

**Intended use**

Easicult Combi slides are intended for monitoring of microbial contamination in various industrial environments. The test can be performed on-site, or the slides can be used as convenient transport media for samples.

The slide is covered on one side with TTC Agar (yellowish), which supports growth of most common bacteria, and on the other side with Rose-Bengal Agar (pink), which supports growth of fungi.

The main significance of the test is that elevation of total microbial counts can be detected.

**Contents of the kit**

Easicult Combi	Cat. Nos. 67987, 05984
Test slides	10 pcs
Labels	10 pcs
Instructions for use	1 pc

**Typical formulation**

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Tryptone	Peptone
Soy peptone	Dextrose
Disodium succinate	Potassium hydrogen phosphate
TTC solution	Magnesium sulphate
Agar-agar	Sodium chloride
Water	Rose Bengal
	Sodium hydroxide
	Gentamycin sulphate
	Chloramphenicol
	Agar-agar
	Water

**Warnings and precautions**

Do not use the product beyond the expiry date marked on the kit.

Do not touch the unused growth media.

Do not use the slide if you notice

- discoloration or dehydration of the growth medium
- detachment of the growth media from the plastic slide
- evidence of microbial growth.

Because any growth on the Easicult Combi slide may be pathogenic, do not touch the used slide.

**Storage**

Store Easicult Combi at room temperature (approx. 20°C/68°F) protected from draught, temperature fluctuations and light sources. Avoid storage near heat-generating appliances. Do not exceed 100 CFU/ml. Before filling the bottle, let the water run for 5 minutes or boil it for 15 minutes and then let it cool. Using a clean (disposable) pipette, add 1 ml of sample to the bottle. Close and mix thoroughly by shaking the bottle about 30 times. Dip the slide in the dilution and proceed as described for fluid samples.

**Sampling and procedure (Fig. 1–5)**

To avoid contamination, the growth medium should not come into contact with any other material than the one to be tested. On the other hand, it is important that the growth medium makes full contact with the material to be tested.

**Viscose fluids and fluids with high bacterial content (>10<sup>7</sup> CFU/ml)**

If the viscosity or bacterial content of the sample is high, the sample should be diluted. For dilution, put 100 or 1000 ml of drinkable tap water in a clean, well-rinsed and dried bottle with a cap. The bacterial content of the water for dilution should not exceed 100 CFU/ml. Before filling the bottle, let the water run for 5 minutes or boil it for 15 minutes and then let it cool. Using a clean (disposable) pipette, add 1 ml of sample to the bottle. Close and mix thoroughly by shaking the bottle about 30 times. Dip the slide in the dilution and proceed as described for fluid samples.

**Fluid samples**

- 1 Unscrew the tube and withdraw the slide without touching the agar surfaces.
- 2 Dip the slide in the liquid. Alternatively, wet the slide under a running stream of the liquid or spray the liquid on the slide. If the liquid is under pressure, the slide must be handled carefully to avoid unfastening of the agar. If the sample is in a container, mix the contents and dip the slide in it. Both agar sides should get completely wet. The slide must be in contact with the fluid for 5 to 10 seconds.
- 3 Allow excess fluid to drain off the slide. Blot the last drops from the lower end of the slide on absorbent paper.
- 4 After sampling, screw the slide tightly back into the tube. Fill in the label and affix it to the tube.

- 5 Incubate the slide at 27...30°C (80...86°F) for 24–48 hours for detection of bacteria. Yeasts and moulds need three days' incubation before the result can be read. If the incubation is carried out at room temperature, the incubation times are 2–4 days and 4–7 days, respectively.

If the normal temperature for the fluid tested differs substantially from the above incubation temperatures, it may result in slow growth of bacteria. An incubation temperature closer to the normal temperature of the fluid is then recommended.

**Interpretation of results (Fig. 6)**

Cautiously remove the slide from its tube after incubation and determine the microbial count (number of colony forming units, CFU) by comparing the density of growth on the slide with the model chart. Note the separate model charts for TTC and Rose-Bengal.

If the sample was diluted, the dilution factor must be taken into account in the evaluation. For example, if a dilution of 1 + 100 ml (1 ml of sample in 100 ml of water) shows a density of 10<sup>6</sup> CFU/ml, the actual result for the sample is 10<sup>8</sup> CFU/ml.

**Rose-Bengal medium, determination of fungi**

Growth on Rose-Bengal Agar may consist exclusively of either yeasts or moulds, or mixed growth of both. Mould colonies are soft and fluffy and usually pale, green or black in colour. Yeasts usually grow in dome-shaped colonies but may sometimes be flat and dry. Since mould colonies may originate from fragments of mycelium or from individual spores, the model chart is not quantitative. The chart indicates whether the contamination is slight (+), moderate (++) or heavy (+++). Colonies can be removed from the slides and examined under microscope if needed. Fungal contamination is sometimes apparent to the naked eye as a coating on the fluid surface.

**TTC Agar, determination of total bacterial count**

Most aerobic bacteria grow on TTC Agar as red colonies. Moulds and yeasts may also grow slowly on this medium. Even though the bacterial growth is almost always in the form of red colonies, any colourless colonies should also be taken into account when the density is estimated. In cases where large colonies are present, it should be borne in mind that colony density, not the size of individual colonies, should be considered.

If the bacterial count is very high (more than 10<sup>7</sup> CFU/ml), the growth is confluent. This can appear as a uniformly red surface layer. Very rarely there is totally colourless growth. It is advisable to compare slides exhibiting an apparently uniform surface with an unused slide to avoid misinterpretation.

As no universally applicable limits exist, limit values have to be determined by experience. For bacterial contamination in coolants, the following guide may be used:

Bacteria		
CFU/ml	Contamination	
< 10 <sup>4</sup>	slight	usually no problems <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	moderate	
> 10 <sup>6</sup>	heavy	not acceptable <sup>1</sup>

**Limitations of the method**

If the bacterial count exceeds 10<sup>7</sup> CFU/ml, or the viscosity is high, the sample should be diluted.

Very rarely the bacteria grow on the TTC medium as colourless colonies.

The reliable lower detection limit for bacteria is 10<sup>3</sup> CFU/ml.

The growth of some coccoid bacteria may be weakened by TTC.

**Disposal**

Any growth on slides may be pathogenic. Used slides must therefore be disposed of by burning or, after opening the tube, either by autoclaving (a pressure cooker can be used for this) or immersing in a disinfectant overnight, always following local laws and regulations.

Distributed in the USA:

LifeSign LLC  
85 Orchard Road  
Skillman, NJ 08558 USA  
Tel: 800-526-2125  
Fax: 732-246-0570  
www.lifesignmed.com

**Easicult® Combi****Gebrauchsanleitung • Deutsch****Verwendungszweck**

Easicult Combi Keimindikatoren sind für das Monitoring von mikrobieller Kontamination in unterschiedlichen industriellen Umgebungen bestimmt. Easicult Combi ermöglicht eine einfache Probenahme vor Ort. Die wieder verschlossenen Keimindikatoren sind ein praktisches Transportmedium für die gezogenen Proben.

Der Keimindikator ist auf einer Seite mit TTC-Agar (gelblich) beschichtet, der das Wachstum der häufigsten Bakterienarten fördert, und auf der anderen Seite mit Rose-Bengal Agar (pink), der das Wachstum von Pilzen fördert.

Die Hauptbedeutung des Tests besteht darin, dass die Gesamtkeimzahl bestimmt werden kann.

**Packungsinhalt**

Easicult Combi	Kat. Nr. 67987, 05984
Keimindikatoren/ Nährbodenträger	10 St.
Etiketten	10 St.
Gebrauchsanleitung	1 St.

**Typische Zusammensetzung**

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Trypton	Pepton
Sojapepton	Dextrose
Dinatriumsuccinat	Kaliumhydrogenphosphat
TTC Lösung	Magnesiumsulfat
Agar-Agar	Natriumchlorid
Wasser	Rose Bengal
	Natriumhydroxid
	Gentamycinsulfat
	Chloramphenicol
	Agar-Agar
	Wasser

**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

Das Produkt nicht nach dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum verwenden.

Die unbenutzten Nährböden nicht mit den Fingern berühren.

Den Keimindikator nicht verwenden, falls Sie folgendes feststellen:

- Verfärbung oder Austrocknung des Nährbodens
- Ablösung des Nährbodens vom Plastikträger
- Anzeichen von mikrobiellem Wachstum.

Die wachsenden Kolonien nicht berühren, da jede auf dem Easicult Combi wachsende Kolonie pathogen (krankheits-erregend) sein kann.

**Lagerung**

Easicult Combi bei einer Raumtemperatur (etwa 20°C), geschützt vor Zugluft, Temperaturschwankungen und Lichtquellen lagern. Lagerung in der Nähe von hitzeerzeugenden Vorrichtungen vermeiden. Frostfrei lagern. Das Verfallsdatum (Jahr-Monat-Tag) steht auf der Schachtel und auf der Verschlusskappe jedes Keimindikators.

**Probennahme (Fig. 1–5)**

Um eine Fremdkontamination zu vermeiden, sollten die Nährböden nicht mit irgendeinem anderen Material außer dem zu testenden in Kontakt kommen. Es ist wichtig, die Nährböden mit dem zu testenden Material vollkommen in Kontakt zu bringen.

