenペトリフィルムCCプレートは、食品・飲料および容器入り飲用水業界において大腸菌群数を測定するために使用されています。NeogenペトリフィルムCCプレートの成分は、滅菌されていませんが除染済みです。Neogen食品衛生部門は、設計と製造についてISO (国際標準化機構) 9001認証を取得しています。NeogenペトリフィルムCCプレートは、すべての食料品、食品製造工程、検査プロトコルや、すべての混入しうる微生物菌株について評価されているわけではありません。

米国食品医薬品局 (FDA) 細菌学的分析マニュアル (BAM)<sup>7</sup>では、大腸菌は乳糖酵酵により酸およびガスを産生するグラム陰性桿菌と定義されています。NeogenペトリフィルムCCプレート上で生育する大腸菌群コロニーは酸を産生するためpH指示薬によりゲルの色が濃くなり、赤色のコロニー周囲に捕捉されたガスにより大腸菌群であることが示されます。

ISOでは、方法特異的な選択培地での生育可能性に基づいて大腸菌群を定義しています。コロニー計数法により大腸菌群数を測定するISOメソッド4832<sup>1</sup>では、大腸菌群は乳糖添加VRB寒天培地 (VRBL) 上で酸を産生する細菌と定義されています。NeogenペトリフィルムCCプレートでは、ガス産生が見られる、または見られない赤色のコロニーがこのような酸産生大腸菌群であることを示します。最確数 (MPN) メソッドにより大腸菌群数を測定するISOメソッド4831<sup>2</sup>では、選択プロセス中で生育できプロセス中の乳酸から酸を生成する能力があるものが大腸菌群として定義されています。NeogenペトリフィルムCCプレートでは、ガス産生が見られる赤色のコロニーを大腸菌群とします。

容器入り飲用水の検体については、NeogenペトリフィルムCCプレート上で気泡を伴う赤色のコロニーで大腸菌群を確認します。気泡を周囲に伴わない赤色のコロニーも大腸菌群である可能性があり、このようなコロニーは継代培養して適切な認定メソッド<sup>11,12</sup>で検査する必要があります。詳細については「判定」のセクションを参照してください。特徴的なコロニーを継代培養して *Escherichia coli* であるか検査することができます。

AFNOR Certificationは、ISO方法4831<sup>2</sup>およびISO方法4832<sup>1</sup>と比較した上で、総大腸菌群数を測定する方法としてNeogenペトリフィルムCCプレートを認証しました。また、AFNOR Certificationは、NF V08-060<sup>3</sup>と比較した上で、耐熱性大腸菌群数を測定する方法としてNeogenペトリフィルムCCプレートを認証しました。

## 安全性

NeogenペトリフィルムCCプレートの使用説明書にあるすべての安全情報をお読みにになり、よく理解し遵守してください。また、この安全性指示を保管し、後に参照できるようにしてください。

△警告:警告は、それを避けなければ死亡または重篤な傷害ないし物的損害が発生しうる危険な状況を示します

## ▲警告

バイオハザードや環境汚染への曝露に関連する危険を回避するには:

- バイオハザード廃棄物に関する現行の産業基準や地域の規制に従って廃棄してください。

汚染された製品の流出に伴う危険を回避するには:

- 使用説明書に記載されているすべての製品保管方法に従ってください。
- 使用期限を過ぎた製品は使用しないでください。

細菌感染や作業場の汚染に伴う危険を回避するには:

- NeogenペトリフィルムCCプレートによる検査は、熟練した微生物管理者の管理下で適切な設備のある検査室にて実施してください。
- 検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください (例:GLP<sup>4</sup>、ISO 7218<sup>5</sup>、ISO 17025<sup>6</sup>)。

結果の誤判定に関連する危険を回避するには:

- Neogenは、食品および飲料水以外の分野におけるNeogenペトリフィルムCCプレートの使用について検証しておりません。たとえば、Neogenは、NeogenペトリフィルムCCプレートを医薬品または化粧品検査に使用することについて検証を行っておりません。Neogenは、NeogenペトリフィルムCCプレートを地表水および水道水、または製薬業界や化粧品業界で使用される水の検査に使用することについて検証を行っておりません。
- 現地の水検査規制に従って水サンプルの検査にNeogenペトリフィルムCCプレートを使用するかは、エンドユーザーがその自由裁量およびその責任で決定してください。NeogenペトリフィルムCCプレートは、すべての容器入り飲用水検体、検査プロトコルや、すべての混入しうる微生物菌株について評価されているわけではありません。
- NeogenペトリフィルムCCプレートをヒトや動物の疾患診断に使用しないでください。
- NeogenペトリフィルムCCプレートは、大腸菌群の菌株を他の菌株と鑑別するものではありません。

- 高糖度の食品は、大腸菌群ではない腸内細菌科菌群によるガス産生の可能性を高める場合があります。

その他の情報については製品安全データシートを参照してください。

製品性能に関するドキュメントについては、当社ウェブサイト ([www.neogen.com](http://www.neogen.com)) をご覧いただくか、Neogen の担当者または正規代理店にお問い合わせください。

## お客様の使用責任

お客様には、使用前に製品説明書および製品情報を熟知していただく責任があります。詳しくは当社ウェブサイト ([www.neogen.com](http://www.neogen.com)) をご覧いただくか、Neogen の担当者または正規代理店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、検体採取方法、検査プロトコル、検体調製、取り扱い、および検査手技などの外的要因が結果に影響しうることを認識することが重要です。

検査方法または製品を選択する際に、適切なマトリックスおよび微生物負荷を用いて十分数の検体を評価して、選択した試験方法がお客様の基準を満たすことをお客様の責任でご確認ください。

また、検査方法および結果が顧客または供給業者の要件を満たしているかについても、事前にお客様の責任でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生製品を用いて得られた結果は、検査を実施した食品マトリックスまたは工程の品質を保証するものではありません。

## 保証の範囲／賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、NEOGENは明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、いかなる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生製品部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたは指定販売店で交換あるいは製品購入価格の払い戻しをいたします。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内に速やかにNeogenに通知し、製品をNeogenに返品してください。ご不明な点がございましたら、Neogenの担当者またはNeogenの正規代理店にお問い合わせください。

## Neogenの保証責任範囲

NEOGENは、直接的、間接的、特殊なもの、偶発的または必然的であるかを問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失または損害に対する責任を負わないものとします。いかなる場合も、法的理論に基づきNeogenの責任範囲は、欠陥と申し立てられた製品の購入金額を超えないものとします。

## 保管

未開封NeogenペトリフィルムCCプレートパウチは8°C (46°F) 以下の温度で冷蔵または冷凍します。使用前に、未開封のNeogenペトリフィルムCCプレートの包装パウチを室温に戻してください。未使用のNeogenペトリフィルムCCプレートはパウチに戻してください。パウチの開口部を折り、粘着テープで封をしてください。水分への曝露を避けるために、開封したパウチを再冷蔵しないでください。再封したパウチは乾燥した冷所で4週間まで保管できます。再封したNeogenペトリフィルムCCプレートのパウチは、検査室の室温が25°C (77°F) を超えるか、検査室が相対湿度50%を超える地域にある場合には、冷凍庫で保管することをお勧めします(下記参照)(空調管理された施設を除く)。

一度開封したプレートを冷蔵保存する場合には、密封可能な容器にNeogenペトリフィルムCCプレートを入れてください。凍結したNeogen Petrifilm CCプレートを使用するために取り出すには、容器を開け、必要なプレートを取り出し、残りのプレートを直ちに密閉容器に入れて冷凍庫に戻し、残りの保存期間を保ちます。使用期限が過ぎたNeogenペトリフィルムCCプレートは使用しないでください。一度開封した包装パウチを冷蔵保存する場合には、自動除霜機能のある冷凍庫には保管しないでください。除霜サイクルにより繰り返し湿気にさらされると、NeogenペトリフィルムCCプレートの性能に影響を及ぼす可能性があります。

NeogenペトリフィルムCCプレートが変色している場合は、使用しないでください。使用期限と製品ロット番号は、NeogenペトリフィルムCCプレートの包装に記載されています。なお、ロット番号は、個々のNeogenペトリフィルムCCプレートにも記載されています。

## △ 廃棄

使用済みのNeogenペトリフィルムCCプレートには、バイオハザードをもたらす微生物が混在している場合があります。

現行の業界基準に従って廃棄してください。

## 使用方法

すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

## 食品・飲料水 (容器入り飲用水を除く) 業界から得た検体 (環境検体を含む) の調製、培養および判定 検体調製

1. 適切な滅菌希釈液をご使用ください:

Butterfield リン酸緩衝希釈液<sup>7</sup>、0.1% ペプトン水<sup>8</sup>、ペプトン塩希釈液<sup>8,9</sup>、緩衝化ペプトン水<sup>8,9</sup>、生理食塩水 (0.85~0.90%)、Neogen® 広範囲中和剤、重硫酸塩を含まない letheen 培養液または蒸留水。具体的な要件については、「バリデート済みメソッドに関する具体的な指示」の項を参照してください。

クエン酸塩、重亜硫酸塩またはチオ硫酸塩を含有する希釈液は、菌の成育を阻害する可能性があるためNeogenペトリフィルムCCプレートに使用しないでください。標準手順にクエン酸緩衝液が指定されている場合は、上記の緩衝液のいずれかに変更し、40~45°C (104-113°F) に加温して使用してください。

- 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。
- 微生物の生育と回収を最適にするために、検体試料液のpHを6.6~7.2に調節してください。酸性の検体は、1N NaOHを用いてpHを調節して下さい。アルカリ性の検体は、1N N HClを用いてpHを調節して下さい。

### プレートへの接種

- NeogenペトリフィルムCCプレートを平らで水平な面に置きます。
- 上部フィルムを持ち上げ、ピペットを接種エリアに対して垂直に保ち、検体試料液1 mLを下部フィルムの中央部に接種します。
- 気泡が入らないように、上部フィルムを検体の上にゆっくりと戻します。
- Neogen® ペトリフィルム® スプレッダーの平らな面を下にして、NeogenペトリフィルムCCプレートの中央に置きます。Neogenペトリフィルムスプレッダーの中心部を軽く押し、検体試料液を均等に広げます。ゲルが形成される前に、接種物をNeogenペトリフィルムCCプレート増殖エリア全体に広げます。フィルム上でNeogenペトリフィルムスプレッダーをスライドしてはいけません。
- Neogenペトリフィルムスプレッダーを取り出し、NeogenペトリフィルムCCプレートをそのまま1分以上放置してゲル化させます。

### 培養

NeogenペトリフィルムCCプレートの透明フィルム側を上、水平にして培養します。20枚まで重ねて培養することができます。各施設の現行の参照方法に応じて、適した培養時間と温度を選択できます。培養条件例については、「**バリデーション済みメソッドの具体的な指示**」の項を参照してください。

### 判定

- NeogenペトリフィルムCCプレートは、標準的なコロニーカウンターか拡大鏡（照明付き）を用いて計数できます。大腸菌群の産生するガスによってコロニーが崩壊し、コロニーが気泡の周りに「輪郭を形成」しているように見えることがあります。こうしたコロニーは全体で1つの大腸菌として計測します。周囲の気泡ダムの上のコロニーは数えないでください。これらのコロニーは培地の選択的影響を受けません。作業中に混入した気泡も数えないでください。

NeogenペトリフィルムCCプレート上で生育した大腸菌群コロニーの判定は、試験方法によって異なります。例：

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>：

大腸菌群のコロニーは赤色で、周囲（コロニー直径と同等の距離内）にガスが封入された気泡があります。気泡を伴わないコロニー（コロニーと気泡との距離がコロニー直径分を超える場合）は、大腸菌群として測定しません。

または NF Validation認可済みメソッド：

- ISOメソッド 4831<sup>2</sup> (MPNメソッド) とは異なり、赤色で周囲（コロニー直径と同等の距離内）にガスが封入された気泡があるコロニーを大腸菌群コロニーとする方法。
- ISOメソッド 4832<sup>1</sup> (総大腸菌群数) およびNF V08-060<sup>3</sup> (糞便性大腸菌群) (両者ともVRBLメソッドに基づく) と異なり、気泡の有無にかかわらずすべての赤色のコロニーを計数する方法。

