

Product Instructions

-  **(EN)** *Enterobacteriaceae* Count Plate
-  **(FR)** Test *Enterobacteriaceae*
-  **(DE)** *Enterobacteriaceae* Zählplatte
-  **(IT)** Piastra per il conteggio di *Enterobacteriaceae*
-  **(ES)** Placa para recuento de *enterobacterias*
-  **(NL)** *Enterobacteriaceae* Telplaat
-  **(SV)** *Enterobacteriaceae* Count Plate
-  **(DA)** *Enterobacteriaceae* Tælleplade
-  **(NO)** For *Enterobacteriaceae*
-  **(FI)** *Enterobakteerien* Kasvatusalusta
-  **(PT)** Placa para Contagem de *Enterobacteriaceae*
-  **(EL)** Πλακίδιο Καταμέτρησης *Εντεροβακτηριδίων*
-  **(PL)** Płytko do oznaczania liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*
-  **(RU)** Тест-пластина для подсчета *энтеробактерий*
-  **(TR)** *Enterobacteriaceae* Sayım Plakası
-  **(JA)** 腸内細菌科菌群数測定用プレート
-  **(ZH)** 肠杆菌科测试片
-  **(TH)** *Enterobacteriaceae* Count Plate
-  **(KO)** 장내세균 측정용 플레이트

Product Instructions

Enterobacteriaceae Count Plate

Product Description and Intended Use

The Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Count (EB) Plate is a sample-ready-culture medium system which contains modified Violet Red Bile Glucose (VRBG) nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and a tetrazolium indicator that facilitates colony enumeration. Neogen Petrifilm EB Plates are used for the enumeration of *Enterobacteriaceae* in the food, beverage, and bottled water industries. *Enterobacteriaceae* are oxidase-negative, Gram-negative rods that ferment glucose to produce acid and/or gas. On Neogen Petrifilm EB Plates, *Enterobacteriaceae* will appear as red colonies with yellow zones, red colonies with gas bubbles, or red colonies with yellow zones and gas bubbles. Neogen Petrifilm EB 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 EB Plates have not been evaluated with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible strains for *Enterobacteriaceae* or other bacteria.

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Petrifilm EB 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 use by date.

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

- Perform Neogen Petrifilm EB 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 Practices¹, ISO/EIC 17025² or ISO 7218³.

To reduce the risks associated with misinterpretation of results:

- Neogen has not documented Neogen Petrifilm EB Plates for use in industries other than food and beverages including bottled water. For example, Neogen has not documented Neogen Petrifilm EB Plates for testing pharmaceuticals, or cosmetics. Neogen has not documented Neogen Petrifilm EB Plates for testing surface and municipal waters, or waters used in the pharmaceutical or cosmetic industries.
- The use of Neogen Petrifilm EB 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 EB Plates have not been tested with all possible bottled water samples, testing protocols or with all possible strains of microorganisms.
- Do not use Neogen Petrifilm EB Plates in the diagnosis of conditions in humans and animals
- Neogen Petrifilm EB Plates do not differentiate any one *Enterobacteriaceae* strain from another.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at 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, 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 EB Plate pouches refrigerated or frozen at temperatures lower than or equal to 8°C (46°F). Just prior to use, allow unopened Neogen Petrifilm EB Plate pouches to come to room temperature before opening. Return unused Neogen Petrifilm EB 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 Neogen Petrifilm EB Plate pouches in a cool, dry place for no longer than four weeks. It is recommended that resealed pouches of Neogen Petrifilm EB 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 EB Plates in a sealable container. To remove frozen Neogen Petrifilm EB 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. The freezer that is used for open pouch storage must not have an automatic defrost cycle as this would repeatedly expose the plates to moisture which can damage the plates.

Do not use Neogen Petrifilm EB Plates that show discoloration. Use by date and batch number are noted on each package of Neogen Petrifilm EB Plates. The lot number is also noted on individual Neogen Petrifilm EB Plates. The Neogen Petrifilm EB Plates should not be used past their use by date.

⚠ Disposal

After use, Neogen Petrifilm EB 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 and Incubation 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 water⁴, peptone salt diluent⁵, 0.1% peptone water⁴, buffered peptone water⁵, dipotassium hydrogen phosphate solution⁵, saline solution (0.85 – 0.90%), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfate-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 EB 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 6.5-7.5. For acidic products, adjust the pH with 1 N NaOH. For alkaline products, adjust the pH with 1 N HCl.

Plating

1. Place the Neogen Petrifilm EB 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 EB Plate. Press gently on the center of the Neogen Petrifilm Spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire Neogen Petrifilm EB 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 EB Plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

Incubation

Incubate Neogen Petrifilm EB Plates in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 - Neogen Petrifilm EB Plates. Incubate Neogen Petrifilm EB Plates 24 hours ± 2 hours. Several incubation times and temperatures can be used depending on current local reference methods, some of which are listed in the section below titled “**Specific Instructions for Validated Methods**”.

Preparation and Incubation of Bottled Water Samples

Neogen Petrifilm EB Plate Hydration

1. Place the Neogen Petrifilm EB 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 Neogen Petrifilm Spreader and allow the plates to remain closed for a minimum of 1 hour before use.
6. Store hydrated Neogen Petrifilm EB 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 EB Plate. Avoid touching the circular growth area. Place the filter in the center of the hydrated area.
3. Slowly replace top film onto the membrane filter. Minimize trapping air bubbles and creating gaps between the filter and the Neogen Petrifilm EB Plate.
4. Lightly apply pressure by using the Neogen Petrifilm 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.

Incubation

Incubate Neogen Petrifilm EB Plates at 34°C to 37°C for 24 hours ± 2 hours in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20.

Interpretation

1. Neogen Petrifilm EB 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. *Enterobacteriaceae* are red colonies with yellow zones and/or red colonies with gas bubbles with or without yellow zones. Colonies not associated with gas (a distance greater than on colony diameter between colony and gas bubble) and not associated with a yellow zone are not counted as *Enterobacteriaceae*.
3. The circular growth area is approximately 20cm². Estimates can be made on Neogen Petrifilm EB Plates containing greater than 100 colonies by counting the number of colonies in two or more representative squares and determining the average number per square. Multiply the average number by 20 to determine the estimated count per plate.
4. When colonies are present in large numbers, Neogen Petrifilm EB Plates will have a deepening of the gel color or the plate may turn completely yellow, and either or both of the following characteristics: many small, indistinct colonies and/or many gas bubbles. When this occurs, record results as too numerous to count (TNTC). When an actual count is required, plate at a higher dilution.
5. 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.
6. If the Neogen Petrifilm EB 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.

Note: Delayed counting of Neogen Petrifilm EB Plates with membrane filters is not recommended.

For further information refer to the “Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Plate Interpretation Guide.” If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.neogen.com or contact your Neogen representative or authorized distributor.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Official MethodsSM

Scope of the validation: 2003.01 Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Selected Foods

Incubation:

Incubate Neogen Petrifilm EB Plates 24 hours ± 2 hours at 37°C ± 1°C.

NF Validation by AFNOR Certification

NF Validation certified method in compliance with ISO 16140-2⁶ in comparison to ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 –09/97)

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

Scope of the validation: For testing all human food products, animal feed and industrial environmental samples.

Sample preparation: Use only ISO listed dilutents⁵.

Incubation:

Incubate Neogen Petrifilm EB Plates 24 hours ± 2 hours at 30°C ±1°C or 37°C ± 1°C.

Interpretation:

Calculate the number of microorganisms present in the test sample according to ISO 7218³ for one plate per dilution. For calculation, take into account only Neogen Petrifilm EB Plates that contain up to 100 colonies. Estimates are outside of the scope of the NF Validation Certification (cf. interpretation part paragraph 3). Refer to EN ISO 7218 standard for inoculation, colony counting and calculation and expression of results.



3M 01/06 – 09/97

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. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

Explanation of Symbols

info.neogen.com/symbols

AOAC is a registered trademark of AOAC INTERNATIONAL
Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Instructions relatives au produit

Test *Enterobacteriaceae*

Description et utilisation du produit

Le Test Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* (EB) est un milieu de culture prêt à l'emploi qui contient des éléments nutritifs VRBG modifié (du cristal violet, du rouge neutre, de la bile et du glucose), un agent gélifiant soluble dans l'eau froide et un indicateur au tétrazolium facilitant le dénombrement des colonies. Les Tests Neogen Petrifilm EB sont utilisés pour la numération des *Enterobacteriaceae* dans les industries alimentaires, des boissons et de l'eau en bouteille. Les *Enterobacteriaceae* sont des bâtonnets Gram négatif et oxydase négative qui fermentent le glucose et produisent de l'acide et/ou du gaz. Sur les Tests Neogen Petrifilm EB, les *Enterobacteriaceae* apparaissent sous forme de colonies rouges entourées de zones jaunes, sous forme de colonies rouges associées à des bulles de gaz ou sous forme de colonies rouges entourées de zones jaunes et associées à des bulles de gaz. Les composants du Test Neogen Petrifilm EB sont décontaminés, mais pas stérilisés. La conception et la fabrication Neogen Sécurité Alimentaire sont certifiées par l'Organisation internationale de normalisation (ISO) 9001. Les Tests Neogen Petrifilm EB n'ont pas été testés avec la totalité des produits alimentaires, des processus de transformation des aliments, des protocoles d'analyses ou des souches possibles d'*Enterobacteriaceae* ou d'autres bactéries.

Consignes de sécurité

L'utilisateur doit lire attentivement, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité fournies dans le mode d'emploi du Test Neogen Petrifilm EB. Conserver ces consignes de sécurité pour s'y référer ultérieurement.

⚠ **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 :

- Suivre les normes industrielles actuelles ainsi que la réglementation locale pour le traitement 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 les instructions d'utilisation.
- Ne pas utiliser au-delà de 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 EB dans un laboratoire correctement équipé, sous la surveillance d'un microbiologiste compétent.
- L'utilisateur doit former son personnel de manière appropriée aux techniques d'analyse actuelles : par exemple, les bonnes pratiques de laboratoire¹, ISO/EIC 17025² ou ISO 7218³.

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

- Neogen n'a pas documenté l'utilisation des Tests Neogen Petrifilm EB dans les secteurs autres que l'industrie alimentaire et les boissons comprenant l'eau en bouteille. Neogen n'a, par exemple, pas documenté l'utilisation des Tests Neogen Petrifilm EB pour l'analyse des produits pharmaceutiques ou des cosmétiques. Neogen n'a pas documenté les Tests Neogen Petrifilm EB pour l'analyse des eaux de surface ou de ville, ni pour l'analyse des eaux utilisées dans les industries pharmaceutiques ou cosmétiques.
- L'utilisation des Tests Neogen Petrifilm EB pour analyser des échantillons d'eau conformément à la réglementation locale sur l'analyse de l'eau est effectuée à la seule discrétion et responsabilité de l'utilisateur final. Les Tests Neogen Petrifilm EB n'ont pas été testés avec la totalité des échantillons d'eau en bouteille, protocoles d'analyse ou des souches possibles de micro-organismes.
- Ne pas utiliser les Tests Neogen Petrifilm EB pour réaliser des diagnostics sur l'homme et l'animal.
- Les Tests Neogen Petrifilm EB ne permettent pas de faire de distinction entre différentes souches d'*Enterobacteriaceae*.

Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour plus de renseignements.

Si vous avez des questions au sujet d'applications ou de procédures spécifiques, veuillez visiter notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé.

Responsabilité de l'utilisateur

Les utilisateurs sont tenus de se familiariser avec les instructions et les informations sur les produits. Visitez notre site Web à l'adresse 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 de test, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoires peuvent influencer les résultats.

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode d'analyse adaptée pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les épreuves microbiennes appropriées, afin de garantir que la méthode d'analyse soit conforme aux critères de l'utilisateur.

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.

Limitation de garantie/Recours limité

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 au fournisseur. 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 de Test Neogen Petrifilm EB non ouvertes, réfrigérées ou congelées, à des températures inférieures ou égales à 8 °C (46 °F). Juste avant utilisation, laisser les poches de Test Neogen Petrifilm EB non ouvertes atteindre la température ambiante avant de les ouvrir. Replacer les Tests Neogen Petrifilm EB non utilisés dans la 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 de Test Neogen Petrifilm EB refermées doivent être conservées 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 EB refermées au congélateur (voir ci-dessous).

Pour conserver les poches ouvertes dans un congélateur, placer les Tests Neogen Petrifilm EB dans un récipient étanche. Pour retirer les plaques Neogen Petrifilm EB 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. Le congélateur utilisé pour la conservation des poches ouvertes ne doit pas posséder de cycle de dégivrage automatique. En effet, les tests pourraient être endommagés en raison d'une exposition répétée à l'humidité.

Ne pas utiliser des Tests Neogen Petrifilm EB présentant des signes de décoloration. La date de péremption et le numéro de lot figurent sur chacune des boîtes de Tests Neogen Petrifilm EB. Le numéro de lot est également indiqué sur chaque Test Neogen Petrifilm EB. Les Tests Neogen Petrifilm EB ne doivent pas être utilisés après leur date de péremption.

△ Élimination des déchets

Après usage, chaque Test Neogen Petrifilm EB peut contenir des micro-organismes et donc présenter un risque biologique. 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 et incubation des échantillons des industries alimentaires et de boissons (à l'exception des industries d'eau en bouteille) comprenant des échantillons environnementaux

Préparation de l'échantillon

1. Utiliser des diluants stériles appropriés :

Eau de dilution tamponnée au phosphate de Butterfield⁴, diluent salin peptoné⁵, eau peptonée à 0,1 %⁴, eau peptonée tamponnée⁵, solution d'hydrogénophosphate de dipotassium⁵, solution saline (0,85 à 0,90 %), neutralisateur à large spectre de Neogen[®], bouillon de Léthéen sans bisulfate ou eau distillée. Voir la section « **Instructions spécifiques pour les 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 EB, car ils peuvent inhiber la croissance des bactéries. 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 de 40 à 45 °C (104 à 113 °F).

2. Mélanger ou homogénéiser l'échantillon.

3. Pour obtenir des conditions de croissance et de recouvrement optimales des micro-organismes, ajuster le pH de l'échantillon dilué entre 6,5 et 7,5. Pour les produits acides, ajuster le pH avec NaOH 1 N. Pour les produits alcalins, ajuster le pH avec HCl 1 N

Utilisation des tests

1. Placer le Test Neogen Petrifilm EB sur une surface de travail plane et horizontale.

2. Soulever le film supérieur et, en tenant la pipette perpendiculairement à la zone d'inoculation, déposer 1 ml d'échantillon dilué au centre du film inférieur.

3. Recouvrir délicatement l'échantillon avec le film supérieur pour éviter de piéger des bulles d'air.

4. Placer le Neogen[®] Petrifilm[®] Diffuseur, face plane au contact du test, au centre du Test Neogen Petrifilm EB.

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 EB 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 EB reposer durant au moins une minute afin de laisser le gel se former.

Incubation

Incuber les Tests Neogen Petrifilm EB à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut, en veillant à ne pas empiler plus de 20 Tests Neogen Petrifilm EB. Incuber les Tests Neogen Petrifilm EB pendant 24 heures ± 2 heures. Plusieurs durées et températures d'incubation peuvent être utilisées en fonction des méthodes de référence locales en vigueur. Certaines d'entre elles figurent dans la section « **Instructions spécifiques pour méthodes validées** ».

Préparation et incubation des échantillons d'eau en bouteille

Hydratation du Test Neogen Petrifilm EB

1. Placer le Test Neogen Petrifilm EB sur une surface de travail plane et horizontale.

2. Soulever le film supérieur et déposer 1 ml de diluant d'hydratation stérile et adapté au centre du film inférieur. Les solutions d'hydratation stériles appropriées comprennent l'eau distillée, l'eau déionisée et l'eau obtenue par osmose inverse.

3. Recouvrir délicatement l'échantillon avec le film supérieur pour éviter de piéger des bulles d'air.

4. Placer le côté plat du Neogen Petrifilm Diffuseur vers le bas et 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 Neogen Petrifilm Diffuseur et laisser les tests fermés pendant au moins 1 heure avant utilisation.

6. Conserver les tests Neogen Petrifilm EB hydratés dans une poche ou un sac en plastique étanche. Protéger les tests de la lumière et les réfrigérer entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F) pendant 7 jours maximum.

Filtration de l'eau et incubation des tests

1. Dans le respect des procédures standard d'analyse de l'eau, filtrer sur une membrane l'échantillon d'eau au moyen d'un filtre en ester mixte de cellulose (MCE) de 47 mm avec une porosité de 0,45 micron.

2. Soulever avec précaution le film supérieur du test Neogen Petrifilm EB. Éviter de toucher la zone de croissance circulaire. Placer le filtre au centre de la zone hydratée.

3. Replacer lentement le film supérieur sur le filtre à membrane. Éviter d'emprisonner des bulles d'air et de créer des décalages entre le filtre et le test Neogen Petrifilm EB.

4. Appliquer une légère pression à l'aide du Neogen Petrifilm Diffuseur ou en faisant glisser doucement un doigt sur toute la surface du disque (bords compris) pour s'assurer que le contact entre le filtre et le gel est uniforme et éliminer les bulles d'air éventuelles.

Incubation

Incuber les tests Neogen Petrifilm EB entre 34 °C et 37 °C pendant 24 heures ± 2 heures à l'horizontale avec le film transparent vers le haut et sans empiler plus de 20 tests.

Interprétation

1. Le dénombrement à l'aide des Tests Neogen Petrifilm EB peut être effectué 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, la sélectivité du milieu y étant modifiée. Ne pas tenir compte des bulles artefacts qui étaient éventuellement présentes avant l'incubation.
2. Les *Enterobacteriaceae* forment des colonies rouges avec des zones jaunes et/ou des colonies rouges avec des bulles de gaz (avec ou sans zone jaune). Les colonies non associées à des bulles de gaz (distance entre la bulle et la colonie supérieure au diamètre de la colonie) ni entourées d'une zone jaune ne sont pas considérées comme des *Enterobacteriaceae*.
3. La zone de croissance circulaire est de 20 cm² environ. Des estimations sont possibles sur les Tests Neogen Petrifilm EB contenant plus de 100 colonies en comptant le nombre de colonies dans deux ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Multiplier ce nombre moyen par 20 pour déterminer le nombre estimé par test.
4. Lorsque le nombre de colonies est élevé, les Tests Neogen Petrifilm EB présenteront une coloration du gel plus accentuée ou le gel pourra jaunir complètement et présenter l'une des caractéristiques suivantes, voire les deux : grand nombre de petites colonies indiscernables et/ou grand nombre de bulles de gaz. Lorsque l'un de ces phénomènes se produit, enregistrer le résultat comme incomptable. Lorsqu'un dénombrement plus précis est requis, recommencer l'analyse sur des dilutions plus élevées de l'échantillon.
5. Si nécessaire, les colonies peuvent être isolées pour être identifiées. Soulever le film supérieur selon une technique d'analyse appropriée et prélever la colonie de la surface du gel. Utiliser les procédures standard d'analyse.
6. Si les Tests Neogen Petrifilm EB ne peuvent pas être lus dans l'heure qui suit leur sortie de l'incubateur, ils peuvent être stockés congelés pour une lecture différée, dans un récipient étanche, à une température inférieure ou égale à -15 °C (5 °F), pendant une semaine au maximum.

Remarque : il est déconseillé de différer la numération des tests Neogen Petrifilm EB avec filtre.

Pour plus d'informations, consulter le « Guide d'interprétation du Test Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* ». Pour toute question concernant des applications ou procédures spécifiques, consulter notre site Internet à l'adresse www.neogen.com ou contacter le représentant ou distributeur Neogen local.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

AOAC® Official MethodsSM

Portée de la validation : 2003.01 Dénombrement des *Enterobacteriaceae* pour des aliments sélectionnés

Incubation :

Incuber les Tests Neogen Petrifilm EB pendant 24 heures ± 2 heures à 37 °C ± 1 °C.

Méthode certifiée par AFNOR Certification

Méthode certifiée dans le cadre de la marque NF Validation, conformément à la norme ISO 16140-2⁶ par rapport à la norme ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

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

Portée de la validation : pour l'analyse des produits alimentaires destinés à la consommation humaine, les produits alimentaires pour animaux et les échantillons environnementaux industriels.

Préparation de l'échantillon : n'utiliser que des diluants répertoriés dans la norme ISO⁵.

Incubation :

Incuber les Tests Neogen Petrifilm EB pendant 24 heures ± 2 heures à 30 °C ± 1 °C ou 37 °C ± 1 °C.

Interprétation :

Calculer le nombre de micro-organismes présents dans l'échantillon selon l'ISO 7218³ en utilisant un test par dilution. Pour le calcul, ne considérer que les Tests Neogen Petrifilm EB qui contiennent jusqu'à 100 colonies. Les valeurs estimées sont exclues de la certification par NF Validation (voir la section Interprétation, paragraphe 3). Consulter la norme EN ISO 7218 pour l'inoculation, le comptage des colonies et le calcul et l'affichage des résultats.



3M 01/06 – 09/97

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. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

Explication des symboles

info.neogen.com/symbols

AOAC est une marque déposée d'AOAC INTERNATIONAL

Official Methods est un service déposé de l'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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Gebrauchsanweisungen

Enterobacteriaceae Zählplatte

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Die Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* (EB) Zählplatte ist ein gebrauchsfertiger Nährboden und enthält modifizierte Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Nährmedien (VRBG), ein kaltwasserlösliches Geliermittel und einen Tetrazolium-Indikator zur leichteren Zählung der Kolonien. Neogen Petrifilm EB Zählplatten werden für die Zählung von *Enterobacteriaceae* in der Nahrungsmittel-, Getränke- und Flaschenwasserindustrie verwendet. *Enterobacteriaceae* sind oxidasenegative, gramnegative Stäbchen, die durch Fermentation von Glucose Säure und/oder Gas erzeugen. Auf Neogen Petrifilm EB Zählplatten wachsen *Enterobacteriaceae* als rote Kolonien mit gelben Zonen, rote Kolonien mit Gasblasen oder rote Kolonien mit gelben Zonen und Gasblasen. Die Bestandteile der Neogen Petrifilm EB Zählplatte sind dekontaminiert, aber nicht sterilisiert. Neogen Lebensmittelsicherheit ist für die Bereiche Entwicklung und Fertigung gemäß ISO 9001 der Internationalen Organisation für Normung (ISO) zertifiziert. Die Neogen Petrifilm EB Zählplatten wurden nicht mit allen erdenklichen Lebensmittelprodukten, Lebensmittelverarbeitungsprozessen, Testprotokollen oder allen möglichen Stämmen von *Enterobacteriaceae* oder anderen Bakterien getestet.

Sicherheit

Der Anwender sollte alle Sicherheitshinweise zur Neogen Petrifilm EB Zählplatte 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 im Zusammenhang mit einer Exposition gegenüber Biogefahren 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:

- Testen Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatte in einem ordnungsgemäß ausgestatteten Labor und unter der Aufsicht eines geschulten Mikrobiologen.
- Der Anwender muss sein Personal in den entsprechenden Testmethoden unterweisen: zum Beispiel in den Grundsätzen der Guten Laborpraxis¹, ISO/EIC 17025² oder ISO 7218³.

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

- Neogen hat die Verwendung von Neogen Petrifilm EB Zählplatten nur für die Lebensmittel- und Getränkeindustrie, einschließlich der Flaschenwasserindustrie, dokumentiert. Neogen hat die Verwendung von Neogen Petrifilm EB Zählplatten beispielsweise bei der Untersuchung von Pharmazeutika oder Kosmetika nicht dokumentiert. So liegen z. B. für die Verwendung von Neogen Petrifilm EB Zählplatten bei der Untersuchung von Oberflächen- oder kommunalem Wasser oder Wasser in Pharmazeutika oder Kosmetika keine Unterlagen vor.
- Die Verwendung von Neogen Petrifilm EB Zählplatten zum Testen von Wasserproben gemäß den örtlichen Wasserprüfvorschriften liegt im alleinigen Ermessen und in der Verantwortung des Endverbrauchers. Neogen Petrifilm EB Zählplatten wurden nicht mit allen möglichen Flaschenwasserproben, Testprotokollen oder mit allen möglichen Stämmen von Mikroorganismen getestet.
- Neogen Petrifilm EB Zählplatten dürfen nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren verwendet werden.
- Die Neogen Petrifilm EB Zählplatten können verschiedene *Enterobacteriaceae*-Stämme nicht differenzieren.

Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Wenn Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter www.neogen.com oder wenden Sie sich an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Händler.

Anwenderverantwortung

Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, sich mit den Produkthanweisungen und -informationen vertraut zu machen. Besuchen Sie unsere Website unter **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 Probennahme, 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.

Ebenso liegt es in der Verantwortung des Anwenders, zu bestätigen, dass die 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.

Beschränkung der Gewährleistung/Beschränktes Rechtsmittel

SOWEIT IM ABSCHNITT DER HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN DER VERPACKUNG DES JEWEILIGEN PRODUKTS NICHT AUSDRÜCKLICH ETWAS ANDERES ANGEGEBEN IST, LEHNT NEOGEN ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIEEN, 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, davon zu informieren und das Produkt an Neogen zurückzusenden. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Neogen-Händler.

Beschränkung der Haftung 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 der Neogen den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

Lagerung

Ungeöffnete Beutel mit Neogen Petrifilm EB Zählplatten müssen gekühlt bei einer Temperatur von maximal 8 °C (46 °F) oder eingefroren aufbewahrt werden. Lassen Sie die ungeöffneten Beutel mit den Neogen Petrifilm EB Zählplatten kurz vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Legen Sie unbenutzte Neogen Petrifilm EB Zählplatten 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.** Bewahren Sie die wieder verschlossenen Beutel mit den Neogen Petrifilm EB Zählplatten maximal vier Wochen an einem kühlen und trockenen Ort auf. 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 EB Zählplatten in einem Tiefkühlgerät zu lagern (siehe unten).

Um die geöffneten Beutel im Tiefkühlgerät zu lagern, legen Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatten in einen verschließbaren Behälter. Um gefrorene Neogen-Petrifilm-EB-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. Das für die Lagerung der geöffneten Beutel verwendete Tiefkühlgerät darf nicht mit einer automatischen Abtaufunktion ausgestattet sein, da die Platten sonst einer wiederholten Feuchtigkeitsbelastung ausgesetzt sind und dadurch möglicherweise beschädigt werden.

Verwenden Sie keine Neogen Petrifilm EB Zählplatten, die Verfärbungen aufweisen. Verfallsdatum und Chargennummer sind auf jeder Packung von Neogen Petrifilm EB Zählplatten angegeben. Die Chargennummer befindet sich zudem auf jeder einzelnen Neogen Petrifilm EB Zählplatte. Die Neogen Petrifilm EB Zählplatten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

△ Entsorgung

Nach Gebrauch können die Neogen Petrifilm EB Zählplatten mit Mikroorganismen kontaminiert sein und somit ein biologisches Gefährdungspotenzial darstellen. Bei der Entsorgung der Platten sind die jeweils gültigen Industriestandards zu beachten.



Bedienungsanleitung

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

Aufbereitung und Inkubation von Proben aus der Lebensmittel- und Getränkeindustrie (ausgenommen Flaschenwasser), einschließlich Umweltproben

Vorbereiten der Probe

1. Verwenden Sie geeignete sterile Verdünnungsmittel:

Butterfields phosphatgepuffertes Verdünnungswasser⁴, Peptonsalzverdünner⁵, 0,1 % Peptonwasser⁴, gepuffertes Peptonwasser⁵, Dikaliumhydrogenphosphatlösung⁵, Kochsalzlösung (0,85 % – 0,90 %), Neogen® Breitspektrum-Neutralisator, bisulfatfreie Lethen-Bouillon oder destilliertes Wasser. Spezifische Anforderungen sind dem Abschnitt „**Spezifische Anweisungen für validierte Methoden**“ zu entnehmen.

Verwenden Sie zusammen mit den Neogen Petrifilm EB Zählplatten keine Puffer, die Citrat, Bisulfit oder Thiosulfat enthalten. Sie können das Wachstum 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. Um optimale Wachstumsbedingungen zu erzielen, sollte der pH-Wert der Probe auf 6,5–7,5 eingestellt werden. Bei sauren Produkten korrigieren Sie den pH-Wert mit 1 N NaOH. Bei alkalischen Produkten korrigieren Sie den pH-Wert mit 1 N HCl.

Beimpfen

1. Legen Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatte auf eine ebene, waagerechte Oberfläche.
2. Heben Sie die obere Folie an und pipettieren Sie 1 ml der Probe senkrecht auf die Mitte der unteren Folie.
3. Rollen Sie die obere Folie auf die Probe, um Lufteinschlüsse zu vermeiden.
4. Platzieren Sie den Neogen® Petrifilm® Probenverteiler mit der flachen Seite nach unten in der Mitte der Neogen Petrifilm EB Zählplatte. Drücken Sie vorsichtig auf die Mitte des Neogen Petrifilm Probenvertellers, um die Probe gleichmäßig zu verteilen. Verteilen Sie das Inokulum über den gesamten Wachstumsbereich der Neogen Petrifilm EB Zählplatte, bevor sich das Gel ausbildet. Schieben Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler nicht über die Folie.
5. Entfernen Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler und lassen Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatte mindestens 1 Minute zum Ausbilden des Gels ungestört stehen.

Inkubation

Inkubieren Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatten in waagerechter Position mit der durchsichtigen Seite nach oben in Stapeln von höchstens 20 Neogen Petrifilm EB Zählplatten. Inkubieren Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatten 24 Stunden ± 2 Stunden. Je nach den lokal eingesetzten Referenzverfahren können verschiedene Inkubationszeiten und Temperaturen angewendet werden. Einige mögliche Verfahren sind im nachfolgenden Abschnitt „**Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren**“ aufgelistet.

Aufbereitung und Inkubation von Flaschenwasserproben

Hydratation von Neogen Petrifilm EB Zählplatten

1. Legen Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatte auf eine ebene, waagerechte Oberfläche.
2. Die obere Folie abheben und 1 ml eines geeigneten sterilen Hydrationsverdünnungsmittels in die Mitte der unteren Folie geben. Geeignete sterile Hydrationsverdünnungsmittel enthalten destilliertes Wasser, deionisiertes Wasser und Umkehrosmosewasser.
3. Rollen Sie die obere Folie auf die Probe, um Lufteinschlüsse zu vermeiden.
4. Platzieren Sie den Neogen Petrifilm Probenverteiler mit der flachen Seite nach unten in der Mitte der Platte. Drücken Sie den Probenverteiler leicht an und verteilen Sie das Verdünnungsmittel gleichmäßig. Das Verdünnungsmittel vor dem Verfestigen des Gels auf dem kompletten Wachstumsbereich der Neogen Petrifilm Zählplatte verteilen. Schieben Sie den Probenverteiler nicht über die Folie.
5. Den Neogen Petrifilm Probenverteiler entfernen und die Platten vor der Verwendung mindestens eine Stunde geschlossen lassen.
6. Die hydratisierten Neogen Petrifilm EB Zählplatten in einem versiegelten Beutel oder einem Plastikbeutel lagern. Die Platten vor direktem Licht schützen und gekühlt bei 2–8 °C (36–46 °F) bis zu 7 Tage lagern.

Wasserfiltrierung und Platteninkubation

1. Die Wasserprobe gemäß der Standardverfahren der Wasseranalyse durch einen Cellulosemischester-Filter mit einer Membrangröße von 47 mm und einer Porengröße von 0,45 Mikrometer filtern.



2. Die obere Folie der Neogen Petrifilm EB Zählplatte vorsichtig abheben. Den runden Wachstumsbereich nicht berühren. Den Filter in die Mitte des hydratisierten Bereichs platzieren.
3. Die obere Folie langsam wieder auf den Membranfilter aufbringen. Einschließen von Luftblasen und Entstehung von Lücken zwischen Filter und Neogen Petrifilm EB Zählplatte so weit als möglich vermeiden.
4. Mithilfe des Probenverteilers für Neogen Petrifilm Zählplatten leichten Druck ausüben oder mit einem Finger vorsichtig über den gesamten Bereich (einschließlich der Ränder) streichen, um einen gleichmäßigen Kontakt zwischen dem Filter und dem Gel zu gewährleisten und Luftblasen zu entfernen.

Inkubation

Die Neogen Petrifilm EB Zählplatten 24 Stunden \pm 2 Stunden in horizontaler Lage mit der durchsichtigen Seite nach oben bei 34 °C bis 37 °C in Stapeln von maximal 20 Platten bebrüten.

Interpretation

1. Die Neogen Petrifilm EB Zählplatten können mit einem Standardkoloniezähler oder unter einem beleuchteten Vergrößerungsglas gezählt werden. Zählen Sie keine Kolonien, die nicht auf dem selektiven Nährmedium, sondern auf dem Schaumstoffdamm wachsen. Durch Lufteinschlüsse entstandene Gasbläschen dürfen nicht gezählt werden.
2. *Enterobacteriaceae* sind als rote Kolonien mit gelben Zonen und/oder rote Kolonien mit Gasblasen mit bzw. ohne gelbe Zonen sichtbar. Kolonien, die nicht mit Gas (größerer Abstand als ein Koloniedurchmesser zwischen der Kolonie und der Gasblase) und nicht mit einer gelben Zone assoziiert sind, werden nicht als *Enterobacteriaceae* gezählt.
3. Der kreisförmige Wachstumsbereich ist ca. 20 cm² groß. Für Neogen Petrifilm EB Zählplatten, die über 100 Kolonien aufweisen, kann eine Schätzung vorgenommen werden. Dazu werden die Kolonien in zwei oder mehr repräsentativen Quadraten gezählt und der Durchschnittswert pro Quadrat bestimmt. Multiplizieren Sie die Durchschnittszahl mit 20, um die geschätzte Anzahl je Platte zu ermitteln.
4. Wenn Kolonien in großer Anzahl vorhanden sind, verdunkelt sich die Gelfarbe auf den Neogen Petrifilm EB Zählplatten oder die Platte verfärbt sich komplett gelb und es treten eines oder beide der folgenden Merkmale auf: Viele kleine, nicht voneinander unterscheidbare Kolonien und/oder viele Gasbläschen sind vorhanden. In einem solchen Fall notieren Sie das Ergebnis als nicht auswertbar (DZZZ=Der Zählung zu zahlreich). Wenn ein genaues Ergebnis notwendig ist, setzen Sie eine neue Platte mit einer höheren Verdünnungsstufe an.
5. Kolonien können bei Bedarf zur weiteren Identifizierung isoliert werden. Heben Sie die obere Folie gemäß den geeigneten Testmethoden ab und picken Sie die Kolonie von dem Gel. Führen Sie die erforderlichen Tests gemäß Standardmethoden durch.
6. Falls die Neogen Petrifilm EB Zählplatten nicht innerhalb 1 Stunde nach ihrer Entnahme aus dem Inkubator ausgewertet werden können, können sie zur späteren Auswertung in einem verschließbaren Behälter bei -15 °C (5 °F) oder darunter für maximal eine Woche eingefroren werden.

Hinweis: Ein verspätetes Zählen wird bei Neogen Petrifilm EB Zählplatten mit Membranfiltern nicht empfohlen.

Weitere Informationen finden Sie in der „Interpretationsanleitung zur Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Zählplatte“. Sollten Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter www.neogen.com oder wenden Sie sich an den lokalen Neogen-Verkaufsvertreter oder Händler.

Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren

AOAC® Official MethodsSM

Einsatzgebiet der Validierung: 2003.01 Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Selected Foods (Auszählung von *Enterobacteriaceae* in ausgewählten Lebensmitteln)

Inkubation:

Inkubieren Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatten 24 Stunden \pm 2 Stunden bei 37 °C \pm 1 °C.