**Viskose Flüssigkeiten und Flüssigkeiten mit hoher mikrobieller Belastung (>10<sup>7</sup> KBE/ml)**

Ist die Viskosität oder die mikrobielle Belastung der Probe sehr hoch, sollte die Probe verdünnt werden. Für die Verdünnung sollten 100 oder 1000 ml Leitungswasser von Trinkwasserqualität in eine saubere, mehrmals sorgfältig ausgespülte und ausgetrocknete Flasche mit Verschlusskappe gefüllt werden. Die bakterielle Belastung des Wassers zur Verdünnung sollte den Wert von 100 KBE/ml nicht überschreiten. Das Wasser sollte 5 Minuten lang ablaufen oder 15 Minuten lang abkochen und anschließend abkühlen, bevor es zur Verdünnung in die Flasche abgefüllt wird. Mit einer sauberen Pipette, z.B. einer Einmalpipette, 1 ml von der zu untersuchenden Flüssigkeit in die Flasche geben. Nach Verschluss der Flasche die Mischung schütteln (30 Mal). Anschließend den Keimindikator in die verdünnte Probe eintauchen und wie bei der Probennahme von flüssigen Proben beschrieben fortfahren.

**Probennahme von flüssigen Proben**

- 1 Deckel des Behälters abschrauben und den Nährbodenträger entnehmen, behüte die Abstriche zu berühren.
- 2 Den Nährbodenträger in die zu prüfende Flüssigkeit eintauchen. Alternativ kann der Nährbodenträger auch in den Strahl der Flüssigkeit gehalten oder besprüht werden. Steht die Flüssigkeit unter Druck, sollte man vorsichtig mit dem Nährbodenträger umgehen, um ein Ablösen des Nährbodens zu vermeiden. Wenn sich die Probe in einem Behälter befindet, dann die Flüssigkeit mischen und den Nährbodenträger direkt eintauchen. Beide Seiten des Nährbodenträgers sollten mit der zu prüfenden Flüssigkeit 5 bis 10 Sekunden in Kontakt sein und vollständig benetzt werden.
- 3 Überflüssige Flüssigkeit vom Nährbodenträger abtropfen lassen. Die letzten Tropfen auf absorbierendem Papier abstreifen.
- 4 Nach der Probennahme den Nährbodenträger fest in das Röhrchen schrauben. Beiliegendes Selbstklebeetikett aufkleben und auf das Röhrchen kleben.

- 5 Die Nährbodenträger bei 27...30°C für 24–48 Stunden für den Nachweis von Bakterien inkubieren. Hefen und Pilze benötigen drei Tage Inkubationszeit, bevor die Auswertung erfolgen kann. Erfolgt die Inkubation bei Raumtemperatur, beträgt die Inkubationszeit 2–4 Tage, respektive 4–7 Tage. Wenn die normale Temperatur der zu testenden Flüssigkeit deutlich von der angegebenen Inkubationstemperatur abweicht, kann es zu einem verlangsamteten Wachstum der Bakterien führen. Es wird eine Inkubationstemperatur nahe der normalen Temperatur der zu testenden Flüssigkeit empfohlen.

**Interpretation der Ergebnisse (Fig. 6)**

Den Keimindikator nach der Inkubation vorsichtig aus seinem Röhrchen nehmen und die Keimzahl (Anzahl der koloniebildenden Einheiten, KBE) bestimmen, indem die Wachstumsdichte auf dem Keimindikator mit dem Auswertungstableau verglichen wird. Beachten Sie dabei die separaten Auswertungstableau für die verschiedenen Nährböden (TTC und Rose-Bengal).

Wenn die Probe verdünnt wurde, muss der Verdünnungsfaktor für die Auswertung berücksichtigt werden. Beispiel: Wenn das Ergebnis bei einer Verdünnung von 1 + 100 ml (1 ml von der Probe in 100 ml Wasser) eine Dichte von 10<sup>6</sup> KBE/ml ergibt, ist das tatsächliche Ergebnis 10<sup>8</sup> KBE/ml.

**Rose-Bengal medium, Bestimmung von Pilzen**

Wachsende Kolonien auf dem Rose-Bengal Agar können entweder Hefen oder Schimmelpilze oder eine Mischung aus beidem sein. Schimmelpilzkolonien sind weich und flockig und gewöhnlich blass, grün oder schwarz gefärbt. Hefen wachsen gewöhnlich in gewölbten Kolonien, können aber manchmal auch flach und trocken sein. Hefekolonien sind oft rot oder weiss. Fadenpilze ("Schimmelpilze") bilden ihre Kolonien aus Fadenteilen oder Fadenaggregaten (Mycelium) oder einzelnen Sporen. Der Vergleich mit den Musterbildern gibt daher nur angenäherte Werte. Die Beurteilung wird anhand der Musterbilder wie folgt angegeben: die Kontamination ist schwach (+), mässig (++) oder stark (+++). Zur mikroskopischen Abklärung können Kolonien von dem Nährboden abgenommen werden. Pilzbefall ist manchmal mit dem bloßen Auge als eine Schicht auf der Flüssigkeitsoberfläche zu sehen.

**TTC Agar, Bestimmung der Bakterien Gesamtkeimzahl**

Die meisten aerob wachsenden Bakterien wachsen auf TTC Agar als rote Kolonien. Auch Pilze und Hefen können unter Umständen langsam auf diesem Medium heranwachsen. Zwar wächst die Mehrzahl der Bakterien zu roten Kolonien, aber auch farblose Kolonien müssen bei der Bestimmung der Keimdichte berücksichtigt werden. Für Fälle, bei denen sich der Bewuchs aus sehr grossen Kolonien zusammensetzt, muss daran erinnert werden, dass es auf die Koloniedichte, und nicht auf ihre Grösse der einzelnen Kolonien ankommt.

Bei einer hohen Bakterienzahl (über 10<sup>7</sup> KBE/ml) kann es zu einem konfluenten Bakterienbewuchs kommen, der als gleichförmige rote Oberfläche erscheinen mag. In seltenen Fällen kann es auch zu einem völlig farblosen Bewuchs kommen. In Zweifelsfällen wird daher empfohlen, den bebrüteten Nährbodenträger mit einem unbenutzten Produkt zu vergleichen, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

Allgemein gültige Grenzwerte, die den Einsatz von Konservierungsmitteln rechtfertigen, können nicht angegeben werden, sondern müssen sich aus der Erfahrung ergeben. Als Richtwerte gelten:

Bakterien		
KBE/ml	Kontamination	
< 10 <sup>4</sup>	schwache	generell keine Probleme <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	mässige	
> 10 <sup>6</sup>	starke	nicht akzeptabel <sup>1</sup>

**Einschränkung der Methode**

Bei Übersteigerung der Bakterienanzahl von 10<sup>7</sup> KBE/ml, oder einer hohen Viskosität, sollte die Probe verdünnt werden.

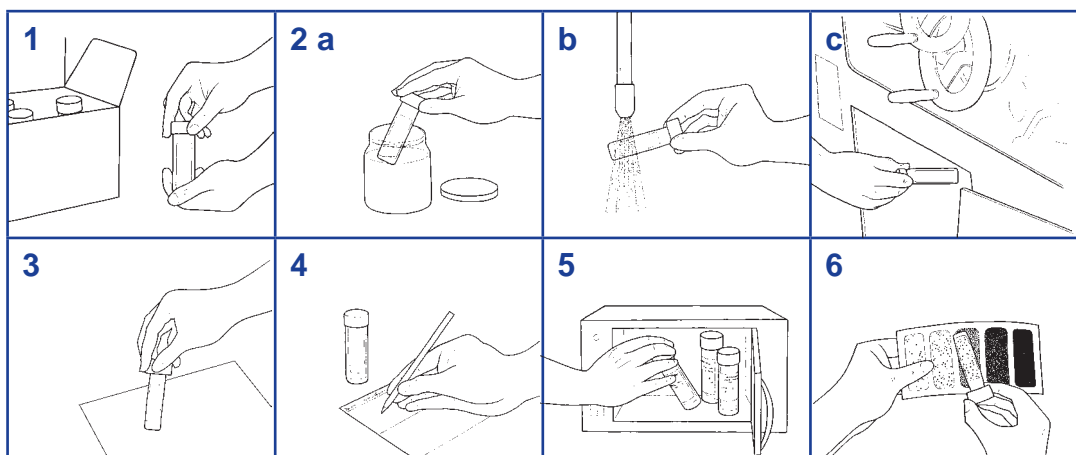
Äusserst selten wachsen die Bakterien auf dem TTC Medium als farblose Kolonien.

Die zuverlässige Untergrenze für den Nachweis von Bakterien liegt bei 10<sup>3</sup> KBE/ml.

Das Wachstum von Kokken kann durch TTC abgeschwächt sein.