- 接種領域は約20 cm<sup>2</sup>です。150を超えるコロニーを含むNeogenペトリフィルムCCプレートについては、1つか複数の代表的な1 cm<sup>2</sup>区画中のコロニーを計数し、区画当たりの平均数を求めて推定することができます。1 cm<sup>2</sup>当たりの平均値を20倍して、NeogenペトリフィルムCCプレート全体のコロニー数を推定します。
- コロニーが多数存在する場合には、NeogenペトリフィルムCCプレートのゲルの色が濃くなり、次の特性の一方か両方が認められます：多数の小さい不明瞭なコロニー、および/または多数の気泡が存在。大腸菌群の密度が高いと、増殖領域が濃い赤色になります。このような場合は「数えきれない (TNTC)」として結果を記録してください。実際の計数値が必要な場合には、希釈率を高めて培養します。
- 必要に応じ、コロニーを単離してさらに同定を行います。適切な検査法を用いて上部フィルムを持ち上げ、ゲルからコロニーを釣菌します。規定の手順に従い検査してください。
- NeogenペトリフィルムCCプレートの計数を培養後1時間以内に行えない場合には、プレートを密封容器に入れて冷凍保存し、後に測定することができます。保存は-15°C (5°F) 以下で、1週間以内としてください。

### 容器入り飲用水検体の調製、培養および判定

#### NeogenペトリフィルムCCプレートの水和

- NeogenペトリフィルムCCプレートを平らで水平な面に置きます。
- 上部フィルムを持ち上げ、適切な滅菌水和用希釈液1 mLを下部フィルムの中心に注入します。適切な滅菌水和用希釈液としては、蒸留水、脱イオン (DI) 水、逆浸透 (RO) 水があります。
- 気泡が入らないように、上部フィルムを検体の上にゆっくりと戻します。
- Neogenペトリフィルムスプレッダーの平らな面を下にして、プレートの中央に置きます。スプレッダーの中心部を軽く押し、希釈液を均等に広げます。ゲルが形成される前に、希釈液をNeogenペトリフィルムプレート増殖エリア全体に広げます。フィルム上でスプレッダーをすべらせないでください。
- スプレッダーを取り出し、使用前にプレートを1分以上閉じたままにします。
- 水和したNeogenペトリフィルムCCプレートを密封パウチまたはプラスチックバッグ中で保存します。プレートは、光から保護し、2~8°C (36~46°F) で最大7日間冷蔵できます。

## 水ろ過およびプレート培養

1. 水分析の標準手順に従って、径47 mm、孔サイズ0.45 μmのセルロース混合エステル (MCE) メンブレンフィルタを用いて水検体をろ過します。
2. NeogenペトリフィルムCCプレートの上部フィルムを慎重に持ち上げます。円形の増殖エリアに触れないようにします。フィルターを水和エリアの中心に置きます。できる限りフィルターの下に気泡を取り込まないようにします。
3. 上部フィルムをゆっくりとフィルター上に広げます。できる限り気泡を取り込まないようにし、フィルターとNeogenペトリフィルムCCプレートの間にできる限り隙間ができないようにします。
4. Neogen ペトリフィルムプレートスプレッダーを使用するか指を軽くすべらせてディスクエリア全体 (縁部を含む) に対して軽く圧を加え、フィルターをゲルに均一に接触させ、気泡を排出します。
5. NeogenペトリフィルムCCプレートの上部フィルム (透明フィルム側) を上にして水平にし、35°C ± 1°Cで24時間 ± 2時間<sup>11</sup>、または36°C ± 1°Cで24 ± 2時間<sup>12</sup>培養します。20枚まで重ねて培養できます。

## 判定

1. NeogenペトリフィルムCCプレートは、標準的なコロニーカウンターか拡大鏡 (照明付き) を用いて計数できます。周囲の気泡の上のコロニーは数えないでください。これらのコロニーは培地の選択的影響を受けません。作業中に混入した気泡も数えないでください。
2. 気泡を伴う赤色のコロニーを大腸菌群として計数します。コロニー周囲の環状または星状のパターンで気泡が形成されることがあります。大腸菌群の産生するガスによってコロニーが崩壊し、コロニーが気泡の周りで「輪郭を形成」しているように見えることがあります。こうしたコロニーは全体で1つの大腸菌として計測します。気泡を周囲に伴わない赤色のコロニーも大腸菌群である可能性があり、このようなコロニーは継代培養して適切な確認方法<sup>11,12</sup>で検査する必要があります。
3. コロニーが多数存在する場合には、NeogenペトリフィルムCCプレートのゲルの色が濃くなり、多数の小さい不明瞭なコロニーまたは多数の気泡を伴います。このような場合は「数えきれない (TNTC)」として結果を記録してください。
4. コロニーを単離してさらに同定を行うこともできます。上部フィルムを持ち上げ、ゲルまたはフィルター表面からコロニーを釣菌します。上部フィルムを持ち上げるときに、フィルターが上部フィルムまたは下部フィルムに付着していることがあります。フィルターが上部フィルムに付着しているときは、フィルターを上部フィルムから分離してコロニーを釣菌します。規定の手順に従って検査してください。

注: フィルターを乗せたNeogenペトリフィルムCCプレートの計数を遅らせることは推奨されません。

詳細については「Neogen® ペトリフィルム® 大腸菌群数測定用プレート判定ガイド」を参照してください。具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト ([www.neogen.com](http://www.neogen.com)) をご覧いただくか、Neogen販売員または取り扱い販売店までお問い合わせください。

### バリデーション済みメソッドに関する具体的な指示

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33「牛乳中の細菌数および大腸菌群数、再水和可能乾燥フィルムメソッド」および989.10「乳製品中の細菌数および大腸菌群数、再水和可能乾燥フィルムメソッド」)

NeogenペトリフィルムCCプレートを32°C ± 1°Cで24 ± 2時間培養します。

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14「食品中の大腸菌群数および大腸菌数、再水和可能乾燥フィルムメソッド」)

NeogenペトリフィルムCCプレートを35°C ± 1°Cで24 ± 2時間培養します。

### AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> 認証 #082101

AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) 試験において、NeogenペトリフィルムCCプレートは、FDA/BAM 第4章、第III.D節 (ボトル入り飲料水の大腸菌群数の測定) の平均対数計数と同等の有効性があることが判明しています。



### 適応範囲:

ボトル入り飲料水: 精製水、処理済み天然水、非炭酸天然水、炭酸天然水。

### 培養:

NeogenペトリフィルムCCプレートを35°C ± 1°Cで24時間 ± 2時間培養します。

### AFNOR CertificationによるNF Validation:

ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A) よりもISO 16140-2<sup>10</sup>に準拠するNF Validation認証済みメソッド

**バリデーションの適応範囲:** すべてのヒト用食品検体 (生の甲殻類を除く)、ペット飼料検体および環境検体の検査。上記の試験を実施するときには、以下の詳細に従ってください:

### 検体の調製:

ISO指定の希釈液のみを使用してください。

### 培養:

NeogenペトリフィルムCCプレートを30°C ± 1°Cまたは37°C ± 1°Cで24 ± 2時間培養します。

**判定:**

希釈段階あたり1枚のプレートについて、ISO 7218<sup>5</sup>に従い、検体に存在する微生物の数を計算します。推定結果はNF Validation 認証の適用範囲外です (「判定」パートの第2項を参照)。

**ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B) よりもISO 16140-2<sup>10</sup>に準拠するNF Validation 認証済みメソッド**

**バリデーションの適応範囲:**すべてのヒト用食品 (生の甲殻類を除く) の検査。

上記の試験を実施するときには、以下の詳細に従ってください:

**検体の調製:**

ISO指定の希釈液のみを使用してください。

**培養:**

NeogenペトリフィルムCCプレートを30°C ± 1°Cまたは37°C ± 1°Cで24 ± 2時間培養します。

**判定:**

希釈段階あたり1枚のプレートについて、ISO 7218<sup>5</sup>に従い、検体に存在する微生物の数を計算します。推定結果はNF Validation 認証の適用範囲外です (「判定」パートの第2項を参照)。

**ISO V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C) よりもISO 16140-2<sup>10</sup>に準拠するNF Validation 認証済みメソッド**

**バリデーションの適応範囲:**すべてのヒト用食品の検査

上記の試験を実施するときには、以下の詳細に従ってください:

**検体の調製:**

ISO指定の希釈液のみを使用してください

**培養:**

NeogenペトリフィルムCCプレートを44°C ± 1°Cで24 ± 2時間培養します。

**判定:**

希釈段階あたり1枚のプレートについて、ISO 7218<sup>5</sup>に従い、検体に存在する微生物の数を計算します。推定結果はNF Validation 認証の適用範囲外です (「判定」パートの第2項を参照)。培養、コロニーのカウントと計算、結果の表示については、EN ISO 7218 基準をご参照ください。



**3M 01/02 - 09/89A, B, and C**  
**「ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS」**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

有効性の終了についての詳細は、上記のウェブサイト上で入手できるNF Validation 認証を参照してください。

## 参考文献

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. BAMの試薬インデックスは次のサイトにあります: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain - Method Validation - Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

上述の標準試験法については、現行の最新版を参照してください。

## 記号の説明

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOACはAOAC INTERNATIONALの登録商標です。

Official Methodは、AOAC INTERNATIONALのサービスマークです。

Performance Tested Methodは、AOAC INTERNATIONALのサービスマークです。

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## 产品信息

# 大肠菌群测试片

### 产品说明及预期用途

Neogen® Petrifilm® 大肠菌群测试片是一种样品预制培养基系统,其中含有改良的紫红胆汁 (VRB) 培养基、冷水可溶性凝胶,以及帮助菌落计数的四唑指示剂。Neogen Petrifilm 大肠菌群 (CC) 测试片旨在用于食品、饮料和瓶装水行业的大肠菌群计数。Neogen Petrifilm CC 测试片组件虽未经灭菌,但是已经进行了净化处理。Neogen 食品安全部的产品设计和生产已经获得国际标准化组织 (ISO) 9001 认证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工、检测方案或所有可能的微生物菌株对 Neogen Petrifilm CC 测试片进行评估。

美国食品药品监督管理局 (FDA) 细菌学分析手册 (BAM)<sup>7</sup> 将大肠菌群定义为革兰氏阴性杆菌,在乳糖发酵过程中,能发酵乳糖产酸和产气。在 Neogen Petrifilm CC 测试片上生长的大肠菌落会产生酸,导致 pH 指示剂让凝胶颜色变深;红色菌落周围滞留气体表明存在大肠菌群。

ISO 根据大肠菌群在方法特异性、选择性培养基中的生长能力对其进行定义。ISO 方法 48321 采用菌落计数法来计数大肠菌群,通过大肠菌群在带有乳糖的 VRB (VRBL) 琼脂培养基上的产酸能力来定义。在 Neogen Petrifilm CC 测试片上,这些产酸的大肠菌群显示为产气或不产气的红色菌落。ISO 方法 48312 采用最大可能数 (MPN) 法来计数大肠菌群,通过大肠菌群在含有乳糖的选择性肉汤培养基上生长并产气的特性来定义。在 Neogen Petrifilm CC 测试片上,这些大肠菌群由与气体相关的红色菌落指明。

对于瓶装水样品,在 Neogen Petrifilm CC 测试片上出现的与气体相关的红色菌落可确定为大肠菌群。与气泡并不密切相关的红色菌落可能是大肠菌群,应该使用适当的确认方法进行二次培养和测试<sup>11,12</sup>。有关其他详细信息,请参阅“判读”部分。具有明显特征的菌落可经过二次培养和测试以确定是否存在大肠杆菌。

Neogen Petrifilm CC 测试片已获得 AFNOR Certification 认证,后者已针对总大肠菌群计数将其与 ISO 方法 48312 和 ISO 方法 48321 进行了比较。Neogen Petrifilm CC 测试片还获得了 AFNOR Certification 在耐热大肠菌群计数方面的认证(与 NF V08-0603 对比)。