NF Validation gemäß AFNOR Certification

Gemäß NF Validation zertifizierte Methode in Übereinstimmung mit ISO 16140-2⁶ im Vergleich zu ISO 21528-2⁷
(3M – 01/6 –09/97)

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

Einsatzgebiet der Validierung: Für das Testen von Proben aller für den menschlichen Verzehr bestimmten Lebensmittelprodukte, Futtermittel für Tiere sowie Industrieumgebungen.

Probenvorbereitung: Verwenden Sie nur die nach ISO aufgelisteten Verdünnungsmedien⁵.

**Inkubation:**

Inkubieren Sie die Neogen Petrifilm EB Zählplatten 24 Stunden \pm 2 Stunden bei 30 °C \pm 1 °C oder 37 °C \pm 1 °C.

Interpretation:

Die Zahl der Mikroorganismen in der Probenlösung wird gemäß ISO 7218³ für eine Platte pro Verdünnungsstufe berechnet. Verwenden Sie für die Berechnung ausschließlich Neogen Petrifilm EB Zählplatten, die bis zu 100 Kolonien enthalten. Schätzungen liegen außerhalb des Umfangs der NF Validation-Zertifizierung (siehe „Interpretationsteil, Paragraph 3“). Zur Inokulation, Koloniezählung und -berechnung sowie zur Darstellung der Ergebnisse wird auf die Norm EN ISO 7218 verwiesen.



3M 01/06 – 09/97

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. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

Erklärung der Symbole

info.neogen.com/symbols

AOAC ist ein eingetragenes Warenzeichen von AOAC INTERNATIONAL

Official Methods ist eine Handelsmarke 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Istruzioni sul prodotto

Piastra per il conteggio di *Enterobacteriaceae*

Descrizione del prodotto e uso previsto

La Piastra Neogen® Petrifilm® per il conteggio di *Enterobacteriaceae* (EB) è un sistema con terreno di coltura pronto per l'uso che contiene sostanze nutritive modificate Violet Red Bile Glucose (VRBG), una sostanza gelificante solubile in acqua fredda e un indicatore al tetrazolio atto a facilitare il conteggio delle colonie. Le Piastre Neogen Petrifilm EB sono usate per il conteggio di *Enterobacteriaceae* nei settori alimentare, delle bevande e dell'acqua in bottiglia. Le *Enterobacteriaceae* sono microrganismi ossidasi negativi, gram-negativi che fermentano il glucosio per produrre acido e/o gas. Sulle Piastre Neogen Petrifilm EB, le *Enterobacteriaceae* appariranno come colonie rosse con zone gialle, colonie rosse con bolle di gas o colonie rosse con zone gialle e bolle di gas. I componenti della Piastra Neogen Petrifilm EB sono decontaminati, seppure non sterilizzati. Neogen Sicurezza Alimentare è certificata secondo ISO (International Organization for Standardization) 9001 per la progettazione e la produzione. Le Piastre Neogen Petrifilm EB non sono state valutate con tutti i prodotti alimentari, i processi alimentari, i protocolli di test o tutti i possibili ceppi di *Enterobacteriaceae* o di altri batteri.

Sicurezza

L'utente è tenuto a leggere, comprendere e seguire tutte le informazioni di sicurezza contenute nelle istruzioni relative alla Piastra Neogen Petrifilm EB. 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 EB in un laboratorio adeguatamente equipaggiato, sotto la supervisione di un microbiologo esperto.
- L'utente è tenuto a formare il proprio personale alle attuali tecniche di analisi appropriate: ad esempio, Good Laboratory Practices¹, ISO/EIC 17025² o ISO 7218³.

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

- Neogen non ha documentato l'uso delle Piastre Neogen Petrifilm EB nell'ambito di settori diversi da quello alimentare, delle bevande e dell'acqua in bottiglia. Ad esempio, Neogen non ha documentato l'uso delle Piastre Neogen Petrifilm EB per analizzare sostanze farmaceutiche o cosmetici. Neogen non ha documentato le Piastre Neogen Petrifilm EB per testare le acque di superficie e municipali, oppure le acque utilizzate nelle industrie farmaceutica o cosmetica.
- L'uso delle Piastre Neogen Petrifilm EB per testare campioni di acqua in conformità alle normative locali per i test idrici è a esclusiva discrezione e responsabilità dell'utente finale. Le Piastre Neogen Petrifilm EB non sono state testate con tutti i possibili campioni di acque in bottiglia, protocolli di test o con tutti i possibili ceppi di microrganismi.
- Non utilizzare le Piastre Neogen Petrifilm EB per la diagnosi di condizioni patologiche in esseri umani e animali.
- Le Piastre Neogen Petrifilm EB non sono in grado di differenziare tra loro i diversi ceppi di *Enterobacteriaceae*.

Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza.

In caso di domande su applicazioni o procedure specifiche, visitare il nostro sito Web all'indirizzo www.neogen.com oppure contattare il rappresentante o il distributore autorizzato Neogen.

Responsabilità dell'utente

Gli utenti sono tenuti a familiarizzare con le istruzioni e le informazioni sul prodotto. Per maggiori informazioni, visitare il nostro sito Web su www.neogen.com oppure contattare il rappresentante o il distributore autorizzato Neogen.

Nella scelta di un metodo di test, è importante tener conto del fatto 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 Sicurezza Alimentare Neogen 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 SINGOLA CONFEZIONE DEL 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 Neogen Sicurezza alimentare 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 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 di Piastre Neogen Petrifilm EB sigillate in frigorifero o nel congelatore a temperatura inferiore o pari a 8 °C (46 °F). Prima dell'uso, attendere che le buste di Piastre Neogen Petrifilm EB sigillate abbiano raggiunto la temperatura ambiente prima di aprirle. Riporre le Piastre Neogen Petrifilm EB 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 di Piastre Neogen Petrifilm EB risigillate vanno conservate in un luogo fresco e asciutto per non oltre quattro settimane. Si raccomanda di conservare le buste di Piastre Neogen Petrifilm EB 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 EB in un contenitore sigillabile. Per rimuovere le Piastre Neogen Petrifilm EB congelate per l'uso, aprire il contenitore, rimuovere le piastre necessarie e riposizionare immediatamente le piastre rimanenti nel congelatore nel contenitore sigillato per la restante durata di conservazione. Il congelatore utilizzato per conservare le buste aperte non deve disporre di un ciclo di scongelamento automatico, poiché ciò esporrebbe ripetutamente le piastre a livelli di umidità che possono danneggiarle.

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

⚠ Smaltimento

Dopo l'uso, le Piastre Neogen Petrifilm EB 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 e incubazione di campioni dei settori alimentare e delle bevande (a esclusione dell'acqua in bottiglia) includendo campioni ambientali

Preparazione del campione

1. Usare i diluenti sterili appropriati:

Acqua per diluizione con tampone fosfato di Butterfield⁴, acqua peptonata⁵, 0,1% acqua peptonata⁴, acqua peptonata tamponata⁵, soluzione di idrogenofosfato dipotassico⁵, soluzione salina (0,85-0,90%), neutralizzante ad ampio spettro Neogen[®] brodo Lethen privo di bisolfiti o acqua distillata. Per i requisiti specifici, consultare la sezione “Istruzioni specifiche per i metodi di validazione”.

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

2. Miscelare o omogeneizzare il campione.

3. Per una crescita ottimale e una ripresa della vitalità dei microrganismi, regolare il pH della sospensione del campione tra 6,5 e 7,5. Per i prodotti acidi, regolare il pH con 1 N NaOH. Per i prodotti alcalini, regolare il pH con 1 N HCl.

Piastratura

1. Posizionare la Piastra Neogen Petrifilm EB 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 sul 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[®] Petrifilm[®] con il lato piatto rivolto verso il basso al centro della Piastra Neogen Petrifilm EB. 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 EB 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 EB per almeno un minuto in modo da consentire la formazione del gel.

Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm EB in posizione orizzontale, con il lato trasparente rivolto verso l'alto in pile di non oltre 20 Piastre Neogen Petrifilm EB. Incubare le Piastre Neogen Petrifilm EB per 24 ore ± 2 ore. È possibile utilizzare tempi e temperature di incubazione diversi a seconda dei metodi di riferimento locali, alcuni dei quali sono riportati nella sezione seguente “Istruzioni specifiche per metodi validati”.

Preparazione e incubazione dei campioni di acqua in bottiglia

Idratazione della Piastra Neogen Petrifilm EB

1. Posizionare la Piastra Neogen Petrifilm EB su una superficie piana e livellata.

2. Sollevare la pellicola superiore e dosare 1 ml di diluente di idratazione sterile appropriato sul centro della pellicola inferiore. Tra i diluenti per idratazione sterili appropriati vi sono l'acqua distillata, deionizzata (DI) e ottenuta mediante osmosi inversa (RO).

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 verso il basso al centro del diffusore di plastica. Distribuire il diluente sull'intera area di crescita della piastra Neogen Petrifilm prima che si formi un gel. Non far scorrere il diffusore sulla pellicola.

5. Rimuovere il diffusore Neogen Petrifilm e consentire alle piastre di rimanere chiuse per un minimo di 1 ora prima dell'utilizzo.

6. Conservare le Piastre Neogen Petrifilm EB idratate in una busta sigillata o in un sacchetto di plastica. Proteggere le piastre dall'esposizione alla luce e conservarle in frigorifero a 2-8 °C (36-46 °F) per un periodo massimo di 7 giorni.

Filtraggio dell'acqua e incubazione della piastra

1. Seguendo le procedure standard per l'analisi delle acque, filtrare con membrana il campione di acqua utilizzando un filtro da 47 mm e con dimensioni dei pori di 0,45 micron in MCE (Mixed Cellulose Ester).

2. Sollevare attentamente la pellicola superiore della Piastra Neogen Petrifilm EB. Evitare di toccare l'area della superficie di crescita circolare. Posizionare il filtro al centro dell'area idratata.

3. Sostituire lentamente la pellicola superiore sul filtro a membrana. Evitare di intrappolare eventuali bolle d'aria e di creare spazi tra il filtro e la Piastra Neogen Petrifilm EB.

4. Applicare una leggera pressione utilizzando il diffusore Neogen Petrifilm o facendo scivolare un dito su tutta l'area del disco (inclusi i bordi) per assicurare un contatto uniforme del filtro con il gel e per eliminare eventuali bolle d'aria.

Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm EB a 34 °C-37 °C per 24 ± 2 ore in posizione orizzontale, con la faccia trasparente rivolta verso l'alto in pile di non oltre 20.

Interpretazione

1. Le Piastre Neogen Petrifilm EB possono essere sottoposte a conteggio mediante un conta colonie standard o un'altra sorgente di luce ingrandita. Le colonie sulla barriera schiumosa non vanno prese in considerazione a causa della loro rimozione dall'influenza selettiva del terreno di coltura. Non contare le bolle artefatte che potrebbero essere presenti.
2. Le *Enterobacteriaceae* sono colonie rosse con zone gialle e/o colonie rosse con bolle di gas con o senza zone gialle. Le colonie non associate a bolle di gas (la distanza tra la colonia e la bolla in tal caso deve essere maggiore del diametro della colonia) né associate a una zona gialla non vengono conteggiate come *Enterobacteriaceae*.
3. L'area di crescita circolare è pari a 20 cm² circa. È possibile stimare i conteggi sulle Piastre Neogen Petrifilm EB contenenti più di 100 colonie, contando il numero di colonie presenti in due 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.
4. Le Piastre Neogen Petrifilm EB con un grande numero di colonie presentano un'intensificazione del colore del gel o possono diventare completamente gialle e presentare una delle seguenti caratteristiche o entrambe: molte piccole colonie indistinte e/o molte bolle di gas. Quando ciò avviene, registrare il risultato come TNTC (Too Numerous To Count, troppo numerose per essere contate). Se occorre una conta effettiva, la diluizione dovrà essere maggiore.
5. Se necessario, le colonie possono essere isolate per un'ulteriore identificazione. Sollevare la pellicola superiore adottando tecniche di analisi appropriate e prelevare la colonia dal gel. Analizzare la colonia mediante le procedure standard.
6. Se non è possibile eseguire il conteggio delle Piastre Neogen Petrifilm EB entro 1 ora dalla rimozione dall'incubatore, possono essere congelate e conservate per il conteggio differito in un contenitore sigillabile a una temperatura pari o inferiore a -15 °C (5 °F) per non più di una settimana.

Nota: il conteggio ritardato di Piastre Neogen Petrifilm EB con filtri a membrana non è consigliato.

Per ulteriori informazioni fare riferimento a "Guida all'interpretazione delle Piastre Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae*". Per qualsiasi domanda su applicazioni o procedure specifiche, visitare il nostro sito Web all'indirizzo www.neogen.com o contattare il distributore o il rappresentante Neogen di zona.

Istruzioni specifiche per metodi validati

AOAC® Official MethodsSM

Ambito della validazione: 2003.01 Conteggio delle *Enterobacteriaceae* in alimenti selezionati

Incubazione

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

NF Validation concessa dalla AFNOR Certification

Metodo certificato NF Validation in conformità a ISO 16140-2⁶ in confronto a ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

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

Ambito della validazione: per l'analisi di tutti i prodotti alimentari destinati all'uomo, all'alimentazione degli animali e campioni ambientali del settore.

Preparazione del campione: utilizzare esclusivamente diluenti ISO⁵.

Incubazione

Incubare le Piastre Neogen Petrifilm EB 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 7218³ per una piastra per diluizione. Ai fini del calcolo, prendere in considerazione solo le Piastre Neogen Petrifilm EB contenenti fino a 100 colonie. Le stime esulano dall'ambito della NF Validation Certification (vedere il paragrafo 3 della sezione Interpretazione). Fare riferimento allo standard EN ISO 7218 per inoculazione, conteggio delle colonie e calcolo ed espressione dei risultati.



3M 01/06 – 09/97
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. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at:
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

Legenda dei simboli

info.neogen.com/symbols

AOAC è un marchio registrato di AOAC INTERNATIONAL

Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Instrucciones del Producto

Placa para recuento de *Enterobacterias*

Descripción del producto y uso previsto

Las Placas Petrifilm® para Recuento de *Enterobacterias* (EB) Neogen® son un sistema con medio de cultivo listo para muestrear que contiene nutrientes Glucosa bilis rojo violeta (VRBG) modificados, un agente gelificante soluble en agua fría, y un indicador tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. Las Placas Petrifilm EB Neogen se usan para la enumeración de *Enterobacterias* en la industria de los alimentos, las bebidas y del agua embotellada. Las *Enterobacterias* son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos que fermentan la glucosa para producir ácido y/o gas. En las Placas Petrifilm EB Neogen, las *Enterobacterias* aparecerán como colonias de color rojo con zonas amarillas, colonias de color rojo con burbujas de gas o colonias de color rojo con zonas amarillas y burbujas de gas. Los componentes de la Placa Petrifilm EB Neogen están descontaminados, pero no esterilizados. El diseño y la fabricación de Neogen Food Safety cuentan con la certificación correspondiente de la Organización Internacional de Normalización (ISO) 9001. Las Placas Petrifilm EB Neogen no han sido evaluadas con todos los posibles productos alimenticios, procesos alimenticios, protocolos de prueba, ni con todas las cepas de *Enterobacterias* u otras bacterias.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones de la Placa Petrifilm EB Neogen. Guarde las instrucciones de seguridad para consulta en el futuro.

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

⚠ 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.
- Utilizar antes 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 Petrifilm EB Neogen 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 análisis actuales adecuadas: por ejemplo, las Buenas prácticas de laboratorio¹, ISO/EIC 17025² o ISO 7218³.

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

- Neogen no ha documentado el uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para otras industrias que no sean de alimentos o bebidas, incluida la del agua embotellada. Por ejemplo, Neogen no ha documentado el uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para realizar análisis de productos farmacéuticos o cosméticos. Neogen no ha documentado las placas Petrifilm EB Neogen para realizar pruebas en aguas superficiales y municipales o en aguas utilizadas por las industrias farmacéutica y cosmética.
- El uso de las Placas Petrifilm EB Neogen para analizar las muestras de agua en cumplimiento de las reglamentaciones locales para el análisis del agua queda bajo el exclusivo criterio y responsabilidad del usuario final. Las Placas Petrifilm EB Neogen no se han evaluado con todas las posibles muestras de agua embotellada, los protocolos de prueba o con todas las posibles cepas de microorganismos.
- No use las Placas Petrifilm EB Neogen para diagnosticar enfermedades en seres humanos o animales.
- Las Placas Petrifilm EB Neogen no diferencian ninguna cepa de *Enterobacterias* de otra.

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

Si tiene preguntas sobre aplicaciones o procedimientos específicos, visite nuestro sitio web en 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 y la información del producto. Visite nuestro sitio web en 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 qué 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 exposiciones microbianas y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios que este estipule.

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 garantías/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA 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 FORTUITOS O IMPREVISTOS, 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

Guarde las bolsas de la Placa Petrifilm EB Neogen sin abrir refrigeradas o congeladas a temperaturas de 8 °C (46 °F) o inferiores. Justo antes de usarlas, espere que las bolsas de la Placa Petrifilm EB Neogen sin abrir alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Vuelva a colocar las Placas Petrifilm EB Neogen 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.** Guarde las bolsas de Placa Petrifilm EB Neogen reselladas en un lugar fresco y seco durante un período máximo de cuatro semanas. Se recomienda que las bolsas reselladas de las de Placas Petrifilm EB Neogen se guarden en un congelador (vea a continuación) si la temperatura del laboratorio excede los 25 °C (77 °F) y/o el laboratorio se encuentra en una región con humedad relativa que supera el 50 % (excepto en instalaciones con aire acondicionado).

Para guardar bolsas abiertas en un congelador, coloque las Placas Petrifilm EB Neogen en un recipiente hermético. Para retirar las Placas Petrifilm EB Neogen 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. El congelador que se usa para el almacenamiento de las bolsas abiertas no debe tener un ciclo de descongelación automática dado que esto puede dañar las placas debido a una reiterada exposición a la humedad.

No use las Placas Petrifilm EB Neogen que presenten decoloración. En cada bolsa de Placas Neogen Petrifilm EB se indican su fecha de vencimiento y número de lote. El número de lote también aparece en cada Placa Petrifilm EB Neogen. No se deben usar Placas Petrifilm EB Neogen que hayan excedido su fecha de vencimiento.

△ Desecho

Después del uso, las Placas Petrifilm EB Neogen pueden contener microorganismos que pueden ser un posible 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 e incubación de muestras de las industrias de alimentos y bebidas (excepto agua embotellada) incluidas muestras ambientales

Preparación de la muestra

1. Utilice diluyentes estériles apropiados:

Agua de dilución de fosfatos de Butterfield⁴, diluyente de sal de peptona⁵, 0,1 % de agua de peptona⁴, agua con peptona tamponada⁵, solución de hidrogenofosfato dipotásico⁵, solución salina (0,85 – 0,90 %), neutralizador de amplio espectro Neogen[®], caldo de Lethen sin bisulfato o agua destilada. Consulte la sección “**Instrucciones específicas para métodos validados**” para conocer los requisitos específicos.

No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato en Placas Petrifilm EB Neogen; ya que estos pueden inhibir el crecimiento. Si se indica solución de tampón de citrato en el procedimiento estándar, sustitúyala por una de las soluciones tamponadas mencionadas más arriba, calentada a una temperatura de entre 40-45 °C (104-113 °F).

2. Mezcle u homogeneice la muestra.
3. Para un crecimiento y recuperación óptimos de los microorganismos, ajuste el pH de la suspensión de la muestra a 6,5-7,5. Para productos ácidos, ajuste el pH con NaOH 1N. Para productos alcalinos, ajuste el pH con HCl 1N.

Inoculación de las placas

1. Coloque la Placa Petrifilm EB Neogen sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y con la pipeta perpendicular a la zona 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 que queden burbujas de aire atrapadas.
4. Coloque el Difusor Petrifilm[®] Neogen[®] con la cara plana hacia abajo en el centro de la Placa Petrifilm EB Neogen. Presione ligeramente el centro del Difusor Petrifilm Neogen para distribuir la muestra de manera uniforme. Esparza el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa Petrifilm EB Neogen antes de que se forme el gel. No deslice el Difusor Petrifilm Neogen a través de la película.
5. Retire el Difusor Petrifilm Neogen y deje la Placa Petrifilm EB Neogen quieta por al menos un minuto para permitir que se forme el gel.

Incubación

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen en posición horizontal, con la parte transparente hacia arriba, en pilas de no más de 20 Placas Petrifilm EB Neogen. Incube las Placas Petrifilm EB Neogen 24 horas ± 2 horas. Se pueden emplear distintos tiempos y temperaturas de incubación según los métodos de referencia locales actuales, algunos de los cuales se enumeran en la sección que figura a continuación y se titula “**Instrucciones específicas para métodos validados**”.

Preparación e incubación de las muestras de agua embotellada

Hidratación de la Placa Petrifilm EB Neogen

1. Coloque la Placa Petrifilm EB Neogen sobre una superficie nivelada y plana.
2. Levante la película superior y distribuya 1 ml de un diluyente estéril de hidratación adecuado en el centro de la película inferior. Entre los diluyentes estériles de hidratación adecuados se incluyen el agua destilada, el agua desionizada (DI) y el agua por ósmosis inversa (OI).
3. Desenrolle la película superior sobre la muestra para evitar que queden burbujas de aire atrapadas.
4. Coloque el Difusor Petrifilm Neogen con la cara plana hacia abajo sobre el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Esparza el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa Petrifilm Neogen antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.
5. Retire el Difusor Petrifilm Neogen y deje que las placas queden cerradas durante una hora como mínimo antes del uso.
6. Almacene las Placas Petrifilm EB Neogen hidratadas en una bolsa sellada o en una bolsa de plástico. Proteja las placas de la luz y congélelas a 2-8 °C (36-46 °F) por hasta 7 días.

Filtración de agua e incubación de la placa

1. Siguiendo los procedimientos estándar para el análisis de agua, filtre la muestra de agua con una membrana que tenga un filtro de 47 mm, con poros de 0,45 micras de una mezcla de éster de celulosa (MCE).
2. Levante la película superior de la placa Petrifilm EB Neogen con cuidado. Evite tocar el área circular de desarrollo. Coloque el filtro en el centro del área hidratada.
3. Lentamente vuelva a colocar la película superior sobre el filtro de la membrana. Minimice las burbujas de aire atrapado y la formación de huecos entre el filtro y la placa Petrifilm EB Neogen.

4. Presione suavemente utilizando el Difusor Petrifilm Neogen o deslizando un dedo suavemente por toda el área del disco (incluidos los bordes) para asegurarse de que el contacto entre el filtro y el gel sea uniforme y para eliminar las burbujas de aire.

Incubación

Incube las placas Petrifilm EB Neogen a una temperatura de entre 34 °C a 37 °C durante 24 horas ± 2 horas en posición horizontal, con la parte transparente hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas.

Interpretación

1. Las Placas Petrifilm EB Neogen pueden contarse usando un contador de colonias estándar u otra lupa iluminada. No cuente las colonias que están en el dique de espuma ya que no están dentro de la influencia selectiva del medio. No cuente las burbujas producidas por el usuario que puedan estar presentes.
2. *Las Enterobacterias* son colonias de color rojo con zonas amarillas y/o colonias de color rojo con burbujas de gas, con o sin zonas amarillas. Las colonias no asociadas con gas (una distancia mayor al diámetro de una colonia entre la colonia y la burbuja de gas) y no asociadas con una zona amarilla no se cuentan como *Enterobacterias*.
3. El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm². Puede realizarse un recuento estimado de las Placas Petrifilm EB Neogen que contengan un crecimiento mayor a 100 colonias contando dos o más cuadrículas representativas y determinando un número promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el recuento estimado para cada placa.
4. Cuando las colonias están presentes en grandes cantidades, las Placas Petrifilm EB Neogen tendrán una intensificación en el color del gel o la placa se volverá completamente amarilla, y tendrá alguna o ambas de las siguientes características: muchas colonias pequeñas y poco definidas, y/o muchas burbujas de gas. Cuando esto ocurra, registre los resultados como muy numeroso para contar (MNPC). Cuando se necesite un recuento real, utilice una placa con una dilución mayor.
5. Si fuera necesario, las colonias se podrán aislar para una mejor identificación. Levante la película superior utilizando la técnica adecuada de prueba y recoja la colonia del gel. Realice la prueba según los procedimientos estándar.
6. Si no se pueden contar las Placas Petrifilm EB Neogen en el lapso de 1 hora luego de retirarlas de la incubadora, se pueden guardar para enumerarlas en otro momento congelándolas en un recipiente hermético a una temperatura menor o igual a -15 °C (5 °F) durante un período máximo de una semana.

Nota: No se recomienda realizar un recuento retrasado de las placas Neogen Petrifilm EB con o sin filtros.

Para obtener mayor información, consulte la "Guía de interpretación de Placas Petrifilm® para *Enterobacterias* Neogen®". Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Instrucciones específicas para métodos validados

Official MethodsSM de la asociación AOAC®

Campo de la validación: 2003.01 Enumeración de *Enterobacterias* en alimentos seleccionados

Incubación:

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen durante 24 horas ± 2 horas a 37 °C ± 1 °C.

NF Validation por AFNOR Certification

Método certificado de NF Validation en cumplimiento de la norma ISO 16140-2⁶ comparada con la norma ISO 21528-2⁷
(3M – 01/6 –09/97)

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

Campo de la validación: Para la prueba de todos los productos alimenticios para humanos, para animales y muestras ambientales industriales.

Preparación de la muestra: Use exclusivamente diluyentes especificados en las normas ISO⁵.

Incubación:

Incube las Placas Petrifilm EB Neogen durante 24 horas ± 2 horas a 30 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C

Interpretación:

Calcule la cantidad de microorganismos presentes en la muestra de la prueba de acuerdo con la norma ISO 7218³ para una placa por dilución. Para el cálculo, tenga en cuenta solo las Placas Petrifilm EB Neogen que contengan hasta 100 colonias. Las estimaciones están fuera del alcance de la certificación de NF Validation (vea el párrafo 3 de la sección "Interpretación"). Consulte la norma EN ISO 7218 sobre inoculación, recuento y cálculo de colonias, y expresión de los resultados.



3M 01/06 – 09/97

MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS PARA LA AGROINDUSTRIA

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

Para mayor información acerca de la fecha de finalización de la validez, consulte el certificado de NF VALIDATION disponible en el sitio web mencionado con anterioridad.

Referencias

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Consulte las versiones actuales de los métodos estándar enumerados anteriormente.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

AOAC es una marca comercial registrada de AOAC INTERNATIONAL
 Official Methods es una marca de servicios 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Productinstructies

Enterobacteriaceae Telplaat

Productbeschrijving en beoogd gebruik

De Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* (EB) Telplaat is een kant-en-klaar kweekmediumsysteem dat gemodificeerde VRBG-voedingsstoffen (Violet Red Bile Glucose), een in koud water oplosbare gel en een tetrazoliumindicator bevat die het tellen van kolonies vergemakkelijkt. Neogen Petrifilm EB Telplaten worden in de voedings- en dranksector gebruikt voor het tellen van *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* zijn oxidase-negatieve, gramnegatieve staafjes die glucose fermenteren om zuur en/of gas te produceren. Op de Neogen Petrifilm EB Telplaten worden *Enterobacteriaceae* aangeduid als rode kolonies met gele zones, als rode kolonies met gasbelletjes of als rode kolonies met gele zones en gasbelletjes. De componenten van de Neogen Petrifilm EB Telplaat zijn ontsmet, maar niet gesteriliseerd. Neogen Voedselveiligheid is ISO 9001-gecertificeerd voor het ontwerp en de productie (ISO staat voor Internationale Organisatie voor Standaardisatie). De Neogen Petrifilm EB Telplaten zijn niet geëvalueerd met alle mogelijke voedingsmiddelen, voedselverwerkingen, testprotocollen of met alle mogelijke stammen van *Enterobacteriaceae* of andere bacteriën.

Veiligheid

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

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

⚠ WAARSCHUWING

Beperken van de risico's die verbonden zijn aan de blootstelling aan biologische gevaren en milieuverontreiniging:

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

Beperken van de risico's die verbonden zijn aan het vrijkomen van verontreinigd product:

- Houd u aan alle instructies voor productopslag in deze gebruiksaanwijzing.
- Gebruik het product niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.

Beperken van de risico's die gepaard gaan met bacteriële infecties en besmetting van de werkplek:

- Voer testen met de Neogen Petrifilm EB Telplaat uit in een goed uitgerust laboratorium onder leiding van een bekwame microbioloog.
- De gebruiker moet zijn personeel scholen in de huidige juiste testtechnieken, bijvoorbeeld, Goede Laboratoriumpraktijken¹, ISO/EIC 17025² of ISO 7218³.

Beperken van de risico's die verbonden zijn aan onjuiste interpretatie van de resultaten:

- Neogen heeft de geschiktheid van de Neogen Petrifilm EB Telplaten voor gebruik in andere sectoren dan de voedings- en dranksector, inclusief flessenwater, niet gedocumenteerd. Zo heeft Neogen bijvoorbeeld de geschiktheid van de Neogen Petrifilm EB Telplaten niet gedocumenteerd voor het testen van farmaceutische producten of cosmetica. Neogen heeft de geschiktheid van Neogen Petrifilm EB Telplaten niet gedocumenteerd voor het testen van oppervlakte- en drinkwater of water dat in de farmaceutische of cosmetische industrie wordt gebruikt.
- Het gebruik van Neogen Petrifilm EB Telplaten voor het testen van watermonsters in overeenstemming met plaatselijke regelgeving met betrekking tot het testen van water is uitsluitend ter beoordeling van en de verantwoordelijkheid van de eindgebruiker. Neogen Petrifilm EB Telplaten zijn niet getest met alle mogelijke flessenwatermonsters, testprotocollen of alle mogelijke stammen van micro-organismen.
- Gebruik Neogen Petrifilm EB Telplaten niet voor het stellen van diagnoses bij mensen of dieren.
- De Neogen Petrifilm EB Telplaten tonen geen verschil tussen de verschillende *Enterobacteriaceae*-stammen.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie.

Als u vragen hebt over specifieke toepassingen of procedures, bezoek dan onze website op www.neogen.com of neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of distributeur.

Verantwoordelijkheid van de gebruiker

Gebruikers zijn zelf verantwoordelijk om vertrouwd te raken met de instructies en informatie van het product.

Bezoek onze website op www.neogen.com of neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of distributeur voor meer informatie.

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

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

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, garanderen de verkregen resultaten van het gebruik van een Neogen Food Safety-product de kwaliteit van de geteste matrices of processen niet.

Beperkte garantie / Beperkt verhaal

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN BEPERKTE GARANTIEBEPALING VAN EEN INDIVIDUELE PRODUCTVERPAKKING, WIJST NEOGEN ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE GOEDE WERKING EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een Neogen Voedselveiligheidsproduct 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, dan moet u Neogen daarvan binnen de 60 dagen na het vaststellen op de hoogte brengen. Neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of distributeur voor verdere vragen.

Beperking van Neogen-aansprakelijkheid

NEOGEN IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM DIRECTE, INDIRECTE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIIP 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 zogenaamd gebrekkige product overschrijden.

Opslag

Bewaar ongeopende zakjes Neogen Petrifilm EB Telplaat gekoeld of bevroren bij een temperatuur van 8 °C (46 °F) of lager. Laat vlak voor gebruik de ongeopende zakjes Neogen Petrifilm EB Telplaat vóór het openen op kamertemperatuur komen. Ongebruikte Neogen Petrifilm EB Telplaten kunnen terug in het zakje. Sluit geopende zakjes door het einde om te vouwen en met tape af te sluiten. **Bewaar geopende zakjes niet in de koelkast om blootstelling aan vocht te vermijden.** Bewaar opnieuw gesloten zakjes Neogen Petrifilm EB Telplaat niet langer dan vier weken op een koele droge plaats. Aanbevolen wordt om de opnieuw gesloten zakjes Neogen Petrifilm EB 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 in een omgeving bevindt waar de relatieve vochtigheid hoger is dan 50% (uitgezonderd gebouwen met airconditioning).

Geopende zakjes Neogen Petrifilm EB Telplaten dienen in een afsluitbare container in een diepvriezer te worden bewaard. Om bevroren Neogen Petrifilm EB Telplaten 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. Bewaar geopende zakjes niet in een diepvriezer met een automatisch ontdooisysteem, aangezien de herhaalde blootstelling aan vocht de platen kan beschadigen.

Gebruik geen Neogen Petrifilm EB Telplaten die verkleuring vertonen. De uiterste houdbaarheidsdatum en het batchnummer staan vermeld op iedere verpakking met Neogen Petrifilm EB Telplaten. Het lotnummer staat ook vermeld op de afzonderlijke Neogen Petrifilm EB Telplaten. Neogen Petrifilm EB Telplaten dienen niet te worden gebruikt na de uiterste houdbaarheidsdatum.

△ Verwijdering

Na gebruik kunnen de Neogen Petrifilm EB Telplaten micro-organismen bevatten die een biologisch gevaar kunnen vormen. Volg de geldende normen van de sector om het product na gebruik te verwerken.

Gebruiksaanwijzingen

Volg alle instructies zorgvuldig op. Het niet opvolgen van de instructies kan onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

Bereiding en incubatie van monsters uit de voedings- en drankenindustrie (met uitzondering van flessenwater) inclusief omgevingsmonsters

Voorbereiding monster

1. Gebruik geschikte, steriele verdunningsvloeistoffen:

Fosfaatgebufferd verdunningswater van Butterfield⁴, peptonzoutverdunningsmiddel⁵, 0,1% peptonwater⁴, gebufferd peptonwater⁵, dikaliumwaterstoffosfaatoplossing⁵, zoutoplossing (0,85 – 0,90%), Neogen[®] breed spectrumneutralisator, bisulfaatvrije Ietheenbouillon of gedestilleerd water. Zie het gedeelte '**Specifieke instructies voor gevalideerde methoden**' voor specifieke vereisten.

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

2. Meng of homogeniseer het monster.

3. Breng voor een optimale groei en optimaal herstel van de micro-organismen de pH van de monstersuspensie op 6,5 - 7,5. Breng zure producten op de juiste pH met 1 N NaOH. Voor alkalische producten moet de pH worden bijgesteld met 1 N HCl.

Op platen aanbrengen of uitplaten

1. Plaats de Neogen Petrifilm EB Telplaat op een vlakke, horizontale ondergrond.

2. Til de bovenste film op en met de pipet loodrecht op het inoculatieoppervlak doseert u 1 ml monstersuspensie op het midden van de onderste film.

3. Rol de bovenste film naar beneden op het monster om te voorkomen dat er luchtbellens ingesloten raken.

4. Plaats de Neogen[®] Petrifilm[®] Spreider in het midden van de Neogen Petrifilm EB Telplaat met de vlakke zijde naar beneden. Druk voorzichtig 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 EB Telplaat voordat gel ontstaat. Laat de Neogen Petrifilm Spreider niet over de film glijden.

5. Neem de Neogen Petrifilm Spreider weg en laat de Neogen Petrifilm EB Telplaat minstens één minuut ongestoord liggen om de gel te laten stollen.

Incubatie

Incubeer Neogen Petrifilm EB Telplaten horizontaal, met de doorzichtige kant naar boven in stapels van niet meer dan 20 Neogen Petrifilm EB Telplaten. Incubeer Neogen Petrifilm EB Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur. Er kunnen verschillende incubatietijden en -temperaturen worden gebruikt, afhankelijk van de geldende plaatselijke referentiemethoden, waarvan sommige staan vermeld in de paragraaf hieronder met de titel '**Specifieke instructies voor gevalideerde methoden**'.