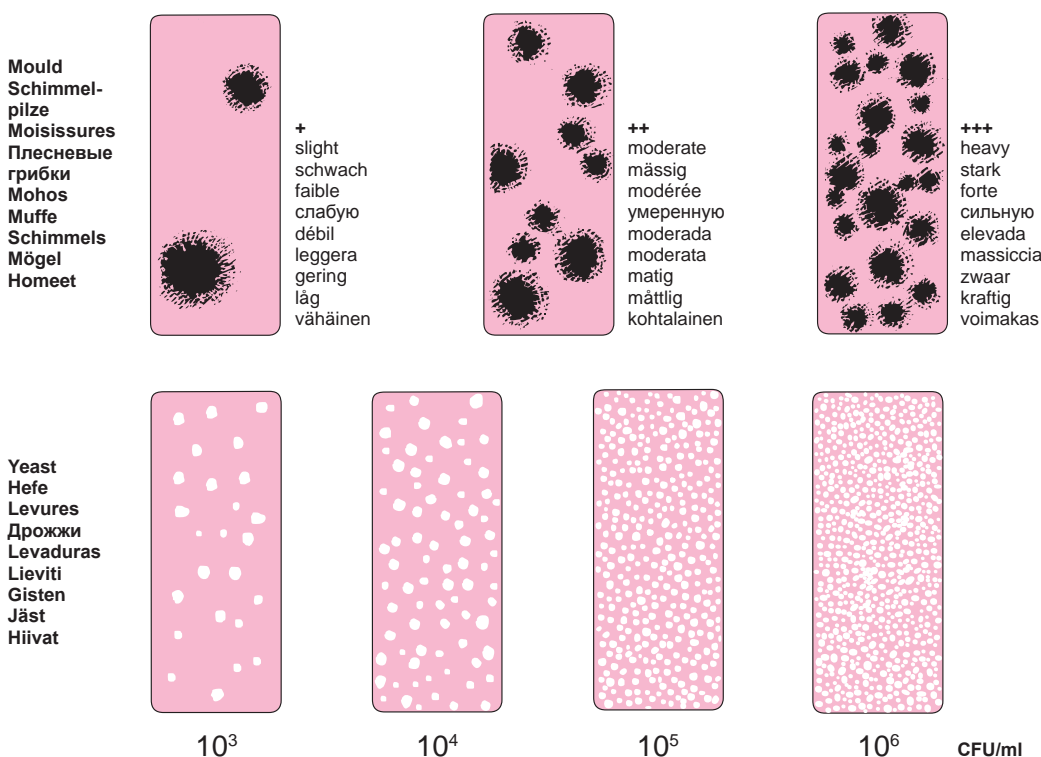
**Entsorgung**

Jede auf den Keimindikatoren wachsende Kolonie kann pathogen sein. Gebrauchte Keimindikatoren müssen deshalb durch Verbrennen, oder nach Öffnung des Röhrchens durch Autoklavieren (ein Dampfkeimer kann hierfür benutzt werden) vernichtet werden. Alternativ ist ein Einlegen in ein Desinfektionsmittel über Nacht möglich, wobei immer die örtlichen Gesetze und Verordnungen zu befolgen sind.

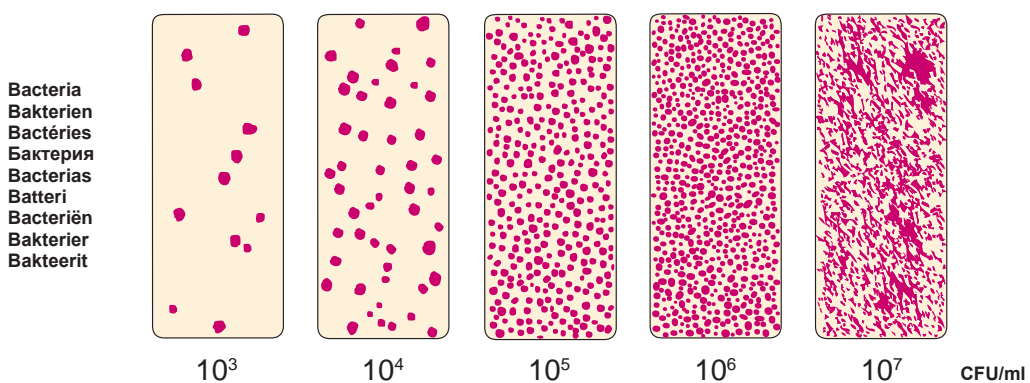


Model Density Chart • Auswertungstableau • Tableau de référence • Диаграмма сравнения частоты роста образца • Tabla comparativa • Tabella comparativa • Modelkaart • Tolkningsmall • Mallitaulu

Rose-Bengal Agar



TTC Agar



The charts provide the approximate microbial count in powers of ten.  
 Die Abbildungen zeigen die ungefähre Belastung in Zehnerpotenzen.  
 Les tableaux indiquent la concentration microbienne approximative en puissances de dix.  
 Диаграмма обеспечивает приблизительный подсчёт микробов с точностью до десяти.  
 La tabla comparativa muestra un recuento microbiano aproximado en potencias decimales.  
 Le tabelle forniscono il valore della carica microbica approssimata in potenze decimali.  
 De kaart geeft bij benadering de telling van het aantal micro-organismen aan in een veelvoud van 10.  
 Mallen anger den ungefärliga bakteriehalten i tal upphöjt till tio.  
 Mikrobimäärät ilmoitetaan mallitaulussa kymmenpotensseina.

Literature • Literatur • Littérature • Литература • Literatura • Letteratura • Literatuur  
 Litteratur • Kirjallisuus

1 Siegart W. The use of biocides with regard to the new Biocidal Products Directive – future aspects. Industrial Lubrication and Tribology. 2002; Vol 54, No. 3:136–140.

Explanation of symbols • Erläuterung der Symbole • Объяснение символов  
 Signification des symboles • Simbología • Legenda • Uitleg van de symbolen  
 Forklaring af symboler • Förklaring av symboler • Symbolien selitykset

Symbol	Description
LOT	Batch code
Hourglass	Expiry date
Factory	Manufacturer
06 PS	Tube (clear)
05 PP	Tube (mat)
04 PE-LD	Cap
06 PS	Slide

Easicult® is a registered trademark of Orion Diagnostica Oy.



Orion Diagnostica Oy  
 Koivu-Mankkaan tie 6 B  
 P.O.Box 83, FI-02101 Espoo, Finland  
 Tel. +358 10 4261, Fax +358 10 426 2794  
 www.oriondiagnostica.com



**Application**

Les tests Easicult Combi sont destinés au contrôle de la contamination microbienne dans différents environnements industriels. Les tests peuvent être utilisés sur site, mais les lames constituent également un mode de transport efficace pour les prélèvements.

La lame est recouverte d'un côté par une gélose TTC Agar (jaunâtre), qui permet le développement de la plupart des bactéries courantes. L'autre face est couverte d'une gélose Rose-Bengal Agar (rose) qui permet la croissance des moisissures.

La principale fonction du test est la détection d'une éventuelle élévation de la concentration microbienne totale.

**Contenu du kit**

<b>Easicult Combi</b>	<b>Cat. Nos. 67987, 05984</b>
Tests	10 pièces
Étiquettes	10 pièces
Instructions d'utilisation	1 pièce

**Formulation typique**

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Tryptone	Peptone
Peptone de soja	Dextrose
Disodium succinate	Phosphate de potassium hydrogène
Solution TTC	Sulfate de magnésium
Agar-agar	Chlorure de sodium
Eau	Rose Bengal
	Hydroxyde de sodium
	Sulfate de gentamycin
	Chloramphenicol
	Agar-agar
	Eau

**Recommandations et précautions**

Ne pas utiliser le produit au-delà de la date d'expiration indiquée sur le kit.

Ne pas toucher la gélose vierge.

Ne pas utiliser la lame si vous remarquez:

- une décoloration ou une déshydratation de la gélose
- un décollement de la gélose
- des traces de croissance microbienne.

Ne pas toucher les lames utilisées car les colonies microbiennes éventuellement présentes sur le test Easicult Combi peuvent se révéler pathogènes.

**Stockage**

Stocker les tests Easicult TTC à température ambiante (environ 20°C) à l'abri des courants d'air, des fluctuations de température et des sources de lumière. Éviter le stockage à proximité de matériel dégageant de la chaleur. Protéger du gel. La date d'expiration (année-mois-jour) est inscrite sur la boîte et sur le capuchon de chaque tube.

**Ensemencement et procédure (Fig. 1–5)**

Pour éviter toute contamination non souhaitée, la gélose ne doit pas entrer au contact de matériaux autres que celui à tester. En revanche il est important que la gélose entre entièrement en contact avec ce dernier.

**Fluides visqueux et fluides à concentration bactérienne élevée (>10<sup>7</sup> CFU/ml)**

Si la viscosité ou la concentration bactérienne de l'échantillon est élevée, l'échantillon doit être dilué. Pour la dilution, introduire 100 ou 1000 ml d'eau de ville potable dans une bouteille nettoyée, soigneusement rincée et séchée, munie d'un capuchon. La concentration bactérienne de l'eau de dilution ne doit pas dépasser 100 CFU/ml. Avant de remplir la bouteille, laisser couler l'eau pendant 5 minutes, ou la faire bouillir 15 minutes puis la laisser refroidir. A l'aide d'une pipette jetable propre, ajouter 1 ml de l'échantillon dans la bouteille. Fermer et mélanger énergiquement en secouant la bouteille environ 30 fois. Plonger la lame dans la dilution et procéder ensuite comme indiqué pour les échantillons liquides.