### 安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen Petrifilm CC 测试片说明中的所有安全信息。妥善保存安全说明书,以备日后查阅。

△ **警告:** 表示危险情况,如果不注意避免,可能造成死亡或严重的人身伤害和/或财产损失

### 警告

为了降低与生物危害暴露和环境污染相关的风险,请注意以下事项:

- 对于危害性生物废弃物的废弃处理,请遵循当前的行业标准和当地的法规要求。

为了降低与释放受污染产品相关的风险,请注意以下事项:

- 遵守使用说明中包含的所有产品储存说明。
- 切勿使用过期产品。

为了降低与细菌感染和工作环境污染相关的风险,请注意以下事项:

- 在训练有素的微生物分析师的控制下,于妥善配备的实验室中执行 Neogen Petrifilm CC 测试片检测。
- 用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训,例如:优良实验室规范<sup>4</sup>、ISO 7218<sup>5</sup> 或 ISO 17025<sup>6</sup>。

为了降低与错误判读结果相关的风险,请注意以下事项:

- 除了食品和饮料行业,对于其他行业内 Neogen Petrifilm CC 测试片的使用,Neogen 尚未有资料可证,包括瓶装水。例如,对于将 Neogen Petrifilm CC 测试片用于检测药品或化妆品,Neogen 尚未有资料可证。对于将 Neogen Petrifilm CC 测试片用于检测地表水或城市用水,或制药或化妆品行业中使用的水,Neogen 尚未有资料可证。
- 根据当地的水检测法规使用 Neogen Petrifilm CC 测试片对水样进行检测由最终用户自行决定并承担责任。尚未针对所有可能瓶装水样品、检测方案或所有可能的微生物菌株对 Neogen Petrifilm CC 测试片进行检测。
- 请勿在人类或动物的各种疾病诊断中使用 Neogen Petrifilm CC 测试片。
- Neogen Petrifilm CC 测试片不能用于区分两种不同的大肠菌群菌株。
- 含糖量较高的食品可能会增加非大肠菌群肠杆菌产生气体的可能性。

请参阅“安全数据表”以了解其他信息。

关于产品性能文件的更多信息,请访问我们的网站(网址: [www.neogen.com](http://www.neogen.com)) 或联系您的 Neogen 代表或授权经销商。



## 用户责任

用户有责任熟悉产品信息和说明。请访问我们的网站(网址:[www.neogen.com](http://www.neogen.com))或联系您的 Neogen 代表或授权经销商了解更多信息。

选择检测方法时,务必认识到各种外部因素(如取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术)都可能会影响结果。

用户在选择检测方法或产品时,应自行负责选用合适的基质和微生物激发试验对足够多的样品进行评估,以确保所选择的检测方法达到用户的标准。

检测方法及其结果能否满足客户及供应商的要求也由用户负责。

同所有检测方法一样,使用任何 Neogen 食品安全部产品所得到的结果并不能保证受检基质或程序的质量。

## 有限保证/有限补救措施

除非各个产品包装的有限保证部分明确声明,否则,NEOGEN 将不提供任何明示或默示保证,包括但不限于适销性或特定用途适用性保证。如果证明任何 Neogen 食品安全部产品存在缺陷,Neogen 或其授权经销商可以自行决定是提供换货,还是对产品进行退款。这是向您提供的唯一补救方案。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 Neogen,并将该产品退还给 Neogen。如有任何疑问,请联系 Neogen 代表或 Neogen 授权经销商。

## Neogen 责任限制

对于任何损失或损害,无论是直接、间接、特殊、偶然或非直接原因造成的损害,NEOGEN 概不承担任何责任,包括但不限于利润损失。根据法律理论,Neogen 对所谓存在缺陷的产品的赔付不会超过产品的购买价格。

## 储存

将未开封的 Neogen Petrifilm CC 测试片包装袋在不高于 8°C (46°F) 的温度下冷藏或冷冻储存。使用之前,要先使未开封的 Neogen Petrifilm CC 测试片包装袋达到室温再开封。将未使用的 Neogen Petrifilm CC 测试片装回包装袋中。将包装袋的一端折叠,然后使用胶带进行封存。**为防止受潮,请勿冷藏已开封的包装袋。**将重新密封的测试片包装袋存放在低温干燥的地方,时间不超过四周。如果实验室温度超过 25°C (77°F) 和/或实验室环境的相对湿度超过 50% (进行空气调节时除外),建议将重新封存的 Neogen Petrifilm CC 测试片包装袋储存在冰箱中(如下所述)。

要将已开封的包装袋储存在冰箱中,应先将 Neogen Petrifilm CC 测试片放置在密封容器中。要取出冷冻的 Neogen Petrifilm CC 测试片以供使用,请打开容器,取出所需的测试片,并立即将剩余的测试片放回密封容器中的冷冻柜,以延长剩余的保质期。请勿使用已经失效的 Neogen Petrifilm CC 测试片。切勿将已开封的包装袋储存在自动周期除霜的冰箱中,这会导致 Neogen Petrifilm CC 测试片反复暴露于潮湿环境中,进而导致测试片损坏。

请勿使用已变色的 Neogen Petrifilm CC 测试片。在 Neogen Petrifilm CC 测试片的每个包装上均标明了产品的有效日期和批号。在各 Neogen Petrifilm CC 测试片上也会标明产品的批号。

## △ 弃置

Neogen Petrifilm CC 测试片在使用之后可能包含微生物,这有可能导致生物危害。

请根据当前的行业标准进行废弃处理。

## 使用说明

请仔细阅读所有说明。否则,可能会导致结果不准确。

## 食品和饮料行业(瓶装水除外)样品的制备、培养和判读,包括环境样品

### 样品制备

#### 1. 使用适宜的无菌稀释剂:

Butterfield 磷酸盐缓冲稀释液<sup>7</sup>、0.1% 蛋白胨水<sup>8</sup>、蛋白胨盐稀释剂<sup>8,9</sup>、缓冲蛋白胨水<sup>8,9</sup>、盐溶液 (0.85-0.90%)、Neogen<sup>®</sup> 广谱中和剂、不含亚硫酸氢盐的 letheen 肉汤或蒸馏水。请参见“[验证方法具体说明](#)”部分,了解特定要求。

**请勿将包含柠檬酸盐、亚硫酸氢盐或硫代硫酸钠的稀释剂与 Neogen Petrifilm CC 测试片配合使用,它们会抑制生长。**如果标准程序要求使用柠檬酸盐缓冲液,请替换为上述缓冲液之一,加热至 40-45°C (104-113°F)。

#### 2. 混合或混匀样品。

#### 3. 为了使微生物生长和恢复达到最佳,请将样品混悬液 pH 值调整为 6.6 - 7.2。对于酸性产物,请使用 1N NaOH 调整 pH 值。对于碱性产物,请使用 1N HCl 调整 pH 值。

### 平板培养

#### 1. 将 Neogen Petrifilm CC 测试片放置在平坦且水平的表面上。

#### 2. 掀起上层薄膜,使用移液管在培养区正上方将 1 mL 样品混悬液垂直滴于底层薄膜的中央位置。

#### 3. 将上层薄膜盖于样品上,避免产生气泡。

#### 4. 将 Neogen<sup>®</sup> Petrifilm<sup>®</sup> 压板平面一侧压在 Neogen Petrifilm CC 测试片的中心。轻轻地压按 Neogen Petrifilm 压板的中心以使样液均匀覆盖。在凝胶固化之前,应使接种物均匀覆盖于整个 Neogen Petrifilm CC 测试片的培养区域内。请勿在薄膜上滑动 Neogen Petrifilm 压板。

#### 5. 取走 Neogen Petrifilm 压板,让 Neogen Petrifilm CC 测试片至少静置 1 分钟,使凝胶凝固。

## 恒温培养

对 Neogen Petrifilm CC 测试片进行培养, 将测试片的透明面朝上水平放置, 最多可堆叠至 20 片。根据当地现行参考方法 (其中一些列在“验证方法具体说明”部分中), 可以使用多个培养时间和温度。

## 判读

1. 可以使用标准菌落计数仪或其他受照放大镜来计数 Neogen Petrifilm CC 测试片。大肠菌群产生的气体可能会破坏菌落, 使菌落“产生”气泡。这应该计作一个菌群。请勿计数泡棉上的菌落, 因为已将其从培养基的选择性影响中排除。请勿计数可能因人为操作而产生的气泡。

对 Neogen Petrifilm CC 测试片上大肠菌群菌落的判读因参考方法而异。例如:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

大肠菌群菌落是红色的, 且与滞留气体密切相关 (在一个菌落直径范围内)。与气体不相关的菌落 (菌落与气泡之间的距离大于一个菌落直径) 将不计作大肠菌群。

或 NF Validation 认证方法:

- 相较于 ISO 方法 4831<sup>2</sup> (MPN 方法), 大肠菌群菌落是红色的, 且与滞留气体密切相关 (在一个菌落直径范围内)。
- 相较于 ISO 方法 4832<sup>1</sup> (总大肠菌群) 和 NF V08-060<sup>3</sup> (粪便大肠菌群) (均基于 VRBL 方法), 请对产气或不产气的所有红色菌落计数。

2. 圆形培养区域大约为 20 cm<sup>2</sup>。进行估算时, 可以通过在包含超过 150 个菌落的 Neogen Petrifilm CC 测试片上计量一个或多个代表性平方区域中的菌落数量, 然后确定每平方的平均数量。将平均数量乘以 20 即可确定每个 Neogen Petrifilm CC 测试片的预估计数。
3. 当存在大量菌落时, Neogen Petrifilm CC 测试片的凝胶颜色可能会变深, 并拥有以下一个或两个特征: 许多很小、不明显的菌落和/或许多气泡。高浓度大肠菌群将导致生长区域变成深红色。出现这种情况时, 将结果记作多不可计 (TNTC)。需要实际的计数时, 可以用更高的稀释度进行测试。
4. 如有必要, 可以分离菌落以进一步进行鉴定。使用正确的测试技术掀起上层薄膜, 将菌落自凝胶中提取出。使用标准程序进行检测。
5. 如果 Neogen Petrifilm CC 测试片在从培养器中取出 1 小时内无法计数, 可以将其存放在可密封的容器中, 然后在低于或等于 -15°C (5°F) 的温度下冷冻存放不超过一周, 以便在之后进行计数。

## 瓶装水样品制备、培养和判读

### 水化 Neogen Petrifilm CC 测试片

1. 将 Neogen Petrifilm CC 测试片放置在平坦且水平的表面上。
2. 掀起上层薄膜, 将 1 mL 合适的无菌水化稀释剂滴于底层薄膜的中央位置。合适的无菌水化稀释剂包括蒸馏水、去离子 (DI) 水和反渗透 (RO) 水。
3. 将上层薄膜盖于样品上, 避免产生气泡。
4. 将 Neogen Petrifilm 压板平面一侧压在测试片的中心。轻轻地压按压板的中心以使稀释剂均匀覆盖。在凝胶固化之前, 应使稀释剂均匀覆盖于整个 Neogen Petrifilm 测试片的培养区域内。请勿在薄膜上滑动压板。
5. 使用前, 请取下压板并让测试片保持闭合状态至少 1 小时。
6. 将水化 Neogen Petrifilm CC 测试片放在密封的包装袋或塑料袋中。避免光线照射测试片, 并在 2-8°C (36-46°F) 温度下冷藏最多 7 天。

### 水过滤和测试片培养

1. 按照水分析的标准程序, 使用 47 mm、0.45 微米孔大小的混合性纤维素酯 (MCE) 滤膜对水样进行薄膜过滤。
2. 小心掀起 Neogen Petrifilm CC 测试片的上层薄膜。避免触碰圆形生长区。将滤膜放在水化区域的中央位置。尽可能减少滤膜下存留的气泡。
3. 将上层薄膜慢慢滚动到滤膜上。尽可能减少存留的气泡, 避免在滤膜和 Neogen Petrifilm CC 测试片之间产生间隙。
4. 使用 Neogen Petrifilm 测试片压板或手指对整个圆盘区域 (包括边缘) 略微施加压力, 确保滤膜与凝胶均匀接触, 并消除气泡。
5. 在 35°C ± 1°C 的环境下将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时<sup>11</sup>, 或在 36°C ± 1°C 的环境下培养 24 ± 2 小时<sup>12</sup>, 将测试片的透明面朝上水平放置, 最多可堆叠至 20 片。