Bereiding en incubatie van flessenwatermonsters

Hydratatie van Neogen Petrifilm EB Telplaten

1. Plaats de Neogen Petrifilm EB Telplaat op een vlakke, horizontale ondergrond.

2. Til de bovenste film omhoog en breng 1 ml van een geschikte steriele, hydraterende verdunningsvloeistof aan in het midden van de onderste film. Geschikte steriele, hydraterende verdunningsvloeistoffen zijn gedestilleerd water, gedeïoniseerd water en omgekeerde-osmosewater (RO).

3. Rol de bovenste film naar beneden op het monster om te voorkomen dat er luchtbellens ingesloten raken.

4. Plaats de Neogen Petrifilm Spreider in het midden van de plaat met de vlakke zijde naar beneden. Druk zacht met een vinger op het midden van de spreider om de verdunningsvloeistof gelijkmatig te verdelen. Verspreid het verdunningsmiddel over het gehele groeioppervlak van de Neogen Petrifilm Telplaat voordat er gel ontstaat. Laat de spreider niet over de film glijden.

5. Verwijder de Neogen Petrifilm Spreider en laat de platen vóór gebruik minstens 1 uur afgesloten.

6. Bewaar gehydrateerde Neogen Petrifilm EB Telplaten in een gesloten zak of plastic tas. Bescherm de platen tegen licht en bewaar ze gedurende maximaal 7 dagen gekoeld bij een temperatuur van 2 tot 8 °C (36 tot 46 °F).

Waterfiltratie en incubatie van de platen

1. Volg de standaardprocedures voor wateranalyse met een membraanfilter voor watermonsters door een Mixed Cellulose Ester (MCE)-filter van 47 mm met poriën van 0,45 micron te gebruiken.

2. Licht de bovenste film van de Neogen Petrifilm EB Telplaat voorzichtig op. Zorg ervoor dat u het ronde groeioppervlak niet aanraakt. Plaats de filter in het midden van het gehydrateerde gebied.

3. Plaats de bovenste film langzaam op de membraanfilter. Voorkom zo veel mogelijk dat er luchtbellens achterblijven en spleten tussen de filter en de Neogen Petrifilm EB Telplaat komen.

4. Oefen lichte druk uit met de Neogen Petrifilm Spreider of door met een vinger zachtjes over het hele schijfoppervlak (inclusief de randen) te vegen zodat de filter gelijkmatig contact maakt met de gel en luchtbellens worden verwijderd.

Incubatie

Incubeer Neogen Petrifilm EB Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur horizontaal, met de doorzichtige kant naar boven in stapels van maximaal 20 platen, bij een temperatuur van 34 °C tot 37 °C.

Interpretatie

1. Neogen Petrifilm EB Telplaten kunnen worden geteld op een standaardkolonieteller of een ander verlicht vergrootglas. Tel geen kolonies op de schuimlaag, aangezien deze kolonies de selectieve invloed van het medium niet ondergaan. Tel geen kunstmatige luchtbelletjes die aanwezig kunnen zijn.
2. *Enterobacteriaceae* zijn rode kolonies met gele zones en/of rode kolonies met gasbelletjes met of zonder gele zones. Niet met gas geassocieerde kolonies (dit wil zeggen dat de afstand tussen de kolonie en de gasbel groter is dan eenmaal de diameter van een kolonie) en niet met een gele zone geassocieerde kolonies worden niet geteld als *Enterobacteriaceae*.
3. De grootte van het groeiooppervlak is ongeveer 20 cm². Bij Neogen Petrifilm EB Telplaten die meer dan 100 kolonies bevatten, kunnen schattingen worden gemaakt door het aantal kolonies te tellen in twee of meer aanwezige vierkantjes en het gemiddelde te bepalen per vierkantje. Vermenigvuldig het gemiddelde aantal met 20 om de geschatte telling per plaat te bepalen.
4. Wanneer kolonies in grote aantallen aanwezig zijn, wordt de kleur van de gel van de Neogen Petrifilm EB Telplaten sterker of de plaat kan helemaal geel kleuren en een van de volgende kenmerken (of allemaal) vertonen: veel kleine, vage kolonies en/of veel gasbellen. Indien dit zich voordoet, noteer de resultaten dan als te veel om te tellen (TNTC). Verdun verder als een concreet aantal vereist is.
5. Indien nodig kunnen kolonies worden geïsoleerd voor verdere identificatie. Til de bovenste film op aan de hand van de juiste testtechniek en kies de kolonie uit de gel. Test volgens standaardprocedures.
6. Indien de Neogen Petrifilm EB Telplaten niet kunnen worden geteld binnen 1 uur nadat ze uit de incubator zijn genomen, dan kunnen ze worden opgeslagen voor latere telling door ze gedurende maximaal één week in te vriezen in een afsluitbare container bij een temperatuur die lager is dan of gelijk is aan -15 °C (5 °F)

Opmerking: Uitgestelde telling van Neogen Petrifilm EB Telplaten met membraanfilters wordt niet aanbevolen.

Raadpleeg de 'Interpretatiegids van de Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Telplaat' voor verdere informatie. Als u vragen heeft over specifieke toepassingen of procedures, kunt u onze website www.neogen.com bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke vertegenwoordiger of distributeur van Neogen.

Specifieke instructies voor gevalideerde methoden

AOAC® Official MethodsSM

Toepassingsgebied van de validatie: 2003.01 Telling van *Enterobacteriaceae* in geselecteerde voedingsmiddelen

Incubatie:

Incubeer Neogen Petrifilm EB Telplaten gedurende 24 uur ± 2 uur bij 37 °C ± 1 °C.

NF Validation door AFNOR Certification

Door NF Validation gecertificeerde methode conform ISO 16140-2⁶ vergeleken met ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Gebruik de volgende details bij het implementeren van de bovenstaande gebruiksaanwijzingen:

Toepassingsgebied van de validatie: voor het testen van alle voedingsproducten voor menselijke consumptie, dierenvoeding en industriële omgevingsmonsters.

Vorbereiding van het monster: Gebruik alleen verdunningsmiddelen die zijn opgenomen door ISO⁵.

Incubatie:

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

Interpretatie:

Bereken het aantal micro-organismen aanwezig in het testmonster volgens ISO 7218³ voor één plaat per verdunning. Houd alleen rekening met Neogen Petrifilm EB Telplaten die hoogstens 100 kolonies bevatten voor de berekening. Schattingen vallen buiten het toepassingsgebied van de certificering van NF Validation (zie interpretatiedeel paragraaf 3). Raadpleeg de norm EN ISO 7218 voor inoculatie, kolonietelling en de berekening en weergave van de resultaten.



3M 01/06 – 09/97
ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS
<http://nf-validation.afnor.org/en>

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

Referenties

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at:
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Raadpleeg de huidige versies van de standaardmethodes die hierboven zijn opgesomd.

Verklaring van symbolen

info.neogen.com/symbols

AOAC is een geregistreerd merk van AOAC INTERNATIONAL
Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Produktinformation

Enterobacteriaceae Count Plate

Produktbeskrivning och avsedd användning

Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Count (EB) Plate är en bruksklar Plate som innehåller modifierade VRBG (Violet Red Bile Glucose)-näringsämnen, ett gelningsmedel (lösligt i kallt vatten) och en tetrazoliumindikator som underlättar räkning av kolonier. Neogen Petrifilm EB Plates används för räkning av *Enterobacteriaceae* i livsmedels-, dryckesvaru- och flaskvattensindustrin. *Enterobacteriaceae* är oxidasnegativa, gramnegativa stavar som jäser glukos för att producera syra och/eller gas. På Neogen Petrifilm EB Plates visar sig *Enterobacteriaceae* som röda kolonier med gula zoner, röda kolonier med gasbubblor eller röda kolonier med gula zoner och gasbubblor. Beståndsdelarna i Neogen Petrifilm EB Plate är dekontaminerade men inte steriliserade. Neogen Food Safety är certifierat för utformning och tillverkning enligt Internationella standardiseringsorganisationen (ISO) 9001. Neogen Petrifilm EB Plates har inte utvärderats med alla möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsprocesser, testprotokoll eller med alla möjliga stammar av *Enterobacteriaceae* eller andra bakterier.

Säkerhet

Användaren ska läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i anvisningarna till Neogen Petrifilm EB Plate. 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 anvisningar gällande produktförvaring i bruksanvisningen.
- Använd inte efter utgångsdatumet.

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

- Utför tester med Neogen Petrifilm EB Plate i ett korrekt utrustat laboratorium under tillsyn av en kompetent mikrobiolog.
- Användaren måste utbilda sin personal i rådande och korrekta testtekniker: till exempel god laboratoriesed¹, ISO/EIC 17025² eller ISO 7218³.

För att minska riskerna som förknippas med feltolkning av resultat:

- Neogen har inte dokumenterat Neogen Petrifilm EB Plates för användning inom andra branscher än livsmedels-, dryckesvaru- och flaskvattensindustrin. Till exempel har Neogen inte dokumenterat användning av Neogen Petrifilm EB Plates för test av läkemedel eller kosmetika. Neogen inte dokumenterat Neogen Petrifilm EB Plates för undersökning av ytvatten och kommunalt vatten, eller vatten som används inom läkemedels- eller kosmetikaindustrin.
- Användningen av Neogen Petrifilm EB Plates för test av vattenprover i enlighet med lokala vattentestningsregler sker helt på slutanvändarens övervägande och ansvar. Neogen Petrifilm EB Plates har inte testats med alla möjliga flaskvattenprover, testprotokoll eller med alla möjliga stammar av mikroorganismer.
- Använd inte Neogen Petrifilm EB Plates för diagnos av tillstånd hos människor eller djur.
- Neogen Petrifilm EB Plates skiljer inte enskilda *Enterobacteriaceae*-stammar från varandra.

Se säkerhetsdatabladet för mer information.

Om du har frågor gällande specifika applikationer eller procedurer, besök vår webbsida på www.neogen.com eller kontakta din Neogen-representant eller auktoriserade distributör.

Användaransvar

Användare är skyldiga att bekanta sig med produktanvisningarna och informationen. Besök vår webbsida på www.neogen.com eller kontakta din Neogen-representant eller auktoriserade 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 vid val av testmetoder att 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.

Begränsad garanti / 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 Food Safety 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 inom sextio dagar efter upptäckt av misstänkt defekt. Kontakta din Neogen-representant eller auktoriserade Neogen-distributör om du har ytterligare frågor.

Neogen:s ansvarsfriskrivning

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 produkt som påstås vara defekt.

Förvaring

Förvara öppnade påsar med Neogen Petrifilm EB Plates i kylskåp eller nedfrysta vid en temperatur på eller under 8 °C. Låt öppnade påsar med Neogen Petrifilm EB Plates ligga framme och uppnå rumstemperatur precis innan de ska användas. Lägg tillbaka oanvända Neogen Petrifilm EB Plates 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 återförseglade påsar med Neogen Petrifilm EB Plates på en sval och torr plats i högst fyra veckor. Det rekommenderas att återförseglade påsar med Neogen Petrifilm EB Plates förvaras i frys (se nedan) om temperaturen i laboratoriet överstiger 25 °C och/eller laboratoriet ligger i ett område där den relativa luftfuktigheten överstiger 50 % (med undantag för luftkonditionerade byggnader).

Placera Neogen Petrifilm EB Plates i en förslutningsbar behållare om öppnade påsar ska förvaras i frys. För att avlägsna frysta Neogen Petrifilm EB-plattor för användning, öppna containern, ta ut de plattor som behövs och ställ omedelbart tillbaka återstående plattor i frysen i den förslutna containern för återstående hållbarhetstid. Frysen som används för förvaring av öppnade påsar får inte ha en automatisk avfrostningsfunktion, då en sådan skulle innebära att plattorna upprepade gånger exponeras för fukt, vilket kan skada dem.

Använd inte Neogen Petrifilm EB Plates som uppvisar missfärgningar. Utgångsdatum och partinummer framgår på varje påse med Neogen Petrifilm EB Plates. Partinumret finns även angivet på individuella Neogen Petrifilm EB Plates. Neogen Petrifilm EB Plates får inte användas efter utgångsdatum.

△ Kassering

Efter användning kan Neogen Petrifilm EB Plates innehålla mikroorganismer som kan innebära en potentiell biologisk smittofara. Följ gällande branschstandarder för kassering.

Bruksanvisning

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

Beredning och inkubering av prover från livsmedels- och dryckesvaruindustri (inte flaskvatten), samt miljöprover

Provberedning

1. Använd lämpliga sterila spädningsmedel:

Butterfields fostatbuffrade utspädningsvatten⁴, peptonsaltspädningsmedel⁵, 0,1 % peptonvatten⁴, buffrat peptonvatten⁵, dikaliumhydrogenfosfatlösning⁵, saltlösning (0,85-0,90 %), Neogen® bredspektrumneutraliserare, bisulfatfri letheen-buljong eller destillerat vatten. Se avsnittet **“Specifika instruktioner för validerade metoder”** för särskilda krav.

Använd inte spädningsvätskor som innehåller citrat, bisulfitt eller tiosulfat tillsammans med Neogen Petrifilm EB Plates; de kan verka hämmande på tillväxten. Om citratbuffert indikeras i standardmetoden ska denna ersättas med någon av de buffertar som anges ovan, uppvärmd till 40–45 °C.

2. Blanda eller homogenisera provet.
3. För optimal tillväxt och återfinnande av mikroorganismer ska provsuspensionens pH justeras till 6,5–7,5. För sura produkter, justera pH med 1 N NaOH. För alkaliska produkter, justera pH med 1 N HCl.

Applicering på platta

1. Placera Neogen Petrifilm EB Plate på en plan och jämn yta.
2. Lyft den övre filmen, håll pipetten vinkelrätt mot ympningsytan och dispensera 1 ml provsuspension på mitten av den undre filmen.
3. Använd en rullande rörelse vid placering av den övre filmen på provet för att förhindra att luftbubblor bildas.
4. Placera Neogen® Petrifilm® spridarplatta med den plana sidan nedåt på mitten av Neogen Petrifilm EB Plate. Tryck försiktigt mitt på Neogen Petrifilm spridare för att fördela provet jämnt. Sprid inokulatet över hela tillväxtområdet på Neogen Petrifilm EB Plate innan gelen bildas. Dra inte Neogen Petrifilm spridare över filmen.
5. Avlägsna Neogen Petrifilm spridarplatta och lämna Neogen Petrifilm EB Plate orörd i minst en minut för att låta gelen ta form.

Inkubering

Inkubera Neogen Petrifilm EB Plates i horisontalläge med den genomskinliga sidan uppåt i staplar som inte innehåller fler än 20 Neogen Petrifilm EB Plates. Inkubera Neogen Petrifilm EB Plates i 24 timmar ± 2 timmar. Olika inkuberingstider och -temperaturer kan användas beroende på gällande lokala referensmetoder, av vilka några anges i avsnittet nedan med titeln ”**Specifika anvisningar för validerade metoder**”.

Beredning och inkubering av flaskvattenprover

Hydrering av Neogen Petrifilm EB Plate

1. Placera Neogen Petrifilm EB Plate på en plan och jämn yta.
2. Lyft den övre filmen och fördela 1 ml av en lämplig steril hydratiserande spädningsvätska över mitten av den undre filmen. Lämpliga sterila hydratiserande spädningsvätskor är bland annat destillerat vatten, avjoniserat (DI) vatten och vatten renat med omvänd osmos (RO).
3. Använd en rullande rörelse vid placering av den övre filmen på provet för att förhindra att luftbubblor bildas.
4. Placera Neogen Petrifilm spridare med dess plana yta nedåt på mitten av plattan. Tryck försiktigt på mitten av spridarplattan för att fördela spädningsvätskan jämnt. Sprid spädningsvätskan över hela tillväxtområdet på Neogen Petrifilm Plate innan gelen bildas. Dra inte spridarplattan över filmen.
5. Avlägsna Neogen Petrifilm spridare och håll plattorna stängda under minst 1 timme innan användning.
6. Förvara hydratiserade Neogen Petrifilm EB Plates i en förseglad folie- eller plastpåse. Skydda plattorna från ljus och förvara dem kallt i 2–8 °C i upp till 7 dagar.

Vattenfiltrering och inkubering av Plate

1. Följ en standardprocedur för vattenanalys genom att membranfiltrera vattenprov med hjälp av ett 47 mm filter med membran av blandad celluloester (MCE) med porstorlek 0,45 mikrometer.
2. Lyft försiktigt den övre filmen på Neogen Petrifilm EB Plate. Undvik att röra vid det cirkulära tillväxtområdet. Placera filtret i mitten av det hydratiserade området.
3. Lägg långsamt tillbaka den övre filmen ovanpå membranfiltret. Undvik så långt det är möjligt att luftbubblor stängs in och skapar luftfickor mellan filtret och Neogen Petrifilm EB Plate.
4. Tryck lätt med hjälp av Neogen Petrifilm spridare för Plates eller genom att lätt dra ett finger glida över hela plattan (inklusive kanterna) för att säkerställa jämn kontakt mellan filter och gel och för att få bort eventuella luftbubblor.

Inkubering

Inkubera Neogen Petrifilm EB Plates vid 34 °C till 37 °C i 24 ± 2 timmar i horisontellt läge med den genomskinliga sidan upp, i staplar som inte överstiger 20 plattor.

Tolkning

1. Neogen Petrifilm EB Plates kan avläsas med en vanlig koloniräknare eller annat förstoringsglas med ljuskälla. Räkna ej kolonier utanför odlingsytan då dessa ej har utsatts för mediets selektiva inverkan. Räkna inte artefakter i form av luftbubblor.

2. *Enterobacteriaceae* är röda kolonier med gula zoner och/eller röda kolonier med gasbubblor med eller utan gula zoner. Kolonier som inte är associerade med gas (en distans som är större än en kolonidiameter mellan koloni och gasbubbla) och inte är associerade med en gul zon räknas som *Enterobacteriaceae*.
3. Den runda tillväxtytan är cirka 20 cm². Uppskattningar kan göras på Neogen Petrifilm EB Plates som innehåller fler än 100 kolonier genom att kolonierna i två eller flera representativa rutor räknas och det genomsnittliga antalet per ruta beräknas. Multiplicera det genomsnittliga antalet med 20 för att uppskatta antal per platta.
4. När stora mängder kolonier finns kommer färgen på gelen på Neogen Petrifilm EB Plates att bli djupare eller så kan plattan bli helt gul och få den ena eller båda av följande egenskaper: många små, otydliga kolonier och/eller många gasbubblor. När detta inträffar ska resultatet dokumenteras som alltför talrika att räkna (TNTC). Späd i högre lösning om en exakt beräkning av antal krävs.
5. Vid behov kan kolonier isoleras för ytterligare identifiering. Lyft upp den övre filmen enligt korrekt testteknik och plocka upp kolonin ur gelen. Testa enligt standardförfarande.
6. Om Neogen Petrifilm EB Plates inte kan räknas inom 1 timme efter att de tagits ut ur inkubatorn kan de förvaras för senare beräkning genom att frysa dem i en förslutningsbar behållare vid temperaturer på eller under minus 15 °C i högst en vecka.

Obs! Det rekommenderas inte att fördröja räkningen av Neogen Petrifilm EB Plates med membranfilter.

Vidare information finns i ”Tolkningsguide till Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Plates”. Om du har frågor om specifika tillämpningar eller procedurer kan du besöka vår hemsida på www.neogen.com eller kontakta din lokala representant eller återförsäljare för Neogen.

Specifika anvisningar för validerade metoder

AOAC® Official MethodsSM

Omfattning av valideringen: 2003.01 Beräkning av *Enterobacteriaceae* i utvalda livsmedel

Inkubering:

Inkubera Neogen Petrifilm EB Plates i 24 timmar ± 2 timmar vid 37 °C ± 1 °C.

NF Validation av AFNOR Certification

NF Validation-certifierad metod i enlighet med ISO 16140-2⁶ i jämförelse med ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Använd följande uppgifter när du implementerar ovannämnda bruksanvisning:

Omfattning av valideringen: För tester av livsmedelsprodukter för människor, djurfoder och industriella miljöprover.

Provberedning: Använd endast spädningsmedel som är ISO-godkända⁵.

Inkubering:

Inkubera Neogen Petrifilm EB Plates i 24 timmar ± 2 timmar vid 30 °C ± 1 °C eller 37 °C ± 1 °C.

Tolkning:

Beräkna antalet närvarande mikroorganismer i testprovet enligt ISO 7218³ för en platta per spädning. Inkludera endast Neogen Petrifilm EB Plates som innehåller upp till 100 kolonier i beräkningen. Uppskattningar omfattas inte av NF Validation-certifieringen (jmf stycke 3 under avsnittet Tolkning). Se EN ISO 7218 standarden för inympning, koloniräkning samt beräkning och uttryck för resultat.



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

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

Referenser

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Se de aktuella versionerna av standardmetoderna som anges ovan.

Symbolförklaringar

info.neogen.com/symbols

AOAC är ett registrerat varumärke som tillhör AOAC INTERNATIONAL
Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Produktvejledning

Enterobacteriaceae Tælleplade

Teknisk beskrivelse og tilsigtet anvendelse

Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* (EB) Tælleplade er et prøveklart dyrkningsmedie bestående af et koldvandsopløseligt geleringsmiddel, som indeholder modificeret rød-violet galdeglukose (VRBG)-næringsstoffer samt en tetrazolium-indikator, der muliggør kolonitælling. Neogen Petrifilm EB Tælleplader anvendes til tælling af *Enterobacteriaceae* i føde- og drikkevareindustrien samt flaskevandsindustrien. *Enterobacteriaceae* er oxidasenegative, gramnegative stave, der fermenterer glukose til at producere syre og/eller gas. På Neogen Petrifilm EB Tælleplader viser *Enterobacteriaceae* sig som røde kolonier med gule zoner, røde kolonier med luftbobler eller røde kolonier med gule zoner og luftbobler. Neogen Petrifilm EB Tællepladens komponenter er dekontaminerede, men ikke steriliserede. Neogen Food Safety er certificeret i henhold til International Organization for Standardization (ISO) 9001, hvad angår design og produktion. Neogen Petrifilm EB Tælleplader er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevarerprodukter og -processer, testprotokoller eller med alle mulige stammer for *Enterobacteriaceae* eller andre bakterier.

Sikkerhed

Brugeren skal læse, forstå og følge alle sikkerhedsoplysninger i anvisningerne til Neogen Petrifilm EB Tælleplade. Gem sikkerhedsvejledningen til fremtidig reference.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situation, som kan resultere i dødsfald eller alvorlig personskade og/eller skade på ejendele, hvis denne 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 frigivelsen af et kontamineret produkt:

- Følg alle anvisninger for produktopbevaring indeholdt i brugsanvisningen.
- Må ikke anvendes efter sidste anvendelsesdato.

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

- Udfør Neogen Petrifilm EB Tælleplade-testning i et korrekt udstyret laboratorium under en faglært mikrobiologs kontrol.
- Brugeren skal uddanne sit personale i de aktuelle, korrekte testteknikker: for eksempel, god laboratoriepraksis¹, ISO/EIC 17025² eller ISO 7218³.

For at reducere risiciene forbundet med fejlfortolkning af resultater:

- Neogen har ikke dokumenteret Neogen Petrifilm EB Tælleplader til anvendelse i andre industrier end føde- og drikkevareindustrien, inklusive flaskevand. Neogen har for eksempel ikke dokumenteret Neogen Petrifilm EB Tælleplader til testning af medicinalvarer eller kosmetik. Neogen har ikke dokumenteret Neogen Petrifilm EB Tælleplader til testning af overfladevand og kommunalt vand eller vand anvendt i medicinal- eller kosmetikindustrien.
- Anvendelse af Neogen Petrifilm EB Tælleplader til at teste vandprøver i overensstemmelse med lokale bestemmelser for testning af vand sker udelukkende på slutbrugerens ansvar. Neogen Petrifilm EB Tælleplader er ikke blevet testet med alle mulige flaskevandsprøver, testprotokoller eller med alle mulige stammer af mikroorganismer.
- Undlad at anvende Neogen Petrifilm EB Tælleplader til at diagnosticere tilstande hos mennesker og dyr.
- Neogen Petrifilm EB Tælleplader differentierer ikke den ene stamme af *Enterobacteriaceae* fra den anden.

Se sikkerhedsdataarket for yderligere information.

Hvis du har spørgsmål om specifikke anvendelsesformål eller procedurer, kan du besøge vores websted på www.neogen.com eller kontakte din Neogen-repræsentant eller -leverandør.

Brugeransvar

Brugere, der er ansvarlige for at sætte sig ind i produktinstruktioner og -oplysninger. Besøg vores websted på 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, så som prøveudtagningsmetoder, testprotokoller, klargøring af prøven, håndtering samt laboratorieteknikker, kan påvirke resultaterne.

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

Det er også brugerens eget ansvar at fastsætte, 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 TIL INDIVIDUEL PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER NEOGEN SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER INDBEFATTET, 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 forhandlere efter dennes eget skøn udskifte eller refundere produktets købspris. Dette er den eneste til rådighed værende afhjælpning. Du skal straks inden for 60 dage efter at have opdaget enhver formodet fejl ved et produkt meddele dette og returnere produktet til Neogen. Kontakt din Neogen-repræsentant eller -leverandør, hvis du har flere spørgsmål.

Begrænsning af Neogen's ansvar

NEOGEN SKAL IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR EVT. TAB ELLER SKADER, HVAD END DE ER OPSTÅET DIREKTE, INDIREKTE, UNDER SÆRLIGE OMSTÆNDIGHEDER ELLER TILFÆLDIGE SKADER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal Neogen's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen af produktet, der efter sigende er behæftet med fejl.

Opbevaring

Opbevar uåbnede foliepakninger med Neogen Petrifilm EB Tælleplader nedkølet eller nedfrosset ved temperaturer under eller lig med 8 °C. Lige før anvendelse skal uåbnede foliepakninger med Neogen Petrifilm EB Tælleplader have mulighed for at komme op på stuetemperatur inden åbning. Læg ubrugte Neogen Petrifilm EB Tælleplader tilbage i foliepakningen. Forsegl foliepakningen ved at folde foliepakningens ende og sætte tape hen over. **Undgå at nedkøle åbnede foliepakninger for at undgå fugt.** Opbevar genforsegledede Neogen Petrifilm EB Tælleplade-foliepakninger på et køligt, tørt sted i maks. 4 uger. Det anbefales, at genforsegledede foliepakninger med Neogen Petrifilm EB Tælleplader opbevares i en fryser (se nedenfor), hvis temperaturen i laboratoriet overstiger 25 °C, 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 placeres Neogen Petrifilm EB Tællepladerne i en tætsluttende beholder. Frosne Neogen Petrifilm EB Tælleplader 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. Fryseren, der anvendes til opbevaring af åbne foliepakninger, må ikke have en automatisk afrimningscyklus, da dette gentagne gange ville udsætte pladerne for fugt, der kan beskadige pladerne.

Anvend ikke Neogen Petrifilm EB Tælleplader, som viser misfarvning. Sidste anvendelsesdato og lotnummeret findes på hver pakning med Neogen Petrifilm EB Tælleplader. Partinummet findes også på de individuelle Neogen Petrifilm EB Tælleplader. Neogen Petrifilm EB Tælleplader bør ikke anvendes efter deres sidste anvendelsesdato.

△ Bortskaffelse

Efter brug kan Neogen Petrifilm EB Tælleplader indeholde mikroorganismer, som kan udgøre en biologisk risiko. Følg de gældende industristandarder for bortskaffelse.

Brugsanvisning

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

Forberedelse og inkubation af prøver fra føde- og drikkevareindustrien (undtagen vand på flaske) inklusive miljømæssige prøver

Prøveforberedelse

1. Anvend velegnede, sterile fortyndingsvæsker:

Butterfields fosfatbufferet fortyndingsvand⁴, peptonsaltfortyndingsmiddel⁵, 0,1 % peptonvand⁴, bufferet peptonvand⁵, dipotassiumhydrogenfosfat-opløsning⁵, saltvandsopløsning (0,85-0,90 %), Neogen® bredspektret neutraliseringsmiddel, bisulfatfri letheen-bouillon eller destilleret vand. Se afsnittet **“Specifikke vejledninger for validerede metoder”** for at se de specifikke krav.

Brug ikke fortyndere, som indeholder citrat, bisulfid eller thiosulfat med Neogen Petrifilm EB Tælleplader, da de kan hæmme væksten. Hvis citratbuffer er angivet i den normale procedure, erstattes den med en af bufferne angivet ovenfor, opvarmet til 40-45 °C.

2. Bland eller homogeniser prøven.
3. For optimal vækst og genvinding af mikroorganismer justeres prøvesuspensionens pH til 6,5-7,5. For sure produkter tilpasses pH med 1 N NaOH. For alkaliske produkter tilpasses pH med 1 N HCl.

Udpladning

1. Anbring Neogen Petrifilm EB 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 forhindre, at der kommer luftbobler.
4. Placer Neogen® Petrifilm® Sprederen i midten af Neogen Petrifilm EB Tællepladen med den flade side nedad. Tryk forsigtigt på midten af Neogen Petrifilm Sprederen for at fordele prøven jævnt. Spred den afsatte prøve over hele Neogen Petrifilm EB Tællepladens vækstområde, før gelen dannes. Lad ikke Neogen Petrifilm Sprederen glide over filmen.
5. Fjern Neogen Petrifilm Sprederen, og lad Neogen Petrifilm EB Tællepladen være uforstyrret i mindst 1 minut for at lade gelen dannes.

Inkubation

Inkuber Neogen Petrifilm EB Tælleplader i en vandret stilling med den lyse side opad i stakke på ikke mere end 20 Neogen Petrifilm EB Tælleplader. Inkuber Neogen Petrifilm EB Tælleplader 24 timer ± 2 timer. Flere inkubationstider og -temperaturer kan anvendes afhængigt af de aktuelle lokale referencemetoder, hvoraf nogle er anført i nedenstående afsnit med titlen "**Specifikke vejledninger for validerede metoder**".

Forberedelse og inkubation af flaskevandsprøver

Hydratation af Neogen Petrifilm EB Tælleplade

1. Anbring Neogen Petrifilm EB Tællepladen på en flad, plan overflade.
2. Løft den øverste film, og dispenser 1 ml af en velegnet steril hydrationsfortyndingsvæske midt på underfilmen. Velegnede sterile hydrationsfortyndingsvæsker inkluderer destilleret vand, demineraliseret (DI) vand og omvendt osmose (RO) vand.
3. Rul den øverste film ned på prøven for at forhindre, at der kommer luftbobler.
4. Placer Neogen Petrifilm Sprederen med den flade side ned på midten af tællepladen. Tryk forsigtigt på midten af sprederen for at fordele væsken jævnt. Spred fortyndingsvæsken ud over hele Neogen Petrifilm Pladens vækstareal, før gelen dannes. Før ikke spreder hen over filmen.
5. Fjern Neogen Petrifilm Sprederen, og lad tællepladerne forblive lukkede i mindst 1 time før brug.
6. Opbevar hydrerede Neogen Petrifilm EB Tælleplader i en forsegle pakning eller plastikpose. Beskyt tællepladerne mod lys, og opbevar dem på køl ved 2-8 °C i op til 7 dage.

Vandfiltrering og pladeinkubation

1. Ifølge standardprocedurer for vandanalyse skal vandprøver membranfiltreres ved hjælp af et blandet celluloseester-filter (MCE) på 47 mm og med 0,45 mikron porestørrelse.
2. Udlad at løfte den øverste film af Neogen Petrifilm EB Tællepladen. Undgå at berøre det cirkelformede vækstområde. Placer filteret midt i det hydrerede område.
3. Sæt langsomt den øverste film tilbage på membranfilteret. Minimer mængden af fangede luftbobler og mellemrum mellem filteret og Neogen Petrifilm EB Tællepladen.
4. Påfør let tryk ved at anvende Neogen Petrifilm Sprederen eller lade en finger glide let hen over hele pladens område (inklusive kanterne) for at sikre, at filteret får ensartet kontakt med gelen og for at eliminere eventuelle luftbobler.

Inkubation

Inkuber Neogen Petrifilm EB Tælleplader ved 34 °C til 37 °C i 24 timer ± 2 timer i en vandret stilling med den lyse side opad i stakke på højst 20.

Fortolkning

1. Neogen Petrifilm EB Tælleplader kan tælles ved hjælp af en standardkolonitæller eller en anden lup med lys. Tæl ikke kolonier på skumbarrieren, da de kan være uden for mediets selektive indflydelse. Tæl ikke artefakt-bobler, som måtte være til stede.

2. *Enterobacteriaceae* er røde kolonier med gule zoner og/eller røde kolonier med luftbobler med eller uden gule zoner. Kolonier, som ikke er i forbindelse med gas (med en afstand, som er større end en kolonidiameter mellem koloni og gasboble) eller en gul zone, skal ikke tælles med som *Enterobacteriaceae*.
3. Det runde vækstområde er cirka 20 cm². Der kan foretages skøn på Neogen Petrifilm EB Tælleplader, som indeholder mere end 100 kolonier ved at tælle antallet af kolonier i to eller flere repræsentative kvadrater og bestemme det gennemsnitlige antal pr. kvadrat. Gang det gennemsnitlige antal med 20 for at beregne den vurderede tælling pr. plade.
4. Når kolonier er til stede i stort antal, viser Neogen Petrifilm EB Tælleplader en mørkere gelfarve, eller pladen kan blive helt gul, og én af eller begge følgende egenskaber: Mange små kolonier, som ikke kan afgrænses, og/eller mange gasbobler. Når dette sker, skal resultaterne angives som for talrige til at tælle (TNTC). Når en faktisk optælling kræves, anvendes en højere fortynding på pladen.
5. Kolonier kan isoleres for yderligere identifikation efter behov. Løft den øverste film ved hjælp af korrekt testningsteknik, og vælg kolonien fra gelen. Test vha. standardprocedurer.
6. Hvis Neogen Petrifilm EB Tælleplader ikke kan tælles inden for 1 time efter fjernelse fra inkubatoren, kan de lagres til senere optælling ved nedfrysning i en forseglede beholder ved temperaturer lavere end eller lig med minus 15 °C i op til en uge.

Bemærk: Det anbefales ikke at udskyde tælling af Neogen Petrifilm EB Tælleplader med membranfiltre.

For yderligere oplysninger henvises til "Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Tælleplade-aflæsningsvejledning". Hvis du har spørgsmål til specifikke anvendelser eller procedurer, bedes du besøge vores websted på www.neogen.com eller kontakte din lokale Neogen-repræsentant eller -leverandør.

Specifik vejledning i validerede metoder

AOAC® Official MethodsSM

Valideringsområdet: 2003.01 Optælling af *Enterobacteriaceae* i udvalgte fødevarer

Inkubation:

Inkuber Neogen Petrifilm EB Tælleplader i 24 timer ± 2 timer ved 37 °C ± 1 °C.

NF Validation med AFNOR Certification

NF Validation-certificeret metode i overensstemmelse med ISO 16140-2⁶ sammenlignet med ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Brug følgende oplysninger ved implementering af ovennævnte brugsanvisning:

Valideringsområdet: Til testning af alle fødevarer til humant brug, dyrefoder og industrielle miljøprøver.

Prøveforberedelse: Anvend udelukkende fortyndingsvæsker, som findes på ISO-listen⁵.

Inkubation:

Inkuber Neogen Petrifilm EB Tælleplader i 24 timer ± 2 timer ved 30 °C ± 1 °C eller 37 °C ± 1 °C.

Fortolkning:

Beregn antallet af mikroorganismer til stede i testprøven ifølge ISO 7218³ for en plade pr. fortynding. Til beregning inddrages der kun Neogen Petrifilm EB Tælleplader, som indeholder op til 100 kolonier. De anslåede værdier ligger uden for NF Validation-certificeringens område (se afsnittet for aflæsning, punkt 3). Se EN ISO 7218-standarden vedrørende inokulation, kolonitælling samt beregning og præsentation af resultater.