**Echantillons liquides**

- 1 Dévisser le tube et ôter la lame sans toucher les surfaces de gélose.
- 2 Tremper la lame dans le liquide. Il est également possible de mouiller la lame sous un filet de liquide ou pulvériser le liquide sur la lame. Si le liquide est sous pression, la lame doit être manipulée avec précaution pour éviter le décollement de la gélose. Si l'échantillon est dans un récipient, mélanger le contenu et y tremper la lame.  
Les deux faces de la lame doivent être totalement humidifiées. La lame doit rester en contact avec le fluide pendant 5 à 10 secondes.
- 3 Laisser l'excès de liquide s'écouler de la lame. Eponger les dernières gouttes au bas de la lame à l'aide de papier absorbant.
- 4 Après ensemencement, revisser soigneusement la lame dans le tube. Remplir l'étiquette et l'apposer sur le tube.

- 5 Laisser incuber la lame à 27...30°C pendant 24 à 48 heures pour la détection des bactéries. Les levures et moisissures nécessitent trois jours d'incubation avant que l'on puisse lire les résultats. Si l'incubation est réalisée à température ambiante, les temps d'incubation deviennent respectivement 2 à 4 jours et 4 à 7 jours.  
Si la température habituelle du fluide testé diffère de façon significative des températures d'incubation indiquées ci-dessus, on peut observer une croissance lente des bactéries. Une température d'incubation proche de la température habituelle du fluide est donc recommandée.

**Interprétation des résultats (Fig. 6)**

Avec précaution, ôter la lame de son tube après incubation et déterminer la concentration microbienne (nombre de colonies formant des unités, CFU) en comparant la densité de croissance sur la lame avec le tableau de référence. Il y a deux tableaux de référence différents pour la gélose TTC et la gélose Rose-Bengal.

Dans le cas où l'échantillon a été dilué, le facteur de dilution doit être pris en compte dans l'évaluation. Par exemple, si une dilution de 1+100 ml (1 ml d'échantillon dans 100 ml d'eau) montre une densité de 10<sup>8</sup> CFU/ml, le résultat réel pour l'échantillon est de 10<sup>6</sup> CFU/ml.

**Gélose Rose-Bengal, détection des moisissures**

La croissance sur la gélose Rose-Bengal peut être due exclusivement aux levures ou aux moisissures, ou à un mélange des deux. Les colonies de moisissures sont molles et duveteuses, généralement pâles, de couleur verte ou noire. Les levures donnent généralement des colonies en forme de dôme mais peuvent parfois être plates et sèches. Comme les colonies de moisissures peuvent être issues de fragments de mycelium ou de spores individuels, le tableau de référence n'est pas quantitatif. Le tableau indique si la contamination est légère (+), modérée (++) ou lourde (+++). Les colonies peuvent être ôtées des lames et examinées à l'aide d'un microscope si nécessaire. La contamination par moisissure peut parfois apparaître à l'œil nu comme une peau à la surface du fluide.

**TTC Agar, détermination de la concentration bactérienne totale**

La plupart des bactéries aérobies se développent sur la gélose TTC Agar sous la forme de colonies rouges. Les moisissures et levures peuvent également se développer lentement sur ce milieu. Même si la croissance bactérienne se présente presque toujours sous la forme de colonies rouges, toute colonie incolore doit également être prise en compte lorsque la densité est estimée. Dans le cas où de larges colonies apparaissent, il ne faut pas oublier de considérer la densité de colonies et non pas la taille des colonies individuelles.

Si la concentration bactérienne est très élevée (plus de 10<sup>7</sup> CFU/ml), la croissance est confluyente. Elle peut prendre l'apparence d'une surface rouge uniforme. Très rarement peut se produire une croissance totalement incolore. Il est conseillé de comparer les lames présentant une surface apparemment uniforme avec une lame vierge afin d'éviter toute erreur d'interprétation. Comme il n'existe pas de limites applicables de façon universelle, les valeurs limites doivent être déterminées par l'expérience. Pour la contamination bactérienne dans les liquides réfrigérants, les valeurs suivantes peuvent être utilisées:

Bactéries		
CFU/ml	Contamination	
< 10 <sup>4</sup>	faible	ne pose généralement pas problème <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> – 10 <sup>6</sup>	modérée	
> 10 <sup>6</sup>	lourde	

**Limites de la méthode**

Si la concentration bactérienne dépasse 10<sup>7</sup> CFU/ml, ou si la viscosité est élevée, l'échantillon doit être dilué.

Très rarement les bactéries se développent sur la gélose TTC sous la forme de colonies incolores.

La limite basse de détection fiable pour les bactéries est de 10<sup>3</sup> CFU/ml.

La croissance de certaines bactéries coccoides peut être affaiblie par la gélose TTC.

**Destruction**

Les croissances microbiennes sur les lames peuvent être pathogènes. Les lames utilisées doivent donc être détruites par incinération, ou, après ouverture du tube, par passage à l'autoclave (il est possible d'utiliser une cocotte minute), ou par immersion pendant une nuit dans un désinfectant, toujours en conformité avec les lois et réglementations locales.

**Easicult® Combi (Изикульт Комби)**

**Предназначение**

Слайды Easicult Combi предназначены для контроля микробной контаминации жидкостей и различных поверхностей на промышленных предприятиях.

Слайд-тест может быть использован непосредственно по назначению или может использоваться как удобная среда для транспортировки образцов.

Одна сторона слайд-теста покрыта агаром TTC (желтого цвета), который поддерживает рост наиболее общих бактерий и другая сторона слайда агаром Розовый Бенгальский (розового цвета), который поддерживает рост грибов.

Главное предназначение теста состоит в определении и подсчете общего количества аэробных бактерий.

**Состав набора**

<b>Easicult Combi</b>	<b>Кат № 67987, 05984</b>
Тест – слайды	10 штук
Наклейки	10 штук
Инструкция по использованию	1 штука

**Типичный состав**

Среды TTC	Среды Розовый Бенгальский
Триптон	Пептон
Соевый пептон	Декстроза
Соды сукцинат	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
TTC раствор	MgSO <sub>4</sub>
Агар-агар	Соды хлорид
Вода	Розовый бенгальский
	Соды гидрооксид
	Гентамицина сульфат
	Хлорамфеникол
	Агар-агар
	Вода

**Предупреждения и предосторожности**

Не используйте продукт после даты окончания срока хранения, отмеченной на комплекте.

Не трогайте неиспользованную среду, на которой есть признаки бактериального роста.

Не используйте слайды, если вы замечаете

- обесцвечивание или обезвоживание среды
- отделение агаризованной среды от пластиковой поверхности
- есть признаки микробного роста.

Поскольку любой рост на слайде Easicult Комби может быть патогенным, не прикасайтесь к использованному слайду.

**Условия хранения**

Тесты Easicult Combi хранятся при комнатной температуре (+20°C) в защищенном от света и высыхания месте. Избегайте хранения слайдов вблизи от нагревательных приборов. Не позволяйте замораживать тесты. Дата окончания срока годности (год-месяц-дата) отмечена на коробке и на крышке каждого слайда.

**Взятие пробы и процедура (Рис. 1–5)**

Чтобы избежать контаминации, поверхность среды не должна войти в контакт с любым другим материалом, кроме того, который будет тестируван. С другой стороны, важно, чтобы поверхность среды была в полном контакте с материалом, который будет тестируван.

**Вязкие жидкости или жидкости с высоким содержанием бактерий (> 10<sup>7</sup> КОЕ/мл)**

Если содержание бактерий в исследуемом образце превышает 10<sup>7</sup> КОЕ/мл, или плотность образца высокая, то образец необходимо развести. При разведении поместите 100 или 1000 мл водопроводной воды в чистую, и сухую емкость с крышкой. Вода используемая для разведения должна содержать не более 100 бактерий/ мл. Необходимо, чтобы вода из крана стекала в течение 5 минут до забора для разведения, или ее можно прокипятить в течение 15 минут, а затем охладить. Используя чистую (одноразовую) пипетку добавьте 1 мл тестируемого образца, закройте крышку и смешайте осторожно с помощью встряхивания в течение 30 раз. Погрузите слайд в разведенный образец и произведите все процедуры, как описано для жидких образцов.

**Жидкие образцы**

- 1 Откройте контейнер и выньте осторожно слайд не прикасаясь к поверхности агара.
- 2 Погрузите слайд в исследуемую жидкость. Альтернативно, смочите слайд под струей с исследуемой жидкостью или спрея. Если жидкость не исследуется под давлением, слайд следует смачивать осторожно, чтобы исключить отделение агара. Если образец в контейнере, то перемешайте содержимое контейнера и погрузите в него слайд.  
Обе поверхности агара должны быть полностью смочены. Слайд должен контактировать с жидкостью в течение 5–10 секунд.
- 3 Позвольте избытку жидкости стечь с поверхности слайда. Чтобы убрать последние капли образца, поместите нижний конец слайда на чистую фильтровальную бумагу.
- 4 После взятия образца, осторожно поместите слайд в трубу и закройте крышку. Сделайте учетную запись на стикере и приклейте его на трубу.

- 5 Инкубируйте слайды при температуре 27...30°C в течение 24–48 часов для определения бактерий. Дрожжи и плесени нуждаются в трех днях инкубации до того момента, когда результаты могут быть прочитаны. Если инкубация происходит при комнатной температуре, то результаты можно оценить на 2–4 сутки и 4–7 сутки соответственно.