## 判读

1. 可以使用标准菌落计数仪或其他受照放大镜来计数 Neogen Petrifilm CC 测试片。请勿计数泡棉上的菌落, 因为已将其从培养基的选择性影响中排除。请勿计数可能因人为操作而产生的气泡。
2. 与气泡相关的红色菌落将计作大肠菌群。气泡可能会在菌落周围形成圆形或星形。大肠菌群产生的气体可能会破坏菌落, 使菌落“产生”气泡。这应该计作一个菌群。与气泡并不密切相关的红色菌落可能是大肠菌群, 应该使用适当的确认方法进行提取和测试<sup>11,12</sup>。
3. 当存在大量菌落时, Neogen Petrifilm CC 测试片的凝胶颜色将会变深, 这与许多很小、不明显的菌落或气泡有关。出现这种情况时, 将结果记作多不可计 (TNTC)。
4. 可以分离菌落以进一步进行鉴定。掀起上层薄膜, 将菌落自凝胶或滤膜表面中提取出。掀起上层薄膜时, 滤膜可能会附着在上层薄膜或底层薄膜上。如果滤膜附着在上层薄膜, 请将滤膜与上层薄膜分离并提取菌落。使用标准程序进行检测。

**注释:**不建议对使用滤膜的 Neogen Petrifilm CC 测试片进行延迟计数。

有关更多信息, 请参阅相应的“Neogen® Petrifilm® 大肠菌群测试片判读指南”。如果您对于特定的应用或程序存有疑问, 请访问我们的网站 [www.neogen.com](http://www.neogen.com), 也可与您当地的 Neogen 代表或经销商联系以获得帮助。

#### 验证方法具体说明

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 牛奶中的细菌和大肠菌群计数, 再水化干膜法; 以及 989.10 奶制品中的细菌和大肠菌群计数, 再水化干膜法)

在 32°C ± 1°C 环境下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 食品中的大肠菌群和大肠杆菌计数, 干燥可复水薄膜法)

在 35°C ± 1°C 环境下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

**AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> 证书 #082101**

AOAC® 研究所 Performance Tested Method (PTM) 研究表明, Neogen Petrifilm CC 测试片方法的效果等同于 FDA/BAM 第 4 章第 III.D 部分瓶装水中大肠菌群计数方法的平均计数。



#### 验证范围:

瓶装水: 纯净水、经过处理的矿泉水、无碳酸天然矿泉水、碳酸天然矿泉水。

#### 培养:

在 35°C ± 1°C 温度下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

#### AFNOR Certification 认证的 NF Validation:

**NF Validation 认证方法遵循 ISO 16140-2<sup>10</sup> (与 ISO 4832<sup>1</sup> 相比) (3M-01/02-09/89 A)**

**验证范围:** 用于检测所有人类食品 (生贝类除外)、宠物食品和环境样品。

当执行上述“使用说明”时, 请遵循以下详细信息:

#### 样品制备:

仅使用 ISO 核准稀释剂。

#### 培养:

在 30°C ± 1°C 或 37°C ± 1°C 温度下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

#### 判读:

针对每个稀释剂中的单个测试片, 遵照 ISO 7218<sup>5</sup> 计算检测样品中存在的微生物数量。估算并不在 NF Validation 认证范围内 (参阅判读部分段落 2)。

**NF Validation 认证方法遵循 ISO 16140-2<sup>10</sup> (与 ISO 4831<sup>2</sup> 相比) (3M-01/02-09/89 B)**

**验证范围:** 用于检测所有人类食品 (生贝类除外)。

当执行上述“使用说明”时, 请遵循以下详细信息:

#### 样品制备:

仅使用 ISO 核准稀释剂。

#### 培养:

在 30°C ± 1°C 或 37°C ± 1°C 环境下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

#### 判读:

针对每个稀释剂中的单个测试片, 遵照 ISO 7218<sup>5</sup> 计算检测样品中存在的微生物数量。估算并不在 NF Validation 认证范围内 (参阅判读部分段落 2)。

**NF Validation 认证方法遵循 ISO 16140-2<sup>10</sup> (与 NF V08-060<sup>3</sup> 相比) (3M-01/02-09/89 C)**

**验证范围:** 用于检测所有人类食品

当执行上述“使用说明”时, 请遵循以下详细信息:

#### 样品制备:

仅使用 ISO 核准稀释剂

#### 培养:

在 44°C ± 1°C 温度下, 将 Neogen Petrifilm CC 测试片培养 24 ± 2 小时。

## 判读:

针对每个稀释剂中的单个测试片, 遵照 ISO 7218<sup>5</sup> 计算检测样品中存在的微生物数量。估算并不在 NF Validation 认证范围内 (参阅判读部分段落 2)。关于接种、菌落计数以及结果的计算和表达, 请参阅 EN ISO 7218 标准。



### 3M 01/02 – 09/89A, B, and C ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

<http://nf-validation.afnor.org/en>

有关有效性截止日期的详细信息, 请参阅上述网站中提供的 NF VALIDATION 证书。

## 参考资料

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

请参考以上所列标准方法的现行版本。

## 符号说明

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC 是 AOAC INTERNATIONAL 的注册商标。

Official Method 是 AOAC INTERNATIONAL 的服务标志。

Performance Tested Method 是 AOAC INTERNATIONAL 的服务标志。

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

## แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนโคลิฟอร์ม

## รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนโคลิฟอร์ม (CC) Neogen® Petrifilm® เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบบสำเร็จรูปสำหรับตัวอย่างเชื้อ โดยในสารอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile (VRB) สารที่ทำให้เกิดเจลที่ละลายได้ในน้ำเย็นและระบบตัวบ่งชี้ที่ช่วยในการนับจำนวนโคลิฟอร์มในแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สำหรับการนับจำนวนของโคลิฟอร์มในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่มและน้ำบรรจุขวด ส่วนประกอบของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ได้ผ่านกระบวนการลดการปนเปื้อนที่ไม่ใช่ผ่านกระบวนการทำให้ปลอดเชื้อ Neogen Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐานองค์การมาตรฐานสากล (ISO) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิต แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ยังไม่ผ่านการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร กระบวนการแปรรูปอาหาร เกณฑ์วิธีการทดสอบ หรือกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ทั้งหมดที่อาจเป็นไปได้

The United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM)<sup>7</sup> กำหนดโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งซึ่งผลิตกรดและก๊าซจากการหมักแลคโตส โคโลนิโคลิฟอร์มที่เติบโตบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ผลิตกรดซึ่งทำให้ตัวบ่งชี้ค่า pH เพื่อทำให้สีของเจลเข้มขึ้น; ก๊าซที่ติดอยู่ด้านในโคโลนิสีแดงหมายถึงโคลิฟอร์ม

ISO ให้คำนิยามโคลิฟอร์มตามความสามารถการเจริญเติบโตของโคลิฟอร์มในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภทที่คัดเลือก ISO method 4832<sup>1</sup> การแจกแจงโคลิฟอร์มโดยใช้เทคนิคการนับโคโลนิ กำหนดให้โคลิฟอร์มเป็นตัวผลิตกรดใน VRB กับเจลแลคโตส (VRBL) บนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC โคลิฟอร์มที่ผลิตกรดจะถูกระบุโดยโคโลนิสีแดงที่มีหรือไม่มีการผลิตก๊าซ ISO method 4831<sup>2</sup> การแจกแจงโคลิฟอร์มโดยใช้ตัวเลขที่นับจะเป็นมากที่สุด (MPN) กำหนดโคลิฟอร์มโดยความสามารถในการเติบโตและผลิตก๊าซจากแลคโตสในของเหลวที่เลือก บนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC โคลิฟอร์มเหล่านี้จะถูกระบุโดยโคโลนิสีแดงที่มีก๊าซ

สำหรับตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวด โคโลนิโคลิฟอร์มที่ยืนยันแล้วจะถูกระบุด้วยโคโลนิสีแดงที่มีก๊าซบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC โคโลนิสีแดงที่ไม่มีฟองก๊าซอาจเป็นโคลิฟอร์ม และควรทำการเพาะเชื้อและทดสอบด้วยวิธีการยืนยันที่เหมาะสม<sup>11,12</sup> โปรดดูในหัวข้อการแปลผลการตรวจวิเคราะห์เพื่อข้อมูลเพิ่มเติม โคโลนิที่มีคุณลักษณะจำเพาะสามารถทำการเพาะและทดสอบในฐานะ *Escherichia coli*

AFNOR Certification ได้รับการรับรองว่าแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC เมื่อเปรียบเทียบกับ ISO method 4831<sup>2</sup> และ ISO method 4832<sup>1</sup> สำหรับการนับโคลิฟอร์มทั้งหมด AFNOR Certification ยังได้รับการรับรองว่าแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC เมื่อเปรียบเทียบกับ NF V08-060<sup>3</sup> สำหรับการนับโคลิฟอร์มทนความร้อน

## ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลด้านความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠️ **คำเตือน:** บ่งชี้ว่าเป็นสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่มีการหลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรง และ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สินได้

## ⚠️ คำเตือน

**เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารที่เป็นอันตรายทางชีวภาพและการปนเปื้อนทางสิ่งแวดล้อม:**

- ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมล่าสุดและระเบียบข้อบังคับของท้องถิ่นในการทิ้งของเสียที่มีการปนเปื้อนทางชีวภาพ

**เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อน:**

- ปฏิบัติตามคำแนะนำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในคำแนะนำการใช้งาน
- ห้ามใช้หลังจากวันหมดอายุ

**เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อแบคทีเรียและการปนเปื้อนในสถานที่ทำงาน:**

- ให้ทำการทดสอบแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์ที่เหมาะสมภายใต้การควบคุมดูแลของนักจุลชีววิทยาที่เชี่ยวชาญ
- ผู้ใช้งานต้องทำการฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น หลักปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ตีพิมพ์ ISO 7218<sup>5</sup> หรือ ISO 17025<sup>6</sup>

**เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องจากการแปลผลผิดพลาด:**

- Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารการใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สำหรับการใช้งานในอุตสาหกรรมอื่นใดนอกเหนือจากอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม รวมถึงน้ำดื่มบรรจุขวด ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่มีเอกสารเกี่ยวกับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สำหรับการทดสอบยู หรือเครื่องสำอาง Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารการใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สำหรับการทดสอบพื้นผิวและน้ำในเขตเทศบาล หรือน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาหรือเครื่องสำอาง
- การใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC เพื่อทดสอบตัวอย่างน้ำสอดคล้องกับข้อบังคับการทดสอบน้ำในพื้นที่ ขึ้นอยู่กับดุลยพินิจและความรับผิดชอบของผู้ใช้ปลายทาง แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ยังไม่ผ่านการทดสอบกับตัวอย่างน้ำบรรจุขวดที่เป็นไปได้ทั้งหมด เกณฑ์วิธีการทดสอบ หรือกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ทั้งหมดที่อาจเป็นไปได้
- ห้ามใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ในการวินิจฉัยสภาวะต่างๆ ในมนุษย์หรือสัตว์
- แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไม่สามารถแยกความแตกต่างสายพันธุ์โคลิฟอร์มออกจากสายพันธุ์อื่นได้
- อาหารที่มีปริมาณน้ำตาลสูงอาจมีโอกาสมากขึ้นที่จะเกิดก๊าซเพิ่มขึ้นได้โดยเกิดจากแบคทีเรีย *เอนเทอโรแบคทีเรีย* (*Enterobacteriaceae*)



ศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

สำหรับข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับเอกสารประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ [www.neogen.com](http://www.neogen.com) หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาต

### ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้งานมีหน้าที่รับผิดชอบในการทำความเข้าใจกับคำแนะนำและข้อมูลผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ [www.neogen.com](http://www.neogen.com) หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาต หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม

เวลาเลือกวิธีทดสอบ การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบเป็นเรื่องสำคัญ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง ระเบียบการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคของห้องปฏิบัติการที่อาจกระทบต่อผลการทดสอบได้