3M 01/06 – 09/97

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 websted, som blev nævnt ovenfor.

Referencer

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

Symbolforklaring

info.neogen.com/symbols

AOAC er et registreret varemærke tilhørende AOAC INTERNATIONAL
 Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Produktveiledning

For *Enterobacteriaceae*

Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk

Neogen® Petrifilm® for *Enterobacteriaceae* (EB) er et klar-til-bruk prøvesystem med dyrkingsmedium som inneholder modifisert fioletrød galleglukose (VRBG)-næringsstoffer, en kaldtvannsoloppløselig gel og en tetrazoliumindikator som forenkler kolonitelling. Neogen Petrifilm EB Plater brukes til telling av *Enterobacteriaceae* i mat- og drikkevarerindustrien. *Enterobacteriaceae* er oxidase-negative, gram-negative staver som fermenterer glukose for å produsere syre og/eller gass. På Neogen Petrifilm EB Plater opptrer *Enterobacteriaceae* som røde kolonier med gule soner, røde kolonier med gassbobler eller røde kolonier med gule soner og gassbobler. Komponentene i Neogen Petrifilm EB platen er dekontaminert, men ikke sterilisert. Neogen Food Safety er sertifisert i henhold til International Organization for Standardization (ISO) 9001 for utforming og produksjon. Neogen Petrifilm EB Plater har ikke blitt evaluert med alle mulige matvarer, matprosesser, testprotokoller eller med alle mulige *Enterobacteriaceae*-stammer eller andre bakterier.

Sikkerhet

Brukeren må lese, forstå og følge all sikkerhetsinformasjon i bruksanvisningen for Neogen Petrifilm EB plate. 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 bruk før-datoen.

For å redusere risikoene forbundet med bakteriell infeksjon og kontaminering på arbeidsplassen:

- Utfør Neogen Petrifilm EB platetester i et riktig utstyrt laboratorium, under tilsyn av en dyktig mikrobiolog.
- Brukeren må sørge for at personalet får tilstrekkelig opplæring i korrekte testteknikker: for eksempel, Good Laboratory Practices¹, ISO/EIC 17025² eller ISO 7218³.

For å redusere risikoene forbundet med feiltolkning av resultater:

- Neogen har ikke godkjent Neogen Petrifilm EB Plater for bruk i andre industrier enn mat og drikkevarer, inkludert vann på flaske. Neogen har for eksempel ikke dokumentert Neogen Petrifilm EB Plater for testing av legemidler eller kosmetikk. Neogen har for eksempel ikke dokumentert Neogen Petrifilm EB Plater for testing av overflate- og kommunalt vann eller vann som brukes i den farmasøytiske eller kosmetikkindustrien.
- Bruken av Neogen Petrifilm EB Plater for å teste vannprøver i samsvar med lokale vannprøvningsforskrifter skjer helt på sluttbrukerens skjønn og ansvar. Neogen Petrifilm EB Plater har ikke blitt testet med alle mulige flaskevannprøver, testprotokoller eller alle mulige stammer av mikroorganismer.
- Neogen Petrifilm EB Plater skal ikke brukes i diagnostisering av tilstander hos mennesker og dyr
- Neogen Petrifilm EB Plater skiller ikke mellom ulike stammer av *Enterobacteriaceae*.

Se sikkerhetsdatabledet for ytterligere informasjon.

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, kan du gå inn på nettstedet vårt på www.neogen.com eller kontakte din Neogen-representant eller autoriserte distributør.

Brukeransvar

Brukerne har selv ansvaret for å sette seg inn i produktanvisningene og -informasjonen. Gå inn på nettstedet vårt på www.neogen.com, eller kontakt Neogen-representanten din eller en autorisert Neogen-distributør for mer informasjon.

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 matriser 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 tilfredsstiller 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 matrisene 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

Oppbevar uåpnede Neogen Petrifilm EB plateposer nedkjølt eller frosset ved temperaturer lavere eller lik 8 °C (46 °F). Rett før bruk skal du la Neogen Petrifilm EB plateposene oppnå romtemperatur før de åpnes. Legg ubrukte Neogen Petrifilm EB Plater tilbake i posen. Posen forsegles ved å brette enden på posen og tette den med tape. **For å unngå eksponering for fuktighet, skal åpnede poser ikke legges i kjøleskap.** Oppbevar gjenforseglede Neogen Petrifilm EB plateposer på et kjølig og tørt sted, ikke lengre enn fire uker. Det anbefales at gjenforseglede poser med Neogen Petrifilm EB Plater lagres i en fryser (se under) hvis laboratorietemperaturen overstiger 25 °C (77 °F), og/eller laboratoriet ligger i et område hvor den relative fuktigheten overstiger 50 % (med unntak av lokaler med klimaanlegg).

Ved oppbevaring av åpnede poser i en fryser, legges Neogen Petrifilm EB Plater i en tett beholder. For å hente ut frosne Neogen Petrifilm EB Plater for bruk åpner du beholderen, tar ut platene som trengs, og returnerer deretter umiddelbart de gjenværende platene til fryseren i den forseglede beholderen inntil holdbarhetstiden har utløpt. Fryseren som brukes til å oppbevare åpne poser må ikke ha en automatisk avisingsyklus, ettersom dette ville utsette platene for fuktighet gjentatte ganger, noe som kan skade platene.

Ikke bruk Neogen Petrifilm EB Plater som viser misfarging. Bruk før-dato og partinummer er merket på hver pakke med Neogen Petrifilm EB Plater. Partinummet er også merket på alle Neogen Petrifilm EB Plater. Neogen Petrifilm EB Plater skal ikke brukes etter bruk før-datoen.

△ Avhending

Etter bruk kan Neogen Petrifilm EB 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.

Klargjøring og inkubering av prøver fra mat- og drikkevarerbransjen (unntatt flaskevann) inkludert miljøprøver

Prøvepreparering

1. Bruk egnede sterile fortynningsmidler:

Butterfields fosfatbufret fortynningsvann⁴, fortynningsmiddel med peptonsalt⁵, 0,1 % peptonvann⁴, bufret peptonvann⁵, hydrogenfosfatløsning med dikaliumfosfat⁵, saltløsning (0,85–0,90 %), Neogen® bredspektret nøytralisering, bisulfittfri letheen-buljong eller destillert vann. Se avsnittet “Spesifikke veiledninger for validerte metoder” når det gjelder spesifikke krav.

Ikke bruk fortynningsmidler som inneholder citrat, hydrogensulfat eller tiosulfat med Neogen Petrifilm EB Plater, de kan hemme vekst. Hvis en citratbuffer er angitt i standardprosedyren, skal den erstattes med én av bufferne oppført ovenfor, oppvarmet til 40–45 °C (104–113 °F).

2. Bland eller homogeniser prøven.

3. For optimal vekst og gjenvinning av mikroorganismene, juster pH-en av prøveoppløsningen til 6,5–7,5. For syreholdige produkter, juster pH-verdien med 1 N NaOH. For alkaliske produkter, juster pH-en med 1 N HCl.

Plettering

1. Plasser Neogen Petrifilm EB platen på en flat, plan overflate.
2. Løft den øvre folien, hold pipetten vinkelrett mot inokulasjonsområdet og dispenser 1 ml prøvesuspensjon på midten av den nederste folien.
3. Rull den øvre filmen ned på prøven for å hindre oppsamling av luftbobler.
4. Plasser Neogen® Petrifilm® spreder med den flate siden ned midt på Neogen Petrifilm EB plate. Trykk varsomt ned på midten av Neogen Petrifilm spreder for å fordele prøven jevnt. Spre podestoffet over hele vekstområdet til Neogen Petrifilm EB før gelen dannes. Ikke skyv Neogen Petrifilm sprederen over folien.
5. Fjern Neogen Petrifilm spreder og la Neogen Petrifilm EB plater ligge urørt i minst ett minutt slik at gelen dannes.

Inkubasjon

Neogen Petrifilm EB Plater inkuberes i horisontal posisjon med den gjennomsiktige siden opp, i stabler av ikke mer enn 20 Neogen Petrifilm EB Plater. Neogen Petrifilm EB Plater inkuberes i 24 timer \pm 2 timer. Flere inkubasjonstider og -temperaturer kan anvendes, avhengig av gjeldende lokale referansemeter. Noen av disse er oppført i avsnittet nedenfor med tittelen «Spesifikke veiledninger for validerte metoder».

Klargjøring og inkubering av prøver fra flaskevann

Neogen Petrifilm EB hydrering

1. Plasser Neogen Petrifilm EB platen på en flat, plan overflate.
2. Løft den øvre folien og pipetter ut 1 ml av et egnet sterilt hydreringsfortynningsmiddel på midten av den nedre folien. Egnede sterile fortynningsmidler for fukting omfatter destillert vann, avionisert (DI) og revers osmose (RO) vann.
3. Rull den øvre filmen ned på prøven for å hindre oppsamling av luftbobler.
4. Plasser Neogen Petrifilm spreder med den flate siden ned, midt på platen. Trykk forsiktig på midten av sprederen for å fordele fortynningsmidlet jevnt utover. Spre fortynningsmidlet over hele Neogen Petrifilm platens vekstområde før gelen dannes. Ikke la sprederen gli over folien.
5. Fjern Neogen Petrifilm spreder og la platene være lukket i minst 1 time før bruk.
6. Oppbevar fuktete Neogen Petrifilm EB Plater i en forseglet pose eller plastpose. Beskytt platene fra lys, og oppbevar i kjøleskap ved 2-8 °C (36-46 °F) i opptil 7 dager.

Filtrering av vann og inkubasjon av plater

1. Følg standardprosedyrer for vannanalyse, membranfiltrer vannprøver med et 47 mm, 0,45 mikroporestørrelse blandet celluloseester-filter (MCE-filter).
2. Løft forsiktig den øvre folien til Neogen Petrifilm EB. Unngå berøring av det sirkulære vekstområdet. Plasser filteret i sentrum av det fuktete området.
3. Sett den øvre folien langsomt tilbake over membranfilteret. Minimer oppfangingen av luftbobler og mellomrom mellom filteret og Neogen Petrifilm EB.
4. Påfør et lett trykk med Neogen Petrifilm spreder eller ved å dra en finger lett tvers over hele plateområdet (inkludert kantene) for å sikre jevn kontakt mellom filter og gel og for å eliminere eventuelle luftbobler.

Inkubasjon

Inkuber Neogen Petrifilm EB Plater ved 34 °C til 37 °C i 24 timer \pm 2 timer i en horisontal stilling med den klare siden opp i stabler på ikke mer enn 20.

Tolkning

1. Neogen Petrifilm EB 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 mediet. Ikke tell bobler som ikke er knyttet til kolonivekst.
2. *Enterobacteriaceae* er røde kolonier med gule soner og/eller røde kolonier med gassbobler med eller uten gule soner. Kolonier som ikke er assosiert med gass (avstanden større enn én kolonidiameter mellom kolonien og gassboblen) og ikke tilknyttet med en gul sone telles ikke som *Enterobacteriaceae*.
3. Det runde vekstområdet er på omtrent 20 cm². Beregninger på Neogen Petrifilm EB Plater som inneholder mer enn 100 kolonier kan gjøres ved å telle antallet kolonier i to eller flere representative kvadrater og ved å bestemme det gjennomsnittlige antall per kvadrat. Multipliser det gjennomsnittlige antall med 20 for å avgjøre det estimerte antallet per plate.

4. Når kolonier er til stede i store antall, har Neogen Petrifilm EB Plater en fordypende gelfarge, eller platen kan bli helt gul, og enten én av, eller begge følgende egenskaper: mange små, utydelige kolonier og/eller mange gassbobler. Når dette skjer, skal resultatet avleses som overvekst (TNTC = for mange til å telle). Fortynn prøven ytterligere, dersom en nøyaktig telling er påkrevd.
5. Der det er nødvendig, kan koloniene isoleres for videre identifisering. Løft den øvre folien med riktig testteknikk og plukk kolonien opp fra gelen. Test ved hjelp av standardprosedyrer.
6. Hvis Neogen Petrifilm EB Plater ikke kan telles innen 1 time etter de ble fjernet fra inkubatoren, kan de oppbevares for senere telling ved å fryses i en tett beholder ved temperaturer lavere enn, eller lik, minus 15 °C (5 °F) ikke lenger enn én uke.

Merk: Å utsette tellingen av Neogen Petrifilm EB Plater med membranfiltre anbefales ikke.

For mer informasjon, se «Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* plate, veiledning for tolkning.» Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, besøk vårt nettsted på www.neogen.com eller kontakt den lokale Neogen-representanten eller forhandleren.

Spesifikke veiledninger for validerte metoder

AOAC® Official MethodsSM

Omfang av godkjenningen: 2003.01 Telling av *Enterobacteriaceae* i utvalgte matvarer

Inkubasjon:

Neogen Petrifilm EB Plater inkuberes i 24 timer ± 2 timer ved 37 °C ± 1 °C.

NF Validation av AFNOR Certification

NF Validation sertifisert metode i samsvar med ISO 16140-2⁶ sammenlignet med ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Bruk følgende informasjon ved implementering av bruksanvisningen ovenfor:

Omfang av godkjenningen: Til testing av alle matprodukter for mennesker, dyrefor og industrielle miljøprøver.

Prøveklargjøring: Bruk bare ISO-godkjente fortynningsmidler⁵.

Inkubasjon:

Neogen Petrifilm EB Plater inkuberes 24 timer ± 2 timer ved 30 °C ± 1 °C eller ved 37 °C ± 1 °C.

Tolkning:

Beregne antall mikroorganismer til stede i prøven i henhold til ISO 7218³ for én plate per oppløsning. Ved beregning, bruk kun Neogen Petrifilm EB Plater som inneholder inntil 100 kolonier. Estimerer er utenfor omfanget av NF Validation-sertifisering (jf. avlesingsdelen under punkt 3). Se EN ISO 7218-standarden for inokulering, kolonitelling og beregning og fremstilling av resultater.



3M 01/06 – 09/97

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 ovenfor.

Referanser

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Se gjeldende versjoner av standardmetodene oppført ovenfor.

Symbolforklaring

info.neogen.com/symbols

AOAC er et registrert varemerke for AOAC INTERNATIONAL
«Official Methods» er et tjenestemerke 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Tuoteseloste

Enterobakteerien kasvatusalusta

Tuotteen kuvaus ja käyttötarkoitus

Neogen® Petrifilm® *Enterobakteerien* (EB) kasvatusalusta on käyttövalmis kasvatusalustajärjestelmä, joka sisältää muunnettua violettipuna-sappi-glukoosi (VRBG) -ravintoaineita, kylmään veteen liukenevaa geeliytymisainetta ja pesäkkeiden laskentaa helpottavan tetratsolium-indikaattorin. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja käytetään *enterobakteerien* laskentaan elintarvike- ja juomateollisuudessa. *Enterobakteerit* ovat oksidaasi- ja gram-negatiivisia sauvabakteereja, jotka tuottavat happoa ja/tai kaasua fermentoimalla glukoosia. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoilla *enterobakteerit* näkyvät punaisina pesäkkeinä, joissa on keltaisia alueita, punaisina pesäkkeinä, joissa on kaasukuplia, tai punaisina pesäkkeinä, joissa on keltaisia alueita ja kaasukuplia. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen komponentit on dekontaminoitu, mutta ei steriloitu. Neogen Food Safety:n suunnittelu- ja valmistusmenetelmillä on kansainvälisen standardisointijärjestön (ISO) 9001-sertifiointi. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja ei ole arvioitu kaikkien mahdollisten elintarviketuotteiden, elintarvikeprosessien ja testausmenetelmien kanssa eikä *enterobakteerien* tai muiden bakteerien kaikkien mahdollisten kantojen kanssa.

Turvallisuus

Käyttäjän on luettava ja ymmärrettävä kaikki Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen ohjeisiin sisältyvät turvallisuustiedot ja noudatettava niitä. Säilytä turvallisuusohjeet myöhempää käyttöä varten.

⚠ **VAROITUS:** Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa kuolemaan tai vakavaan loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

⚠ 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 EB -kasvatusalustoja tulee käyttää testaukseen vain asianmukaisesti varustetussa laboratoriossa ja ammattitaitoisen mikrobiologin valvonnassa.
- Käyttäjän on järjestettävä henkilökunnalleen koulutusta ajantasaisista ja asianmukaisista testausmenetelmistä, kuten Good Laboratory Practices¹, ISO/EIC 17025² tai ISO 7218³.

Tulosten virheelliseen tulkintaan liittyvien riskien vähentäminen:

- Neogen ei ole osoittanut Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja muuhun kuin elintarvike- ja juomateollisuuden, mukaan lukien pullovesiteollisuuden, käyttöön. Neogen ei esimerkiksi ole osoittanut Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen soveltuvuutta lääkevalmisteiden eikä kosmeettisten aineiden testaamiseen. Neogen ei esimerkiksi ole osoittanut Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja pintaveden, julkisten vesilaitosten vesien tai lääke- tai kosmetiikkateollisuuden testauskäyttöön.
- Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen käyttö vesinäytteiden testaamiseen paikallisia vedentestaussäädöksiä noudattaen on vain loppukäyttäjän harkinnan mukaista ja loppukäyttäjän vastuulla. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja ei ole testattu kaikilla mahdollisilla pullovesinäytteillä, testausmenetelmillä tai kaikilla mahdollisilla mikro-organismikannoilla.
- Älä käytä Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja sairauksien diagnosointiin ihmisillä tai eläimillä
- Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat eivät erota *enterobakteerien* kantoja toisistaan.

Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Käy verkkosivustollamme osoitteessa www.neogen.com tai ota yhteyttä Neogen-edustajaasi tai valtuutettuun jälleenmyyjään, jos sinulla on kysyttävää jostakin käyttökohteesta tai menetelmästä.



Käyttäjän vastuu

Käyttäjät ovat vastuussa tuoteohjeisiin ja -tietoihin tutustumisesta. Käy verkkosivustollamme osoitteessa www.neogen.com tai ota yhteyttä Neogen-edustajaasi tai valtuutettuun jälleenmyyjään saadaksesi lisätietoja.

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

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

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 testatuiden prosessien laadusta.

Takuiden rajoitukset / Rajoitettu korvaus

NEOGEN KIISTÄÄ KAIKKI NIMENOMAISET JA EPÄSUORAT TAKUUT MUKAAN LUKIEN KAIKKI TAKUUT KÄYPPYDESTÄ 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 myönnetty korvaukset. Käyttäjän on ilmoitettava 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 Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen avaamattomia pusseja kylmässä tai pakastimessa korkeintaan 8 °C:n lämpötilassa. Anna Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen avaamattomien pussien lämmitä huoneenlämpöiseksi juuri ennen käyttöä ja niiden avaamista. Laita käyttämättömät Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat takaisin pussiin. Sulje pussin suu taittamalla reuna kaksinkerroin ja teippaamalla se kiinni. **Älä säilytä avattuja pusseja jääkaapissa, jotta ne eivät altistu kosteudelle.** Säilytä uudelleen suljettuja Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen pusseja viileässä ja kuivassa paikassa ja käytä ne neljän viikon kuluessa. Uudelleen suljettuja Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen pusseja on suositeltavaa säilyttää pakastimessa (katso alla), jos laboratorion lämpötila on yli 25 °C ja/tai laboratorio sijaitsee alueella, jossa suhteellinen kosteus ylittää 50 % (poikkeuksena ilmastoidut tilat).

Laita Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat tiiviisti suljettuun rasiaan, kun säilytät avattuja pakkauksia pakastimessa. Poista käytettävät pakastetut Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat avaamalla säiliö, poistamalla tarvittavat alustat ja asettamalla loput alustat välittömästi takaisin pakastimeen suljetussa astiassa ylläpitääksesi jäljellä olevan säilyvyysajan. Avattujen pussien säilytykseen käytettävässä pakastimessa ei saa olla automaattista sulatustoimintoa, sillä se altistaa kasvatusalustat kosteudelle, jolloin ne voivat vaurioitua.

Älä käytä Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja, jos niissä näkyy värimuutoksia. Viimeinen käyttöpäivä ja eränumero on merkitty jokaiseen Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustapakkaukseen. Eränumero on myös merkitty yksittäisiin Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoihin. Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja ei saa käyttää niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

△ Hävittäminen

Käytetyt Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat voivat sisältää tartuntavaarallisia mikro-organismeja. Noudata hävittämisessä voimassa olevia alan standardeja.

Tuoteseloste

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

Elintarvike- ja juomateollisuuksien (pullovesi pois laskettuna) näytteiden, sisältäen ympäristönäytteet, valmistelu ja inkubointi

Näytteen valmistus

1. Käytä sopivaa steriiliä laimenninta:

Butterfieldin fosfaattipuskuroitu laimennusvesi⁴, peptonisuolalaimennin⁵, 0,1 % peptonivesi⁴, puskuroitu peptonivesi⁵, dikaliumvetyfosfaattiliuos⁵, suolaliuos (0,85–0,90 %), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bisulfiititon Lethen Broth tai tislattu vesi. Katso erityisvaatimukset **validoituja menetelmiä koskevasta osiosta.**

Älä käytä Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoiden kanssa laimentimia, jotka sisältävät sitraattia, bisulfittia tai tiosulfaattia, sillä ne voivat estää kasvua. Jos sitraattipuskuri on indikoitu vakiomenettelyssä, korvaa se jollakin edellä luetelluista puskureista lämmitettynä 40–45 °C:seen lämpötilaan.

2. Sekoita tai homogenoï näyte.
3. Mikro-organismien optimaalinen kasvu ja palautuminen voidaan saavuttaa säätämällä näytteen pH-arvoksi 6,5–7,5. Jos näyte on hapan, säädä pH-arvoa 1N NaOH -liuoksella. Jos näyte on emäksinen, säädä pH-arvoa 1N HCl -liuoksella.

Kasvatusalustaan asettaminen

1. Aseta Neogen Petrifilm EB -kasvatusalusta tasaiselle pinnalle vaakatasoon.
2. Nosta suojakalvo ja annostelee 1 ml näytesuspensiota pohjakalvon keskelle pitämällä pipettiä kohtisuorassa inokulointialueeseen nähden.
3. Estä ilmakuplien syntyminen kiertämällä päällyskalvo näytteen päälle.
4. Aseta Neogen® Petrifilm® levitin litteä puoli alaspäin keskelle Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustaa. Paina kevyesti Neogen Petrifilm levittimen keskikohtaa, jotta näyte jakautuu tasaisesti. Levitä inokulaattia Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustan koko kasvualueelle ennen kuin geeli jähmettyy. Älä vedä Neogen Petrifilm -levitintä kalvoa pitkin.
5. Poista Neogen Petrifilm -levitin ja jätä Neogen Petrifilm EB -kasvatusalusta rauhaan vähintään yhden minuutin ajaksi, jotta geeliytyminen ehtii tapahtua.

Inkubointi

Inkuboi Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja vaakasuorassa asennossa kirkas puoli ylöspäin pinoissa, joissa on korkeintaan 20 Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustaa. Inkuboi Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja 24 tuntia ± 2 tuntia. Paikallisista referenssimenetelmistä riippuen on mahdollista käyttää useita inkubointiaikoja ja -lämpötiloja, joista joitakin luetellaan jäljempänä kohdassa **Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten**.

Pullovesinäytteiden valmistelu ja inkubointi

Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustan kosteutus

1. Aseta Neogen Petrifilm EB -kasvatusalusta tasaiselle pinnalle vaakatasoon.
2. Nosta suojakalvoa ja annostelee pohjakalvon keskelle 1 ml asianmukaista steriiliä kostutusliuosta. Asianmukaisia steriilejä kostutusliuoksia ovat mm. tislattu vesi, deionisoitu (DI) vesi ja käänteisosmoosivesi (RO).
3. Estä ilmakuplien syntyminen kiertämällä päällyskalvo näytteen päälle.
4. Aseta Neogen Petrifilm -levitin litteä puoli alaspäin keskelle levyä. Levitä laimennin tasaisesti painamalla varovasti levittimen keskeltä. Levitä liuosta Neogen Petrifilm -kasvatusalustan koko kasvualueelle, ennen kuin geeli jähmettyy. Älä vedä levitintä kalvoa pitkin.
5. Poista Neogen Petrifilm -levitin ja anna alustojen olla suljettuina vähintään 1 tunti ennen käyttöä.
6. Säilytä kostutettuja Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja suljetussa pussissa. Suojaa alustat valolta ja säilytä viileässä 2–8 °C:ssa enintään 7 päivää.

Veden suodattaminen ja alustojen inkubointi

1. Vesianalysointien normaalitutkimusmenetelmän mukaan vesinäyte kalvosuodatetaan 47 mm:n huokoskooltaan 0,45 mikronin Mixed Cellulose Ester (MCE) -suodattimella.
2. Nosta Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustan suojakalvo varovasti. Älä koske pyöreään kasvualueeseen. Aseta suodatin kostutetun alueen keskelle.
3. Aseta suojakalvo hitaasti takaisin kalvosuodattimen päälle. Katso, että suodattimen ja Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustan väliin ei jää ilmakuplia tai rakoja.
4. Poista ilmakuplat painamalla kevyesti Neogen Petrifilm -levittimellä tai kuljettamalla sormeaa kevyesti yli levyalueen (mukaan lukien reunat), jotta suodatin koskettaa geeliä tasaisesti.

Inkubointi

Inkuboi Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja 34 °C – 37 °C:n lämpötilassa 24 ± 2 tuntia vaakasuorassa asennossa kirkas puoli ylöspäin enintään 20 kappaleen pinoissa.

Tulkinta

1. Neogen Petrifilm EB -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 ihmiskäden aikaansaamia kuplia.

2. *Enterobakteereiksi* lasketaan punaiset pesäkkeet, joissa on keltaisia alueita, ja/tai punaiset pesäkkeet, joissa on kaasukuplia ja mahdollisesti keltaisia alueita. Pesäkkeitä, jotka eivät ole yhteydessä kaasuun (pesäkkeen ja kaasukuplan välinen etäisyys on yhden pesäkkeen halkaisijaa suurempi) ja keltaiseen alueeseen, ei lasketa *enterobakteereiksi*.
3. Pyöreä kasvualue on kooltaan noin 20 cm². Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoista, joissa on yli 100 pesäkettä, voidaan arvioida pesäkeluku laskemalla kahden tai useamman edustavan neliön pesäkkeiden määrä ja määrittämällä pesäkkeiden keskimääräinen lukumäärä neliötä kohti. Määritä arvioitu luku alustaa kohti kertomalla keskimääräinen lukumäärä arvolla 20.
4. Kun pesäkkeitä on hyvin runsaasti, Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen geelin väri syvenee tai alusta voi muuttua kokonaan keltaiseksi, ja jompikumpi tai kumpikin seuraavista ominaisuuksista voi esiintyä: paljon pieniä, epäselviä pesäkkeitä ja/tai paljon kaasukuplia. Tässä tapauksessa tulos on liian suuri laskettavaksi (TNTC). Mikäli tarvitset tarkan pesäkeluvun, toista määrittäminen käyttämällä suurempaa laimennosta.
5. Tarvittaessa pesäkkeet voidaan eristää myöhempää tunnistusta varten. Nosta päällyskalvo asianmukaista testaustekniikkaa käyttäen ja poimi pesäke geelistä. Testaa vakiomenetelmillä.
6. Jos Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja ei ole mahdollista laskea 1 tunnin sisällä niiden ottamisesta inkubaattorista, ne voidaan säilöä myöhempää laskentaa varten jäädyttämällä ne suljetussa astiassa korkeintaan -15 °C:n lämpötilassa enintään viikoksi.

Huomaa: Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustojen viivästetty laskenta suodatettuina ei ole suositeltavaa.

Lisätietoja on Neogen® Petrifilm® *enterobakteerien* kasvatusalustojen tulkintaoppaassa. Jos sinulla on jotain tiettyä sovellusta tai menetelmää koskevia kysymyksiä, käy verkkosivuillamme osoitteessa www.neogen.com tai ota yhteyttä paikalliseen Neogen-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten

AOAC® Official MethodsSM

Validoinnin soveltamisala: 2003.01 *Enterobakteerien* laskenta valikoiduissa elintarvikkeissa

Inkubointi:

Inkuboi Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustoja 24 tuntia ± 2 tuntia lämpötilassa 37 °C ± 1 °C.

AFNOR Certification myöntämä NF Validation -sertifikaatti

NF Validation -sertifioitu menetelmä standardin ISO 16140-2⁶ mukaan verrattuna standardiin ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Edellä annettuja käyttöohjeita sovellettaessa on huomioitava seuraavat seikat:

Validoinnin soveltamisala: Kaikkien ihmisravinnoksi tarkoitettujen tuotteiden, eläinten rehujen ja teollisuuden ympäristönäytteiden testaus.

Näytteiden valmistaminen: Käytä vain ISO-hyväksytyjä laimennusaineita⁵.

Inkubointi:

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

Tulkinta:

Laske testinäytteessä olevien mikro-organismien määrä ISO 7218³ -standardin mukaan, yksi alusta laimennusta kohti. Ota laskennassa huomioon vain Neogen Petrifilm EB -kasvatusalustat, jotka sisältävät korkeintaan 100 pesäkettä. Arviot ovat NF Validation -sertifioinnin soveltamisalan ulkopuolella (katso tulkintaosan kohta 3). Tee inokulointi, pesäkelaskenta sekä tulosten laskenta ja ilmaisu standardin EN ISO 7218 mukaisesti.



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Lisätietoja validointiajan päättymisestä on NF VALIDATION -sertifikaatissa, joka on saatavissa edellä mainitusta verkkosivustosta.



Viitteet

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Tarkista edellä mainittujen standardien mukaisten menetelmien ajantasaiset versiot.

Symbolien selitykset

info.neogen.com/symbols

AOAC on AOAC INTERNATIONAL -yhtiön rekisteröity tavaramerkki

Official Methods on AOAC INTERNATIONAL -yhtiön 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Instruções do Produto

Placa para Contagem de *Enterobacteriaceae*

Descrição do produto e uso recomendado

A Placa Neogen® Petrifilm® para Contagem de *Enterobacteriaceae* (EB) é um sistema pronto de meio de cultura que contém nutrientes modificados do Vermelho-violeta Bile Glicose (VRBG), um agente geleificante solúvel em água fria, e um indicador de tetrazólio que facilita a enumeração das colônias. As Placas Neogen Petrifilm EB são utilizadas para a enumeração de *Enterobacteriaceae* nas indústrias de alimentos, bebidas e águas engarrafadas. As *Enterobacteriaceae* são bastonetes gram-negativos e oxidase-negativas que fermentam a glicose para produzir ácido e/ou gás. Nas placas Neogen Petrifilm EB as *Enterobacteriaceae* aparecerão como colônias vermelhas com halos amarelos, colônias vermelhas com bolhas de gás e/ou colônias vermelhas com halos amarelos e bolhas de gás. Os componentes das Placas Neogen Petrifilm EB são descontaminados, mas não esterilizados. A Neogen Food Safety é certificada pela ISO (International Organization for Standardization) 9001 para projeto e fabricação. As Placas Neogen Petrifilm EB não foram avaliadas com todos os possíveis produtos e/ou processo alimentícios, protocolos de teste ou com todas as culturas possíveis de *Enterobacteriaceae* ou outras bactérias.

Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança contidas nas instruções da Placa Neogen Petrifilm EB. Guarde as instruções de segurança para consulta futura.

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

▲ AVISO

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

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

Para reduzir os riscos associados à liberação de produtos contaminados:

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

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

- Execute testes com as Placas Neogen Petrifilm EB em um laboratório devidamente equipado, sob a supervisão de um microbiologista qualificado.
- O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de testes apropriadas atuais: por exemplo, as Boas Práticas de Laboratório¹, ISO/EIC 17025² ou ISO 7218³.

Para reduzir os riscos associados à interpretação incorreta dos resultados:

- A Neogen não documentou testes de Placas Neogen Petrifilm EB para uso em outras indústrias além do setor alimentício e de bebidas, incluindo águas engarrafadas. Por exemplo, a Neogen não documentou as Placas Neogen Petrifilm EB para teste de produtos farmacêuticos ou cosméticos. A Neogen não documentou as Placas Neogen Petrifilm EB para testar águas municipais e de superfície ou águas usadas nas indústrias farmacêuticas ou de cosméticos.
- O uso de Placas Neogen Petrifilm EB para testar amostras de água em conformidade com os regulamentos locais de testes de água é de total critério e responsabilidade do usuário final. As Placas Neogen Petrifilm EB não foram testadas com todas as amostras possíveis de água engarrafada, protocolos de teste ou com todas as estirpes de micro-organismos possíveis.
- Não utilize as Placas Neogen Petrifilm EB para o diagnóstico em seres humanos ou animais.
- As Placas Neogen Petrifilm EB não diferenciam uma cepa de *Enterobacteriaceae* da outra.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter mais informações.

Se tiver dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite o nosso site em 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 instruções e informações do produto. Visite o nosso site em www.neogen.com ou entre em contato com seu 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 a técnica de laboratório utilizada, podem influenciar nos resultados.

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

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

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

Limitações de Garantias/ Solução Limitada

COM EXCEÇÃO DO QUE ESTÁ EXPRESSAMENTE AFIRMADO NA SEÇÃO DE GARANTIA LIMITADA NO PACOTE INDIVIDUAL DO PRODUTO, A NEOGEN REJEITA TODOS OS TERMOS EXPRESSOS E IMPLÍCITOS DE GARANTIA, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU DE ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da Neogen Food Safety encontra-se 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 e o mesmo deverá ser devolvido à Neogen. Entre em contato com o representante da Neogen ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

Limitação de Responsabilidade da Neogen

A NEOGEN NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQUENTES, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A, PERDA DE LUCROS. Em nenhuma circunstância nem ao abrigo de qualquer teoria jurídica deverá a responsabilidade da Neogen exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

Armazenamento

Armazene os sacos fechados de Placas Neogen Petrifilm EB refrigerados ou congelados a uma temperatura igual ou inferior a 8°C (46°F). No momento do uso, deixe os pacotes de Placas Neogen Petrifilm EB atingirem a temperatura ambiente antes de abri-los. Coloque de volta no pacote as Placas Neogen Petrifilm EB não utilizadas. Para lacrar, dobre a extremidade aberta do saco e cole com fita adesiva. **Para evitar exposição à umidade, não refrigere os sacos que tenham sido abertos.** Armazene os pacotes relacrados de Placas Neogen Petrifilm EB em um local fresco e seco pelo período máximo de quatro semanas. Recomenda-se que os sacos relacrados de Placas Neogen Petrifilm EB sejam guardados em um freezer (veja abaixo), caso a temperatura do laboratório exceda 25°C (77°F) e/ou o laboratório esteja localizado em uma região onde a umidade relativa do ar ultrapasse 50% (com exceção de locais refrigerados).

Para guardar os sacos abertos em um freezer, coloque as Placas Neogen Petrifilm EB em um recipiente lacrável. Para remover as Placas Neogen Petrifilm EB congeladas para uso, abra o recipiente, remova as placas que são necessárias e devolva imediatamente as placas restantes ao freezer no recipiente lacrado pelo restante do prazo de validade. O freezer usado para armazenar os sacos abertos não deve ter um ciclo de degelo automático (frost free), pois isso iria expor repetidamente as placas à umidade, correndo o risco de danificá-las.

Não use Placas Neogen Petrifilm EB que apresentem descoloração. A data de validade e o código do lote estão marcados em cada pacote de Placas Neogen Petrifilm EB. O número do lote também está impresso em cada Placa Neogen Petrifilm EB. As Placas Neogen Petrifilm EB não devem ser utilizadas após sua data de validade.