Если нормальная температура тестируемой жидкости существенно отличается от инкубационной температуры, указанной выше, то это может привести к медленному бактериальному росту. Рекомендуется инкубировать слайды при температуре соответствующей температуре, при которой обычно находится тестируемая жидкость.

**Интерпретация результатов (Рис. 6)**

После инкубации выньте слайд из трубы и определите бактериальный рост (число колонии, колоние - формирующие единицы, КОЕ) путем сравнения частоты (плотности) роста колоний на вашей среде с приведенными данными на модельной картинке в инструкции. Имеется отдельный модельный ряд для TTC и Розового Бенгальского.

Если было произведено разведение образца, фактор разведения следует принимать во внимание при оценке результатов. К примеру, если 1 мл образца добавлен к 100 мл воды и после инкубации было определено 10<sup>6</sup> КОЕ/мл, значит истинный результат содержания бактерий 10<sup>8</sup> КОЕ/мл.

**Розовый бенгальский агар для определения дрожжей и плесеней**

Рост колоний, на данной стороне слайда может состоять из грибов, либо из дрожжей, либо из комбинации того и другого. Грибы дают колонии мягкие и в виде пуха, цвет колоний может быть бледный, зеленый или черный. Дрожжи дают шарообразные блестящие колонии, но иногда они могут быть плоскими и сухими.

Поскольку колонии грибов могут состоять из фрагментов мицелия или из индивидуальных спор, получаемые результаты не количественные, а качественные. Они показывают слабую (+), умеренную (++) или сильную (+++) контаминацию. Колонии можно более подробно оценить под микроскопом. Грибная инфекция может быть обнаружена невооруженным взглядом, в виде пленки, покрывающей поверхность тестируемой жидкости.

**TTC агар для определения общего бактериального числа.**

Практически все аэробные бактерии растут на среде TTC и дают красные колонии. Грибы и дрожжи также могут расти на данной среде, только медленно. Большинство бактерий на данной среде дают колонии красного цвета, однако в случае если также имеются бесцветные колонии, то их также необходимо учитывать при оценке плотности роста. В случае, когда вырастают большие по размеру колонии, следует обращать внимание на их количество, а не на размер.

Если бактерий очень много (свыше 10<sup>7</sup> КОЕ/мл), то наблюдается сливной бактериальный рост. Это может выглядеть, как полностью красная поверхность агара. Очень редко бывает полностью бесцветный рост. В данной ситуации рекомендуется произвести сравнение инкубированного слайда с одним из неиспользованных, чтобы исключить неверное истолкование результата. Так как нет универсальных уровней по оценке роста колоний, предел уровней определяется опытным путем на практике. Для бактериальной контаминации может быть использована следующая общая рекомендация:

Бактерия		
CFU/ml	Инфицированность	
< 10 <sup>4</sup>	слабая	обычно нет проблем <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> – 10 <sup>6</sup>	средняя	
> 10 <sup>6</sup>	сильная	

**Ограничения метода**

Если при подсчете бактериальный рост превышает 10<sup>7</sup> КОЕ/мл, или исследуемый раствор имеет высокую вязкость, образец должен быть растворен.

Очень редкие бактерии растут на среде TTC как бесцветные колонии.

Приемлемый нижний определяемый предел для бактерий – 10<sup>3</sup> КОЕ/ мл.

Рост некоторых кокковых бактерий может быть ослаблен TTC.

**Утилизация используемых слайдов**

Любой рост бактерий на слайде может быть патогенным. Используемые слайды должны быть утилизированы посредством сжигания или после открытия трубы, также уничтожения в автоклаве (можно также использовать прессование) или погружением в дезинфицирующий раствор, всегда следуя нормативам местного законодательства и регулирования.

**Uso**

Los laminocultivos Easicult Combi son usados para analizar la contaminación bacteriana de diferentes ambientes en la industria. El test puede realizarse "in-situ", y también puede ser un sistema apropiado para el transporte de muestras.

El laminocultivo está cubierto por un lado con Agar TTC (amarillo), que permite el crecimiento de la mayoría de las bacterias, y por el otro lado está cubierto con Agar Rosa de Bengala (rosa) para el crecimiento de mohos y levaduras.

La principal ventaja del test es que se puede detectar cantidades elevadas de bacterias.

**Contenido del kit**

Easicult Combi	Cat. Nos. 67987, 05984
Laminocultivos	10 und
Etiquetas	10 und
Instrucciones	1 und

**Formulación típica**

Agar TTC	Agar Rosa-Bengala
Triptona	Peptona
Peptona de Soja	Dextrosa
Succinato disódico	Hidrogenfosfato de Potasio
Solución TTC	Sulfato de Magnesio
Agar-agar	Cloruro sódico
Agua	Rosa Bengala
	Hidróxido sódico
	Sulfato de Gentamicina
	Cloramfenicol
	Agar-agar
	Agua

**Precauciones**

No usar el producto después de la fecha de caducidad indicada en la caja.

No tocar el medio sin usar.

No usar el kit si detecta:

- decoloración o deshidratación del medio de crecimiento
  - desprendimiento del medio de crecimiento del soporte plástico
  - evidencia de crecimiento microbiano.
- No tocar el crecimiento en los Laminocultivos ya que cualquiera de las colonias pueden ser patógenas.

**Almacenaje**

Almacenar el kit a temperatura ambiente (aprox. 20°C/68°F) protegidos de la luz, corrientes de aire y fluctuaciones de temperatura. No almacenar los kits cerca de fuentes de calor. No congelar el kit. La fecha de caducidad (año-mes-fecha) viene impresa en cada caja y en cada lámina.

**Muestreo y procedimiento (Fig. 1–5)**

Para evitar contaminación, el medio de crecimiento no debe ponerse en contacto con otro material que no sea el material objeto de análisis. Es importante que el medio de crecimiento entre plenamente en contacto con el material a analizar.

**Líquidos viscosos y líquidos con elevado contenido bacteriano (>10<sup>7</sup> CFU/ml)**

Si la viscosidad o el contenido bacteriano es elevado, la muestra debe ser diluida. Para diluir poner 100 o 1000 ml de agua del grifo en una botella con tapón, limpia, bien enjuagada y seca. El contenido bacteriano del agua para diluir no debe ser superior a 100 CFU/ml. Antes de llenar la botella, dejar correr el agua durante 5 minutos o hierva el agua durante 15 minutos y déjela enfriar. Use una pipeta limpia (desechable), añada 1 ml de la muestra a la botella. Cierre la botella y mézclela completamente sacudiéndola unas 30 veces. Introduzca el laminocultivo en esta disolución y proceda como se indica para muestras líquidas.

**Muestras líquidas**

- 1 Desensrosque el tapón y saque el laminocultivo sin tocar la superficie del agar.
- 2 Introduzca el laminocultivo en el líquido. O bien, mojar el laminocultivo poniéndolo bajo la corriente del líquido o rociar el líquido por la superficie. Si el líquido se encuentra bajo presión, el laminocultivo debe ser manipulado con cuidado para evitar que el agar se desprenda. Si la muestra se encuentra en un recipiente, mezcle el contenido y sumerja el laminocultivo dentro. Los dos lados del laminocultivo deben quedar completamente mojados. El laminocultivo debe estar en contacto con el líquido durante 5 o 10 segundos.
- 3 Dejar que el exceso de líquido fluya por el laminocultivo. Seque las últimas gotas de la punta del laminocultivo con papel absorbente.
- 4 Después del muestreo, introduzca el laminocultivo de nuevo en el tubo. Rellene la etiqueta y engánchela en el tubo.

- 5 Incubar el laminocultivo a 27...30°C (80...86°F) durante 24–48 horas para la detección de bacterias. Los mohos y levaduras necesitan tres días de incubación antes de poder realizar la lectura del resultado. Si la incubación se realiza a temperatura ambiente, el tiempo de incubación es de 2–4 días y 4–7 días respectivamente.

Si la temperatura normal del líquido analizado varía substancialmente de las temperaturas de incubación, puede provocar un crecimiento lento de las bacterias. Se recomienda una temperatura de incubación cercana a la temperatura del líquido.

**Interpretación de los resultados (Fig. 6)**

Después de la incubación sacar con cuidado el laminocultivo y contar las bacterias (número de unidades formadoras de colonias, CFU) comparando la densidad del crecimiento del laminocultivo con las fichas modelos de crecimiento. Ver las diferentes fichas para TTC y Rosa-Bengala.

Si la muestra es diluida, se tiene que tener en cuenta el factor de dilución para calcular el resultado. Por ejemplo, si la dilución de 1 + 100 ml (1 ml de muestra en 100 ml de agua) muestra una densidad de 10<sup>6</sup> CFU/ml, el resultado de la muestra será de 10<sup>8</sup> CFU/ml.

**Medio Rosa-Bengala , determinación de mohos y levaduras**

El crecimiento en el Agar Rosa-Bengala consiste exclusivamente en mohos o levaduras o una mezcla de los dos. Los mohos aparecen como colonias suaves y blandas y normalmente pálidas de color verde o negro. Las levaduras tienen forma de bola ligeramente hinchada, aunque en ocasiones aparecen planas y secas. Dado que las colonias de mohos pueden originarse de fragmentos de micelio o bien por esporas individuales, la carta modelo no es cuantitativa. La carta indica si la contaminación es débil (+), moderada (++) o elevada (+++). Las colonias pueden ser retiradas de la superficie del agar y examinadas bajo un microscopio si es necesario. La contaminación por mohos a veces puede observarse directamente sobre la superficie del líquido.