ผู้ใช้งานเป็นผู้รับผิดชอบในการประเมินความเหมาะสมสำหรับการเลือกวิธีการทดสอบหรือชนิดผลิตภัณฑ์ เพื่อประเมินจำนวนเมทริกซ์ที่เหมาะสมและความสามารถในการเลือกรอดของจุลินทรีย์ เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของซัพพลายเออร์

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

### เงื่อนไขการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

Neogen ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการจำหน่าย หรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดๆ มีตำหนิบกพร่อง บริษัท Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะชดเชยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เหล่านี้คือการชดเชยพิเศษ หากสงสัยว่ามีข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้ง Neogen ภายในหกสิบวันหลังจากที่พบ และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง Neogen โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทน Neogen Food Safety เพื่อขอสิทธิ์คืนสินค้าผลิตภัณฑ์ โปรดติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม

### ขอบเขตความรับผิดชอบของ Neogen

Neogen จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญาหรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

### การเก็บรักษา

เก็บถุงบรรจุแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่ยังไม่เปิดไว้ในตู้เย็นหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 8°C (46°F) ก่อนใช้งาน วางถุงบรรจุแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่ยังไม่เปิดใช้ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนเปิดใช้งาน นำ Neogen Petrifilm CC Plate ที่ยังไม่เปิดใช้กลับเข้าไปในถุงบรรจุตามเดิม ปิดผนึกโดยพับที่ปลายถุงบรรจุและใช้เทปกาวปิดทับ **อย่าแช่เย็นถุงบรรจุที่เปิดใช้แล้วเพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้นเข้าไปภายในถุง** จัดเก็บถุงบรรจุที่ผ่านการเปิดเพื่อใช้งานแล้วในที่แห้งเย็นเป็นเวลาไม่เกินสี่สัปดาห์ แนะนำให้เก็บรักษาถุงบรรจุแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่ผ่านการเปิดเพื่อใช้งานแล้วในตู้แช่แข็ง (ดูข้างล่าง) หากอุณหภูมิในห้องปฏิบัติการสูงกว่า 25°C (77°F) และ/หรือหากห้องปฏิบัติการนั้นตั้งอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 50% (ยกเว้นแต่ว่าสถานที่นั้นใช้เครื่องปรับอากาศ)

ในการเก็บถุงที่เปิดแล้วในตู้แช่แข็ง ให้ใส่แผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ในภาชนะที่ปิดผนึกได้ ในการนำแผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่แช่แข็งมาใช้งาน ให้เปิดภาชนะ นำแผ่นเพลทออกมาตามจำนวนที่ต้องการและเก็บแผ่นเพลทที่เหลือในภาชนะที่ปิดสนิทใส่ในตู้แช่แข็งทันทีเพื่อเก็บรักษาตามอายุการใช้งานที่เหลือ ไม่ควรใช้แผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC เมื่อเลยวันหมดอายุไปแล้ว ตู้แช่แข็งที่ใช้สำหรับเก็บถุงที่เปิดแล้วต้องไม่มีรอบการละลายน้ำแข็งอัตโนมัติเนื่องจากจะทำให้แผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สัมผัสกับความชื้นซ้ำ ๆ ซึ่งอาจทำให้แผ่นเพลทเสียหายได้

ห้ามใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่มีสีผิดปกติจากปกติ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนบรรจุภัณฑ์ของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC แต่ละกล่อง ยังมีการระบุหมายเลขล็อตไว้บนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC แต่ละแผ่นอีกด้วย

### ⚠ การทิ้ง

ภายหลังจากการใช้งานแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC อาจจะมีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายทางชีวภาพได้ ปฏิบัติตามมาตรฐานการกำจัดทิ้งอย่างถูกวิธีตามข้อกำหนดอุตสาหกรรมในปัจจุบัน

### คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้



## การเตรียม การบ่มเชื้อและการตีความตัวอย่างจากอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม

### (ยกเว้นน้ำดื่มบรรจุขวด) รวมถึงตัวอย่างด้านสิ่งแวดล้อม

#### การเตรียมตัวอย่าง

##### 1. ใช้สารทำลายปลอดเชื้อที่เหมาะสม:

น้ำเจือจางที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ของ Butterfield (Butterfield's phosphate buffered dilution water)<sup>7</sup>, น้ำเปปโทน (peptone water)<sup>8</sup> 0.1%, สารเจือจางเกลือเปปโทน (peptone salt diluent)<sup>8,9</sup>, น้ำเปปโทนที่มีบัฟเฟอร์ (Buffered Peptone Water)<sup>8,9</sup>, สารละลายน้ำเกลือ (saline solution) (0.85-0.90%), สารทำให้เป็นกลางสเปกตรัมกว้างของ Neogen (Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer), อาหารเลี้ยงเชื้อ letheen broth ที่ไม่มีไบซัลไฟต์ (bisulfite-free letheen broth) หรือน้ำกลั่น ดูหัวข้อ "คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง" หากต้องการทราบข้อกำหนดที่เฉพาะเจาะจง

**ห้ามใช้สารทำลายปลอดเชื้อที่ประกอบด้วยซิงค์ไคลด์ หรือไฮโอซัลเฟตกับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC โดยเด็ดขาด เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้** หากในวิธีมาตรฐานระบุให้ใช้วิธีมาตรฐาน ให้ใช้หนึ่งในบัฟเฟอร์ที่แสดงในรายการข้างต้นแทน โดยอุณหภูมิ 40-45°C (104-113°F)

##### 2. ผสมหรือทำให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

##### 3. เพื่อให้ได้การเจริญเติบโตที่เหมาะสมและการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม ให้ปรับระดับค่า pH ของสารแขวนลอยของตัวอย่างอยู่ที่ 6.6 - 7.2 สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีสภาพเป็นกรด ให้ปรับค่า pH ด้วยสารละลาย 1N NaOH สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีสภาพเป็นกรด ให้ปรับค่า pH ด้วยสารละลาย 1N HCl

#### การวางเชื้อ

##### 1. วางแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC บนพื้นผิวเรียบและอยู่ในแนวราบ

##### 2. เปิดแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นและหยดสารละลายตัวอย่างในแนวตั้งฉากกับบริเวณเลี้ยงเชื้อด้วยการใช้ปิเปตต์โดยหยดในปริมาณ 1 มล. ของสารแขวนลอยของตัวอย่างลงตรงกลางแผ่นฟิล์มส่วนล่างสุด

##### 3. ม้วนแผ่นฟิล์มแผ่นบนสุดวางทับไปบนตัวอย่างเพื่อป้องกันไม่ให้มีฟองอากาศที่อาจติดค้างอยู่

##### 4. วางตัวกดแบบเรียบ Neogen® Petrifilm® ลงไปโดยให้ด้านเรียบของตัวกดวางทับไปบนตรงกลางของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC กดเบาๆ บริเวณส่วนกลางของตัวกดแบบเรียบ Neogen Petrifilm เพื่อให้ตัวอย่างกระจายอย่างสม่ำเสมอ กลี๋ยหั่วเชื้อให้ทั่วทั้งบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ก่อนที่จะลอกตัวขึ้น ห้ามเลื่อนตัวกดแบบเรียบ Neogen Petrifilm ไปมาบนแผ่นฟิล์ม

##### 5. เอาตัวกดแบบเรียบ Neogen Petrifilm ออกและปล่อยแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CCทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อยหนึ่งนาทีเพื่อให้เจลก่อตัว

#### การบ่มเชื้อ

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปบ่มโดยจัดเรียงไว้ในแนวอนหันด้านใสขึ้นบน วางซ้อนกันไม่เกิน 20 แผ่น ระดับของอุณหภูมิและระยะเวลาที่บ่มสามารถใช้ได้หลายระดับขึ้นอยู่กับวิธีการอ้างอิงต่าง ๆ ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันของประเทศนั้น ๆ โดยบางวิธีการได้นำมาแสดงไว้ในส่วนหัวข้อ "คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบแล้ว"

#### การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

##### 1. สามารถนับจำนวนเชือบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ได้โดยใช้เครื่องนับโคโลนีมาตรฐาน หรือกล้องส่องตรวจนับจำนวนประเภทอื่นๆ ที่มีไฟส่องสว่าง ก๊าซที่เกิดจากโคลิฟอร์มอาจไปรบกวนโคโลนี โคโลนีนั้นๆ จึง "แสดง" ฟอง จึงควรนับเป็นโคลิฟอร์มเดี่ยว ไม่ต้องนับโคโลนีบนขอบโพนเนื่องจากเป็นบริเวณที่ไม่ได้รับอิทธิพลจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่ต้องนับจำนวนฟองอากาศที่เกิดขึ้นที่อาจมีอยู่

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์โคโลนีของโคลิฟอร์มบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC อาจแตกต่างกันไปตามวิธีการอ้างอิงที่ใช้ ยกตัวอย่าง:

วิธีการ AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

โคโลนีของโคลิฟอร์มจะเป็นสีแดงและเป็นผลมาจากก๊าซที่ขังอยู่หรือติดอยู่ด้านใน (ภายในหนึ่งเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี) โคโลนีที่ไม่ได้เป็นผลมาจากก๊าซ (ระยะห่างมากกว่าหนึ่งเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีระหว่างโคโลนีกับฟองก๊าซ) จะไม่นับเป็นโคลิฟอร์ม

หรือ วิธีการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของ NF Validation

- เมื่อเทียบกับ ISO method 4831<sup>2</sup> (MPN<sub>method</sub>) โคโลนีของโคลิฟอร์มจะเป็นสีแดงและเป็นผลมาจากก๊าซที่ขังอยู่หรือติดอยู่ด้านใน (ภายในหนึ่งเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี)
- เมื่อเทียบกับ ISO method 4832<sup>1</sup> (โคลิฟอร์มทั้งหมด) และ NF V08-060<sup>3</sup> (fecal coliforms) ทั้งสองขึ้นอยู่กับวิธีการวิธี VRBL นับโคโลนีทั้งหมดทั้งมีและไม่มีก๊าซ

##### 2. พื้นที่การเจริญเติบโตเป็นวงกลมขนาดประมาณ 20 ซม.<sup>2</sup> สามารถทำการประมาณค่าบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่มีมากกว่า 150 โคโลนีได้โดยการนับจำนวนโคโลนีในช่องสี่เหลี่ยมหนึ่งช่องหรือมากกว่าและหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีต่อช่อง คูณค่าเฉลี่ยด้วย 20 เพื่อหาจำนวนโดยประมาณต่อแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC แต่ละแผ่น

##### 3. เมื่อมีโคโลนีปรากฏเป็นจำนวนมาก แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สีของเจลอาจเข้มขึ้น อาจมีลักษณะเฉพาะอย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจทั้งคู่ดังต่อไปนี้: โคโลนีขนาดเล็กจำนวนมาก ไม่เด่นชัด และ/หรือมีฟองก๊าซจำนวนมาก โคลิฟอร์มที่มีความเข้มข้นสูงจะทำให้บริเวณการเจริญเติบโตเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม เมื่อมีเหตุการณ์นี้เกิดขึ้น ให้บันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ว่าเป็นจำนวนมากเกินกว่าจะนับ (TNTC) เมื่อต้องการจำนวนจริง นับแผ่นที่เจือจางสูงกว่า

##### 4. หากจำเป็น อาจจะทำโคโลนีไปแยกเชื้อเพื่อจำแนกประเภทเพิ่มเติมได้ ยกแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นด้วยเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสม และเลือกโคโลนีจากเจล การทดสอบด้วยการใช้ขั้นตอนวิธีการที่มาตรฐาน

##### 5. หากไม่สามารถนับจำนวนเชือบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ได้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากตุ้มเชื้อ สามารถจัดเก็บแผ่นเพาะเชื้อไว้เพื่อการนับจำนวนในภายหลังได้โดยการแช่แข็งไว้ในภาชนะที่สามารถปิดผนึกได้ ณ อุณหภูมิที่ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 15°C (5°F) เป็นระยะเวลาไม่เกินหนึ่งสัปดาห์