△ Descarte

Após serem usadas, as Placas Neogen Petrifilm EB podem conter microorganismos que podem representar 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 e incubação de amostras das indústrias de alimentos e de bebidas (com exceção de águas engarrafadas), incluindo amostras ambientais

Preparo da Amostra

1. Use diluentes estéreis adequados:

Água de diluição tamponada de fosfato de Butterfield⁴, diluente de sal peptonado⁵, água peptonada a 0,1%⁴, água peptona tamponada⁵, solução de fosfato hidrogênio dipotássico⁵, solução salina (0,85 – 0,90%), neutralizador de amplo espectro Neogen[®], caldo de Lethen sem bissulfito ou água destilada. Consulte a seção “**Instruções Específicas para Métodos Validados**” para obter requisitos específicos.

Não utilize diluentes que contenham citrato, bissulfito ou tiosulfato com as Placas Neogen Petrifilm EB; eles podem inibir o crescimento. Se o tampão de citrato for indicado no procedimento padrão, substitua-o por um dos tampões listados acima, aquecidos a 40-45°C (104-113°F).

2. Misturar ou homogeneizar amostra.
3. Para crescimento e recuperação ideais dos micro-organismos, ajuste o pH da suspensão da amostra para 6,5 a 7,5. Para produtos ácidos, ajuste o pH com 1 N NaOH. Para produtos alcalinos, ajuste o pH com 1 N HCl.

Plaqueamento

1. Coloque a Placa Neogen Petrifilm EB sobre uma superfície nivelada e plana.
2. Levante o filme superior e, com a pipeta perpendicular à área de inoculação, despeje 1 mL da suspensão da amostra no centro do filme inferior.
3. Role o filme superior para baixo para a amostra, para evitar o aprisionamento de bolhas de ar.
4. Coloque o Difusor Neogen[®] Petrifilm[®] com o lado plano para baixo, no centro da Placa Neogen Petrifilm EB. Pressione delicadamente o centro do Difusor Neogen Petrifilm para distribuir a amostra uniformemente. Espalhe o inóculo sobre toda a área de crescimento da Placa Neogen Petrifilm EB antes que o gel se forme. Não arraste o Difusor Neogen Petrifilm sobre o filme.
5. Remova o Difusor Neogen Petrifilm e deixe a Placa Neogen Petrifilm EB parada por pelo menos um minuto para permitir a formação do gel.

Incubação

Incube as Placas Neogen Petrifilm EB na posição horizontal, com a superfície limpa voltada para cima, em pilhas de até 20 Placas Neogen Petrifilm EB. Incube as Placas Neogen Petrifilm EB durante 24 horas ± 2 horas. Diversos tempos e temperaturas de incubação podem ser utilizados, dependendo dos atuais métodos de referência locais, alguns dos quais estão listados na seção intitulada “**Instruções Específicas para Métodos Validados**”, abaixo.

Preparação e incubação de amostras de água engarrafada

Hidratação de Placas Neogen Petrifilm EB

1. Coloque a Placa Neogen Petrifilm EB sobre uma superfície nivelada e plana.
2. Levante o filme superior e coloque 1 mL de diluente de hidratação estéril adequado no centro da parte inferior do filme. Diluentes estéreis adequados incluem água destilada, água deionizada (DI) e água de osmose reversa (OR).
3. Role o filme superior para baixo para a amostra, para evitar o aprisionamento de bolhas de ar.
4. Coloque o Difusor Neogen Petrifilm com sua superfície plana voltada para baixo, no centro da placa. Pressione levemente o centro do difusor para distribuir o diluente homogeneamente. 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 Neogen Petrifilm e deixe as placas fechadas por pelo menos 1 hora antes de usar.
6. Armazene as Placas Neogen Petrifilm EB hidratadas em um recipiente vedado ou saco plástico. Proteja as placas da luz e refrigere a 2-8°C (36-46°F) por até sete dias.

Filtração de Água e incubação da placa

1. Seguindo procedimentos padrão para análise de água, filtre a amostra de água usando uma membrana de Éster de Celulose Misto (MCE) de 47 mm e porosidade de 0,45 micron.
2. Levante com cuidado o filme superior da Placa Neogen Petrifilm EB. Evite tocar na área de crescimento circular. Coloque a membrana no centro da área hidratada.
3. Desça lentamente o filme superior sobre a membrana. Minimizar o aprisionamento de bolhas de ar evitando lacunas entre a membrana e a Placa Neogen Petrifilm EB.
4. Aplique pressão levemente, usando o Difusor Neogen Petrifilm ou deslizando o dedo levemente em toda a área do disco (incluindo bordas) para garantir contato uniforme da membrana com o gel para eliminar qualquer bolha de ar.

Incubação

Incube as Placas Neogen Petrifilm EB entre 34°C e 37°C por 24 h ± 2 horas na posição horizontal com o lado transparente para cima em pilhas de até 20 placas.

Interpretação

1. As Placas Neogen Petrifilm EB podem ser contadas usando um contador de colônias padrão ou qualquer outro amplificador iluminado. Não conte as colônias presentes na espuma, pois elas não estão sob a ação dos agentes de seletividade do meio. Não conte artefatos de bolhas que possam estar presentes.
2. As *Enterobacteriaceae* são colônias vermelhas com halos amarelos e/ou colônias vermelhas com bolhas de gás, com ou sem halos amarelos. Colônias não associadas com gás (distância maior que o diâmetro de uma colônia entre a colônia e a bolha de gás) e não associadas com um halo amarelo não são contadas como *Enterobacteriaceae*.
3. A área de crescimento circular tem aproximadamente 20 cm². Em Placas Neogen Petrifilm EB que contenham mais de 100 colônias, as contagens podem ser estimadas contando-se o número de colônias em dois ou mais quadrados representativos e determinando o número médio por quadrado. Multiplique o número médio por 20 para determinar a contagem estimada por placa.
4. Quando há grandes quantidades de colônias presentes, as Placas Neogen Petrifilm EB apresentam uma acentuação da cor do gel, ou a placa poderá ficar totalmente amarela, além de apresentar alguma ou todas as seguintes características: muitas colônias pequenas, indistintas e/ou muitas bolhas de gás. Quando isso ocorre, registre os resultados como incontáveis (INC). Quando uma contagem real for necessária, plaqueie em uma diluição maior.
5. Se necessário, as colônias podem ser isoladas para posterior identificação. Levante o filme superior com técnica de testagem apropriada e colete a colônia do gel. Faça o teste utilizando procedimentos padrão.
6. Se as Placas Neogen Petrifilm EB não puderem ser contadas até 1 hora após a remoção da incubadora, elas podem ser armazenadas para enumeração posterior através do congelamento em recipiente lacrável, em temperaturas iguais ou inferiores a -15°C (5°F) por até uma semana.

Observação: Não é recomendado fazer contagem das placas Placas Neogen Petrifilm EB com membranas de filtro tardiamente.

Para obter mais informações, consulte o “Guia de Interpretação da Placa Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae*”. Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, acesse nosso site www.neogen.com ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local Neogen.

Instruções Específicas para Métodos Validados

AOAC® Official MethodsSM

Escopo da validação: 2003.01 Enumeração de *Enterobacteriaceae* em Alimentos Seleccionados

Incubação:

Incube as Placas Neogen Petrifilm EB durante 24 horas ± 2 horas a 37°C ± 1°C.

NF Validation da AFNOR Certification

Método certificado NF Validation em conformidade com o ISO 16140-2⁶, em comparação com o ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Leve em consideração os detalhes a seguir ao implementar as instruções de uso acima:

Escopo da validação: Para testar todos os produtos alimentares humanos, ração animal e amostras ambientais industriais.

Preparo da amostra: Utilize apenas diluentes listados na ISO⁵.

Incubação:

Incube as Placas Neogen Petrifilm EB por 24 horas ± 2 horas a 30°C ± 1°C ou 37°C ± 1°C.

Interpretação:

Calcule o número de micro-organismos presentes na amostra de teste, de acordo com a ISO 7218³, para uma placa por diluição. Para fins de cálculo, leve em conta apenas as Placas Neogen Petrifilm EB que contenham até 100 colônias. As estimativas estão fora do âmbito da certificação NF Validation (veja a seção de interpretação, item 3). Consulte o padrão EN ISO 7218 para inoculação, cálculo e contagem de colônias e expressão dos resultados.



3M 01/06 – 09/97

MÉTODOS ANALÍTICOS ALTERNATIVOS PARA O AGRONEGÓCIO

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

Para obter mais informações sobre o final da validade, consulte o certificado NF VALIDATION disponível no site mencionado acima.

Referências

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Consulte as versões atuais dos métodos-padrão listados acima.

Explicação dos Símbolos

info.neogen.com/symbols

AOAC é uma marca registrada da AOAC INTERNATIONAL

Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Πληροφορίες προϊόντος

Πλακίδιο Καταμέτρησης *Εντεροβακτηριδίων*

Περιγραφή Προϊόντος και Σκοπός Χρήσης

Το Neogen® Petrifilm® Πλακίδιο Καταμέτρησης *Εντεροβακτηριδίων* (EB) είναι ένα δείγμα έτοιμου μέσου καλλιέργειας, που περιέχει τροποποιημένο θρεπτικό υλικό Violet Red Bile Glucose (VRBG), έναν παράγοντα γέλης διαλυτό στο κρύο νερό και δείκτη τετραζολίου που διευκολύνει την αριθμηση των αποικιών. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB χρησιμοποιούνται για την καταμέτρηση των *Εντεροβακτηριδίων* στις βιομηχανίες τροφίμων, ποτών και εμφιαλωμένου νερού. Τα *Εντεροβακτηρίδια* είναι αρνητικά στην οξειδάση, αρνητικά κατά Gram ραβδία τα οποία προκαλούν ζύμωση της γλυκόζης παράγοντας οξύ ή/και αέριο. Στα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB, τα *Εντεροβακτηρίδια* θα εμφανίζονται ως κόκκινες αποικίες με κίτρινες ζώνες, κόκκινες αποικίες με φυσαλίδες αερίου ή κόκκινες αποικίες με κίτρινες ζώνες και φυσαλίδες αερίου. Τα συστατικά των Neogen Petrifilm Πλακιδίων EB έχουν απολυμανθεί, όχι όμως αποστειρωθεί. Η Neogen Food Safety είναι πιστοποιημένη κατά τον Διεθνή Οργανισμό Τυποποίησης (ISO) 9001 για σχεδιασμό και κατασκευή. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB δεν έχουν αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διαδικασίες παραγωγής τροφίμων, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη *Εντεροβακτηριδίων* ή άλλων βακτηριδίων.

Ασφάλεια

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, να κατανοήσει και να ακολουθήσει όλες τις πληροφορίες ασφάλειας στις οδηγίες για το Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB. Φυλάξτε τις οδηγίες ασφάλειας για μελλοντική αναφορά.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και καταστροφή ιδιοκτησίας.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με την έκθεση σε βιολογικούς κινδύνους και τη μόλυνση του περιβάλλοντος:

- Τηρείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα 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 που περιέχονται στις οδηγίες χρήσης.
- Μην το χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης.

Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με βακτηριακή λοίμωξη και επιμόλυνση του χώρου εργασίας:

- Εκτελέστε τον έλεγχο με το Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB σε κατάλληλα εξοπλισμένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη ειδικευμένου μικροβιολόγου.
- Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδευτεί το προσωπικό του στις τρέχουσες κατάλληλες τεχνικές ελέγχου: για παράδειγμα, Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές¹, ISO/EIC 17025² ή ISO 7218³.

Για τη μείωση των κινδύνων που σχετίζονται με παρερμηνεία των αποτελεσμάτων:

- Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB για χρήση σε βιομηχανίες άλλες εκτός τροφίμων και ποτών συμπεριλαμβανομένου εμφιαλωμένου νερού. Για παράδειγμα, η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων EB για έλεγχο φαρμακευτικών προϊόντων ή καλλυντικών. Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB για έλεγχο επιφανειακών και δημοτικών υδάτων, ή υδάτων που χρησιμοποιούνται στις φαρμακευτικές βιομηχανίες ή καλλυντικών.
- Η χρήση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων EB για τον έλεγχο δειγμάτων νερού σε συμμόρφωση με τους τοπικούς κανονισμούς ελέγχου του νερού εναπόκειται στην αποκλειστική διακριτική ευχέρεια και ευθύνη του τελικού χρήστη. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB δεν έχουν ελεγχθεί με όλα τα πιθανά δείγματα εμφιαλωμένου νερού, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη μικροοργανισμών.
- Μην χρησιμοποιείτε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB στη διάγνωση παθήσεων σε ανθρώπους και ζώα
- Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB δεν διαφοροποιούν ένα στέλεχος *Εντεροβακτηριδίου* από ένα άλλο.

Συμβουλευτείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας για πρόσθετες πληροφορίες.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στη διεύθυνση www.neogen.com ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen.

Ευθύνη του χρήστη

Οι χρήστες φέρουν την ευθύνη της ατομικής τους εξοικείωσης με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στη διεύθυνση www.neogen.com ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen για περισσότερες πληροφορίες.

Κατά την επιλογή μίας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι οι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων και η εργαστηριακή τεχνική μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επιλέξει οποιαδήποτε μέθοδο ή προϊόν ελέγχου, για να αξιολογήσει έναν επαρκή αριθμό δειγμάτων με τις κατάλληλες μήτρες και μικροβιακές προκλήσεις, ώστε η επιλεγμένη μέθοδος να ικανοποιεί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμής 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 μητρών ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

Περιορισμός εγγυήσεων / Περιορισμένη αποκατάσταση

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΕ ΜΙΑ ΕΝΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΕΓΓΥΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η ΝΕΟΓΕΝ ΑΠΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΜΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν Neogen Food Safety είναι ελαττωματικό, η Neogen ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, κατά την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την τιμή αγοράς του προϊόντος. Αυτές είναι οι αποκλειστικές σας αποκαταστάσεις. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην Neogen την ανακάλυψη 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, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της Neogen δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την τιμή αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι ελαττωματικό.

Αποθήκευση

Φυλάσσετε τα μη ανοιγμένα σακουλάκια με Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB στο ψυγείο ή στην κατάψυξη σε θερμοκρασία μικρότερη από ή ίση με 8 °C (46 °F). Αμέσως πριν τη χρήση, αφήστε τα κλειστά σακουλάκια με Neogen Petrifilm Πλακίδια EB να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από το άνοιγμα. Επιστρέψτε τα μη χρησιμοποιημένα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB 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.** Φυλάσσετε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια με Neogen Petrifilm Πλακίδια EB σε δροσερό, ξηρό χώρο για χρονικό διάστημα που δεν υπερβαίνει τις τέσσερις εβδομάδες. Συνιστάται να αποθηκεύετε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια με Neogen Petrifilm Πλακίδια EB σε καταψύκτη (βλ. παρακάτω) αν η θερμοκρασία του εργαστηρίου υπερβαίνει τους 25 °C (77 °F) ή/και αν 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 EB σε ένα σφραγισμένο δοχείο. Για να αφαιρέσετε τα κατεψυγμένα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB για χρήση, ανοίξτε το δοχείο, αφαιρέστε τα πλακίδια που χρειάζονται και επιστρέψτε αμέσως τα υπόλοιπα πλακίδια στον καταψύκτη στο σφραγισμένο δοχείο για το υπόλοιπο της διάρκειας ζωής. Ο καταψύκτης που χρησιμοποιείται για να φυλάσσονται τα ανοιγμένα σακουλάκια, δεν πρέπει να έχει αυτόματο κύκλο απόψυξης, καθώς αυτό θα μπορούσε να εκθέσει επανειλημμένα τα πλακίδια σε υγρασία, η οποία μπορεί να καταστρέψει τα πλακίδια.

Μη χρησιμοποιήσετε Neogen Petrifilm Πλακίδια EB που παρουσιάζουν αποχρωματισμό. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας σημειώνονται σε κάθε συσκευασία των Neogen Petrifilm Πλακιδίων EB. Ο αριθμός παρτίδας επισημαίνεται επίσης στα μεμονωμένα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB. Τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης τους.

Δ Απόρριψη

Μετά τη χρήση, τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB μπορεί να περιέχουν μικροοργανισμούς που ενδέχεται να αποτελούν πιθανό βιολογικό κίνδυνο. Ακολουθείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα για την απόρριψη.

Οδηγίες Χρήσης

Ακολουθείτε όλες τις οδηγίες προσεκτικά. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

Προετοιμασία και επώαση δειγμάτων από τις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών (εκτός του εμφιαλωμένου νερού) συμπεριλαμβανομένων περιβαλλοντικών δειγμάτων

Προπαρασκευή του δείγματος

1. Χρησιμοποιήστε κατάλληλα αποστειρωμένα αραιωτικά:

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών Butterfield⁴, αραιωτικό πεπτόνης και άλατος⁵, νερό πεπτόνης 0,1%⁴, ρυθμιστικό νερό πεπτόνης⁵, διάλυμα δισόξινου φωσφορικού καλίου⁵, αλατούχο διάλυμα (0,85-0,90%), προϊόν εξουδετέρωσης ευρέος φάσματος Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, ζωμός λεκιθίνης χωρίς διθειώδη άλατα ή απεσταγμένο νερό. Δείτε 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 EB, διότι μπορούν να εμποδίσουν την ανάπτυξη. Εάν ενδείκνυται ρυθμιστικό κιτρικού στην τυπική διαδικασία, αντικαταστήστε το με ένα από τα ρυθμιστικά που περιγράφονται παραπάνω, θερμασμένο στους 40–45 °C (104–113 °F).

2. Αναμείξτε ή ομογενοποιήστε το δείγμα.
3. Για βέλτιστη ανάπτυξη και ανάκτηση των μικροοργανισμών, ρυθμίστε το pH του δείγματος εναιωρήματος στα 6,5–7,5. Για όξινα προϊόντα, ρυθμίστε το pH με 1 N NaOH. Για αλκαλικά προϊόντα, ρυθμίστε το pH με 1 N HCl.

Επίστρωση

1. Τοποθετήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB σε μια επίπεδη επιφάνεια.
2. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη και, με την πιπέτα κάθετα στην επιφάνεια εμβολιασμού, χορηγήστε 1 mL του εναιωρήματος δείγματος στο κέντρο της κάτω μεμβράνης.
3. Κυλήστε την επάνω μεμβράνη προς τα κάτω επάνω στο δείγμα για να εμποδίσετε την παγίδευση φυσαλίδων αέρα.
4. Τοποθετήστε τον Neogen® Petrifilm® Διασκορπιστή με την επίπεδη πλευρά προς τα κάτω στο κέντρο του Neogen Petrifilm Πλακιδίου EB. Πιέστε απαλά στο κέντρο του Neogen Petrifilm Διασκορπιστή για να διανείμετε το δείγμα ομοιόμορφα. Απλώστε το εμβολίασμα επάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια ανάπτυξης του Neogen Petrifilm Πλακιδίου EB πριν να σχηματισθεί γέλη. Μη σύρετε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή κατά μήκος της μεμβράνης.
5. Αφαιρέστε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή και αφήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB ανενόχλητο για τουλάχιστον ένα λεπτό για να επιτρέψετε το σχηματισμό γέλης.

Επώαση

Επώαση τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB σε οριζόντια θέση με τη διαφανή πλευρά προς τα πάνω σε στοίβες με όχι περισσότερα από 20 - Neogen Petrifilm Πλακίδια EB. Επώαση τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB επί 24 ώρες ±2 ώρες. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν αρκετοί διαφορετικοί χρόνοι και θερμοκρασίες επώασης ανάλογα με τις τρέχουσες τοπικές μεθόδους αναφοράς, μερικές από τις οποίες αναφέρονται στην παρακάτω ενότητα με τίτλο «**Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους**».

Προετοιμασία και επώαση δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού

Ενυδάτωση του Neogen Petrifilm Πλακιδίου EB

1. Τοποθετήστε το Neogen Petrifilm Πλακίδιο EB σε μια επίπεδη επιφάνεια.
2. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη και διανείμετε 1 mL κατάλληλου αποστειρωμένου ενυδατικού αραιώσεως στο κέντρο της κάτω μεμβράνης. Τα κατάλληλα αποστειρωμένα αραιωτικά ενυδάτωσης περιλαμβάνουν απεσταγμένο νερό, απιονισμένο νερό και νερό αντίστροφης όσμωσης (RO).
3. Κυλήστε την επάνω μεμβράνη προς τα κάτω επάνω στο δείγμα για να εμποδίσετε την παγίδευση φυσαλίδων αέρα.
4. Τοποθετήστε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή με την επίπεδη πλευρά προς τα κάτω στο κέντρο του πλακιδίου. Πιέστε απαλά το κέντρο του διασκορπιστή ώστε να διανείμετε το αραιωτικό ομαλά. Διασκορπίστε το αραιωτικό πάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια ανάπτυξης του πλακιδίου Neogen Petrifilm πριν να σχηματισθεί η γέλη. Μην σύρετε τον διασκορπιστή κατά μήκος της μεμβράνης.

5. Αφαιρέστε τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή και αφήστε τα πλακίδια να παραμείνουν κλειστά για τουλάχιστον 1 ώρα πριν από τη χρήση.
6. Αποθηκεύστε τα ενυδατωμένα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB σε σφραγισμένο σακουλάκι ή πλαστική σακούλα. Προστατεύστε τα πλακίδια από το φως και βάλτε τα στο ψυγείο στους 2–8 °C (36–46 °F) για έως 7 ημέρες.

Φιλτράρισμα νερού και επώαση πλακιδίου

1. Ακολουθώντας τις κλασικές διαδικασίες φιλτράρετε το δείγμα του νερού με μεμβράνη, χρησιμοποιώντας ένα Κυτταρικό Αναμεμιγμένο Φίλτρο Εστέρα 47 mm, με μέγεθος πόρων 0,45 micron.
2. Ανασηκώστε προσεκτικά την επάνω μεμβράνη του Neogen Petrifilm Πλακιδίου EB. Αποφύγετε την επαφή με την κυκλική περιοχή ανάπτυξης. Τοποθετήστε το φίλτρο στο κέντρο της ενυδατωμένης περιοχής.
3. Επανατοποθετήστε σιγά σιγά την επάνω μεμβράνη επάνω στο φίλτρο μεμβράνης. Ελαχιστοποιήστε την παγίδευση φυσαλίδων αέρα και τη δημιουργία διαστημάτων μεταξύ του φίλτρου και του πλακιδίου Neogen Petrifilm Πλακιδίου EB.
4. Ασκήστε ελαφρά πίεση χρησιμοποιώντας τον Neogen Petrifilm Διασκορπιστή ή ολισθαίνοντας ένα δάχτυλο ελαφρά κατά μήκος όλης της περιοχής του δίσκου (συμπεριλαμβανομένων και των άκρων) για να εξασφαλίσετε την πλήρη επαφή του φίλτρου με τη γέλη και για να εξαλείψετε τυχόν φυσαλίδες αέρα.

Επώαση

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB στους 34 °C έως 37 °C επί 24 ώρες ±2 ώρες σε οριζόντια θέση με την διάφανη πλευρά προς τα επάνω σε στοιβάδες μέχρι 20 πλακίδια.

Ερμηνεία

1. Οι αποικίες στα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB μπορούν να μετρηθούν με χρήση τυπικού απαριθμητή αποικιών ή άλλης φωτεινής συσκευής μεγέθυνσης. Μην καταμετράτε αποικίες επάνω σε φράκτη αφρού, καθώς αυτές έχουν απομακρυνθεί από την επιλεκτική επιρροή του καλλιεργητικού μέσου. Μην καταμετράτε τεχνητές φυσαλίδες που μπορεί να είναι παρούσες.
2. Τα *Εντεροβακτηρίδια* είναι κόκκινες αποικίες με κίτρινες ζώνες ή/και κόκκινες αποικίες με φυσαλίδες αερίων ή χωρίς κίτρινες ζώνες. Οι αποικίες που δεν συσχετίζονται με αέριο (απόσταση μεγαλύτερη από μία διάμετρο αποικίας μεταξύ της αποικίας και της φυσαλίδας αερίου) και δεν συσχετίζονται με μια κίτρινη ζώνη δεν καταμετρώνται ως *Εντεροβακτηρίδια*.
3. Η κυκλική επιφάνεια ανάπτυξης είναι περίπου 20 cm². Υπολογισμοί μπορούν να γίνουν σε Neogen Petrifilm Πλακίδια EB που περιέχουν περισσότερες από 100 αποικίες καταμετρώντας τον αριθμό των αποικιών σε ένα ή περισσότερα αντιπροσωπευτικά τετραγωνίδια και προσδιορίζοντας το μέσο όρο ανά τετραγωνίδιο. Πολλαπλασιάστε το μέσο αριθμό επί 20 για να προσδιορίσετε τον εκτιμώμενο αριθμό ανά πλακίδιο.
4. Όταν είναι παρούσες αποικίες σε μεγάλους αριθμούς, τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB θα εμφανίζουν σκουρότερο χρώμα γέλης ή το πλακίδιο μπορεί να γίνει τελείως κίτρινο, και θα έχουν ένα ή και τα δύο από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: πολλές μικρές, μη διακριτές αποικίες ή/και πολλές φυσαλίδες αερίου. Όταν συμβαίνει αυτό, καταγράψτε τα αποτελέσματα ως πάρα πολλά για να καταμετρηθούν (TNTC). Όταν απαιτείται ακριβής καταμέτρηση, επιστρώστε σε μεγαλύτερη αραιώση.
5. Όπου είναι απαραίτητο, οι αποικίες μπορούν να απομονωθούν για περαιτέρω ταυτοποίηση. Ανασηκώστε την επάνω μεμβράνη χρησιμοποιώντας κατάλληλη τεχνική ελέγχου και συλλέξτε την αποικία από τη γέλη. Διενεργήστε έλεγχο χρησιμοποιώντας τις καθιερωμένες διαδικασίες.
6. Αν τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB δεν μπορούν να καταμετρηθούν σε διάστημα 1 ώρας από την αφαίρεσή τους από το θάλαμο επώασης, μπορούν να αποθηκευτούν ώστε να καταμετρηθούν αργότερα αφού καταψυχθούν σε σφραγισμένο δοχείο σε θερμοκρασία μικρότερη από ή ίση με μείον 15 °C (5 °F) για διάστημα όχι μεγαλύτερο της μίας εβδομάδας.

Σημείωση: Δεν συνιστάται η αργοπορημένη μέτρηση των Neogen Petrifilm Πλακιδίων EB με φίλτρα μεμβράνης.

Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στον «Οδηγό ερμηνείας του Neogen Petrifilm Πλακιδίου Καταμέτρησης *Εντεροβακτηριδίων*». Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη διεύθυνση www.neogen.com ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen.

Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους

AOAC® Official MethodsSM

Πεδίο εγκυρότητας: 2003.01 Καταμέτρηση *Εντεροβακτηριδίων* σε επιλεγμένα τρόφιμα

Επώαση:

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB επί 24 ώρες ± 2 ώρες στους 37 °C ± 1 °C.

NF Validation από την AFNOR Certification

Επικυρωμένη μέθοδος NF Validation σε συμμόρφωση με ISO 16140-2⁶ σε σύγκριση με ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

Χρησιμοποιήστε τις λεπτομέρειες που ακολουθούν όταν εφαρμόζετε τις παραπάνω Οδηγίες Χρήσης:

Πεδίο εγκυρότητας: Για τον έλεγχο όλων των προϊόντων ανθρώπινης διατροφής, ζωοτροφών και βιομηχανικών περιβαλλοντικών δειγμάτων.

Προετοιμασία δείγματος: Χρησιμοποιείτε μόνο αραιωτικά καταχωρημένα κατά ISO⁵.

Επώαση:

Επώαστε τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB επί 24 ± 2 ώρες στους 30 °C ± 1 °C ή 37 °C ± 1 °C.

Ερμηνεία:

Υπολογίστε τον αριθμό των μικροοργανισμών που είναι παρόντες στο δοκιμαστικό δείγμα σύμφωνα με το ISO 7218³ για ένα πλακίδιο ανά αραιώση. Για τον υπολογισμό, λάβετε υπόψη μόνο τα Neogen Petrifilm Πλακίδια EB που περιέχουν έως και 100 αποικίες. Οι εκτιμήσεις είναι εκτός του πεδίου της πιστοποίησης NF Validation Certification (βλέπε ενότητα για την ερμηνεία, παράγραφος 3). Ανατρέξτε στο πρότυπο EN ISO 7218 για έγχυση, καταμέτρηση και υπολογισμό αποικιών και εμφάνιση αποτελεσμάτων.



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη λήξη της εγκυρότητας, παρακαλούμε ανατρέξτε στο πιστοποιητικό NF VALIDATION που διατίθεται στον ιστότοπο που αναφέρεται παραπάνω.

Βιβλιογραφία

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Ανατρέξτε στις τρέχουσες εκδόσεις των τυπικών μεθόδων που παρατίθενται παραπάνω.

Επεξήγηση των Συμβόλων

info.neogen.com/symbols

Το AOAC είναι σήμα κατατεθέν του AOAC INTERNATIONAL

Το Official Methods είναι σήμα υπηρεσιών του 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Informacje o produkcie

Płytki do oznaczania liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*

Opis i przeznaczenie produktu

Płytki Neogen® Petrifilm® do oznaczania liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (EB) jest gotowym do pobierania próbek systemem pożywek hodowlanych zawierającym składniki odżywcze ze zmodyfikowanym agarem glukozowym z czerwienią fioletową i żółcią (VRBG), rozpuszczalnym w zimnej wodzie środkiem żelującym oraz wskaźnikiem tetrazolowym ułatwiającym liczenie kolonii. Płytki Neogen Petrifilm EB stosuje się do liczenia bakterii *Enterobacteriaceae* w pożywieniu, napojach i wodzie butelkowanej. *Enterobacteriaceae* to oksydazo-ujemne, Gram-ujemne pałeczki, powodujące fermentację glukozy z wytworzeniem kwasu i/lub gazu. Na Płytkach Neogen Petrifilm EB *Enterobacteriaceae* będą widoczne jako czerwone kolonie z żółtymi strefami, czerwone kolonie z pęcherzykami gazu lub czerwone kolonie z żółtymi strefami i pęcherzykami gazu. Składniki Płytki Neogen Petrifilm EB są odkażone, lecz niewyjałowione. Firma Neogen Food Safety została wyróżniona certyfikatem Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej (ISO) 9001 w zakresie projektowania i wytwarzania. Płytki Neogen Petrifilm EB nie zostały przetestowane ze wszystkimi możliwymi produktami spożywczymi, we wszystkich procesach przetwarzania żywności, protokołach badań ani pod kątem wszystkich możliwych szczepów *Enterobacteriaceae* lub innych bakterii.

Bezpieczeństwo

Użytkownik powinien przeczytać, zrozumieć i przestrzegać wszystkich wskazówek bezpieczeństwa zamieszczonych w instrukcji stosowania Płytki Neogen Petrifilm EB. 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 uszkodzenia 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 ograniczyć zagrożenia związane z uwolnieniem do środowiska skażonego produktu:

- Przestrzegać wszystkich instrukcji dotyczących przechowywania produktu zawartych w instrukcjach stosowania.
- Nie używać po dacie ważności.

Aby ograniczyć zagrożenia związane z infekcją bakteryjną i skażeniem w miejscu pracy:

- Przeprowadzić test Płytki Neogen Petrifilm EB w odpowiednio wyposażonym laboratorium i pod nadzorem wykwalifikowanego mikrobiologa.
- Obowiązkiem użytkownika jest przeszkolenie personelu w zakresie aktualnych, odpowiednich technik badań: na przykład Dobrych praktyk laboratoryjnych¹, ISO/EIC 17025² lub ISO 7218³.

Aby ograniczyć zagrożenia związane z błędną interpretacją wyników:

- Firma Neogen nie zatwierdziła stosowania Płytek Neogen Petrifilm EB w przemyśle innych niż spożywczy i produkcji napojów, w tym wody butelkowanej. Na przykład, firma Neogen nie zatwierdziła Płytek Neogen Petrifilm EB do testowania farmaceutyków lub kosmetyków. Firma Neogen nie ma dokumentacji na temat stosowania Płytek Neogen Petrifilm EB w celu przeprowadzenia kontroli zanieczyszczenia powierzchni oraz wód wodociągowych lub wód wykorzystywanych w przemyśle farmaceutycznym lub kosmetycznym.
- Użytkownik końcowy stosuje Płytki Neogen Petrifilm EB do badania próbek wody zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi badania wody według własnego uznania i na własną odpowiedzialność. Płytki Neogen Petrifilm EB nie zostały przetestowane pod kątem wszystkich możliwych próbek wody butelkowanej, protokołów testowych ani wszystkich możliwych szczepów mikroorganizmów.
- Nie należy używać Płytek Neogen Petrifilm EB do testów diagnostycznych u ludzi i zwierząt.
- Płytki Neogen Petrifilm EB nie umożliwiają rozróżnienia szczepów bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* od innych bakterii z tej rodziny.

Aby uzyskać dodatkowe informacje, należy zapoznać się z kartą charakterystyki.

W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić naszą stronę internetową pod adresem www.neogen.com lub skontaktować się z przedstawicielem firmy Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem.

Obowiązki użytkownika

Użytkownicy są odpowiedzialni by zapoznać się z instrukcjami i informacjami dotyczącymi produktu. Aby uzyskać więcej informacji, odwiedź naszą stronę internetową pod adresem www.neogen.com lub skontaktuj się z przedstawicielem firmy Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem.

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 lub procesów.

Ograniczenie gwarancji / Ograniczone środki zapobiegawcze

JEŚLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. OGRANICZONEJ GWARANCJI POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW, FIRMA NEOGEN WYŁĄCZA ODPOWIEDZIALNOŚĆ WSZYSTKICH GWARANCJI DOMNIEMANYCH I DOROZUMIANYCH, W TYM MIĘDZY INNYMI DOWOLNYCH GWARANCJI 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 sześćdziesięciu dni od wykrycia jakiegokolwiek podejrzanego wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę Neogen oraz zwrócić produkt. W przypadku pytań prosimy o kontakt z przedstawicielem 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 przyznana na mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu rzekomo wadliwego produktu.

Przechowywanie

Woreczki z Płytkami Neogen Petrifilm EB przechowywać nieotwarte, schłodzone lub zamrożone w temperaturze niższej lub równej 8°C (46°F). Tuż przed otwarciem i użyciem Płytki Neogen Petrifilm EB należy poczekać aż nieotwarte woreczki osiągną temperaturę pokojową. Niewykorzystane Płytki Neogen Petrifilm EB 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 uszczelnione woreczki z Płytkami Neogen Petrifilm EB należy przechowywać w chłodnym, suchym miejscu i przez okres nie dłuższy niż cztery tygodnie. Zaleca się, aby ponownie uszczelnione woreczki z Płytkami Neogen Petrifilm EB 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 EB w pojemnikach, które można szczelnie zamknąć. Aby wyjąć zamrożone płytki Neogen Petrifilm EB w celu ich użycia, otworzyć pojemnik, wyjąć potrzebne płytki i niezwłocznie włożyć pozostałe płytki do zamrażarki w szczelnie zamkniętym pojemniku na pozostałą część okresu przydatności do użycia. Zamrażarka używana do przechowywania otwartych woreczków nie może być wyposażona w funkcję automatycznego odszraniania, ponieważ wielokrotne narażenie płytek na wilgoć może spowodować ich uszkodzenie.

Nie używać Płytek Neogen Petrifilm EB, które noszą ślady przebarwień. Data ważności i kod partii są podane na każdym woreczku z Płytkami Neogen Petrifilm EB. Numer partii jest również podany na poszczególnych Płytkach Neogen Petrifilm EB. Płytek Neogen Petrifilm EB nie należy stosować po upływie daty ważności.