**Agar TTC, recuento de bacterias totales**

La mayoría de las bacterias aerobias crecen en el medio TTC como colonias rojas. Los mohos y las levaduras pueden también crecer lentamente en el medio. A pesar que el crecimiento bacteriano suele ser casi siempre como colonias rojas, cualquier colonia incolora debe ser tomada en cuenta cuando se estima la densidad. En caso de aparecer colonias grandes, se tiene que considerar la densidad de las colonias, no el tamaño de las colonias individuales. Si el recuento bacteriano es muy elevado (más de 10<sup>7</sup> CFU/ml), hay una concurrencia en el crecimiento de las bacterias. Esto provoca que la superficie del laminocultivo sea uniformemente roja. Raramente puede producirse un crecimiento totalmente incoloro. Se recomienda comparar los laminocultivos que muestran una superficie uniforme con un laminocultivo sin usar para evitar equivocaciones. Como no existen límites universales aplicables, los valores límites tienen que determinarse con la experiencia. Para la contaminación bacteriana en líquidos refrigerados, se debe seguir la siguiente guía:

Bacterias		
CFU/ml	Contaminación	
< 10 <sup>4</sup>	débil	normalmente sin problemas <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	moderada	
> 10 <sup>6</sup>	fuerte	no aceptable <sup>1</sup>

**Limitaciones del método**

Si el recuento bacteriano excede de 10<sup>7</sup> CFU/ml, o la viscosidad es elevada, la muestra debe ser diluida.

En muy pocas ocasiones puede producirse un crecimiento bacteriano con colonias incoloras en el medio TTC.

El Límite inferior de Cuantificación de confianza para bacterias es de 10<sup>3</sup> CFU/ml.

El crecimiento de ciertas bacterias cocales puede ser debilitado por el TTC.

**Eliminación**

Cualquier crecimiento en el laminocultivo puede ser patógeno. Los laminocultivos usados deben ser eliminados mediante incineración o, después de abrir el tubo, llevar al autoclave (también puede usarse una olla a presión) o sumergirlo en desinfectante durante toda la noche, siempre siguiendo las normativas locales.

**Indicazioni d'uso**

Le lastrine Easicult Combi sono state sviluppate per il monitoraggio della contaminazione batterica in vari settori industriali. Il test può essere eseguito direttamente sul posto, oppure le lastrine possono essere usate come terreno adatto per il trasporto dei campioni.

La lastrina è ricoperta su un lato da Agar TTC (giallo) che supporta la crescita dei batteri più comuni, sull'altro da Agar Rose-Bengal (Rosa) che supporta la crescita di muffe e lieviti. La caratteristica principale di questo test è la capacità di determinare l'innalzamento delle conte batteriche totali.

**Contenuto del kit**

Easicult Combi	Cat. Nos. 67987, 05984
Tests	10 pezzi
Etichette	10 pezzi
Istruzioni per l'uso	1 pezzo

**Formulazione tipica**

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Tryptone	Peptone
Soy peptone	Dextrose
Disodium succinate	Potassium hydrogen phosphate
TTC solution	Magnesium sulphate
Agar-agar	Sodium chloride
Water	Rose Bengal
	Sodium hydroxide
	Gentamycin sulphate
	Chloramphenicol
	Agar-agar
	Water

**Avvertenze e precauzioni**

Non usare il prodotto oltre la data di scadenza riportata sul kit. Non toccare il terreno di coltura.

Non utilizzare la lastrina se si nota:

- colorazione o disidratazione del terreno di coltura
- distacco del terreno di coltura dalla lastrina di plastica
- crescita microbica evidente.

Poiché la crescita sulla lastrina Easicult Combi può essere patogena, non toccare la lastrina usata.

**Stoccaggio**

Stoccare Easicult Combi a temperatura ambiente (circa 20°C), proteggere da correnti d'aria, fluttuazioni di temperatura e sorgenti di luce. Evitare lo stoccaggio nelle vicinanze di sorgenti di calore. Non congelare. La data di scadenza (anno-mese-giorno) è riportata sulla scatola e sul tappo di ogni lastrina.

**Campionamento e procedimento (Fig. 1–5)**

Per evitare contaminazioni, il terreno di coltura non deve entrare in contatto con altri materiali oltre quello da testare. D'altra parte è importante che il terreno di coltura venga posto completamente a contatto con il materiale da testare.

**Fluidi viscosi e fluidi con elevata conta batterica (>10<sup>7</sup> CFU/ml)**

Se la viscosità o la conta batterica del campione sono elevate, diluire il campione. Per la diluizione porre in una bottiglia pulita con tappo, accuratamente risciacquata e asciugata 100 ml. o 1.000 ml. di acqua potabile. La conta batterica dell'acqua di diluizione non deve superare 100 CFU/ml. Prima di riempire la bottiglia, lasciare scorrere l'acqua per 5 minuti oppure bollirla per 15 minuti e lasciarla raffreddare. Usare una pipetta pulita (monouso), aggiungere alla bottiglia 1 ml. del campione. Chiudere e miscelare accuratamente agitando la bottiglia circa 30 volte. Immergere la lastrina nel campione diluito e procedere come descritto per i campioni fluidi.

**Campioni fluidi**

- 1 Svitare il tubo ed estrarre la lastrina senza toccare le superfici dell'agar.
- 2 Immergere la lastrina nel liquido. In alternativa, porre la lastrina sotto il flusso del liquido o spruzzare il liquido sulla lastrina. Se il liquido è sotto pressione, maneggiare la lastrina con cura per evitare il distacco dell'agar. Se il campione si trova in un contenitore, miscelare il contenuto e immergerlo nella lastrina. Gli agar devono essere completamente bagnati su entrambi i lati. La lastrina deve rimanere in contatto con il fluido per 5–10 secondi.
- 3 Lasciar scorrere dalla lastrina il fluido in eccesso. Assorbire le ultime gocce dal lato inferiore della lastrina mediante carta assorbente.
- 4 Dopo il rilievo del campione riporre la lastrina nel tubo avvitandola accuratamente. Compilare l'etichetta ed incollarla sul cilindro.

**5 Incubare le lastrine a 27...30°C per 24–48 ore per la determinazione dei batteri. Lieviti e muffe hanno bisogno di tre giorni di incubazione prima che si possano leggere i risultati. Se l'incubazione viene condotta a temperatura ambiente il tempo di incubazione è rispettivamente di 2–4 giorni e 4–7 giorni.**

Se la temperatura normale del fluido testato è molto differente dalle temperature indicate si può avere una crescita lenta dei batteri. Si raccomanda una temperatura vicina alla normale temperatura del fluido.

**Interpretazione dei risultati (Fig. 6)**

Rimuovere accuratamente la lastrina dal tubo dopo l'incubazione e determinare la conta batterica (numero di unità formanti colonie, CFU) confrontando la densità della crescita sulla lastrina con la tabella di riferimento. Si noti che vi sono due tabelle di referenza separate per il TTC ed il Rose-Bengal.

Se il campione è stato diluito bisogna tenere conto del fattore di diluizione nella valutazione. Per esempio se una diluizione di 1 + 100 (1 ml. del campione in 100 ml. di acqua) mostra una densità di 10<sup>6</sup> CFU/ml, il risultato reale del campione è 10<sup>8</sup> CFU/ml.

**Terreno Rose-Bengal, determinazione dei funghi**

La crescita che appare sulla lastrina può essere esclusivamente di lieviti o muffe o una crescita mista di entrambi. Le colonie di muffe sono soffici e lanuginose e normalmente di colore chiaro, verde o nero. I lieviti normalmente crescono in colonie a forma di cupola, ma a volte possono essere piatte e asciutte. Le colonie di lieviti sono spesso rosse o bianche. Poiché le colonie di muffe possono essere originate da frammenti di micelio o da spore individuali, la tabella di referenza non è quantitativa. La tabella indica se la contaminazione è leggera (+), moderata (++) o massiccia (+++). Le colonie, se occorre, possono essere rimosse dalle lastrine e esaminate al microscopio. La contaminazione fungina appare a volte a occhio nudo come un rivestimento su una superficie fluida.

**Agar TTC, determinazione della conta batterica totale**

La maggior parte dei batteri aerobi crescono su Agar TTC come colonie rosse. Le muffe e lieviti possono anche crescere lentamente su questo terreno. Quando si esegue la valutazione della densità, bisogna prendere in considerazione anche le colonie incolori, anche se la crescita batterica, di solito, avviene sotto forma di colonie rosse. Nel caso siano presenti delle colonie di maggiori dimensioni bisogna tener conto della densità delle colonie e non della loro dimensione.

Se la conta batterica è molto elevata (maggiore di 10<sup>7</sup> CFU/ml) si verifica una crescita confluyente. Questo può apparire come un strato superficiale uniforme di colore rosso. Molto raramente si verifica una crescita completamente incolora. Si consiglia di confrontare le lastrine che presentano una superficie apparentemente uniforme con una lastrina nuova per evitare errori di interpretazione.