## การเตรียม การบ่มเชื้อและการตีความตัวอย่างน้ำบรรจุขวด เติมสารละลายลงบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC

1. วางแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC บนพื้นผิวเรียบและอยู่ในแนวราบ
2. ยกแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นและหยดตัวทำละลายไฮเดรชันที่เหมาะสมผ่านการฆ่าเชื้อ 1 มล. ลงตรงกลางของแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อ ตัวทำละลายไฮเดรชันที่เหมาะสมผ่านการฆ่าเชื้อ ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำปราศจากไอออน (DI) และน้ำรีเวอร์สออสโมซิส (RO)
3. ม้วนแผ่นฟิล์มแผ่นบนสุดวางทับไปบนตัวอย่างเพื่อป้องกันไม่ให้มีฟองอากาศที่อาจติดค้างอยู่
4. วางตัวกดแบบเรียบ Neogen Petrifilm ลงไปโดยให้ด้านเรียบของตัวกดวางทับไปบนตรงกลางของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ กดเบาๆ บริเวณส่วนกลางของตัวกดแบบเรียบเพื่อให้ตัวทำละลายกระจายอย่างสม่ำเสมอ เกลี่ยตัวทำละลายให้ทั่วทั้งบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ก่อนที่เจลจะก่อตัวขึ้น ห้ามเลื่อนตัวกดแบบเรียบไปมาบนแผ่นฟิล์ม
5. เอาตัวกดแบบเรียบออก แล้วปิดแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างน้อย 1 ชั่วโมงก่อนใช้งาน
6. เก็บแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่เติมสารละลายไว้ในถุงปิดผนึกหรือถุงพลาสติก ปกป้องแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อจากแสง และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-8°C (36-46°F) ได้นานถึง 7 วัน

## การกรองน้ำและการบ่มแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ทำตามขั้นตอนมาตรฐานสำหรับกรณีวิเคราะห์น้ำ ตัวอย่างน้ำกรองเมมเบรนใช้ขนาด 47 มม. ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน ตัวกรอง Mixed Cellulose Ester (MCE)
2. วางแผ่นฟิล์มด้านบนของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC อย่างระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการสัมผัสพื้นที่การเจริญเติบโตแบบวงกลม วางตัวกรองลงตรงกลางพื้นที่ที่หยดสารทำละลาย ลดฟองอากาศที่อาจติดค้างอยู่ที่ตัวกรองให้น้อยที่สุด
3. ค่อยๆ ม้วนฟิล์มด้านบนลงบนตัวกรอง ลดฟองอากาศที่อาจติดค้างอยู่ให้น้อยที่สุด และสร้างช่องว่างระหว่างตัวกรองและแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC
4. ใช้แรงกดเบาๆ โดยใช้ตัวกดแบบเรียบของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm หรือใช้นิ้วเลื่อนเบาๆ ทั่วทั้งแผ่น (รวมถึงตรงขอบด้วย) เพื่อให้แน่ใจว่าเจลสัมผัสตัวกรองอย่างสม่ำเสมอและเพื่อกำจัดฟองอากาศใดๆ ด้วย
5. นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C ± 1°C นาน 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมง<sup>11</sup> หรือ 36°C ± 1°C นาน 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมง<sup>12</sup> ในแนวอนหันด้านใสขึ้นบน วางซ้อนกันไม่เกิน 20 ชั้น

## การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

1. สามารถนับจำนวนเชือบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ได้โดยใช้เครื่องนับโคโลนีมาตรฐาน หรือกล้องส่องตรวจนับจำนวนประเภทอื่นๆ ที่มีไฟส่องสว่าง ไม่ต้องนับโคโลนีบนขอบโพนเนื่องจากเป็นบริเวณที่ไม่ได้รับอิทธิพลจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่ต้องนับจำนวนฟองอากาศที่เกิดขึ้นที่อาจมีอยู่
2. โคโลนีสีแดงที่มีฟองก๊าซจะถูกนับเป็นโคลิฟอร์มด้วย ฟองก๊าซอาจก่อตัวเป็นรูปร่างกลมหรือดาวรอบๆ โคโลนี ก๊าซที่เกิดจากโคลิฟอร์มอาจไปรบกวนโคโลนี โคโลนีนั้นๆ จึง “แสดง” ฟอง จึงควรนับเป็นโคลิฟอร์มเดียว โคโลนีสีแดงที่ไม่มีฟองก๊าซอาจเป็นโคลิฟอร์ม และควรถูกเลือกและทดสอบด้วยวิธีการยืนยันที่เหมาะสม<sup>11,12</sup>
3. เมื่อมีโคโลนีปรากฏเป็นจำนวนมาก แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC สีของเจลอาจเข้มข้นร่วมกับโคโลนีขนาดเล็กจำนวนมาก ไม่เด่นชัดหรือมีฟองก๊าซจำนวนมาก เมื่อมีเหตุการณ์นี้เกิดขึ้น ให้บันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ว่าเป็นจำนวนมากเกินกว่าจะนับ (TNTC)
4. อาจนำโคโลนีไปแยกเชื้อเพื่อจำแนกประเภทเพิ่มเติมได้ ยกแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นและเลือกโคโลนีจากเจลหรือพื้นผิวตัวกรอง เมื่อยกแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบน ตัวกรองอาจติดไปกับแผ่นฟิล์มด้านบนหรือแผ่นฟิล์มด้านล่าง หากตัวกรองติดกับฟิล์มด้านบน แยกตัวกรองออกจากฟิล์มด้านบนและเลือกโคโลนี การทดสอบด้วยการใช้ขั้นตอนวิธีการที่มาตรฐาน

**หมายเหตุ:** ไม่แนะนำให้นับแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ที่มีตัวกรองล่าช้า

สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดดูในหัวข้อ “Neogen® Petrifilm®” คู่มือแปลผลแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนโคลิฟอร์ม” หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ [www.neogen.com](http://www.neogen.com) หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท Neogen ในท้องถิ่นของท่าน

### คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบแล้ว

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 การนับแบคทีเรียและโคลิฟอร์มในนม Dry Rehydratable Film Methods และ 989.10 การนับแบคทีเรียและโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนม Dry Rehydratable Film Methods)

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปบ่ม 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมงที่ 32°C ± 1°C

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 การนับแบคทีเรียและ Escherichia coli ในอาหาร Dry Rehydratable Film Methods)

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปบ่ม 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมงที่ 35°C ± 1°C

### AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> Certificate #082101

จากการศึกษา Performance Tested Method (PTM) ของสถาบันวิจัย AOAC® พบว่าการใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC นั้นเทียบเท่ากับจำนวนค่า log เฉลี่ยของ FDA/BAM Chapter 4, Section III.D วิธีการสำหรับนับจำนวนของโคลิฟอร์มในน้ำบรรจุขวด



**ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้:**

น้ำบรรจุขวด: น้ำบริสุทธิ์ น้ำแร่ที่ผ่านกระบวนการ น้ำแร่ธรรมชาติประเภทไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำแร่ธรรมชาติประเภทเติมคาร์บอนไดออกไซด์

**การนึ่งเชื้อ:**

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปปฏ 24 ชั่วโมง  $\pm$  2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

**NF Validation โดย AFNOR Certification**

**วิธีการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของ NF VALIDATION ตามมาตรฐาน ISO 16140-2<sup>10</sup> เมื่อเปรียบเทียบกับ ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A)**

**ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้:** สำหรับการทดสอบ ผลิตภัณฑ์อาหารมนุษย์ทุกชนิด (ยกเว้นสัตว์น้ำประเภทที่มีเปลือกติดๆ) ตัวอย่างอาหารสัตว์เลี้ยงและสิ่งแวดล้อม ใช้รายละเอียดต่อไปนี้เมื่อนำคำแนะนำการใช้ด้านบนมาใช้:

**การเตรียมตัวอย่าง:**

ให้ใช้สารทำลายตามที่ระบุโดยมาตรฐาน ISO เท่านั้น

**การนึ่งเชื้อ:**

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปปฏ 24 ชั่วโมง  $\pm$  2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  หรือ  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

**การแปลผลการตรวจวิเคราะห์:**

คำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารที่นำมาทดสอบตาม ISO 7218<sup>5</sup> โดยใช้แผ่นอาหารหนึ่งแผ่นต่อตัวอย่างเจือจางหนึ่งตัวอย่าง การประมาณจำนวนโคโลนีที่อยู่นอกเหนือขอบเขตของการรับรองของ NF Validation (ดูส่วนการแปลผล ในย่อหน้าที่ 2)

**วิธีการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของ NF VALIDATION ตามมาตรฐาน ISO 16140-2<sup>10</sup> เมื่อเปรียบเทียบกับ ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B)**

**ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้:** สำหรับการทดสอบ ผลิตภัณฑ์อาหารมนุษย์ทุกชนิด (ยกเว้นสัตว์น้ำประเภทที่มีเปลือกติดๆ)

ใช้รายละเอียดต่อไปนี้เมื่อนำคำแนะนำการใช้ข้างบนมาใช้:

**การเตรียมตัวอย่าง:**

ให้ใช้สารทำลายตามที่ระบุโดยมาตรฐาน ISO เท่านั้น

**การนึ่งเชื้อ:**

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปปฏ 24 ชั่วโมง  $\pm$  2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  หรือ  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

**การแปลผลการตรวจวิเคราะห์:**

คำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารที่นำมาทดสอบตาม ISO 7218<sup>5</sup> โดยใช้แผ่นอาหารหนึ่งแผ่นต่อตัวอย่างเจือจางหนึ่งตัวอย่าง การประมาณจำนวนโคโลนีที่อยู่นอกเหนือขอบเขตของการรับรองของ NF Validation (ดูส่วนการแปลผล ในย่อหน้าที่ 2)

**วิธีการที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของ NF VALIDATION ตามมาตรฐาน ISO 16140-2<sup>10</sup> เมื่อเปรียบเทียบกับ NF V08-060<sup>3</sup> (3M-01/02-09/89 C)**

**ขอบเขตของการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ มีดังต่อไปนี้:** สำหรับการทดสอบ ผลิตภัณฑ์อาหารมนุษย์ทุกชนิด

ใช้รายละเอียดต่อไปนี้เมื่อนำคำแนะนำการใช้ข้างบนมาใช้:

**การเตรียมตัวอย่าง:**

ให้ใช้สารทำลายตามที่ระบุโดยมาตรฐาน ISO เท่านั้น

**การนึ่งเชื้อ:**

นำแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm CC ไปปฏ 24 ชั่วโมง  $\pm$  2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

**การแปลผลการตรวจวิเคราะห์:**

คำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารที่นำมาทดสอบตาม ISO 7218<sup>5</sup> โดยใช้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อหนึ่งแผ่นต่อตัวอย่างเจือจางหนึ่งตัวอย่าง การประมาณจำนวนโคโลนีที่อยู่นอกเหนือขอบเขตของการรับรองของ NF Validation (ดูส่วนการแปลผล ในย่อหน้าที่ 2) อิงตามมาตรฐาน EN ISO 7218 ในการเพาะเชื้อ การนับโคโลนี และการคำนวณและการแสดงผลลัพธ์



3M 01/02 – 09/89A, B, and C  
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการสิ้นสุดการบังคับใช้ของผลจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ โปรดอ่านเอกสารรับรองของ NF VALIDATION ที่พร้อมให้ใช้งานได้ตามเว็บไซต์ที่ระบุไว้ข้างต้น



## ข้อมูลอ้างอิง

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

โปรดอ้างอิงวิธีการมาตรฐานฉบับปัจจุบันที่แสดงรายการไว้ข้างต้น

## คำอธิบายสัญลักษณ์

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC เป็นเครื่องหมายการค้าจดทะเบียนของ AOAC INTERNATIONAL

Official Method เป็นเครื่องหมายบริการของ AOAC INTERNATIONAL

Performance Tested Method เป็นเครื่องหมายบริการของ AOAC INTERNATIONAL

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A

## 제품 설명서

# 대장균군 측정용 플레이트

### 제품 설명 및 용도

Neogen® Petrifilm® 대장균군용 (CC) 플레이트는 시료가 준비된 배양 시스템으로써 Violet Red Bile(VRB) 영양분, 냉수 용해성 젤화제와 집락 계수를 용이하게 하는 테트라졸롬 지시제가 포함되어 있습니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트는 식음료 및 병 생수 업계에서 대장균군을 계수하는 데 사용됩니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트 구성품은 멸균 처리되지는 않았으나 오염은 모두 제거되었습니다. Neogen Food Safety는 설계 및 제조에 관한 국제 표준화 기구(ISO) 9001 인증을 받았습니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트는 모든 가능한 식료품, 식품 가공, 시험 프로토콜 또는 모든 가능한 미생물 중에 대해서 평가되지 않았습니다.