△ Utylizacja

Wykorzystane Płytki Neogen Petrifilm EB 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 i inkubacja próbek żywności i napojów (z wyłączeniem wody butelkowanej), w tym próbek środowiskowych

Przygotowanie próbek

1. Stosować odpowiednie jałowe rozcieńczalniki:

Woda do rozcieńczeń buforowana fosforanem Butterfielda⁴, rozcieńczalnik soli peptonowej⁵, 0,1% woda peptonowa⁴, buforowana woda peptonowa⁵, roztwór wodorofosforanu dipotasu⁵, roztwór soli fizjologicznej (0,85 - 0,90%), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bulion z lecytyną bez wodorosiarczanów lub woda destylowana. Szczegółowe wymagania znajdują się w sekcji „**Szczegółowe instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod**”.

Nie stosować rozcieńczalników zawierających cytrynian, disiarczyn lub tiosiarczan z Płytkami Neogen Petrifilm EB, ponieważ mogą one hamować wzrost. Jeśli w standardowej procedurze wskazane jest zastosowanie buforu na bazie cytrynianu, należy zastąpić go jednym z buforów wymienionych powyżej, podgrzanym do temperatury 40–45°C (104–113°F).

2. Zmieszać próbkę lub poddać ją homogenizacji.
3. W celu uzyskania maksymalnego wzrostu i odzyskiwania mikroorganizmów należy dostosować pH zawiesiny próbki do 6,5–7,5. W przypadku produktów kwasowych dostosować pH za pomocą 1 N NaOH. W przypadku produktów zasadowych należy dostosować pH, stosując 1 N HCl.

Stosowanie płytek

1. Umieścić Płytkę Neogen Petrifilm EB na płaskiej, równej powierzchni.
2. Podnieść wierzchnią folię i za pomocą pipety ustawionej prostopadłe do obszaru inokulacji rozprowadzić 1 ml zawiesiny próbki na środku spodniej folii.
3. Rozwinąć wierzchnią folię na próbce, aby zapobiec uwięzieniu pęcherzyków powietrza.
4. Umieścić Neogen® Petrifilm® głaszczkę płaską stroną do dołu na Płytkce Neogen Petrifilm EB. Delikatnie nacisnąć środek Neogen Petrifilm głaszczki, aby równo rozprowadzić próbkę. Rozprowadzić materiał posiewowy po całej powierzchni wzrostu Płytki Neogen Petrifilm EB zanim nastąpi żelowanie. Nie przesuwac Neogen Petrifilm głaszczki wzdłuż folii.
5. Zdjąć Neogen Petrifilm głaszczkę i pozostawić Płytkę Neogen Petrifilm EB na przynajmniej 1 minutę, aby umożliwić wytworzenie się żelu.

Inkubacja

Inkubować Płytki Neogen Petrifilm EB w pozycji poziomej z czystą stroną skierowaną do góry, w stosach złożonych z maks. 20 Płytek Neogen Petrifilm EB. Inkubować Płytki Neogen Petrifilm EB przez 24 ± 2 godziny. W zależności od bieżących metod przyjętych lokalnie można stosować różne czasy oraz temperatury inkubacji. Niektóre z nich wymieniono poniżej w części „**Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod**”.

Przygotowanie i inkubacja próbek wody butelkowanej

Nawilżanie Płytki Neogen Petrifilm EB

1. Umieścić Płytkę Neogen Petrifilm EB na płaskiej, równej powierzchni.
2. Unieść górną folię i nanieść 1 ml właściwego, sterylnego, uwodnionego rozcieńczalnika na środek spodniej folii. Właściwe sterylne, uwodnione rozcieńczalniki zawierają wodę destylowaną, dejonizowaną (DI) oraz wodę po odwróconej osmozie (RO).
3. Rozwinąć wierzchnią folię na próbce, aby zapobiec uwięzieniu pęcherzyków powietrza.
4. Umieścić Neogen Petrifilm głaszczkę płaską stroną do dołu na środku płytki. Delikatnie nacisnąć na środek głaszczki, aby równomiernie rozprowadzić rozcieńczalnik. Rozprowadzić rozcieńczalnik po całej powierzchni wzrostu Płytki Neogen Petrifilm zanim nastąpi żelowanie. Nie przesuwac głaszczki po folii.
5. Usunąć Neogen Petrifilm głaszczkę i pozostawić płytki zamknięte przez minimum 1 godzinę przed użyciem.
6. Przechowywać uwodnione Płytki Neogen Petrifilm EB w zapewniających szczelność woreczkach lub torebkach z tworzywa sztucznego. Chronić płytki przed działaniem światła oraz schładzać w temperaturze 2–8°C (36–46°F) przez nie dłużej niż 7 dni.

Filtrowanie wody oraz inkubacja płytek

1. Zgodnie ze standardowymi procedurami analizy wody, w próbkach wody z filtrem membranowym stosowany jest 47-milimetrowy filtr MCE o średnicy porów równej 0,45 mikrona.
2. Ostrożnie unieść górną folię Płytki Neogen Petrifilm EB. Unikać dotknięcia okrągłego obszaru wzrostu. Umieścić filtr na środku nawodnionego obszaru.
3. Powoli przenieść górną folię na filtr membranowy. Ograniczyć uwężnienie pęcherzyków powietrza i tworzenie się szczelin pomiędzy filtrem i Płytką Neogen Petrifilm EB.
4. Delikatnie docisnąć za pomocą Neogen Petrifilm głaszczki lub przesunąć lekko palcami w poprzek całej powierzchni dysku (włączając krawędzie), aby zapewnić równomierny kontakt filtra z żelem oraz usunąć pęcherzyki powietrza.

Inkubacja

Inkubować Płytki Neogen Petrifilm EB w temperaturze od 34°C do 37°C przez 24 ± 2 godziny w położeniu poziomym, ułożone czystą stroną do góry, w stosach składających się z maksymalnie 20 płytek.

Interpretacja wyników

1. Płytki Neogen Petrifilm EB można zliczać za pomocą standardowego licznika kolonii lub innego podświetlanego szkła powiększającego. Nie liczyć kolonii na blokadzie z piany, ponieważ zostały one oddzielone od selektywnego oddziaływania podłoża. Nie liczyć pęcherzyków-artefaktów, które mogą być obecne na płytce.
2. *Enterobacteriaceae* widoczne są jako czerwone kolonie z żółtymi strefami i/lub czerwone kolonie z pęcherzykami gazu z lub bez żółtych stref. Kolonie niezwiązane z gazem (odległość pomiędzy kolonią i pęcherzykiem gazu większa niż średnica kolonii) i niezwiązane z żółtą strefą nie są zliczane jako *Enterobacteriaceae*.
3. Okrągły obszar wzrostu wynosi około 20cm². Oszacowań można dokonywać w oparciu o Płytki Neogen Petrifilm EB zawierające więcej niż 100 kolonii, zliczając liczbę kolonii z dwóch lub większej liczby reprezentatywnych kwadratów i określając średnią liczbę na kwadrat. W celu określenia przybliżonej liczby na płytce należy pomnożyć średnią liczbę przez 20.
4. Jeśli kolonie pojawiły się w dużych ilościach, Płytki Neogen Petrifilm EB będą przybierać pogłębiony kolor żelu lub staną się całkowicie żółte lub będą spełniać jedną lub obie z poniższych charakterystyk: wiele małych, niewyraźnych kolonii i/lub wiele pęcherzyków gazu. Jeśli wystąpi powyższa sytuacja, rezultaty należy oznaczyć jako zbyt liczne, aby policzyć (TNTC – too numerous to count). Jeśli wymagane jest rzeczywiste zliczenie, zastosować wyższe rozcieńczenie.
5. Jeśli to konieczne, można izolować kolonie w celu dalszej identyfikacji. Unieść wierzchnią folię przy użyciu odpowiedniej techniki testowania i wybrać kolonię z żelu. Testować, wykorzystując procedury standardowe.
6. Jeśli nie można zliczyć Płytek Neogen Petrifilm EB w ciągu 1 godziny od wyjęcia z inkubatora, można odłożyć je do przechowywania w celu zliczenia ich w późniejszym czasie. W tym celu należy zamrozić je w szczelnym pojemniku w temperaturze niższej bądź równej minus 15°C (5°F) przez maksymalnie jeden tydzień.

Uwaga: Opóźnienie liczenia z Płytek Neogen Petrifilm EB z filtrami nie jest zalecane.

W celu uzyskania dalszych informacji należy zapoznać się z dokumentem „Przewodnik dotyczący interpretacji liczby Płytek Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae*”. W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.neogen.com lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod

AOAC® Official MethodsSM

Zakres zatwierdzania: 2003.01 Liczenie bakterii *Enterobacteriaceae* w wybranych produktach żywnościowych.

Inkubacja:

Inkubować Płytki Neogen Petrifilm EB przez 24 ± 2 godziny przy 37°C ± 1°C.

Certyfikacja NF Validation instytutu AFNOR Certification

Walidacja NF Validation certyfikowanych metod zgodna z ISO 16140-2⁶ w porównaniu z ISO 21528-2⁷.

(3M – 01/6 –09/97)

Podczas wdrażania powyższych instrukcji stosowania należy skorzystać z poniższych informacji szczegółowych:

Zakres zatwierdzania: testowanie wszystkich produktów żywnościowych przeznaczonych dla ludzi, pasz oraz próbek ze środowiska przemysłowego.

Przygotowanie próbki: stosować wyłącznie rozcieńczalniki z listy ISO⁵.

Inkubacja:

Inkubować Płytki Neogen Petrifilm EB przez 24 ± 2 godziny przy 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 7218³. Podczas dokonywania obliczeń należy uwzględnić wyłącznie Płytki Neogen Petrifilm EB, które zawierają maksymalnie 100 kolonii. Oszacowania wykraczają poza zakres certyfikatu NF Validation (patrz ustęp 3 części Interpretacja wyników). Informacje dotyczące inokulacji, zliczania kolonii i obliczania oraz przedstawienia wyników można znaleźć w normie EN ISO 7218.



3M 01/06 – 09/97
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.

Bibliografia

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Należy odnieść się do aktualnych wersji wymienionych powyżej metod standardowych.

Objaśnienie symboli

info.neogen.com/symbols

AOAC jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy AOAC INTERNATIONAL
 Official Methods jest znakiem usługowym stowarzyszenia 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Инструкции к препарату

Тест-пластина для подсчета энтеробактерий

Описание и предназначение препарата

Пластина Neogen® Petrifilm® (EB) для подсчета *энтеробактерий* — это подготовленная питательная среда, содержащая модифицированные питательные глюкозо-желчные вещества с фиолетовым и красным, растворимый в холодной воде гелеобразующий агент и тетразолиевый индикатор, облегчающий подсчет колоний. Тест-пластины Neogen Petrifilm EB предназначены для подсчета *энтеробактерий* при производстве пищевых продуктов, напитков и бутилированной воды. *Энтеробактерии* представляют собой оксидазоотрицательные и грамотрицательные палочки, ферментирующие глюкозу для выработки кислоты и (или) газа. На тест-пластинах Neogen Petrifilm EB *энтеробактерии* имеют вид красных колоний с желтыми участками, красных колоний с пузырьками газа или красных колоний с желтыми участками и пузырьками газа. Компоненты тест-пластин Neogen Petrifilm EB дезинфицированы, однако не стерилизованы. Компания Neogen Food Safety имеет сертификат Международной организации по стандартизации (ISO) 9001 в сфере разработок и производства. Тест-пластины Neogen Petrifilm EB не были протестированы на всех возможных продуктах питания, процессах обработки продуктов, протоколах анализа или на всех штаммах *энтеробактерий* и других бактерий.

Техника безопасности

Пользователь должен прочесть, понять и соблюдать все указания по технике безопасности в инструкциях к тест-пластинам Neogen Petrifilm EB. Сохраните инструкции по технике безопасности для использования в дальнейшем.

▲ **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ.** Указывает на опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к смерти или тяжелой травме и (или) к 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 нормами.

Для снижения рисков, связанных с выпуском зараженного продукта, придерживайтесь приведенных далее рекомендаций.

- Соблюдайте все указания по хранению продукта, содержащиеся в этих инструкциях по применению.
- Не используйте продукт после окончания его срока годности.

Для снижения рисков, связанных с бактериальным инфицированием и загрязнением рабочего места, необходимо соблюдать следующие правила.

- Выполняйте тесты с использованием тест-пластин Neogen Petrifilm EB в надлежащем образом оборудованной лаборатории под контролем квалифицированного микробиолога.
- Пользователь обязан обучить персонал соответствующим методикам проведения исследований, например описанным в своде правил «Надлежащая лабораторная практика»¹, стандарте ISO/EIC 17025² или ISO 7218³.

Для снижения рисков, связанных с неправильной интерпретацией результатов, необходимо учитывать следующую информацию.

- Тест-пластины Neogen Petrifilm EB не зарегистрированы компанией Neogen для использования в каких-либо других отраслях, кроме производства пищевых продуктов и напитков, в том числе бутилированной воды. В частности, тест-пластины Neogen Petrifilm EB не зарегистрированы компанией Neogen для анализа фармакологических препаратов и косметики. Тест-пластины Neogen Petrifilm EB не зарегистрированы компанией Neogen для анализа водопроводной воды, воды из открытых водоемов, а также воды, используемой при производстве фармакологических препаратов и косметики.

- Применение тест-пластин Neogen Petrifilm EB для анализа образцов воды в соответствии с местными инструкциями производится по усмотрению и под исключительную ответственность конечного потребителя. Тест-пластины Neogen Petrifilm EB не проходили проверку со всеми возможными образцами бутилированной воды, протоколами исследований и штаммами микроорганизмов.
- Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB при диагностировании заболеваний людей или животных.
- Тест-пластины Neogen Petrifilm EB не позволяют дифференцировать различные штаммы *энтеробактерий*.

Дополнительную информацию см. в паспорте безопасности продукта.

Если у вас есть вопросы о конкретных способах применения или процедурах, посетите наш веб-сайт www.neogen.com либо обратитесь к местному представителю или официальному дилеру Neogen.

Ответственность пользователей

Пользователи несут ответственность за ознакомление с инструкциями и информацией о продукте. Для получения дополнительной информации посетите наш веб-сайт www.neogen.com либо обратитесь к местному представителю или официальному дилеру 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. Пользователь должен на основании исследования достаточного количества образцов с помощью надлежащих матриц и микробных провокационных проб определить, отвечает ли выбранный метод исследования необходимым ему критериям.

Кроме того, пользователь обязан установить, отвечают ли методы и результаты проводимых им анализов требованиям его клиентов и 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, НЕОGEN НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если качество продукта отдела безопасности пищевой продукции компании Neogen не является надлежащим, компания Neogen или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить этот продукт или возместить стоимость покупки этого продукта. Это единственный способ разрешения спора. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию Neogen в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения, после чего вернуть продукт в компанию Neogen. По любым дополнительным вопросам обращайтесь к представителю или официальному дилеру Neogen.

Ограничение ответственности компании Neogen

КОМПАНИЯ НЕОGEN НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА УЩЕРБ И УБЫТКИ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, ФАКТИЧЕСКИМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, К КОТОРЫМ, В ЧАСТНОСТИ, ОТНОСИТСЯ УПУЩЕННАЯ ВЫГОДА. Ответственность компании Neogen ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость продукта.

Хранение

Храните нераспечатанные пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB в холодильной или морозильной камере при температуре не выше 8 °C (46 °F). Прежде чем открыть пакет с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB, дайте ему нагреться до комнатной температуры. Неиспользованные тест-пластины Neogen Petrifilm EB складывайте обратно в пакет. Заверните открытый край пакета и заклейте клейкой лентой. **Во избежание воздействия влаги не охлаждайте открытые пакеты.** Повторно запечатанные пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB храните 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 более 50 % (за исключением кондиционируемых помещений), повторно запечатанные пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB рекомендуется хранить в морозильной камере (см. ниже).

Хранить распечатанные пакеты с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB в морозильной камере следует в плотно закрытом контейнере. Чтобы извлечь замороженные планшеты Neogen Petrifilm EB для использования, откройте контейнер, извлеките нужное количество планшетов, а оставшиеся планшеты в герметизированном контейнере немедленно поместите обратно в морозильную камеру, где они должны находиться в течение всего периода хранения. Морозильная камера, в которой хранятся распечатанные пакеты, должна работать без автоматического цикла размораживания, иначе многократное воздействие влаги на тест-пластины может повредить их.

Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB, цвет которых изменился. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на каждом пакете тест-пластин Neogen Petrifilm EB. Номер партии также указан на каждой тест-пластине Neogen Petrifilm EB. Не используйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB по истечении срока годности.

△ Утилизация

После использования тест-пластины Neogen Petrifilm EB могут содержать микроорганизмы, которые могут представлять потенциальную биологическую опасность. Утилизируйте продукт в соответствии с действующими отраслевыми стандартами.

Инструкции по применению

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

Подготовка и инкубация образцов пищевых продуктов и напитков (за исключением бутилированной воды), включая образцы из окружающей среды

Подготовка образца

1. Используйте подходящие стерильные растворители:

Фосфатный буферный водной раствор Butterfield's⁴, пептонный солевой растворитель⁵, пептонная вода (0,1 %)⁴, буферная пептонная вода⁵, раствор гидрофосфата дикалия⁵, соляной раствор (0,85–0,90 %), нейтрализатор широкого спектра Neogen[®], безбисульфитный летиновый бульон или дистиллированная вода. См. раздел «Отдельные инструкции по утвержденным методам», чтобы узнать о конкретных требованиях.

Не используйте с тест-пластинами Neogen Petrifilm EB растворители, содержащие цитраты, бисульфиты или тиосульфаты, поскольку они могут замедлить рост бактерий. Если стандартная процедура предполагает использование цитратного буфера, его необходимо заменить одним из перечисленных выше буферов, нагретым до температуры 40–45 °C (104–113 °F).

2. Перемешайте образец в мешалке или гомогенизаторе.

3. Для оптимального размножения и выявления микроорганизмов показатель pH образца должен составлять 6,5–7,5. Для продуктов кислой среды показатель pH корректируется 1 N-раствором NaOH. Для продуктов щелочной среды показатель pH корректируется 1 N-раствором HCl.

Посев

1. Поместите тест-пластину Neogen Petrifilm EB на плоскую ровную поверхность.
2. Поднимите покрывающую пленку и пипеткой, расположенной перпендикулярно области посева, нанесите на центральную часть подложной пленки 1 мл суспензии образца.
3. Плавнo опустите покрывающую пленку на образец таким образом, чтобы под нее не попал воздух.
4. Поместите Neogen[®] Petrifilm[®] Распределитель плоской стороной вниз в центр тест-пластины Neogen Petrifilm EB. Слегка надавите на центральную часть Neogen Petrifilm Распределителя, чтобы равномерно распределить образец. Распределите посевную культуру по всей области посева тест-пластины Neogen Petrifilm EB. Это необходимо сделать до образования геля. Не разглаживайте пленку Neogen Petrifilm Распределителем.
5. Уберите распределитель Neogen Petrifilm и не трогайте тест-пластину Neogen Petrifilm EB в течение по меньшей мере одной минуты, чтобы образовался гель.

Инкубация

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх в стопках не более чем по 20 тест-пластин Neogen Petrifilm EB. Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB 24 ± 2 часа. Продолжительность и температура инкубации выбираются в зависимости от используемых местных стандартных методов; некоторые из этих методов указаны в разделе «Особые инструкции к утвержденным методам».

Подготовка и инкубация образцов бутилированной воды

Смачивание тест-пластины Neogen Petrifilm EB

1. Поместите тест-пластину Neogen Petrifilm EB на плоскую, ровную поверхность.
2. Приподнимите покрывающую пленку и нанесите 1 мл соответствующего стерильного растворителя для смачивания на центральную часть подложной пленки. Таким растворителем может быть дистиллированная вода, деионизированная вода или вода, подготовленная методом обратного осмоса.
3. Плавное опустите покрывающую пленку на образец таким образом, чтобы под нее не попал воздух.
4. Поместите Neogen Petrifilm Распределитель гладкой стороной вниз в центр пластины. Осторожно надавите на центральную часть Распределителя, чтобы равномерно распределить растворитель. Распределите растворитель по всей области посева пластины Neogen Petrifilm. Это нужно сделать до формирования геля. Не разглаживайте пленку Распределителем.
5. Удалите Neogen Petrifilm Распределитель и оставьте тест-пластины закрытыми по меньшей мере на 1 час перед использованием.
6. Храните смоченные тест-пластины Neogen Petrifilm EB в закрытом пакете или пластиковом мешке. Обеспечьте защиту тест-пластин от света и поместите их в холодильную камеру с температурой 2–8 °C (36–46 °F) на срок не более 7 дней.

Фильтрация воды и инкубация тест-пластин

1. Согласно стандартным процедурам химического анализа состава воды проведите фильтрацию образца воды с помощью комбинированного фильтра для целлюлозы и сложных эфиров (МСЕ) размером 47 мм и диаметром пор 0,45 микрон.
2. Осторожно приподнимите покрывающую пленку на тест-пластине Neogen Petrifilm EB. Не касайтесь круглой области посева. Поместите фильтр на центральную часть смоченной области.
3. Медленно опустите покрывающую пленку на мембранный фильтр. Минимизируйте образование пузырьков воздуха и пустот между фильтром и тест-пластиной Neogen Petrifilm EB.
4. С легким нажимом проведите по всей площади диска (в том числе и по краям) Neogen Petrifilm Распределителем или пальцем, чтобы обеспечить равномерный контакт фильтра с гелем и удалить пузырьки воздуха.

Инкубация

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB при температуре от 34 °C до 37 °C в течение 24 ч ± 2 ч в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх в стопках не более чем по 20 тест-пластин.

Интерпретация результатов

1. Колонии на тест-пластинах Neogen Petrifilm EB можно подсчитать с помощью стандартного счетчика колоний или другого подсвечиваемого увеличителя. Не подсчитывайте колонии, попавшие на края из пеноматериала, поскольку они не подверглись селективному воздействию питательной среды. Не учитывайте возможные артефактные пузырьки воздуха.
2. *Энтеробактерии* имеют вид красных колоний с желтыми зонами и (или) красных колоний с пузырьками газа с желтыми зонами или без них. Колонии без сопутствующих пузырьков газа (если пузырек и колонию разделяет расстояние, превышающее диаметр колонии) и без желтой зоны не считаются *энтеробактериями*.
3. Площадь круглой области посева составляет приблизительно 20 см². Проводить оценку можно на тест-пластинах Neogen Petrifilm EB, содержащих более 100 колоний, путем подсчета количества колоний на двух или более характерных квадратных участках и определения среднего арифметического для каждого участка. Умножьте среднее количество на 20, чтобы определить приблизительное количество на каждой пластине.
4. При очень большом содержании колоний гель на тест-пластинах Neogen Petrifilm EB темнеет или вся пластина может пожелтеть. Также в этом случае могут наблюдаться такие эффекты (один или оба): большое количество мелких нечетких колоний и (или) большое количество пузырьков газа. В таком случае количество колоний можно отметить как не поддающееся исчислению (TNTC). Если же необходимо определить фактическое количество, произведите посев с более сильным разбавлением.
5. При необходимости колонии можно отделить для дальнейшего исследования. Приподнимите покрывающую пленку в соответствии с надлежащими методиками проведения тестирования и извлеките колонию из геля. Выполните анализ в соответствии со стандартными процедурами.

6. Если подсчет колоний не может быть произведен в течение 1 часа после извлечения из инкубатора, тест-пластины Neogen Petrifilm EB можно поместить на хранение. Для этого их необходимо заморозить в плотно закрытом контейнере при температуре не выше $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($5\text{ }^{\circ}\text{F}$). Хранить не дольше одной недели.

Примечание. Откладывать подсчет колоний на тест-пластинах Neogen Petrifilm EB с мембранными фильтрами не рекомендуется.

Дополнительную информацию см. в документе «Руководство по интерпретации результатов тест-пластины Neogen® Petrifilm® для подсчета *энтеробактерий*». Если у вас возникли вопросы о конкретных способах применения или процедурах, посетите наш веб-сайт по адресу www.neogen.com или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании Neogen.

Особые инструкции к утвержденным методам

Официальные методы AOAC® Official MethodsSM

Объект проверки: 2003.01 — количественный анализ *энтеробактерий* в выбранных пищевых продуктах.

Инкубация

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB в течение $24\text{ ч} \pm 2\text{ ч}$ при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

NF Validation от AFNOR Certification

Метод с сертификатом NF Validation, соответствующий стандарту ISO 16140-2⁶, по сравнению со стандартом ISO 21528-2⁷

(Neogen — 01/6 — 09/97)

При выполнении вышеизложенных инструкций придерживайтесь указанных ниже рекомендаций.

Объект проверки: все пищевые продукты для людей, корма для животных и среды производства пищевых продуктов.

Подготовка образца: пользуйтесь только рекомендуемыми ISO растворителями⁵.

Инкубация

Инкубируйте тест-пластины Neogen Petrifilm EB в течение $24\text{ ч} \pm 2\text{ ч}$ 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 анализируемом образце по методу ISO 7218³ для одной тест-пластины каждого раствора. В вычислениях учитывайте только те тест-пластины Neogen Petrifilm EB, которые содержат до 100 колоний. Приблизительные подсчеты не являются объектом сертификации NF Validation (см. пункт 3 раздела «Интерпретация результатов»). Информацию о посеве, определении количества колоний, вычислениях и интерпретации результатов см. в стандарте EN ISO 7218.



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Более подробную информацию о сроке действия см. в сертификате NF VALIDATION, который доступен на указанном выше веб-сайте.

Справочная литература

1. Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США. Свод федеральных постановлений, статья 21, часть 58. Надлежащая лабораторная практика для доклинических лабораторных исследований.
2. ISO/IEC 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
3. ISO 7218. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологического анализа.

4. Управление FDA. Руководство по бактериологическому анализу (BAM), каталог реагентов для BAM доступен по адресу: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходная суспензия и десятичное разведение для микробиологического анализа.
6. ISO 16140-2. Микробиология пищевой цепи. Проверка метода. Протокол проверки альтернативных (запатентованных) методов в сравнении со стандартными методами.
7. ISO 21528-2. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальные методы определения и подсчета *энтеробактерий*. Часть 2. «Метод подсчета колоний».

См. текущие версии приведенных выше стандартных методов.

Пояснение символов

info.neogen.com/symbols

AOAC является зарегистрированным товарным знаком ассоциации AOAC INTERNATIONAL.

Official Methods является знаком обслуживания ассоциации 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

Ürün Talimatları

Enterobacteriaceae Sayım Plakası

Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı

Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Sayım (EB) Plakası, değiştirilmiş Kırmızı Mor Safra Glukoz (VRBG = Violet Red Bile Glucose) besinleri, soğuk suda eriyebilen bir jelleştirici ve koloni sayımını hızlandıran bir tetrazolium indikatörü içeren, numune almaya hazır bir kültür ortamı sistemidir. Neogen Petrifilm EB Plakaları, yiyecek, içecek ve şişelenmiş su endüstrilerinde *Enterobacteriaceae* sayımı için kullanılır. *Enterobacteriaceae*, glukoz mayalayarak asit ve/veya gaz üreten oksidaz negatif, gram negatif çubuk bakterilerdir. Neogen Petrifilm EB Plakalarında *Enterobacteriaceae* sarı zonları olan kırmızı koloniler, gaz kabarcıkları olan kırmızı koloniler veya sarı zonları ve gaz kabarcıkları olan kırmızı koloniler olarak belirir. Neogen Petrifilm EB Plakası bileşenleri dekontamine edilmiştir ama sterilize değildir. Neogen Food Safety, tasarım ve üretim yönünden Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) 9001 sertifikasına sahiptir. Neogen Petrifilm EB Plakaları, olası tüm gıda ürünleri, gıda prosesleri, test protokolleri veya muhtemel tüm *Enterobacteriaceae* veya diğer bakteri suşları ile test edilmemiştir.

Güvenlik

Kullanıcı, Neogen Petrifilm EB 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 maddi zarar 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 EB Plakası testini, uzman bir mikrobiyoloğun kontrolü altında uygun şekilde donatılmış bir laboratuvarında gerçekleştirin.
- Kullanıcının güncel ve doğru test teknikleri konusunda personeline eğitim vermesi gerekir: örneğin, İyi Laboratuvar Uygulamaları¹, ISO/EIC 17025² veya ISO 7218³.

Sonuçların yanlış yorumlanmasına ilişkin riskleri azaltmak için:

- Neogen, Neogen Petrifilm EB Plakalarının yiyecek ve şişelenmiş su dahil içecek dışındaki sektörlerde kullanımını belgelendirmemiştir. Örneğin Neogen, Neogen Petrifilm EB Plakalarını, farmasötik ve kozmetik ürünlerinde kullanılmak üzere belgelendirmemiştir. Neogen, Neogen Petrifilm EB Plakalarını yüzey ve şehir sularını veya ilaç ve kozmetik sanayilerinde kullanılan suları test etmek üzere belgelendirmemiştir.
- Yerel su test yönetmeliklerine uygun su numunelerini test etmek için Neogen Petrifilm EB Plakalarının kullanılması ile ilgili takdir ve sorumluluk yalnızca son kullanıcıya aittir. Neogen Petrifilm EB Plakaları mümkün olan tüm şişelenmiş su numuneleri, test protokolleri veya tüm olası mikroorganizma türleri ile test edilmemiştir.
- Neogen Petrifilm EB Plakalarını insan ve hayvan sağlık sorunlarının tanısında kullanmayın
- Neogen Petrifilm EB Plakaları *Enterobacteriaceae* türlerini birbirinden ayırmaz.

Detaylı bilgi için Güvenlik Veri Formuna başvurun.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorunuz varsa lütfen www.neogen.com adresindeki web sitemizi ziyaret edin ya da Neogen temsilciniz veya yetkili distribütörünüz ile iletişim kurun.

Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar, ürün talimatlarını ve bilgilerini öğrenmekten sorumludur. Daha fazla bilgi için 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 etkileyebileceğinin bilinmesi gerekir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek uygun matrisler ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin veya ürününün 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.

Garanti Sınırlaması/Yasal Yollara İlişkin Sınırlama

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 TÜM AÇIK VEYA ZİMNİ GARANTİLERİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir Neogen Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, Neogen veya yetkili dağıtıcısı, tercihine 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 bildiriniz veya ürünü Neogen'e iade ediniz. Diğer her türlü sorunuz için lütfen Neogen temsilciniz veya yetkili Neogen distribütörünüz ile iletişim kurun.

Neogen Sorumluluğunun Sınırlandırılması

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 EB Plakası poşetlerini, sıcaklığı en fazla 8°C (46°F) olan soğutucularda saklayın veya dondurun. Kullanımın hemen öncesinde, açılmamış Neogen Petrifilm EB Plakası poşetlerini açmadan oda sıcaklığına gelmesini bekleyin. Kullanılmayan Neogen Petrifilm EB Plakalarını tekrar poşete koyun. Poşetin ucunu katlayıp yapıştırıcı bant uygulayarak mühürleyin. **Ürünün neme maruz kalmasını önlemek için açılmış poşetleri soğutucuya koymayın.** Ağız yeniden kapatılmış Neogen Petrifilm EB Plakası poşetlerini, dört haftadan daha uzun olmamak üzere serin, kuru bir yerde saklayın. Laboratuvar sıcaklığı 25°C'yi (77°F) aşıyorsa ve/veya laboratuvar, bağıl nemin %50'yi aştığı bir bölgedeyseniz (klimalı tesisler hariç), ağız yeniden kapatılmış Neogen Petrifilm EB Plakaları poşetlerinin bir dondurucuda (aşağıya bakın) saklanması önerilir.

Ağız açılmış poşetleri bir dondurucuda saklamak için Neogen Petrifilm EB Plakalarını hava sızdırmayan bir kutuya koyun. Kullanmak üzere dondurulmuş Neogen Petrifilm EB Plakalarını çıkarmak için kabı açın, gerekli olan plakaları çıkarın ve kalan raf ömrü için kalan plakaları derhal yalıtımlı kap içinde dondurucuya geri koyun. Plakaların zarar görmesine yol açabilecek şekilde tekrar tekrar neme maruz kalmasına neden olacağından, açılmış poşetin saklanması için kullanılan dondurucuda otomatik buz çözme (defrost) çevrimi olmamalıdır.

Rengi değişmiş olan Neogen Petrifilm EB Plakalarını kullanmayın. Son kullanma tarihi ve parti numarası, her Neogen Petrifilm EB Plakaları ambalajında gösterilmiştir. Ayrıca Neogen Petrifilm EB Plakalarının her birinde lot numarası da bulunur. Neogen Petrifilm EB Plakaları, son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanılmamalıdır.

⚠Atma

Neogen Petrifilm EB Plakalarında kullanım sonrası, potansiyel biyolojik tehlike yaratan mikroorganizmalar kalabilir. İmha için geçerli endüstri standartlarını izleyin.

Kullanım Talimatları

Tüm talimatları dikkatle izleyin. Bu uyarının dikkate alınmaması hatalı sonuçlara neden olabilir.

Ortam Numuneleri Dahil Olmak Üzere Yiyecek ve İçecek Endüstrilerinden Numunelerin (Şişelenmiş Su Hariç) Hazırlanması ve İnkübasyonu

Numune Hazırlama

1. Uygun steril seyrelticiler kullanın:

Butterfield fosfat tamponlanmış seyreltme suyu⁴, peptonlu tuz seyreltici⁵, %0,1 peptonlu su⁴, tamponlu peptonlu su⁵, dipotasyum hidrojen fosfat çözeltisi⁵, salin çözeltisi (%0,85-%0,90), Neogen® Geniş Spektrumlu Nötrleştirici, bisülfid içermeyen letheen suyu veya damıtılmış su. Belirli gereksinimler için "Onaylanmış Yöntemler İçin Özel Talimatlar" bölümüne bakın.

Üremeyi inhibe edebileceği için, Neogen Petrifilm EB Plakaları ile sitrat, bisülfid veya tiyosülfat içeren seyrelticiler kullanmayın. Standart prosedürde sitratlı tampon belirtilmişse bunun yerine, 40-45°C'ye (104-113°F) kadar ısıtılmış olarak yukarıda sıralanan tamponlardan birini kullanın.

2. Numuneyi karıştırın veya homojenize edin.
3. Mikroorganizmaların uygun şekilde üremesi ve geri kazanımı için, numune süspansiyonunun pH'ını 6,5-7,5'e ayarlayın. Asidik ürünler için, pH'ı 1 N NaOH ile ayarlayın. Alkali ürünler için pH'ı 1 N HCl ile ayarlayın.

Kaplama

1. Neogen Petrifilm EB Plakasını düz bir yüzeye yerleştirin.
2. Üst filmi kaldırın ve inokülasyon alanına dik konumda tutulan bir pipet kullanarak, alt filmin ortasına 1 mL numune süspansiyonu uygulayın.
3. Hava kabarcığı oluşmasını önlemek için üst film tabakasını numunenin üstüne yuvarlayarak yerleştirin.
4. Neogen® Petrifilm® Dağıtıcıyı düz kısmı aşağıda olacak şekilde Neogen Petrifilm EB Plakasının ortasına yerleştirin. Numuneyi eşit şekilde dağıtmak için Neogen Petrifilm Dağıtıcısının ortasına hafifçe bastırın. Jel oluşmadan önce inokülümü Neogen Petrifilm EB Plakasının tüm üreme alanına yayın. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı film üzerinde kaydırmayın.
5. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı kaldırın ve Neogen Petrifilm EB Plakasını hiç kıpırdatmadan en az bir dakika kadar jelin oluşmasını bekleyin.

İnkübasyon

En fazla 20 adet Neogen Petrifilm EB Plakası olacak şekilde oluşturulan yığında, Neogen Petrifilm EB Plakalarını, şeffaf tarafları yukarıda olacak şekilde yatay konumda inkübe edin. Neogen Petrifilm EB Plakalarını 24 ±2 saat inkübe edin. Bir kısmı aşağıdaki "**Valide Edilmiş Yöntemler İçin Özel Talimatlar**" bölümünde sıralanmış olan, geçerli yerel referans yöntemlere bağlı olarak, farklı inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları kullanılabilir.