Poiché non esistono limiti applicabili universalmente, i valori limite devono essere determinati sulla base dell'esperienza. Nel caso della contaminazione batterica dei lubrificanti, possono essere usate le seguenti indicazioni:

Batteri		
CFU/ml	Contaminazione	
< 10 <sup>4</sup>	leggera	normalmente non ci sono problemi <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	moderata	
> 10 <sup>6</sup>	elevata	non accettabile <sup>1</sup>

**Limiti del metodo**

Se la conta batterica eccede 10<sup>7</sup> CFU/ml, o la viscosità è elevata, occorre diluire il campione.

Molto raramente i batteri crescono sul terreno TTC come colonie incolori

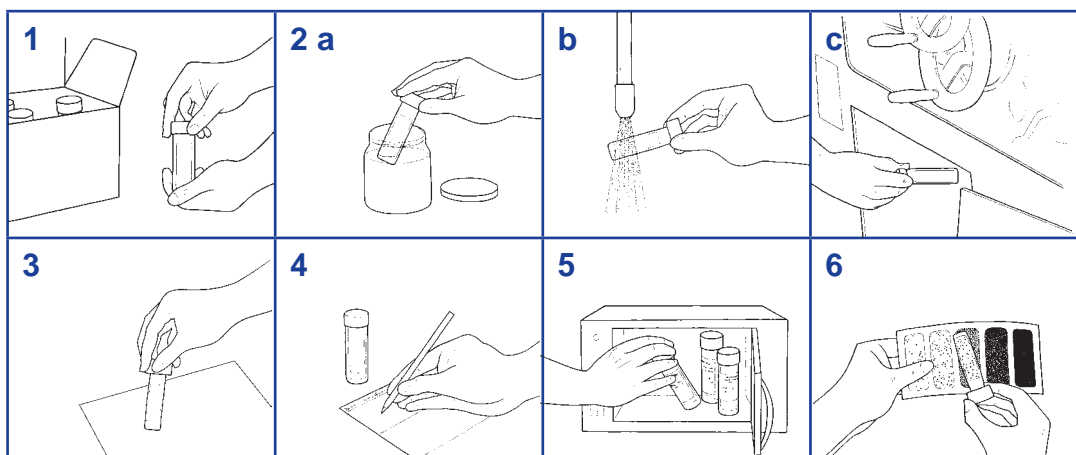
Il limite inferiore attendibile di rilevazione dei batteri è 10<sup>3</sup> CFU/ml.

La crescita di alcuni batteri cocchi può essere indebolita dal TTC.

**Smaltimento**

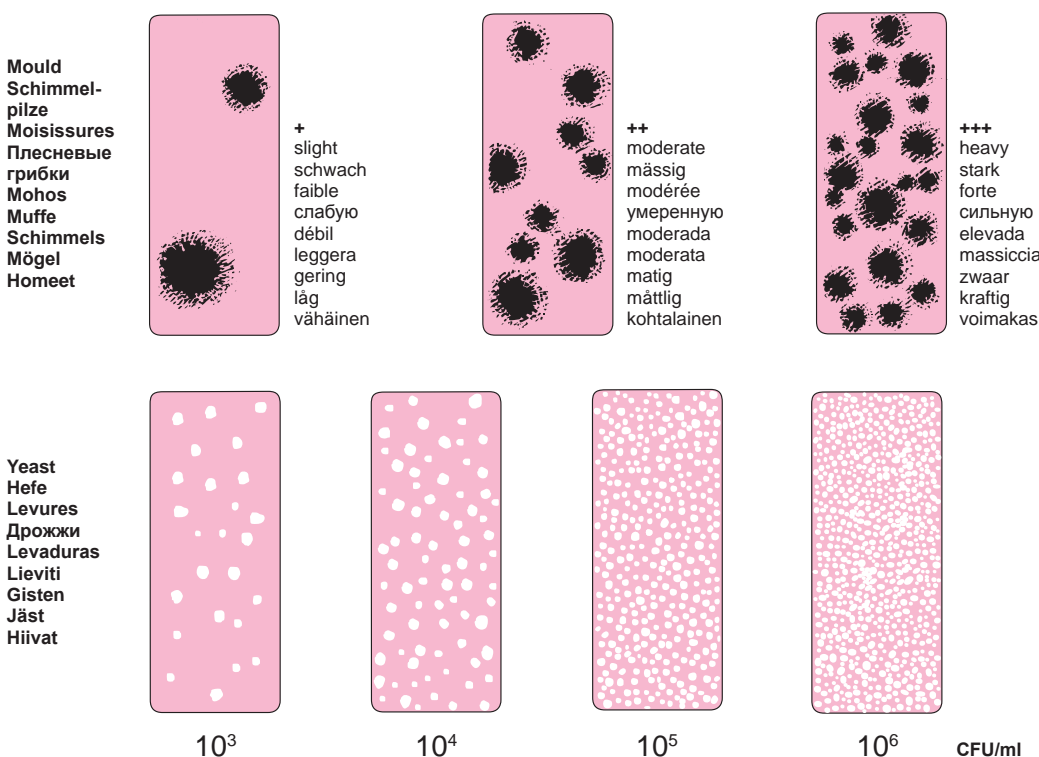
Qualunque crescita sul terreno può essere patogena. Le lastrine usate devono pertanto essere smaltite tramite incenerimento o, dopo aver aperto il tubo, tramite autoclave (può essere usata una pentola a pressione) o per immersione in un disinfettante per una notte, seguendo sempre le leggi e i regolamenti locali.



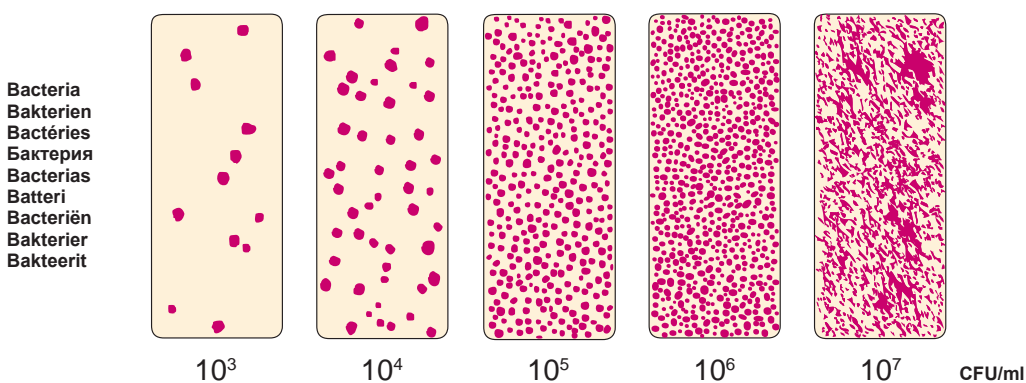


Model Density Chart • Auswertungstabelle • Tableau de référence • Диаграмма сравнения частоты роста образца • Tabla comparativa • Tabella comparativa • Modelkaart • Tolkningsmall • Mallitaulu

Rose-Bengal Agar



TTC Agar



The charts provide the approximate microbial count in powers of ten.  
Die Abbildungen zeigen die ungefähre Belastung in Zehnerpotenzen.  
Les tableaux indiquent la concentration microbienne approximative en puissances de dix.  
Диаграмма обеспечивает приблизительный подсчёт микробов с точностью до десяти.  
La tabla comparativa muestra un recuento microbiano aproximado en potencias decimales.  
Le tabelle forniscono il valore della carica microbica approssimata in potenze decimali.  
De kaart geeft bij benadering de telling van het aantal micro-organismen aan in een veelvoud van 10.  
Mallen anger den ungefärliga bakteriehalten i tal upphöjt till tio.  
Mikrobimäärät ilmoitetaan mallitaulussa kymmenpotensseina.

Beoogd gebruik

Easicult Combi dipslides zijn ontwikkeld voor het vaststellen van microbiologische verontreiniging in verschillende industriële vloeistoffen. De test kan op locatie worden uitgevoerd, of de dipslides kunnen worden gebruikt als gemakkelijk transportmiddel voor micro-organismen. De dipslide is aan één zijde bedekt met een TTC Agar (geelachtig) die de groei van de meest gangbare bacteriën bevordert, en aan de andere kant met Rose-Bengal Agar (roze), die de groei van schimmels bevordert. De voornaamste eigenschap van de test is dat de aanwezigheid van het totaal aantal micro-organismen kan worden bepaald.

Inhoud van de kit

Easicult Combi	Cat. Nos. 67987, 05984
Dipslides	10 st.
Labels	10 st.
Gebruiksaanwijzing	1 st.

Karakteristieke formulering

TTC Agar	Rose Bengal Agar
Tryptoon	Pepton
Soja Pepton	Dextrose
Dinatrium succinaat	Kalium hydrogeen fosfaat
TTC oplossing	Magnesium sulfaat
Agar-agar	Natrium chloride
Water	Rose Bengal
	Natrium hydroxide
	Gentamycin sulfaat
	Chloramphenicol
	Agar-agar
	Water

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Product niet gebruiken na de op de doos aangegeven houdbaarheidsdatum.  
Ongebruikte voedingsbodem niet aanraken.  
Dipslide niet gebruiken wanneer:  
• verkleuring of uitdroging van de voedingsbodem wordt geconstateerd  
• de voedingsbodem van de dipslide losgelaten is  
• bacteriële groei zich reeds ontwikkeld heeft.  
Omdat de groei op de Easicult Combi dipslide ziekteverwekkend kan zijn, moet men de gebruikte dipslide niet aanraken.