미국 식품의약국(FDA) 박테리아 분석 매뉴얼(Bacteriological Analytical Manual, BAM)<sup>7</sup>에서는 대장균군을 유당 발효로부터 산과 가스를 발생시키는 그람 음성 간균을 정의합니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트에서 성장하는 대장균군은 pH 지표 젤 색상이 짙어지는 산을 발생시키며 적색 집락에 갇힌 가스는 대장균군을 나타냅니다.

ISO는 특정한 방법, 선택적 배지에서 성장 능력을 기준으로 대장균군을 정의합니다. ISO 방법 4832<sup>2</sup>는 집락 계수 방법을 통해 대장균군을 계수하며, 대장균군을 유당(VRBL) 한천으로 VRB에서 산을 발생시키는 균으로 정의합니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트에서 이러한 산 생성 대장균군은 가스 생성 또는 비생성 적색 집락으로 나타납니다. ISO 방법 4831<sup>2</sup>은 대장균군을 최석확수(MPN)법으로 계수하여 증식 및 선별 배지의 유당으로부터 가스를 생성하는 능력으로 대장균군을 정의합니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트에서 이러한 대장균군은 가스와 연관된 적색 집락으로 나타납니다.

병 생수 시료의 경우 확인된 대장균군 집락은 Neogen Petrifilm CC 플레이트에서 가스와 연관된 적색 집락으로 나타납니다. 가스 기포와 밀접한 연관이 없는 적색 집락은 대장균군일 수 있으며 적절한 확인 방법<sup>11,12</sup>으로 계대배양 및 시험해야 합니다. 추가 세부사항은 결과 해석 섹션을 참조하십시오. 특징적 집락은 *대장균*으로 계대배양 및 시험할 수 있습니다.

AFNOR Certification에서는 총 대장균군 계수화에 대해 ISO 방법 4831<sup>2</sup> 및 ISO 방식 4832<sup>1</sup> 대비 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 인증했습니다. AFNOR Certification에서는 또한 내열성 대장균군 계수에 대해 NF V08-060<sup>3</sup> 대비 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 인증했습니다.

### 안전

사용자는 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 제품 설명서에 있는 모든 안전 관련 사항을 읽고, 숙지하고, 이에 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

**△ 경고:** 피하지 못할 경우 사망이나 심각한 부상 및/또는 재산상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다

## ▲ 경고

### 생물학적 위험 및 환경 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- 생물학적 위험 폐기물의 처분에 관한 최신 산업 표준과 현지 규정을 따르십시오.

### 오염된 제품의 누출과 관련된 위험을 줄이려면:

- 설명서에 포함된 제품 보관 지침을 모두 따르십시오.
- 유효기간이 지난 제품을 사용해서는 안 됩니다.

### 세균 감염 및 작업 현장 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- 적절한 장비를 갖춘 실험실에서 숙련된 미생물 전문가의 관리하에 Neogen Petrifilm CC 플레이트 시험을 실시합니다.
- 사용자는 최신의 올바른 시험 기법으로 담당 직원을 반드시 교육해야 합니다. 예: 우수 실험실 기준<sup>4</sup>, ISO 7218<sup>5</sup>, 또는 ISO 17025<sup>6</sup>.

### 결과에 대한 해석 오류와 관련된 위험을 줄이려면:

- Neogen에서는 병 생수를 포함한 식음료 업계 이외의 다른 산업에서 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 사용하는 것과 관련된 정보를 문서화하지 않았습니다. 예를 들어 Neogen에서는 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 의약품 또는 화장품의 시험에 대해 문서화하지 않았습니다. Neogen에서는 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 표면 및 도시용수나 의약품 또는 화장품 업계 용수 시험에 대해 문서화하지 않았습니다.
- 지역 용수 시험 규정을 준수한 용수 시료 시험을 위한 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 사용은 전적으로 최종 사용자의 책임입니다. Neogen Petrifilm CC 플레이트는 모든 가능한 병 생수 시료, 시험 프로토콜 또는 모든 가능한 미생물 중에 대해서 시험되지 않았습니다.
- Neogen Petrifilm CC 플레이트를 사람이나 동물의 상태 진단에 사용하면 안 됩니다.
- Neogen Petrifilm CC 플레이트는 대장균군 균주를 구별하지 않습니다.
- 당도가 높은 식품의 경우에는 비대장균군 *장내세균속*종에 의해 가스 발생 가능성이 높아질 수 있습니다.

자세한 정보는 물질안전보건자료를 참고하십시오.

제품 성능 문서에 대한 자세한 내용은 [www.neogen.com](http://www.neogen.com) 웹사이트를 참조하거나 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

## 사용자의 책임

사용자는 제품 설명서와 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 자세한 내용은 당사 웹사이트([www.neogen.com](http://www.neogen.com))를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

시험 방법을 선택할 때, 시료 추출 방법, 시험 프로토콜, 시료 준비, 취급, 실험 기법과 같은 외적 요인이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인식하는 것이 중요합니다.

시험 방법이나 제품을 선택할 때 선택된 시험 방법이 사용자의 기준을 충족할 수 있도록 적합한 매트릭스와 미생물 유발 시험을 사용하여 충분한 수의 시료를 평가하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 사용자는 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급자의 요구사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

다른 시험 방법과 마찬가지로 Neogen Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 시험된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

## 보증의 한계/제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, NEOGEN은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, Neogen이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 다음은 귀하의 유일한 구제 방법입니다. 제품에서 의심되는 결함이 발견되면 발견일로부터 60일 이내에 Neogen으로 즉시 통지하고, 제품을 Neogen으로 반품해야 합니다. 추가 질문이 있으면 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

## Neogen 책임의 제한

NEOGEN은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 Neogen의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

## 보관

열지 않은 Neogen Petrifilm CC 플레이트 파우치를 8°C(46°F) 이하의 온도에서 냉장 또는 냉동 보관하십시오. 개봉하지 않은 Neogen Petrifilm CC 플레이트 파우치는 사용 직전에 실온으로 옮겼다가 개봉하십시오. 사용하지 않은 Neogen Petrifilm CC 플레이트는 다시 파우치에 넣어두십시오. 파우치의 말단을 접고, 접착테이프를 붙여서 밀봉하십시오. **습기에 노출되지 않게 하려면 개봉한 파우치를 냉장 보관하지 마십시오.** 다시 밀봉한 파우치는 서늘하고 건조한 곳에 4주 이상 보관하면 안 됩니다. 실험실 온도가 25°C(77°F)를 초과하거나 실험실이 상대 습도가 50%를 초과하는 지역에 있는 경우(공기 조절 설비가 있는 곳은 제외), 재밀봉한 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 파우치를 냉동고(아래 참고)에 보관하는 것이 좋습니다.

개봉된 파우치를 냉동고에 보관하려면 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 밀폐 가능한 용기에 넣으십시오. 냉동된 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 사용하기 위해 꺼내려면 용기를 열고 필요한 플레이트를 꺼낸 다음, 남은 플레이트를 즉시 밀봉된 용기에 도로 넣어 남은 유통기한 동안 냉동실에 보관하십시오. 유효기간이 지난 Neogen Petrifilm CC 플레이트는 사용하지 않습니다. 개봉한 파우치를 보관하는 냉동고에는 자동 성에 제거 장치가 있으면 절대로 안 됩니다. 이 장치가 있는 경우 Neogen Petrifilm CC 플레이트는 손상을 입을 수 있는 습기에 반복적으로 노출됩니다.

변색된 Neogen Petrifilm CC 플레이트는 사용할 수 없습니다. 유효기간 및 제조번호는 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 각 포장 위에 표기되어 있습니다. 제조번호는 개별 Neogen Petrifilm CC 플레이트에도 표시되어 있습니다.

## △ 폐기

사용한 Neogen Petrifilm CC 플레이트에는 잠재적인 생물학적 위험물인 미생물이 들어있을 수 있습니다.

현행 산업 표준에 따라 폐기하십시오.

## 사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 준수하십시오. 그렇지 않으면 부정확한 결과가 나올 수 있습니다.

## 환경 시료를 비롯한 식음료 업계 시료 준비, 배양 및 결과 해석 (병 생수 제외)

### 시료 준비

1. 다음과 같이 적절한 살균된 희석액을 사용하십시오.

버터필드의 인산염 완충 희석수<sup>7</sup>, 0.1% 펩톤수<sup>8</sup>, 펩톤 염 희석제<sup>8,9</sup>, 완충 펩톤수<sup>8,9</sup>, 식염수(0.85 ~ 0.90%), Neogen® 와이드 스펙트럼 중화장치, 중황산염이 없는 레틴 액체배지 또는 증류수. 특정 요건에 관해서는 “**유효성 검증 방법 관련 상세 설명**” 섹션을 참조하십시오.

**시트르산염, 중아황산염 또는 티오황산염을 포함하는 희석액을 Neogen Petrifilm CC 플레이트에 사용하지 마십시오. 이들은 증식을 억제할 수 있습니다.** Citrate 버퍼액이 표준 절차에 표시되어 있는 경우, 40~45°C(104~113°F)로 가열된 상기 완충액 중 하나와 교체하십시오.

2. 샘플 혼합 또는 균질화.

3. 미생물의 최적 성장 및 회복을 위해, 시료 현탁액의 pH 값을 조절하여 6.6~7.2로 맞춥니다. 산성 제품의 경우, 1N NaOH를 사용하여 pH를 조절합니다. 알칼리 제품의 경우, 1N HCl를 사용하여 pH를 조절합니다.

## 접종

1. Neogen Petrifilm CC 플레이트를 평평하고 수평한 표면에 놓습니다.
2. 피펫을 사용하여 배양 구역에 수직하게 상단 필름을 들고 하단 필름의 중앙에 시료 현탁액 1mL를 떨어뜨립니다.
3. 시료 위에서 상단 필름을 아래로 눌러서 기포가 포획되지 않도록 합니다.
4. Neogen® Petrifilm® 누름판의 평평한 면을 아래로 하여 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 중앙에 놓습니다. Neogen Petrifilm 누름판의 중앙부를 부드럽게 눌러서 시료를 고르게 펴십시오. 겔이 형성되기 전에 접종물을 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 전체 증식 구역에 펼치십시오. Neogen Petrifilm 누름판을 필름 위에 올려놓고 옆으로 밀지 마십시오.
5. Neogen Petrifilm 누름판을 제거하고 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 최소 1분 이상 그대로 두어 겔이 형성되도록 하십시오.

## 배양

수평 위치에서 투명한 쪽이 위로 향하게 20개 미만의 플레이트를 쌓아서 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 배양합니다. 최신 현지 참조 방법에 따라서 몇 가지의 배양 시간 및 온도를 사용할 수 있으며, 그 중 일부를 “**검증 방법 관련 상세 설명**” 섹션에서 제시합니다.

## 결과 해석

1. Neogen Petrifilm CC 플레이트는 표준 집락 계수기나 다른 조명 확대경을 사용하여 계수할 수 있습니다. 대장균군이 생성한 가스는 집락을 방해할 수 있어 집락이 기포의 “윤곽을 표시”할 수 있습니다. 이는 단일 대장균군으로 계수해야 합니다. 겔 바깥 부분의 집락은 배지의 선택적 영향에서 벗어났으므로 계수하면 안 됩니다. 허상 기포가 나타나는 경우 계수하면 안 됩니다.