Şişelenmiş Su Numunelerinin Hazırlanması ve İnkübasyonu

Neogen Petrifilm EB Plakası Hidrasyonu

1. Neogen Petrifilm EB Plakasını düz bir yüzeye yerleştirin.
2. Üstteki ince tabakayı çıkarın ve alttaki tabakanın ortasına uygun şekilde sterilize edilmiş sulandırma seyrelticisinden 1 mL damlatın. Uygun steril sulandırma seyrelticileri arasında damıtılmış su, yükünlü (DI = deionized) su ve ters ozmozlu (RO) su bulunur.
3. Hava kabarcığı oluşmasını önlemek için üst film tabakasını numunenin üstüne yuvarlayarak yerleştirin.
4. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı, düz tarafı aşağıda olacak şekilde plakanın ortasına koyun. Seyrelticiyi yaymak için dağıtıcının ortasına hafifçe bastırın. Jel oluşmadan önce seyrelticiyi tüm Neogen Petrifilm Plakası büyüme alanına yayın. Dağıtıcı tabakanın üzerinde kaydırmayın.
5. Neogen Petrifilm Dağıtıcıyı çıkarın ve kullanmadan önce plakaları en az 1 saat kapalı bırakın.
6. Sulandırılmış Neogen Petrifilm EB Plakalarını ağız kapalı bir poşette veya plastik torbada saklayın. Plakaları ışıktan koruyun ve 2-8°C (36-46°F) sıcaklıkta en çok 7 gün soğutucuda tutun.

Su Filtrasyonu ve Plaka İnkübasyonu

1. Standart su tahlili prosedürlerini izleyerek su numunesini, 47 mm, 0,45 mikronluk delikli Karışık Selüloz Esteri (MCE) filtresi kullanarak membranlı filtreden geçirin.
2. Neogen Petrifilm EB Plakasının üstündeki tabakayı dikkatle kaldırın. Büyüme alanı dairesine dokunmaktan kaçının. Filtreyi sulandırılmış alanın ortasına yerleştirin.
3. Üstteki tabakayı yavaşça membran filtreyle değiştirin. Filtreyle Neogen Petrifilm EB Plakası arasında hava kabarcığı ve boşluk oluşmamasına gayret edin.
4. Neogen Petrifilm Dağıtıcının üzerine hafifçe bastırarak veya tüm disk alanın üzerinde (kenarlar dahil) parmağınızı hafifçe gezdirerek filtrenin jel ile homojen bir şekilde temas etmesini ve hava kabarcığı oluşmamasını sağlayın.

İnkübasyon

Neogen Petrifilm EB Plakalarının inkübasyonu 24 ± 2 saat boyunca 34°C - 37°C sıcaklıkta yatay bir konumda, temiz kısmı yukarı bakacak şekilde ve üst üste 20 taneden fazlası yığılmadan yapılmalıdır.

Yorumlama

1. Neogen Petrifilm EB Plakaları, standart bir koloni sayacı veya başka bir aydınlatmalı büyüteç kullanarak sayılabilir. Köpük seti üzerindeki koloniler ortamın seçici etkisinden çıktığı için bunları saymayın. Yapay oluşmuş kabarcık varsa, bunları saymayın.

2. *Enterobacteriaceae* sarı zonları olan kırmızı koloniler ve/veya gaz kabarcıkları olan ve sarı zonları olan veya olmayan kırmızı kolonilerdir. Gazla ilişkili olmayan (koloni ile gaz kabarcığı arasında bir koloni çapından daha fazla mesafe) ve sarı zonla ilişkili olmayan koloniler *Enterobacteriaceae* olarak sayılmaz.
3. Dairesel üreme alanı yaklaşık 20cm²'dir. Hesaplamalar, iki veya daha fazla temsili karedeki koloni sayısı sayılarak ve her kare için ortalama sayı belirlenerek, 100 koloniden fazla koloni içeren Neogen Petrifilm EB Plakalarında yapılabilir. Her plaka için hesaplanan sayıyı belirlemek üzere ortalama sayıyı 20 ile çarpın.
4. Fazla sayıda koloni mevcut olduğunda, Neogen Petrifilm EB Plakalarında jel renginde bir koyulaşma olur ya da şu özelliklerden biri ya da her ikisi olacak şekilde plaka tamamen sarı renge dönebilir: çok sayıda küçük, belirsiz koloni ve/veya çok sayıda gaz kabarcığı. Bu durum oluştuğunda, sonucu sayılamayacak kadar çok (TNTC = Too Numerous To Count) olarak kaydedin. Gerçek bir sayım gerektiğinde, daha seyreltik bir plaka hazırlayın.
5. Gerekliğinde daha net tanımlama için koloniler izole edilebilir. Uygun test tekniği kullanarak üst filmi kaldırın ve koloniyi jelden alın. Standart prosedürleri kullanarak test edin.
6. Neogen Petrifilm EB Plakaları inkübatörden çıkarılmalarını takiben 1 saat içinde sayılamazsa, daha sonraki sayım için, bir haftadan daha uzun bir süre olmamak üzere -15°C (5°F)'den düşük veya buna eşit sıcaklıklarda ağız hava sızdırmaz bir kutuda dondurularak saklanabilir.

Not: Membran filtreli Neogen Petrifilm EB Plakalarının sayımının geciktirilmesi önerilmez.

Daha fazla bilgi için bkz. "Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Sayım Plakası Yorumlama Kılavuzu." Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa www.neogen.com adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel Neogen temsilcisi ya da distribütörü ile iletişim kurun.

Valide Edilmiş Yöntemler İçin Özel Talimatlar

AOAC® Official MethodsSM

Validasyonun kapsamı: 2003.01 Seçilen Gıdalarda *Enterobacteriaceae* Sayımı

İnkübasyon:

Neogen Petrifilm EB Plakalarını 37°C ± 1°C 24 ± 2 saat inkübe edin.

AFNOR Certification ile NF Validation

ISO 21528-2⁷ ile kıyaslandığında ISO 16140-2⁶'ya uygun, NF Validation onaylı yöntem

(3M – 01/6 – 09/97)

Yukarıdaki Kullanım Talimatlarını yerine getirirken aşağıdaki ayrıntılardan faydalanın:

Validasyonun kapsamı: Her türlü insan gıda ürününü, hayvan yemini ve endüstriyel ortam numunesini test etmek içindir.

Numune hazırlama: Sadece ISO listesinde bulunan seyrelticileri⁵ kullanın.

İnkübasyon:

Neogen Petrifilm EB Plakalarını 30°C ± 1°C veya 37°C ± 1°C 24 saat ± 2 saat inkübe edin.

Yorumlama:

ISO 7218³ uyarınca seyrelti başına bir plaka için test numunesinde bulunan mikroorganizma sayısını hesaplayın. Hesaplama için, sadece en fazla 100 koloni içeren Neogen Petrifilm EB Plakalarını dikkate alın. Hesaplamalar, NF Validation Sertifikasının kapsamı dışındadır (yorumlama bölümü paragraf 3 ile kıyaslayın). Okülasyon, koloni sayımı ve sonuçların hesaplanması ve sunumu hakkında bilgi için EN ISO 7218 standardına başvurun.



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

Validasyonun bitiş tarihi ile ilgili daha fazla bilgi için lütfen yukarıda bahsedilen web sitesindeki NF VALIDATION sertifikasına bakın.

Referanslar

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

Yukarıda açıklanan standart yöntemlerin mevcut sürümlerine başvurun.

Sembollerin Açıklaması

info.neogen.com/symbols

AOAC, AOAC INTERNATIONAL'ın tescilli ticari markasıdır
Official Methods, AOAC INTERNATIONAL'ın 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

製品情報

腸内細菌科菌群数測定用プレート

製品の概要および用途

Neogen® ペトリフィルム® 腸内細菌科菌群数測定用プレート (EBプレート) は、改良型バイオレットレッド胆汁ブドウ糖 (VRBG) 培地の栄養成分と冷水可溶性ゲル、コロニーを数えやすくするテトラゾリウム指示薬が含まれている、できあがり培地です。Neogen ペトリフィルム EBプレートは、食品や飲料、ボトル入り飲料水中の腸内細菌科菌群の測定用です。腸内細菌科菌群はオキシダーゼ陰性のグラム陰性桿菌であり、ブドウ糖を発酵し、酸とガスの片方もしくは両方を産生します。腸内細菌科菌群は、Neogen ペトリフィルム EBプレート上では、黄色の帯域を伴う赤色のコロニー、気泡を伴う赤色のコロニー、あるいは黄色の帯域と気泡の両方を伴う赤色のコロニーとして確認されます。Neogen ペトリフィルム EBプレートは滅菌されていませんが、汚染除去処理済みです。Neogen食品衛生管理製品は、設計と製造におけるISO (国際標準化機構) 9001の認証を取得しています。Neogen ペトリフィルム EBプレートは、あらゆる食材、食品製造工程、検査プロトコルや、腸内細菌科菌群その他の細菌のあらゆる菌株について評価されたわけではありません。

安全性

Neogen ペトリフィルム EBプレートをご使用になる前に、本書に記載のすべての安全情報をお読みになり、よく理解し遵守してください。また、これらの情報は大切に保管してください。

▲ 警告: 適切な危険予防措置が行われていない場合、死亡または重篤な傷害や、物的損害が発生する可能性があります。

▲ 警告

バイオハザードや環境汚染への曝露に伴う危険を回避するために:

- 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ために:

- 本書に記載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ために:

- Neogen ペトリフィルム EBプレートによる検査は、熟練した微生物管理者の管理の下で適切な設備のある検査室にて実施してください。
- 検査実施担当者に現行の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: GLP¹、ISO/EIC 17025²、ISO 7218³)。

結果の誤解釈に伴う危険を回避するために:

- Neogenは、食品およびボトル入り飲料水を含む飲料以外の分野におけるNeogen ペトリフィルム EB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 EBプレートの医薬品や化粧品の分野における使用について検証しておりません。Neogenは、地表水や水道水、または医薬品や化粧品の分野に使用される水へのNeogen ペトリフィルム EBプレートの使用について検証しておりません。
- 水検体が現地の水質検査規則に従っていることを調べるためにNeogen ペトリフィルム EBプレートを使用する場合には、お客様独自の判断と責任の下で行ってください。Neogen ペトリフィルム EBプレートは、あらゆるボトル入り飲料水の検体、検査プロトコル、あらゆる微生物の菌株について評価されたわけではありません。
- Neogen ペトリフィルム EBプレートをヒトや動物の病態診断に使用しないでください。
- Neogen ペトリフィルム EBプレートは、腸内細菌科菌群の菌株を特定することはできません。

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。

特定の用途や手順についてご不明な点がございましたら、当社ウェブサイト (www.neogen.com) をご覧いただくか、Neogenの販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、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) をご覧いただくか、Neogenの販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、サンプルの準備、取り扱い、および検査手技などの外的要因が結果に影響することを認識することが重要です。

お客様の基準を満たすように、適切な食材および菌株を用いた十分な数のサンプルを評価するための検査方法または製品を選択することは、お客様の責任となります。

また、その検査方法および結果が顧客あるいは供給業者の要求を満たしているかについても、お客様の判断となります。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生管理製品を使用して得られた結果により、検査で使用した食材または工程中の品質を保証するものではありません。

保証の制限／限定的救済策：

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、あらゆる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたは取扱販売店で交換あるいは返品処理をいたします。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に返送する必要があります。ご不明な点がございましたら、Neogenの販売担当者またはNeogenの取り扱い販売店まで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、偶発的または必然的を問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失に対しての責任を放棄します。いかなる場合においても、あらゆる法的理論に対しても、Neogenの保証責任範囲は、欠陥と認められた製品の購入金額を超えることはありません。

保管

未開封のNeogen ペトリフィルム EBプレート包装パウチは、8°C以下の温度で冷蔵または冷凍して保管してください。ご使用の際には、開封前にNeogen ペトリフィルム EB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 EBプレートは包装パウチに戻してください。包装パウチの開口部を折り、粘着テープ等で封をしてください。**湿気を避けるために、開封した包装パウチは再冷蔵しないでください。**封をしたNeogen ペトリフィルム EBプレートの包装パウチは、乾燥した冷所で、4週間保存できます。封をしたNeogen ペトリフィルム EBプレートの包装パウチは、検査室が25°Cを超えるか、相対湿度50%を超える場合には、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凍保存する場合には、密封可能な容器にNeogen ペトリフィルム EBプレートを入れてください。凍結したNeogen ペトリフィルム EB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。一度開封したパウチを冷凍保存する場合には、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、プレートが損傷する可能性があります。

Neogen ペトリフィルム EB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 EBプレートの包装に記載されています。なお、ロット番号は、Neogen ペトリフィルム EBプレートにも記載されています。使用期限が過ぎたNeogen ペトリフィルム EBプレートは使用しないでください。

△ 廃棄

使用済みのNeogen ペトリフィルム EBプレートには、バイオハザードをもたらすおそれのある微生物が存在している場合があります。現行の廃棄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。

環境検体を含む、食品・飲料(ボトル入り飲料水を除く)検体の調製と培養

検体の準備

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⁴、ペプトン塩希釈液⁵、0.1%ペプトン水⁴、緩衝ペプトン水⁵、リン酸水素二カリウム溶液⁵、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 brothまたは蒸留水。具体的な要件については、「**検証された方法に関する具体的な指示**」の項をご参照ください。

クエン酸塩、重亜硫酸塩またはチオ硫酸塩が入っている緩衝液は、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 EB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には、上記いずれかの緩衝液に変更し、40~45°Cに加温して使用してください。

2. 検体を攪拌またはホモジナイズしてください。

3. 菌の成育を確実にするために、検体懸濁液のpHを6.5~7.5に調整してください。酸性の検体は、1N NaOHを用いてpHを調整します。アルカリ性の検体は、1N HClを用いてpHを調整します。

プレートへの接種

1. Neogen ペトリフィルム EBプレートを平らなところに置きます。

2. 上部フィルムを持ち上げ、ピペットを接種領域に対して垂直にし、検体懸濁液1 mLを下部フィルムの中央部に接種します。

3. 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。
4. Neogen® ペトリフィルム® スプレッターの平らな面を下にして、Neogen ペトリフィルム EBプレートの中央に置きます。Neogen ペトリフィルム スプレッターの中央を軽く押し、検体を均等に広げます。ゲル化されるまでに、Neogen ペトリフィルム EBプレートの成育域内に広げます。フィルム上でNeogen ペトリフィルム スプレッターをすべらせないでください。
5. Neogen ペトリフィルム スプレッターを取り外し、Neogen ペトリフィルム EBプレートをそのまま1分以上置いて、ゲル化させます。

培養
Neogen ペトリフィルム EBプレートの上部フィルム (透明フィルム側) を上にして、水平な場所で培養します。Neogen ペトリフィルム EBプレートは20枚まで重ねて培養できます。Neogen ペトリフィルム EBプレートを24±2時間培養します。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。例については、後述の「**妥当性が確認された方法**」の項を参照してください。

ボトル入り飲料水検体の調製および培養

Neogen ペトリフィルムEBプレートの水和

1. Neogen ペトリフィルム EBプレートを平らなところに置きます。
2. 上部フィルムを持ち上げ、適切な滅菌希釈水1 mLを下部フィルムの中央に滴下します。適切な滅菌希釈水には、蒸留水、脱イオン (DI) 水、逆浸透 (RO) 水が挙げられます。
3. 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。
4. Neogen ペトリフィルム スプレッターの平らな面を下にして、プレートの中央に置きます。スプレッターの中央を軽く押し、希釈水を均等に広げます。ゲル化されるまでに、希釈水をNeogen ペトリフィルムプレートの成育域内に広げます。フィルム上でスプレッターをすべらせないでください。
5. Neogen ペトリフィルム スプレッターを取り外し、プレートは使用するまで1時間以上閉じたままにしておきます。
6. 水和したNeogen ペトリフィルム EBプレートは密封したパウチまたはプラスチック袋に入れて保存します。遮光し、冷蔵して (2~8°C)、7日間保存できます。

水の濾過とプレートの培養

1. 以下は、47 mm、孔径0.45 μmのMCE (セルロース混合エステル) フィルターを使用したメンブレンフィルター法による水質分析の標準的な手順です。
2. Neogen ペトリフィルム EBプレートの上部フィルムを静かに持ち上げます。円形の成育域内に触れないように注意します。フィルターを水和した部位の中央に置きます。
3. 上部フィルムをメンブレンフィルターの上にゆっくりかぶせます。フィルターとNeogen ペトリフィルム EBプレートとの間に気泡が入ったり、隙間ができたりしないように気をつけます。
4. Neogen ペトリフィルム スプレッターか指で、円形の領域全体を端の部分も含めて軽く押します。フィルターとゲルが均等に密着し、気泡が入らないようにします。

培養

Neogen ペトリフィルム EBプレートの上部フィルム (透明フィルム側) を上にして、水平な場所で34°C~37°C、24±2時間培養します。20枚まで重ねて培養できます。

判定

1. Neogen ペトリフィルム EBプレートは、標準的なコロニーカウンターか照明付きの拡大鏡を用いて測定できます。周りの白いフォームダム上のコロニーは数えないでください。作業中に混入した気泡は数えないでください。
2. 黄色の帯域を伴う赤色のコロニーや、黄色の帯域の有無にかかわらず気泡を伴う赤色のコロニーを、腸内細菌科菌群と判定します。気泡を伴わず (コロニーと気泡の距離がコロニーの直径よりも離れているもの)、黄色の帯域も伴わないコロニーは、腸内細菌科菌群として測定しません。
3. 成育域は約20 cm²です。Neogen ペトリフィルム EBプレートに100個を超えるコロニーが存在する場合、2カ所以上で1 cm²当たりのコロニー数を測定して、推定値を算出することが可能です。1 cm²当たりの平均値を20倍して、プレート全体のコロニー数を推定します。
4. コロニーの数が多いと、Neogen ペトリフィルム EBプレートのゲルの色が濃くなるか、完全に黄色になり、以下の特徴が1つ以上見られます。①小さいコロニーが多数あること、②多数の気泡があること。このような現象が見られた場合、測定不能多数 (TNTC) として記録します。より正確な数値が必要な場合には、さらに希釈を行ってください。
5. 必要に応じ、コロニーを個別に検査します。適切な検査技術に従っ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。
6. 培養器から取り出してから1時間以内にプレートの計数を行えない場合は、後で計数するためにNeogen ペトリフィルム EBプレートを密封容器に入れて冷凍保存することができます。保存は-15°C以下の温度で、1週間以内としてください。



注: メンブレンフィルターを使用する場合、Neogen ペトリフィルム EBプレートの計数が遅れることは推奨しません。

詳細については、「Neogen® ペトリフィルム® 腸内細菌科菌群数測定用プレート 解説書」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) をご覧いただくか、Neogen販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

妥当性確認された方法

AOAC® Official MethodsSM

適応範囲: 2003.01 指定食品における腸内細菌科菌群の計数

培養:

Neogen ペトリフィルム EBプレートは、37°C±1°Cで24±2時間培養します。

AFNOR CertificationによるNF Validation

NF Validationにより認証された以下の方法は、ISO 16140-2⁶に従い、ISO 21528-2⁷ に対する妥当性確認が行われています。

(3M – 01/6 – 09/97)

この試験法を用いる場合には、以下の詳細に従ってください。

適応範囲: すべてのヒト用食品、ペットフード、食品製造環境検体。

検体の準備: ISOに指定の希釈液⁵のみを使用してください。

培養:

Neogen ペトリフィルム EB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:

ISO 7218³に従い、希釈毎に1枚のプレートの結果を用いて、検体に存在する微生物の数を計算します。コロニーが100個以下のNeogen ペトリフィルム EBプレートのみを計算の対象とします。推定結果はNF Validationの認証の適用範囲外です(「判定」セクションの3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 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

有効期限の詳細は、上記のWebサイトにて入手できるNF VALIDATIONの証書を参照してください。

参考文献

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

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

AOACはAOAC INTERNATIONALの登録商標です。

Official Methods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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

产品信息

肠杆菌科测试片

产品说明及预期用途

Neogen® Petrifilm® 肠杆菌科测试片为已预制的培养基系统, 包含改良紫红胆盐葡萄糖 (VRBG) 营养素、冷水可溶性凝胶剂和可增强菌落计数效果的四唑指示剂。Neogen Petrifilm EB 测试片可用于计数食品、饮料和瓶装水行业中的肠杆菌科。肠杆菌科为可发酵葡萄糖产酸和/或气的氧化酵素阴性、革兰阴性杆菌。在 Neogen Petrifilm EB 测试片上, 肠杆菌科将呈现黄色圈围绕的红色菌落, 气泡围绕的红色菌落或黄色圈和气泡围绕的红色菌落。Neogen Petrifilm EB 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 (Neogen Food Safety) 的设计和和生产已经获得 ISO (国际标准化组织) 9001 认证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工、检测方案或针对所有可能的肠杆菌科类型或者其他细菌评估 Neogen Petrifilm EB 测试片。

安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen Petrifilm EB 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:

- 遵守适用于处置生物危害废物的当前行业标准。

为了降低与释放污染物相关的风险, 请注意以下事项:

- 遵守使用说明中包含的所有产品存储说明。
- 请勿使用过期产品。

为了减少与细菌感染和工作环境污染相关联的风险, 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 EB 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¹、ISO/EIC 17025² 或 ISO 7218³。

为了降低与结果误解相关的风险, 请注意以下事项:

- 除了食品和饮料行业 (包括瓶装水), 对于其他行业内 Neogen Petrifilm EB 测试片的使用, Neogen 尚未有资料可证。例如, 对于 Neogen Petrifilm EB 测试片用于检测水样、制药或化妆品, Neogen 尚未有资料可证。对于检测地表水、市政自来水、制药或化妆品行业用水的 Neogen Petrifilm EB 测试片, Neogen 尚未有资料可证。
- 终端用户可自行决定和负责根据地方水质检测规定使用 Neogen Petrifilm EB 测试片检测水样。尚未针对所有可能的瓶装水样品、检测方案或所有可能的微生物类型对 Neogen Petrifilm EB 测试片进行检测。
- 不要在人类或动物的各种状况的诊断中使用 Neogen Petrifilm EB 测试片。
- Neogen Petrifilm EB 测试片不能区分任何两种不同的肠杆菌科类型。

请参阅安全数据表以了解其他信息。

如果您在具体申请或程序有任何疑问, 请访问我们的网站 www.neogen.com 或联系您的 Neogen 代表或授权经销商。

用户责任

用户负责熟悉产品说明和信息。请访问我们的网站 www.neogen.com, 或联系您的 Neogen 代表或授权经销商获取更多信息。

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) 都可能影响结果。

用户在选择检测方法时, 应自行负责选用合适的基质和微生物挑战性试验对足够多的样品进行评估, 以确保所选择的检测方法符合用户的标准。

用户也应自行负责确定任何检测方法和结果符合其客户和供应商的要求。

同所有检测方法一样, 使用任何 Neogen 食品安全产品得到的结果, 并不保证受检基质或程序的质量。

保证限制/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, NEOGEN 就所有明示或默示保证做出免责声明, 包括但不限于适销性及适合某种特定用途的保证。如果证明任何 Neogen 食品安全产品存在缺陷, Neogen 或其授权经销商可以进行换货或者由其决定是否为该产品进行退款。这些都是专门针对您而设计的解决方案。您必须在发现产品中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。如有任何其他问题, 请联系您的 Neogen 代表或授权的 Neogen 分销商。

Neogen 责任限制

NEOGEN 不会对任何损失或损害负责, 无论造成的损害是直接、间接、特殊、偶然或随后产生的, 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可能超过产品的购买价格。

存储

Neogen Petrifilm EB 测试片包装袋应封存冷藏, 存储温度不超过 8°C (46°F)。使用之前, 要先使封存的 Neogen Petrifilm EB 测试片包装袋达到室温环境再开封。将未使用的 Neogen Petrifilm EB 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。**为避免暴露遇潮, 请勿冷藏已开封的包装袋。**请在阴凉干燥的环境中存储重新封存的 Neogen Petrifilm EB 测试片包装袋, 存储时间以不超过四个星期为宜。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% (前提为进行空气调节的情况除外), 建议将重新封存的 Neogen Petrifilm EB 测试片包装袋存储在冰箱中 (如下所示)。

要将已开封的包装袋存储在冰箱中, 先将 Neogen Petrifilm EB 测试片放置在已经密封的容器中。为取出冷冻的 Neogen Petrifilm EB 平板供使用, 打开容器, 取出所需平板, 并立即将剩余平板放回密封容器中的冰柜中, 直至有效期结束。请勿将已开封的包装袋存储在自动周期除霜的冰箱中, 因为重复暴露遇潮的原因, 这会对测试片造成损害。

请勿使用已变色的 Neogen Petrifilm EB 测试片。失效日期和批号标注在每个 Neogen Petrifilm EB 测试片包装袋上。在各 Neogen Petrifilm EB 测试片上也会标明产品批号。请勿在 Neogen Petrifilm EB 测试片失效之后再行使用。

△ 弃置

Neogen Petrifilm EB 测试片在使用之后可能包含微生物, 这有可能会产生生物危害。请根据当前的行业标准进行处置。

使用说明

仔细遵循所有说明。否则, 可能导致不准确的结果。

制备和培养包括环境样品在内的食品和饮料行业样品 (瓶装水除外)

样品制备

1. 使用适宜的无菌稀释剂:

巴特菲尔德磷酸盐缓冲液4, 蛋白胨盐稀释剂5, 0.1% 蛋白胨水4, 缓冲蛋白胨水5, 磷酸氢二钾溶液5, 生理盐水 (0.85-0.90%) , Neogen® 广谱中和剂, 不含硫酸氢盐的 letheen 肉汤或蒸馏水。“关于具体要求, 请参见章节“确认方法的具体说明”。”

请勿将包含柠檬酸盐、硫酸氢盐或硫代硫酸钠的稀释剂与 Neogen Petrifilm EB 测试片配合使用, 它们可抑制生长。如果在标准程序中指出柠檬酸盐缓冲液, 请用加热至 40-45°C (104-113°F) 的上述其中一种缓冲液来代替。

2. 混合或混匀样品。

3. 为了实现微生物的最佳生长和恢复, 请将样品混悬液的 pH 调整至 6.5-7.5。对于酸性产品, 用 1 N NaOH 调整 pH。对于碱性产品, 用 1 N HCl 调整 pH。

测试

1. 将 Neogen Petrifilm EB 测试片放置在平坦且水平的表面上。

2. 掀起上层薄膜, 让滴管垂直于接种区域, 将 1 mL 样品混悬液滴于底层薄膜的中央位置。

3. 将上层薄膜盖于样品上并避免气泡产生。

4. 将 Neogen® Petrifilm® 压板 (平整的一端朝下) 放置于 Neogen Petrifilm EB 测试片的中央位置。轻轻地压按 Neogen Petrifilm 压板的中心以使样液均匀覆盖。在凝胶固化之前要使接种物均匀覆盖于整个 Neogen Petrifilm EB 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, 至少静置 Neogen Petrifilm EB 测试片 1 分钟时间以使凝胶凝固。

培养

将测试片的透明面朝上水平放置来培养 Neogen Petrifilm EB 测试片, 最多可堆叠至 20 片 Neogen Petrifilm EB 测试片。培养 Neogen Petrifilm EB 测试片达到 24 小时 ± 2 小时。可以使用若干种培养时间和温度, 具体视目前的当地参考方法而定, 某些方法列于以下部分“验证方法具体说明”中。

制备和培养瓶装水样

Neogen Petrifilm EB 测试片

1. 将 Neogen Petrifilm EB 测试片放置在平坦且水平的表面上。

2. 掀起上层薄膜, 配制 1 mL 适宜的无菌水并滴于底层薄膜的中央位置。适宜的无菌水合稀释剂包括蒸馏水、去离子 (DI) 水和反渗透 (RO) 水。

3. 将上层薄膜盖于样品上并避免气泡产生。

4. 将 Neogen Petrifilm 压板 (平整的一端朝下) 放置于测试片的中央位置。轻轻地压按压板的中心以使稀释剂均匀覆盖。在凝胶固化之前要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. 取走 Neogen Petrifilm 压板, 至少静置测试片 1 个小时后再进行使用。
6. 将水化后的 Neogen Petrifilm EB 测试片存储在密封的包装袋或塑料袋中。应该避光存储测试片, 其冷藏温度在 2-8°C (36-46°F), 期限不超过 7 天。

水过滤和测试片培养

1. 根据标准程序进行水样分析, 使用 47 mm、0.45 微米孔的混合纤维素酯 (MCE) 滤膜来过滤水样。
2. 轻轻提起 Neogen Petrifilm EB 测试片的上层薄膜。请勿碰触圆形培养区域。将滤膜放置于水合区域的中央位置。
3. 慢慢将上层薄膜重新放于滤膜上。要注意避免产生气泡, 也不要再在滤膜和 Neogen Petrifilm EB 测试片之间留下空隙。
4. 将 Neogen Petrifilm 压板轻轻压下, 或在整个圆形区域 (包括边缘部分) 轻轻滑动手指以使滤膜与凝胶均匀接触, 注意避免产生气泡 (图 F)。

培养

在 34°C 至 37°C 的环境下将 Neogen Petrifilm EB 测试片培养 24 ± 2 小时, 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 EB 测试片。请勿计数泡棉上的菌落, 因为它们不受培养基的选择性影响^{{0}{1}}。请勿计数可能人为产生的气泡。
2. 肠杆菌科为黄色晕圈围绕的红色菌落和/或气泡 (不论有无黄色晕圈) 围绕的红色菌落。不应将不与气泡相连 (距离大于菌落与气泡间单个菌落直径) 且不与黄色圈相连的菌落计作肠杆菌科。
3. 圆形培养区域大约 20cm²。如果 Neogen Petrifilm EB 测试片包含的菌落数超过 100, 则可以通过计量两个或多个代表平方中的菌落数量并确定每平方的平均数量来进行估计。将平均值乘以 20 即可确定每测试片的估算数目。
4. 如果菌落过多, Neogen Petrifilm EB 测试片的凝胶颜色将变深, 或测试片将完全变为黄色, 呈现以下一种或两种特征: 将呈现很多小的不明显菌落和/或气泡。如果发生这样的情况, 请将结果记录为多不可计 (TNTC)。请对样品进行进一步的稀释以获得确切的计数。
5. 如有必要, 可以分离菌落以进一步进行鉴定。使用正确的检测技术掀起上层薄膜, 将菌落自凝胶挑出。根据标准程序进行检测。
6. 如果从保温箱中取出后 1 小时内无法对 Neogen Petrifilm EB 测试片进行计数, 可将其置于密封容器然后冷藏在温度不超过零下 15°C (5°F) 的环境中 (不超过一个星期), 以备后续计数。

注意: 建议立即计数带有滤膜的 Neogen Petrifilm EB 测试片。

有关详细信息, 请参阅相应的“Neogen® Petrifilm® 肠杆菌科测试片判读指南”。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, 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 MethodsSM

验证范围: 2003.01 选定食物中的肠杆菌科计数

培养:

在 37°C ± 1°C 温度下培养 Neogen Petrifilm EB 测试片达到 24 小时 ± 2 小时。

AFNOR Certification 认证的 NF VALIDATION

NF Validation 认证方法遵循 ISO 16140-2⁶ (与 ISO 21528-2⁷ 相比)

(3M - 01/6 - 09/97)

当执行上述“使用说明”时, 请使用以下详细信息:

验证范围: 用于检测所有人用食品产品、动物饲料和工业环境样品。

样品制备: 仅使用 ISO 核准稀释剂⁵。

培养:

在 30°C ± 1°C 或 37°C ± 1°C 温度下培养 Neogen Petrifilm EB 测试片达到 24 小时 ± 2 小时。

判读:

针对每个稀释中的单个测试片, 遵照 ISO 7218³ 计算检测样品中存在的微生物数量。计算时仅考虑含有最多 100 个菌落的 Neogen Petrifilm EB 测试片。估算结果在 NF Validation 认证范围之外 (判读部分段落 3)。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 01/06 – 09/97
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. 美国食品药品监督管理局。美国《联邦规章典集》(Code of Federal Regulations) 第 21 篇, 第 58 部分。非临床优良实验室研究规范。
2. ISO/IEC 17025。用于检验和定标实验室能力的一般要求。
3. ISO 7218。食品和动物饲料微生物 – 微生物检验用一般规则。
4. FDA。微生物分析手册 (BAM), BAM 试剂索引位于：
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>。
5. ISO 6887。食品和动物饲料微生物 – 用于微生物检验的检测样品、初始混悬液和十进制稀释液的制备。
6. ISO 16140-2。食物链微生物 – 方法验证 -- 根据参考方法验证替代(专有)方法的方案。
7. ISO 21528-2。食品和动物饲料微生物 - 检测和计数肠杆菌科的水平方法 – 第 2 部分：菌落技术方法。

请参考以上所列标准方法的现行版本。

符号说明

info.neogen.com/symbols

AOAC 是 AOAC INTERNATIONAL 的注册商标

Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

Enterobacteriaceae Count Plate**รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน**

Neogen® Petrifilm® *Enterobacteriaceae* Count (EB) Plate เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปที่มีสารอาหารชนิดไวโอเล็ตเรดไบลกลูโคส (Violet Red Bile Glucose (VRBG) แบบดัดแปลง สารก่อเจลที่ละลายได้ในน้ำเย็น และตัวบ่งชี้เตตราโซเลียมที่ช่วยตรวจนับจำนวนเชื้อเป็นโคโลนี Neogen Petrifilm EB Plates ใช้ในการนับจำนวนเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และน้ำดื่มบรรจุขวด เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี เป็นแบคทีเรียแท่งแกรมลบที่ให้ผลเป็นลบบต่อเอนไซม์ออกซิเดส ซึ่งหมักกลูโคสเพื่อสร้างกรดและ/หรือก๊าซ บน Neogen Petrifilm EB Plates เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี จะปรากฏเป็นโคโลนีสีแดงที่มีโซนสีเหลือง โคโลนีสีแดงที่มีฟองก๊าซ หรือโคโลนีสีแดงที่มีโซนสีเหลืองและฟองก๊าซ ส่วนประกอบของ Neogen Petrifilm EB Plates ได้ผ่านกระบวนการทำให้ปลอดเชื้อที่ไม่ใช่ผ่านกระบวนการสเตอริไรซ์ สายผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ได้รับการรับรองจากองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (ISO) 9001 สำหรับการออกแบบและการผลิต Neogen Petrifilm EB Plates ยังไม่ได้รับการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร การแปรรูปอาหาร วิธีการทดสอบที่อาจเป็นไปได้ทั้งหมด หรือกับสายพันธุ์ของเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี หรือแบคทีเรียอื่นที่อาจพบ

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจและปฏิบัติตามข้อมูลด้านความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำสำหรับ Neogen Petrifilm EB Plates เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:** แสดงสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠ คำเตือน

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารที่เป็นอันตรายทางชีวภาพและการปนเปื้อนทางสิ่งแวดล้อม:

- ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมล่าสุดและระเบียบข้อบังคับของท้องถิ่นในการทิ้งของเสียที่มีการปนเปื้อนทางชีวภาพ

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อน:

- ปฏิบัติตามคำแนะนำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในคำแนะนำการใช้งาน
- ห้ามใช้หลังจากวันหมดอายุ

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อแบคทีเรียและการปนเปื้อนในสถานที่ทำงาน:

- ให้ทำการทดสอบ Neogen Petrifilm EB Plates ในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์ที่เหมาะสมภายใต้การควบคุมดูแลของนักจุลชีววิทยาที่เชี่ยวชาญ
- ผู้ใช้ต้องผ่านการฝึกอบรมบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคการทดสอบที่ถูกต้องเหมาะสมในปัจจุบัน: เช่น Good Laboratory Practices (การดำเนินงานห้องปฏิบัติการที่ดี)¹ ISO/EIC 17025² หรือ ISO 7218³

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องจากการแปลผลผิดพลาด:

- Neogen มิได้จัดทำเอกสารการใช้งาน Neogen Petrifilm EB Plates ในอุตสาหกรรมอื่นใดนอกเหนือจากอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และน้ำดื่มบรรจุขวด ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่มีเอกสารเกี่ยวกับ Neogen Petrifilm EB Plates สำหรับการทดสอบยาหรือเครื่องสำอาง Neogen ไม่ได้ยืนยันด้วยเอกสารให้ใช้ Neogen Petrifilm EB Plates เฉพาะในการทดสอบน้ำผิวดินและน้ำประปาหรือน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมเภสัชกรรมหรือเครื่องสำอาง
- การใช้ Neogen Petrifilm EB Plates เพื่อทดสอบตัวอย่างน้ำตามข้อบังคับการทดสอบน้ำในท้องถิ่นอยู่ภายใต้ดุลยพินิจและความรับผิดชอบของผู้ใช้ปลายทาง Neogen Petrifilm EB Plates ยังไม่มีการทดสอบกับตัวอย่างน้ำบรรจุขวดที่เป็นไปได้ทั้งหมด โปรดคอลการทดสอบ หรือกับสายพันธุ์ที่เป็นไปได้ของจุลินทรีย์ทั้งหมด
- ห้ามใช้ Neogen Petrifilm EB Plates ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์และสัตว์
- Neogen Petrifilm EB Plates ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์เอนเทอโรแบคทีเรียซีอีออกจากสายพันธุ์อื่น

ศึกษาเอกสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

หากคุณมีข้อสงสัยเกี่ยวกับแอปพลิเคชันหรือขั้นตอนที่เฉพาะเจาะจง โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จำหน่ายที่ได้รับอนุญาต

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้นี้หน้าที่ได้รับผิดชอบในการทำความเข้าใจกับคำแนะนำและข้อมูลผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตหากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม

การเลือกวิธีทดสอบ จะต้องศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคของห้องปฏิบัติการที่อาจกระทบต่อผลการทดสอบได้

ผู้ใช้อาจต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบหรือวิธีการเลือกตัวอย่าง เพื่อประเมินจำนวนตัวอย่างที่เพียงพอ โดยใช้เมทริกซ์ที่เหมาะสม และการตรวจสอบความสามารถในทดสอบเชิงจุลินทรีย์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้า

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่น ๆ ผลลัพธ์ที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ของ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

ข้อจำกัดของการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการจำหน่าย หรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ใด ๆ ในกลุ่ม Neogen Food Safety มีตำหนิหรือพบข้อบกพร่อง บริษัท Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะใช้ดุลยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และถือเป็นการชดเชยเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ถ้าเกิดข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้งกับทาง Neogen ภายใน 60 วัน และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง Neogen โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทนที่เป็นทางการของแผนกผลิตภัณฑ์เพื่อความปลอดภัยของอาหาร บริษัท Neogen ในประเทศของท่าน เพื่อขอสิทธิส่งคืนผลิตภัณฑ์ โปรดติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม

ข้อจำกัดความรับผิดชอบของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใด ๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใด ๆ ก็ตาม

การเก็บรักษา

เก็บถุงบรรจุ Neogen Petrifilm EB Plates ที่ยังไม่ได้เปิดในตู้เย็นหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 8°C (46°F) ก่อนการใช้งาน ให้วางถุงบรรจุ Neogen Petrifilm EB Plates ที่ยังไม่เปิดใช้ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนเปิดใช้งาน เก็บ Neogen Petrifilm EB Plates ที่ยังไม่เปิดใช้ในถุงบรรจุ ปิดผนึกโดยพับที่ปลายถุงบรรจุและใช้เทปกาวปิดทับ **อย่าแช่เย็นถุงบรรจุที่เปิดใช้แล้วเพื่อป้องกันไม่ให้ความชื้นเข้าไปภายในถุง** จัดเก็บถุงบรรจุ Neogen Petrifilm EB Plates ที่ปิดผนึกใหม่ในที่แห้งเย็นได้ไม่เกินสี่สัปดาห์ แนะนำให้เก็บรักษาถุงเก็บ Neogen Petrifilm EB Plates ที่ปิดผนึกอีกครั้งในตู้แช่แข็ง (ดูข้างล่าง) หากอุณหภูมิในห้องปฏิบัติการสูงกว่า 25°C (77°F) และ/หรือหากห้องปฏิบัติการนั้นตั้งอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 50% (ยกเว้นแต่ว่าสถานที่นั้นใช้เครื่องปรับอากาศ)

ในการเก็บถุงที่เปิดแล้วในตู้แช่แข็ง ให้ใส่แผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm EB ในภาชนะที่ปิดผนึกได้ ในการนำแผ่นเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อ Neogen Petrifilm EB ที่แช่แข็งมาใช้ ให้เปิดภาชนะ นำแผ่นเพลทออกมาตามจำนวนที่ต้องการและเก็บแผ่นเพลทที่เหลือในภาชนะที่ปิดสนิทใส่ในตู้แช่แข็งทันทีเพื่อเก็บรักษาตามอายุการใช้งานที่เหลือ ตู้แช่แข็งที่ใช้สำหรับเก็บถุงที่เปิดแล้วต้องไม่มีรอบการละลายน้ำแข็งอัตโนมัติเนื่องจากจะทำให้แผ่นเพลทสัมผัสกับความชื้นซ้ำ ๆ ซึ่งอาจทำให้แผ่นเพลทเสียหายได้

ห้ามใช้ Neogen Petrifilm EB Plates ที่มีสีผิดเพี้ยนจากปกติ ซึ่งมีการระบุวันหมดอายุและรหัสผลิตภัณฑ์ไว้บนถุงบรรจุ Neogen Petrifilm EB Plates ยังมีกระบวนหมายเลขล็อตไว้บน Neogen Petrifilm EB Plates แต่ละแผ่นอีกด้วย ไม่ควรใช้ Neogen Petrifilm EB Plates หลังจากวันหมดอายุ

⚠ การทิ้ง

ภายหลังจากการใช้งาน Neogen Petrifilm EB Plates อาจจะมีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายทางชีวภาพได้ ปฏิบัติตามมาตรฐานการกำจัดทิ้งอย่างถูกวิธีตามข้อกำหนดอุตสาหกรรมในปัจจุบัน

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

การเตรียมและการบ่มตัวอย่างของอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม (ยกเว้นน้ำดื่มบรรจุขวด) รวมทั้งตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

การเตรียมตัวอย่าง

1. ใช้สารทำเจือจางปลอดเชื้อที่เหมาะสม:

น้ำเจือจางที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ของ Butterfield (Butterfield's phosphate-buffered dilution water)⁴, สารเจือจางเกลือเปปโทน (peptone salt diluent)⁵, น้ำเปปโทน (peptone water) 0.1%⁴, น้ำเปปโทนที่มีบัฟเฟอร์ (buffered peptone water)⁵, สารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (dipotassium hydrogen phosphate solution)⁵, สารละลายน้ำเกลือ (saline solution) (0.85 – 0.90%), สารทำให้เป็นกลางสเปกตรัมกว้างของ Neogen (Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer), อาหารเลี้ยงเชื้อ letheen broth ที่ไม่มีไบซัลไฟต์ (bisulfate-free letheen broth) หรือน้ำกลั่น ดูหัวข้อ “คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง” หากต้องการทราบข้อกำหนดที่เฉพาะเจาะจง

ห้ามใช้สารทำเจือจางที่ประกอบด้วยซิเตรต ไบซัลไฟต์ หรือโรโซซัลเฟต กับ Neogen Petrifilm EB Plates โดยเด็ดขาด เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ หากในวิธีมาตรฐานระบุให้ใช้บัฟเฟอร์ที่มีส่วนผสมของซิเตรต ให้ใช้บัฟเฟอร์ที่ระบุไว้ข้างต้นแทน โดยอุณหภูมิ 40-45°C (104-113°F)

2. ผสมหรือทำให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

3. เพื่อการเจริญเติบโตและการรอดอย่างเหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์ ให้ปรับ pH ของสารแขวนลอยตัวอย่างให้อยู่ที่ระหว่าง 6.5 - 7.5 สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรด ให้ปรับ pH ด้วย 1N NaOH สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เป็นด่าง ให้ปรับ pH ด้วย 1N HCl

การเพาะเชื้อ

1. วาง Neogen Petrifilm EB Plates บนพื้นผิวเรียบและอยู่ในแนวราบ
2. เปิดแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นและหยดสารละลายเจือจางตัวอย่างด้วยปิเปตต์ 1 มล. ลงตรงกลางของแผ่นฟิล์มด้านล่าง ในแนวตั้งฉากกับพื้นผิว
3. ค่อย ๆ ปล่อยแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนลงบนตัวอย่างเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศ
4. วาง Neogen® Petrifilm® Spreader ด้วยด้านที่เรียบลงตรงกลางของ Neogen Petrifilm EB Plates กดเบา ๆ ตรงกลางตัวกดแบบเรียบ Neogen Petrifilm เพื่อกระจายตัวอย่างให้เสมอกัน กระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วทั้งบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตบน Neogen Petrifilm EB Plates ก่อนที่เจลจะก่อตัวขึ้น ห้ามเลื่อน Neogen Petrifilm Spreader ไปมาบนแผ่นฟิล์ม
5. เอา Neogen Petrifilm Spreader ออกและปล่อย Neogen Petrifilm EB Plates ทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อยหนึ่งนาทีเพื่อให้เจลก่อตัว

การบ่มเชื้อ

บ่ม Neogen Petrifilm EB Plates ในแนวนอนโดยหันด้านใสขึ้นโดย Neogen Petrifilm EB Plates ซ้อนกันไม่เกิน 20 แผ่น บ่ม Neogen Petrifilm EB Plates เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมง สามารถใช้เวลาและอุณหภูมิการบ่มได้หลากหลายขึ้นกับวิธีอ้างอิงที่ใช้ในท้องถิ่นนั้น บางวิธีได้แสดงไว้ในส่วนด้านล่างในหัวข้อ “คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการที่ได้รับการตรวจสอบความถูกต้องแล้ว”

การเตรียมและการบ่มตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวด

การหยดน้ำลงบน Neogen Petrifilm EB Plates

1. วาง Neogen Petrifilm EB Plates บนพื้นผิวเรียบและอยู่ในแนวราบ
2. เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนและหยดน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 มล. ลงบนตรงกลางของแผ่นฟิล์มด้านล่าง น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่แนะนำให้ใช้ ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำปราศจากไอออน (DI) และน้ำที่ผ่านกระบวนการออสโมซิสผันกลับ (RO)
3. ค่อย ๆ ปล่อยแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนลงบนตัวอย่างเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศ
4. วาง Neogen Petrifilm Spreader ลงบริเวณตรงกลางของแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อโดยหันด้านเรียบลง กดเบา ๆ ลงบนตำแหน่งกลางของตัวกดเพื่อกระจายสารทำเจือจางให้ทั่วกัน กระจายสารทำเจือจางให้ทั่วทั้งบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตบน Neogen Petrifilm EB Plate ทั้งหมดก่อนที่เจลจะก่อตัวขึ้น ห้ามเลื่อนตัวกดแบบเรียบไปมาบนแผ่นฟิล์ม
5. หยิบ Neogen Petrifilm Spreader ออกและวางแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมงก่อนใช้งาน
6. จัดเก็บ Neogen Petrifilm EB Plate ที่มีน้ำแล้วในถุงบรรจุปิดผนึกหรือถุงพลาสติก ป้องกันมิให้แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อโดนแสงสว่างและแช่เย็นไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C (36-46°F) นานถึง 7 วัน

การกรองน้ำและการเพาะเชื้อบนแผ่นเลี้ยงเชื้อ

1. ปฏิบัติตามขั้นตอนมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำ ตัวอย่างน้ำที่กรองผ่านแผ่นกรองโดยใช้แผ่นกรองชนิด Mixed Cellulose Ester (MCE) ขนาด 47 มม. ที่มีรูขนาด 0.45 ไมครอน
2. เปิดแผ่นฟิล์มบน Neogen Petrifilm EB Plates อย่างระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับบริเวณพื้นที่การเจริญเติบโตของเชื้อโดยรอบ วางแผ่นกรองตรงกลางของบริเวณที่มีน้ำ
3. ปล่อยแผ่นฟิล์มด้านบนลงบนแผ่นกรองอย่างระมัดระวัง ระมัดระวังให้เกิดฟองอากาศและช่องว่างระหว่างแผ่นกรองกับ Neogen Petrifilm EB Plates

- กตเบา ๆ โดยไซ Neogen Petrifilm EB Plates หรือใช้นิ้วมือลูบเบา ๆ ทัวทั้งบริเวณดิสก์ (รวมทั้งขอบด้วย) เพื่อให้แน่ใจว่าการสัมผัสกันเป็นเนื้อเดียวกับแผ่นกรองและเพื่อขจัดฟองอากาศ

การบ่มเชื้อ

นำ Neogen Petrifilm EB Plates ไปบ่มที่อุณหภูมิ 34°C ถึง 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมง ในแนวอนหันด้านใสขึ้นบน วางซ้อนกันไม่เกิน 20 ชั้น

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

- สามารถนับจำนวนเชือบน Neogen Petrifilm EB Plates ได้โดยใช้เครื่องนับโคโลนีมาตรฐานหรือเครื่องขยายขนาดภาพที่มีการส่องสว่างประเภทอื่น ๆ ไม่ต้องนับโคโลนีบนขอบโพลีเมอร์เนื่องจากเป็นบริเวณที่ไม่สัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่นับฟองอากาศปลอมที่อาจเกิดขึ้น
- เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี จะปรากฏเป็นโคโลนีสีแดงที่มีโซนสีเหลือง และ/หรือโคโลนีสีแดงที่มีฟองก๊าซที่มีหรือไม่มีโซนสีเหลือง โคโลนีที่ไม่สร้างก๊าซ (ระยะห่างระหว่างโคโลนีและฟองก๊าซมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของหนึ่งโคโลนี) และโคโลนีที่ไม่สร้างโซนสีเหลืองจะไม่นับเป็นเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี
- พื้นที่การเจริญเติบโตเป็นวงกลมขนาดประมาณ 20 ซม.² การประมาณค่าสามารถทำได้บน Neogen Petrifilm EB Plates ที่มีมากกว่า 100 โคโลนีโดยการนับจำนวนโคโลนีในช่องสี่เหลี่ยมสองช่องหรือมากกว่า และหาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีต่อช่อง คูณค่าเฉลี่ยนั้นด้วย 20 เพื่อคำนวณค่าโคโลนีที่นับได้โดยประมาณต่อแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อหนึ่งแผ่น
- เมื่อโคโลนีมีจำนวนมาก Neogen Petrifilm EB Plates จะมีสีของเจลเข้มขึ้น หรือแผ่นอาหารอาจเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งหมด และมีลักษณะใดลักษณะหนึ่งหรือมีทั้งสองลักษณะ ดังต่อไปนี้: โคโลนีขนาดเล็กจำนวนมากที่แยกจากกันอย่างเห็นได้ชัด และ/หรือมีฟองก๊าซจำนวนมาก ในกรณีเช่นนี้ ให้จดบันทึกผลว่ามีจำนวนมากเกินกว่าที่จะนับได้ (TNTC) กรณีที่จำเป็นต้องรู้จำนวนที่แท้จริง ให้ทำการเจือจางเพิ่มขึ้น
- หากจำเป็น อาจจะทำโคโลนีไปแยกเชื้อเพื่อจำแนกประเภทเพิ่มเติมได้ ยกแผ่นฟิล์มที่อยู่ด้านบนขึ้นโดยใช้เทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมและเลือกโคโลนีจากเจล ทดสอบโดยใช้ขั้นตอนมาตรฐาน
- หากไม่สามารถนับ Neogen Petrifilm EB Plates ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากนำออกจากตู้บ่มแล้ว อาจนำแผ่นอาหารนั้นแช่แข็งไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับลบ 15°C (5°F) เป็นเวลาไม่เกินหนึ่งสัปดาห์เพื่อนับจำนวนโคโลนีในภายหลัง

หมายเหตุ: ควรตรวจนับจำนวนโคโลนี Neogen Petrifilm EB Plates ที่มีตัวกรองทันที ไม่แนะนำให้เก็บไว้เป็นเวลานานจึงค่อยนับ

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม โปรดดู “แนวทางการแปลผลการวิเคราะห์ใน Neogen® Petrifilm® Enterobacteriaceae Plate” หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใด ๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท Neogen ใกล้บ้านท่าน

คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการตรวจสอบความถูกต้อง

AOAC® Official MethodsSM

ขอบเขตของการตรวจสอบความถูกต้อง มีดังต่อไปนี้: 2003.01 Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Selected Foods

การบ่มเชื้อ:

บ่ม Neogen Petrifilm EB Plates เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมงที่ 37°C ± 1°C

NF Validation โดย AFNOR Certification

การทดสอบที่รับรองโดย NF Validation สอดคล้องกับ ISO 16140-2⁶ โดยเปรียบเทียบกับ ISO 21528-2⁷

(3M – 01/6 – 09/97)

ใช้รายละเอียดต่อไปนี้เมื่อนำคำแนะนำการใช้ข้างบนมาใช้:

ขอบเขตของการตรวจสอบความถูกต้อง มีดังต่อไปนี้: สำหรับการทดสอบกับผลิตภัณฑ์อาหารของมนุษย์ทั้งหมด อาหารสัตว์ และตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมในอุตสาหกรรม

การเตรียมตัวอย่าง: ให้ใช้สารทำเจือจางตามที่ระบุโดยมาตรฐาน ISO เท่านั้น⁵

การบ่มเชื้อ:

บ่ม Neogen Petrifilm EB Plates เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ± 2 ชั่วโมง ที่ 30°C ± 1°C หรือ 37°C ± 1°C

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์:

คำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารที่นำมาทดสอบตาม ISO 7218³ โดยใช้แผ่นอาหารหนึ่งแผ่นต่อตัวอย่างเจือจางหนึ่งตัวอย่าง สำหรับการคำนวณ ให้นับเฉพาะ Neogen Petrifilm EB Plates ที่มีมากกว่า 100 โคโลนี การประมาณจำนวนโคโลนีที่อยู่นอกเหนือขอบเขตของการรับรองของ NF Validation (ดูส่วนการแปลผล ในย่อหน้าที่ 3) อิงตามมาตรฐาน EN ISO 7218 ในการเพาะเชื้อ การนับโคโลนี และการคำนวณและการแสดงผลลัพธ์



3M 01/06 – 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับสิ้นสุดการบังคับใช้ของผลจากการตรวจสอบความถูกต้อง โปรดอ่านเอกสารรับรอง NF VALIDATION ที่อยู่ในเว็บไซต์ที่ระบุข้างต้น

ข้อมูลอ้างอิง

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
6. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation -- Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
7. ISO 21528-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: colony count method.

โปรดอ้างอิงวิธีการมาตรฐานฉบับปัจจุบันที่แสดงรายการไว้ข้างต้น

คำอธิบายสัญลักษณ์

info.neogen.com/symbols

AOAC เป็นเครื่องหมายการค้าจดทะเบียนของ AOAC INTERNATIONAL
Official Methods 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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A

제품 설명서

장내세균 측정용 플레이트

제품 설명 및 용도

Neogen® Petrifilm® 장내세균 측정용(EB) 플레이트는 개량된 Violet Red Bile Glucose (VRBG) nutrients, 냉수 용해성 겔화제, 집락의 계수를 용이하게 하는 테트라졸륨 시약이 들어있는 시료가 준비된 배양 시스템입니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트는 식품, 음료 및 생수 산업에서 장내세균을 계수하는 데 사용됩니다. 장내세균은 포도당을 발효시켜 산 및/또는 가스를 생성하는 막대 모양의 산화 효소 음성 및 그람 음성균입니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트에서 장내세균은 노란색 구역이 있는 붉은색 집락, 기포가 있는 붉은색 집락 또는 노란색 구역 및 기포가 있는 붉은색 집락으로 보일 것입니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트 구성품은 멸균 처리되지는 않았으나 오염은 모두 제거되었습니다. Neogen Food Safety는 설계 및 제조에 관한 ISO(International Organization for Standardization) 9001 인증을 받았습니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트는 가능한 모든 식품, 식품 공정, 시험 프로토콜 또는 장내세균이나 기타 박테리아에 대한 모든 가능한 종과 함께 평가되지는 않았습니다.

안전

사용자는 Neogen Petrifilm EB 플레이트의 사용 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 줄이기 위해

- 사용 설명서에 포함된 제품 보관 지침을 모두 따르십시오.
- 유효기한이 지난 제품은 사용하지 마십시오.

세균 감염 및 작업현장 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- 적절한 장비를 갖춘 실험실에서 숙련된 미생물 전문가의 관리하에 Neogen Petrifilm EB 플레이트 테스트를 실시합니다.
- 담당자는 최신의 적절한 시험 기법에 대해 사용자에게 교육을 실시해야 합니다. 예를 들면 우수 실험실 관리기준¹, ISO/EIC 17025² 또는 ISO 7218³ 등이 있습니다.

결과에 대한 해석 오류와 관련된 위험을 줄이려면:

- Neogen에서는 식품 및 생수를 포함한 음료 업계 외 다른 산업에서 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 사용하는 것에 관한 정보를 문서화하지 않았습니다. 예를 들어 Neogen에서는 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 의약품 또는 화장품 테스트에 대해서는 문서화하지 않았습니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트는 지표수 및 수돗물 또는 제약 산업이나 화장품 산업에서 사용되는 물을 테스트하는 용도로 검증되지 않았습니다.
- 현지 물 시료 테스트 규정에 따라 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 사용하여 물 시료를 테스트하는 것은 전적으로 최종 사용자의 재량이며 책임입니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트는 모든 가능한 병에 든 생수 시료, 테스트 프로토콜 또는 모든 가능한 미생물 품종에 대해서 테스트를 거치지 않았습니다.
- Neogen Petrifilm EB 플레이트를 사람이나 동물의 상태 진단에 사용하지 마십시오.
- Neogen Petrifilm EB 플레이트는 장내세균 종을 구별하지 못합니다.

자세한 정보는 안전 데이터 시트를 참고하십시오.

특정 애플리케이션 또는 절차에 대한 질문이 있으면 당사 웹 사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

사용자 책임

제품 지침 및 정보를 숙지할 책임은 사용자에게 있습니다. 자세한 내용은 당사 웹 사이트(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 요인들이 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 사용자에게는 어느 테스트 방법 및 결과가 해당 고객 및 공급자의 요구 사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

여느 테스트 방법과 마찬가지로 Neogen Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 테스트된 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 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

Neogen 책임의 한계

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

개봉하지 않은 Neogen Petrifilm EB 플레이트 파우치는 8°C(46°F) 이하의 온도로 냉장 또는 냉동 보관하십시오. 개봉하지 않은 Neogen Petrifilm EB 플레이트 파우치는 사용 직전에 꺼내 개봉 전에 실온까지 오도록 합니다. 사용하지 않은 Neogen Petrifilm EB 플레이트는 다시 파우치에 넣어두십시오. 파우치의 말단을 접고, 접착 테이프를 붙여서 밀봉하십시오. **습기에 노출되지 않게 하려면 개봉한 파우치를 냉장 보관하지 마십시오.** 재밀봉한 Neogen Petrifilm EB 플레이트 파우치는 서늘하고 건조한 장소에 4주 이내로 보관합니다. 실험실 온도가 25°C(77°F)를 초과하거나 상대 습도가 50%를 초과하는 지역(공기 조절 설비가 있는 곳은 제외)에 실험실이 있는 경우, 재밀봉한 Neogen Petrifilm EB 플레이트의 파우치는 냉동고(아래 참고)에 보관하는 것이 좋습니다.

개봉된 파우치를 냉동고에 보관하려면 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 밀폐 가능한 용기에 넣으십시오. 냉동된 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 사용하기 위해 꺼내려면 용기를 열고 필요한 플레이트를 꺼낸 다음, 남은 플레이트를 즉시 밀봉된 용기에 도로 넣어 남은 유통기한 동안 냉동실에 보관하십시오. 개봉된 파우치 저장에 사용되는 냉동고는 자동 성에 제거 사이클이 없어야 합니다. 자동 성에 제거 사이클이 있을 경우 플레이트를 습기에 반복적으로 노출하여 손상시킬 수 있습니다.

변색된 Neogen Petrifilm EB 플레이트는 사용할 수 없습니다. 유통기한 및 배치 번호는 Neogen Petrifilm EB 플레이트의 각 파우치 위에 표기되어 있습니다. 제조번호는 개별 Neogen Petrifilm EB 플레이트에도 표시되어 있습니다. 유효기한이 지난 Neogen Petrifilm EB 플레이트는 사용할 수 없습니다.

△ 폐기

사용한 Neogen Petrifilm EB 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 포함한 식음료 업계의 시료 전처리 및 배양(병에 든 생수 제외)

시료 준비

1. 다음과 같이 적절한 살균 희석제를 사용하십시오.

버터필드의 인산염 완충 희석수⁴, 펩톤 염 희석제⁵, 0.1% 펩톤수⁴, 완충 펩톤수⁵, 인산이수소칼륨 용액⁵, 식염수(0.85 ~ 0.90%), Neogen® 와이드 스펙트럼 중화장치, 중화산염이 없는 레틴 액체배지 또는 증류수. 특정 요구사항에 대해서는 “**검증 방법 관련 상세 설명**” 섹션을 참조하십시오.

Citrate, bisulfite 또는 thiosulfate를 포함하는 희석제를 Neogen Petrifilm EB 플레이트에 사용하지 마십시오. 이들은 증식을 억제할 수 있습니다. Citrate buffer가 표준 절차에 표시되어 있는 경우, 위에 열거된 버퍼 중 하나와 교체하십시오 (40~45°C(104~113°F)로 가열).

2. 시료 혼합 또는 균질화.

3. 미생물의 최적의 증식과 회복을 위해, 시료 현탁액의 pH를 6.5~7.5로 조정합니다. 산성 제품의 경우, pH를 1N NaOH로 조정합니다. 알칼리성 제품의 경우, pH를 1 N HCl로 조정합니다.

플레이팅

1. Neogen Petrifilm EB 플레이트를 평평하고 수평인 표면에 올려놓습니다.

2. 상단 필름을 들어올린 후 피펫을 주입 표면에 수직으로 놓고, 하단 필름의 중앙에 시료 현탁액 1mL를 주입합니다.

3. 기포가 발생하지 않도록 상단 필름을 시료 위에 펴십시오.

4. Neogen® Petrifilm® 누름판을 평평한 쪽을 밑으로 Neogen Petrifilm EB 플레이트의 중앙에 놓습니다. Neogen Petrifilm 누름판의 중심을 부드럽게 눌러 시료가 골고루 분포하도록 하십시오. 겔이 형성되기 전에 접종물을 Neogen Petrifilm EB 플레이트의 전체 증식 구역에 펼치십시오. Neogen Petrifilm 누름판으로 필름 전체를 밀지 마십시오.

5. Neogen Petrifilm 누름판을 제거하고 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 최소 1분 이상 그대로 두어 겔이 형성되도록 하십시오.

배양
 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 투명한 면을 위로 하여 수평으로 놓고 Neogen Petrifilm EB 플레이트 20개 이하로 쌓아 배양합니다. Neogen Petrifilm EB 플레이트를 24시간 ± 2시간 배양합니다. 현재의 지역 참조 방법에 따라 여러 가지 배양 시간 및 온도가 사용될 수 있습니다. 일부는 아래의 섹션, "**검증 방법 관련 상세 설명**"에 나와 있습니다.

병에 든 생수 시료 전처리 및 배양

Neogen Petrifilm EB 플레이트 수화

1. Neogen Petrifilm EB 플레이트를 평평하고 수평인 표면에 올려놓습니다.
2. 위쪽 필름을 들어 올리고, 1mL의 멸균된 겔화 희석액을 아래쪽 필름의 중앙에 접종하십시오. 적절히 멸균된 겔화 희석액에는 증류수, 탈이온수(DI) 및 역삼투수(RO)가 포함되어 있습니다.
3. 기포가 발생하지 않도록 상단 필름을 시료 위에 펴십시오.
4. Neogen Petrifilm 누름판을 평평한 쪽이 아래로 향하도록 플레이트의 중앙에 놓습니다. 누름판의 가운데를 가볍게 눌러서 희석액을 고르게 펴십시오. 겔이 형성되기 전에 희석액을 Neogen 페트리필름 플레이트의 전체 증식 구역에 펴 주십시오. 누름판을 필름 위에 올려 놓고 옆으로 밀지 마십시오.
5. Neogen Petrifilm 누름판을 제거하고, 사용 전 최소 1시간 동안 플레이트를 닫힌 상태 그대로 두십시오.
6. 수화된 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 밀봉된 파우치나 비닐 봉투에 넣어서 보관하십시오. 플레이트를 빛으로부터 보호하고, 2~8°C(36~46°F)에서 최대 7일간 냉장 보관하십시오.

물의 여과와 플레이트 배양

1. 표준 수질 분석 절차에 따라 47mm, 공극 0.45마이크론의 MCE(mixed cellulose ester) 필터를 사용하여 생수 시료를 막여과(membrane filter) 방식으로 처리합니다.
2. Neogen Petrifilm EB 플레이트의 위쪽 필름을 조심스럽게 들어 올리십시오. 겔 부분을 건드리지 않도록 주의하십시오. 필터를 겔화된 구역의 중앙에 놓으십시오.
3. 위쪽 필름을 천천히 필터 위에 다시 올려놓으십시오. 필터와 Neogen Petrifilm EB 플레이트 사이에 기포나 틈이 생기는 것을 최소화하십시오.
4. Neogen Petrifilm 누름판을 사용하여 약하게 압력을 가하거나 손가락으로 전체 디스크 영역(모서리 포함) 위를 가볍게 문질러서 필터를 겔에 균일하게 밀착시키고 기포를 제거하십시오.

배양

Neogen Petrifilm EB 플레이트를 수평 상태로 투명한 쪽이 위로 가게 하여 20개 미만으로 쌓은 다음 34°C~37°C에서 24 ± 2시간 동안 배양하십시오.

해석

1. Neogen Petrifilm EB 플레이트는 표준 집락 계수기나 다른 조명 확대경을 사용하여 계수할 수 있습니다. 겔 바깥 부분의 집락은 배지의 선택적 영향에서 벗어났으므로 계수하지 마십시오. 인공 기포는 계수하지 마십시오.
2. **장내세균**은 노란색 구역이 있는 붉은색 집락 및/또는 노란색 구역에 관계없이 가스 기포가 있는 붉은색 집락입니다. 가스 관련 없고(집락과 가스 기포 사이의 거리가 하나의 집락 직경보다 큼) 노란색 구역과 관련 없는 집락은 **장내세균**으로 계수되지 않습니다.
3. 원형으로 된 증식 영역은 약 20cm²입니다. 집락이 100개를 훨씬 넘는 Neogen Petrifilm EB 플레이트에 대해서는 2개 이상의 대표할 만한 사각형 내에서 집락의 수를 세고 사각형당 평균 수를 결정함으로써 추정치를 계산할 수 있습니다. 평균 수에 20을 곱하여 플레이트당 추정치를 결정합니다.
4. 집락의 수가 많을 경우, Neogen Petrifilm EB 플레이트는 겔 색상을 질게 하거나 플레이트가 완전히 노란색으로 변하고, 다음과 같은 특징 중 하나가 나타나거나 둘 다 나타날 수 있습니다. 다수의 작고 불명료한 콜로니 및/또는 많은 가스 기포. 이럴 경우, 결과가 너무 많아서 계수하기가 어렵습니다(TNTC). 정확한 계수가 필요하면 더 묽게 희석시켜서 플레이팅하십시오.
5. 필요한 경우 집락들을 분리해서 자세하게 확인할 수 있습니다. 적절한 시험 기법을 사용하여 상단 필름을 들어 올리고 겔에서 집락을 선택합니다. 표준 절차를 사용하여 시험하십시오.
6. 배양기에서 빼낸 후 1시간 내에 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 계수할 수 없는 경우, 밀봉되는 용기에 넣어 -15°C(5°F) 이하의 온도에서 냉동하여 1주 이내로 저장하여 나중에 계수할 수 있습니다.

참고: 멤브레인 필터가 있는 Neogen Petrifilm EB 플레이트를 표준 배양시간 이후에 계수하는 것은 권장하지 않습니다.

자세한 내용은 “Neogen® Petrifilm® 장내세균 플레이트 해석 가이드”를 참조하십시오. 구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

검증 방법 관련 상세 설명

AOAC® Official MethodsSM

검증의 범위: 2003.01 선택한 식품의 *장내세균* 계수

배양:

Neogen Petrifilm EB 플레이트를 37°C ± 1°C로 24시간 ± 2시간 배양합니다.

AFNOR Certification에 의한 NF Validation

ISO 16140⁶을 준수하고 ISO 21528-2⁷과 비교되는 NF Validation 인증 방법

(3M - 01/6 -09/97)

상기 사용 지침을 사용할 시에는 다음 세부 사항을 참고하시기 바랍니다.

검증의 범위: 모든 인간의 식료품, 애완동물 사료와 산업 환경 시료.

시료 준비: ISO에 명시된 희석액⁵만 사용하십시오.

배양:

Neogen Petrifilm EB 플레이트를 30°C ± 1°C 또는 37°C ± 1°C로 24시간 ± 2시간 배양합니다.

해석:

ISO 7218³에 따라 희석액당 하나의 플레이트에 대해 시험 시료에 나타난 미생물의 수를 계산합니다. 집락이 최대 100개인 Neogen Petrifilm EB 플레이트만 계산하십시오. 추정치는 NF Validation 인증의 범위를 벗어납니다(해석 파트 3항 참조). 배양, 집락 계수, 계산 및 결과 표현에 대해서는 EN ISO 7218 표준을 참조하십시오.



3M 01/06 - 09/97

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

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

유효기간 관련하여 상세 정보는 상기에 명시한 웹 사이트에 있는 NF VALIDATION 인증서를 참고하십시오.

참고 자료

1. 미국 식품의약국. 미 연방 규정, 타이틀 21, 파트 58. 비임상 실험 연구에 대한 우수 실험실 기준.
2. ISO/IEC 17025. 시험 및 검정 실험실 역량에 대한 일반 요구 사항.
3. ISO 7218. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 - 미생물학적 시험 관련 일반 규칙.
4. 미국 식품의약국. 세균학적 분석 매뉴얼(BAM), BAM용 시약 지수는 다음에서 볼 수 있습니다.
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
5. ISO 6887. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 - 미생물학적 시험을 위한 시험 시료 준비, 초기 부유 및 심진희석법.
6. ISO 16140-2. 식품 사슬의 미생물학 - 방법 검증 - 참조 방법을 기준으로 한 대체(독점적) 방법 검증 프로토콜.
7. ISO 21528-2. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 - *장내세균*의 검출 및 계수용 수평 방법 - 파트 2: 집락 계수 방법.

위에 열거된 표준 방법의 최신 버전을 참고하십시오.

기호 설명

info.neogen.com/symbols

AOAC는 AOAC INTERNATIONAL의 등록상표입니다.

Official Methods는 AOAC INTERNATIONAL의 서비스 마크입니다.

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 Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00841A