Neogen Petrifilm CC 플레이트에서 대장균군 집락의 해석은 참조 방법에 따라 차이가 있습니다. 사례:

AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>:

대장균군 집락은 적색이며 (단위 집락 직경 내부의) 포획된 가스 및 밀접한 관계를 갖습니다. 가스와 관련성이 없는 집락(집락과 가스 기포 사이의 거리가 단위 집락의 직경을 초과)은 대장균군으로 계수하지 않습니다.

또는 NF Validation 인증 방법:

- ISO 방법 4831<sup>2</sup>(MPN 방법)과 비교하여 대장균군 집락은 적색이며 갇힌 가스(하나의 집락 직경 내에) 긴밀히 연관되어 있습니다.
- ISO 방법 4832<sup>1</sup>(총 대장균군) 및 NF V08-060<sup>3</sup>(대변 대장균군)과 비교했을 때 두 가지 모두 VRBL 방법에 기반을 두고 가스 포함 또는 미포함 적색 집락 모두를 계수합니다.

2. 원형으로 된 증식 구역은 약 20 cm<sup>2</sup>입니다. 150개 이상의 집락을 포함한 Neogen Petrifilm CC 플레이트에 대한 추정치는 1개 이상의 대표 사각형 내 집락의 수를 세고 사각형당 평균치를 결정함으로써 계산할 수 있습니다. 평균값에 20을 곱하여 Neogen Petrifilm CC 플레이트당 추정 계수값을 결정합니다.
3. 높은 수의 집락이 존재할 때 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 겔 컬러가 짙어질 수 있으며 다음 특징 중 하나 또는 모두가 나타날 수 있습니다: 작고 많은 희미한 집락 및/또는 많은 가스 기포. 대장균군의 높은 농도는 증식 구역을 짙은 적색으로 만들 수 있습니다. 이처럼 되는 경우, 결과는 너무 많아서 계수 불가능(TNTC)으로 기록합니다. 실제 계수가 필요한 경우 높은 희석액을 플레이트링하십시오.
4. 필요한 경우 집락을 분리해서 자세하게 확인할 수 있습니다. 올바른 시험 기법을 사용해 상단 필름을 들어 올리고 겔에서 집락을 선택합니다. 표준 절차를 사용하여 시험합니다.
5. 배양기에서 꺼낸지 1시간 내에 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 계수하지 못하는 경우에는 다음에 계수하기 위해 밀폐 가능한 용기에 넣고 영하 15°C(5°F) 이하의 온도에서 동결하여 1주 이내의 시간 동안 보관할 수 있습니다.

## 병 생수 시료 준비, 배양 및 결과 해석

### Neogen Petrifilm CC 플레이트 수화

1. Neogen Petrifilm CC 플레이트를 평평하고 수평한 표면에 놓습니다.
2. 상단 필름을 들고 적절한 멸균 수화 희석액 1mL를 바닥 필름의 중앙에 떨어뜨립니다. 적절한 멸균 수화 희석액에는 증류수, 탈이온(DI)수 및 역삼투(RO)수가 포함됩니다.
3. 시료 위에서 상단 필름을 아래로 눌러서 기포가 포획되지 않도록 합니다.
4. Neogen Petrifilm 누름판의 평평한 면을 아래로 하여 플레이트의 중앙에 놓습니다. 누름판의 중앙부를 부드럽게 눌러서 희석액을 고르게 펴십시오. 겔이 형성되기 전에 희석액을 Neogen Petrifilm 플레이트의 전체 증식 구역에 펼치십시오. 누름판을 필름 위에 올려놓고 옆으로 밀지 마십시오.
5. 누름판을 떼고 사용 전에 플레이트가 최소 1시간 동안 닫혀 있도록 하십시오.
6. 수화된 Neogen Petrifilm CC 플레이트를 밀봉된 파우치나 비닐 봉지에 보관하십시오. 플레이트를 직사광선으로부터 보호하고 최대 7일간 2~8°C(36~46°F)에서 냉장하십시오.

### 물 여과 및 플레이트 배양

1. 용수 분석을 위한 표준 절차에 따라 47 mm, 0.45 미크론 기공 크기의 에스테르 혼합 셀룰로오스(MCE) 필터를 사용해 용수 시료를 막여과로 걸러냅니다.
2. Neogen Petrifilm CC 플레이트의 상단 필름을 조심스럽게 걷어냅니다. 원형 성장 영역에 접촉하지 않도록 하십시오. 필터를 수화 영역 중앙에 놓습니다. 필터 아래에 기포가 생기는 것을 최소화하십시오.
3. 상단 필름을 필터 위에 조심스럽게 펴십시오. 필터와 Neogen Petrifilm CC 플레이트 사이에 기포와 공간이 생기는 것을 최소화합니다.

- Neogen Petrifilm 플레이트 누름판을 사용하거나 손가락을 전체 디스크 구역(가장자리 포함) 전반으로 밀어 약간의 압력을 가하여 필터가 겔과 일정한 접촉을 하고 기포를 제거할 수 있도록 합니다.
- Neogen Petrifilm CC 플레이트를 수평 상태로 투명한 쪽이 위로 가게 하여 20개 미만으로 쌓은 다음 35°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간<sup>11</sup> 또는 36°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간<sup>12</sup> 동안 배양하십시오.

### 결과 해석

- Neogen Petrifilm CC 플레이트는 표준 집락 계수기나 다른 조영 확대경을 사용하여 계수할 수 있습니다. 겔 바깥 부분의 집락은 배지의 선택적 영향에서 벗어났으므로 계수하면 안 됩니다. 허상 기포가 나타나는 경우 계수하면 안 됩니다.
- 가스 기포와 연관된 적색 집락은 대장균군으로 계수합니다. 가스 기포는 집락 근처에 원형이나 별 모양 패턴을 형성할 수 있습니다. 대장균군이 생성한 가스는 집락을 방해할 수 있어 집락이 기포의 “윤곽을 표시”할 수 있습니다. 이는 단일 대장균군으로 계수해야 합니다. 가스 기포와 밀접한 연관이 없는 적색 집락은 대장균군일 수 있으며 적절한 확인 방법<sup>11,12</sup>으로 선별 및 시험해야 합니다.
- 높은 수의 집락이 존재할 때 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 작고 많은 희미한 집락 또는 가스 기포와 관련된 겔 컬러가 짙어질 수 있습니다. 이처럼 되는 경우, 결과는 너무 많아서 계수 불가능(TNTC)으로 기록합니다.
- 집락을 분리해서 자세하게 확인할 수 있습니다. 상단 필름을 들어 올리고 겔 또는 필터 표면에서 집락을 선택합니다. 상단 필름을 들어 올릴 때 필터가 상단 필름이나 하단 필름에 붙을 수 있습니다. 필터가 상단 필름에 붙는 경우 필터를 상단 필름에서 떼어내고 집락을 집어냅니다. 표준 절차를 사용하여 시험합니다.

**참고:** 필터가 있는 Neogen Petrifilm CC 플레이트의 지연 계수는 권장하지 않습니다.

보다 상세한 내용은 적절한 “Neogen® Petrifilm® 대장균군 측정용 플레이트 해석 가이드”를 참조합니다. 구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

### 검증 방법 관련 상세 설명

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (986.33 우유에서의 박테리아 대장균군 계수, 건조 재수화 가능 필름 방법 및 989.10 유제품에서의 박테리아 및 대장균 계수, 건조 재수화 가능 필름 방법)

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 32°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

**AOAC® Official Methods<sup>SM</sup>** (991.14 식품에서의 대장균군 및 대장균 계수, 건조 재수화 가능 필름 방법)

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 35°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

### **AOAC® Performance Tested Method<sup>SM</sup> 인증서 #082101**

AOAC® Research Institute Performance Tested Method (PTM) 연구에서 Neogen Petrifilm CC 플레이트 방식은 생수 내 대장균군 측정용 FDA/BAM 4장 섹션 III.D 방법의 평균 로그 수와 동일한 것으로 밝혀졌습니다.



### 검증의 범위:

생수: 정제수, 처리한 샘물, 무탄산 천연 샘물, 탄산 천연 샘물.

### 배양:

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 35°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

### AFNOR Certification에 의한 NF Validation:

**ISO 4832<sup>1</sup> (3M-01/02-09/89 A) 대비 ISO 16140-2<sup>10</sup>에 준한 NF Validation 인증 방법**

**검증의 범위: 모든 인간의 식료품(생 조개류 제외), 애완동물 사료와 환경 시료.**

상기 사용 지침을 사용할 시에는 다음 세부 사항을 참고하시기 바랍니다.

### 시료 준비:

ISO에 명시된 희석액만 사용하십시오.

### 배양:

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 30°C ± 1°C 또는 37°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

### 해석:

ISO 7218<sup>5</sup>에 따라 희석액당 하나의 플레이트에 대해 시험 시료에 나타난 미생물의 개수를 계산합니다. 추정치는 NF Validation 인증의 범위를 벗어납니다(해석 파트 2항 참조).

**ISO 4831<sup>2</sup> (3M-01/02-09/89 B) 대비 ISO 16140-2<sup>10</sup>에 준한 NF Validation 인증 방법**

**검증의 범위: 모든 인간의 식료품(생 조개류 제외) 검사용**

상기 사용 지침을 사용할 시에는 다음 세부 사항을 참고하시기 바랍니다.

### 시료 준비:

ISO에 명시된 희석액만 사용하십시오.



**배양:**

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 30°C ± 1°C 또는 37°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

**해석:**

ISO 7218<sup>5</sup>에 따라 희석액당 하나의 플레이트에 대해 시험 시료에 나타난 미생물의 개수를 계산합니다. 추정치는 NF Validation 인증의 범위를 벗어납니다(해석 파트 2항 참조).

**NF V08-060<sup>3</sup>(3M-01/02-09/89 C) 대비 ISO 16140-2<sup>10</sup>에 준한 NF Validation 인증 방법**

**검증의 범위:** 모든 인간의 식료품 검사용

상기 사용 지침을 사용할 시에는 다음 세부 사항을 참고하시기 바랍니다.

**시료 준비:**

ISO에 명시된 희석액만 사용하십시오

**배양:**

Neogen Petrifilm CC 플레이트를 44°C ± 1°C에서 24시간 ± 2시간 동안 배양합니다.

**해석:**

ISO 7218<sup>5</sup>에 따라 희석액당 하나의 플레이트에 대해 시험 시료에 나타난 미생물의 개수를 계산합니다. 추정치는 NF Validation 인증의 범위를 벗어납니다(해석 파트 2항 참조). 배양, 집락 계수, 계산 및 결과 표현에 대해서는 EN ISO 7218 표준을 참조하십시오.



**3M 01/02 - 09/89A, B, and C**  
**ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS**  
<http://nf-validation.afnor.org/en>

유효 기간과 관련한 상세 정보는 상기에 명시한 웹 사이트에 있는 NF Validation 인증서를 참고하십시오.

## 참고 자료

1. ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique.
2. ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique.
3. AFNOR NF V08-060. General guidance for the enumeration of fecal coliforms – Colony count technique (VRBL) at 44°C – Routine method.
4. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
7. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8<sup>th</sup> Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
8. ISO 6887-5. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products.
9. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
10. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
11. U.S. Food and Drug Administration. 2002. Bacteriological Analytical Manual, Ch. 4, Section III, Method 4. Membrane filter method for coliforms.
12. American Public Health Association. 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9222B2a.

위에 열거된 표준 방법의 최신 버전을 참고하십시오.

## 기호 설명

[info.neogen.com/symbols](http://info.neogen.com/symbols)

AOAC는 AOAC INTERNATIONAL의 등록 상표입니다.

Official Methods는 AOAC INTERNATIONAL의 서비스 마크입니다.

Performance Tested Method는 AOAC INTERNATIONAL의 서비스마크입니다.

# Neogen Food Safety

## Neogen Corporation

620 Leshar Place  
Lansing, MI 48912 USA  
Neogen.com

## Neogen Europe Ltd.

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

## Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray  
Co. Wicklow  
A98YV29, Ireland



## Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA  
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.  
Neogen and Clean-Trace are trademarks of Neogen Corporation.  
FS00931A