Opslag

Bewaer de Easicult Combi kit bij kamertemperatuur (ong. 20°C). Bescherm het product tegen tocht, temperatuurswisselingen en lichtbronnen. Vermijd opslag nabij warmtegevend apparaten. Niet laten bevriezen. De houdbaarheidsdatum (jaar-maand-dag) is aangegeven op de doos en op de dop van elke dipslide.

Bemonsteren en werkwijze (Fig. 1–5)

Om verontreiniging te voorkomen mag de voedingsbodem niet in contact komen met enig ander materiaal dan het te testen materiaal. Daarentegen is het belangrijk dat de voedingsbodem volledig in contact komt met het te testen materiaal.

Viscose vloeistoffen en vloeistoffen met een hoge concentratie bacteriën (>10<sup>7</sup> KVE/ml)

Indien de viscositeit of de concentratie bacteriën in het monster hoog is, zal het monster verdund moeten worden. Om het monster te verdunnen, neem 100 of 1000 ml drinkbaar kraanwater in een schone, goed gereinigde en droge fles met dop. Het bacteriën aantal van het water dat gebruikt wordt voor de verdunning mag 100 KVE/ml niet overschrijden. Laat het water 5 minuten uit de kraan stromen of kook het 15 minuten en laat daarna afkoelen, alvorens de fles te vullen. Gebruik een schone (wegwerp) pipet en voeg hiermee 1 ml van het monster toe aan de fles. Sluit de fles en schud de fles grondig door de verdunning ongeveer 30 keer te schudden. Dompel de dipslide in de verdunning en ga verder als beschreven voor vloeibare monsters.

Vloeibare monsters

- Schroef de buisje los en haal de dipslide er uit zonder de agar oppervlakte aan te raken.
- Dompel de dipslide in de vloeistof. Als alternatief kan de voedingsbodem onder het stromende water worden afgespoeld worden. Indien de vloeistof onder druk staat, dient de dipslide niet zorgvuldig te worden losgelaten van de agar te voorkomen. Indien het te bemonsteren materiaal zich in een container bevindt, zorg er dan voor dat de inhoud goed gemixt wordt en dompel daarna de dipslide erin. Beide agar kanten moeten volledig nat worden. De dipslide moet 5 tot 10 seconden in contact komen met de vloeistof.
- Laat overvloedige vloeistof van de dipslide afdruipe. Dep de laatste resten aan de onderkant van de dipslide op absorberend papier.
- Schroef de dipslide na het testen stevig terug in het buisje. Vul het label in en plak het op het buisje.

- Bebroed de buis 24–48 uur bij 27...30°C om het aantal bacteriën vast te stellen. Gisten en schimmels hebben drie dagen bebroeding nodig voor het resultaat afgelezen kan worden. Als de bebroeding bij kamertemperatuur plaatsvindt zijn de bebroedingstijden respectievelijk 2–4 en 4–7 dagen. Als de normale temperatuur van de geteste vloeistof sterk verschilt van de bovengenoemde bebroedingstemperaturen, kan dit leiden tot een langzamere groei van bacteriën. Een bebroedingstemperatuur dicht bij de normale temperatuur van de vloeistof wordt dan aangeraden.

Aflesen en interpreteren (Fig. 6)

Verwijder de dipslide na de bebroeding voorzichtig uit het buisje en bepaal de concentratie micro-organismen (aantal kolonie vormende eenheden, KVE) door de dichtheid van de groei op de dipslide te vergelijken met de dichtheid op de modelkaart. Let op de verschillende modelkaarten voor TTC en Rose Bengal. Als het monster verdund is, moet er in de evaluatie rekening gehouden worden met de verdunningsfactor. Als bijvoorbeeld een verdunning van 1 + 100 ml (1 ml van het monster in 100 ml water) een dichtheid van 10<sup>6</sup> KVE/ml laat zien, is het werkelijke resultaat voor het monster 10<sup>8</sup> KVE/ml.

Rose Bengal middel, bepaling van schimmels

De groei op de Rose-Bengal Agar kan alleen uit gist bestaan, alleen uit schimmel of een mix hiervan. Schimmelkolonies zijn zacht en pluizig en gewoonlijk bleek, groen of zwart van kleur. Gisten groeien gewoonlijk in wat verheven kolonies, maar kunnen soms ook plat en droog zijn. Omdat schimmelkolonies kunnen ontstaan uit mycelium fragmenten of uit individuele sporen, is de modelkaart niet kwantitatief. De kaart duidt aan of de besmetting gering (+), matig (++) of zwaar (+++) is. Kolonies kunnen van de voedingsbodem worden genomen en onder een microscoop worden onderzocht indien dit noodzakelijk is. Schimmelverontreiniging is soms zichtbaar met het blote oog als een laag op de vloeistofoppervlakte.

TTC Agar, bepaling van de totale concentratie bacteriën

De meeste aëroë bacteriën groeien op TTC Agar als rode kolonies. Schimmels en gisten kunnen ook langzaam groeien op dit medium. Ondanks dat bacteriële groei bijna altijd in de vorm van rode kolonies te zien is, moeten eventuele kleurloze kolonies ook meegeteld worden wanneer men de dichtheid van de kolonies gaat schatten. In het geval dat grote kolonies aanwezig zijn, moet in gedachten gehouden worden dat de koloniedichtheid, niet de grootte van individuele kolonies, in aanmerking genomen moet worden. Als het aantal bacteriën erg hoog is (meer dan 10<sup>7</sup> KVE/ml), is de groei samenvloeiend. Dit kan zich voordoen als een uniforme rode oppervlaktelaag. Af en toe is er een totale kleurloze groei. Het is aan te raden om dipslides die een schijnbaar uniform oppervlak vertonen te vergelijken met een ongebruikte dipslide om een verkeerde interpretatie te voorkomen. Daar er in het algemeen niet is aan te geven welke aantallen (grenswaarden) goed of slecht zijn, zullen grenswaarden door ervaring bepaald moeten worden. Voor bacteriële verontreinigingen in koelvloeistoffen kan de volgende richtlijn aangehouden worden:

Bacteriën		
CFU/ml	Besmetting	
< 10 <sup>4</sup>	geringe	gewoonlijk geen problemen <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	matige	
> 10 <sup>6</sup>	zware	

Beperkingen van de methode

Indien het bacteriën aantal hoger is dan 10<sup>7</sup> KVE/ml, of bij een hoge viscositeit, zal het monster moeten worden verdund. Af en toe groeien de bacteriën op het TTC medium als kleurloze kolonies. De laagste betrouwbaarheidsvaststellingsgrens voor bacteriën is 10<sup>3</sup> KVE/ml. De groei van sommige coccoïde bacteriën kan door TTC worden afgezwakt.

Vernietigen

De groei op de dipslide kan ziekteverwekkend zijn. Daarom moeten de gebruikte dipslides vernietigd zijn door middel van verbranding, of na het openen van het buisje, ofwel door autoklaveren (hiervoor kan een snelkookpan gebruikt worden), ofwel door het herdoempelen in desinfectiemiddel gedurende een nacht, waarbij altijd de lokale wettelijke bepalingen en geldende regels in acht worden genomen.

## Easicult® Combi

**Bruksanvisning • Svenska**

### Avsedd användning

Easicult Combi slider är avsedda för kontroll av mikrobiologisk förorening i olika industriella omgivningar. Testet kan utföras på plats, alternativt användas som bekvämt transportsystem för prover.

Sliden är på en sida täckt med TTC Agar (gulaktig), vilken gynnar växt av de vanligaste bakterierna. Den andra sidan har Rose-Bengal Agar (rosa), vilken gynnar växt av svamp. Den främsta användningen av testet är att förhöjda totala mikrobiella halter kan upptäckas.

### Innehåll I förpackningen

Easicult Combi	Cat. Nos. 67987, 05984
Testslider	10 st
Etiketter	10 st
Bruksanvisning	1 st

### Sammansättning

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Trypton	Pepton
Sojapepton	Glukos
Dinatriumsuccinat	Kaliumvätefosfat
TTC lösning	Magnesiumsulfat
Agar-agar	Natriumklorid
Vatten	Rose Bengal
	Natriumhydroxid
	Gentamycinsulfat
	Chloramphenicol
	Agar-agar
	Vatten

### Att tänka på

Använd inte produkten efter passerat utgångsdatum märkt på förpackningen.

Vidrör ej de oanvända tillväxtmedierna.

Använd inte testerna om du noterar

- missfärgning eller intorkning av tillväxtmediet
- att tillväxtmedierna lossnat från plastsliden
- förekomst av mikrobiell växt.

Vidrör ej använd Easicult Combi slide, då all växt på sliden kan vara patogen.

### Förvaring

Förvara Easicult Combi i rumstemperatur (ca 20°C) i skydd från drag, temperaturväxlingar och ljuskällor. Undvik förvaring i närheten av värmekällor. Testerna får ej frysa.

Utgångsdatum (år-månad-dag) är märkt på förpackningen och på korken till varje rör.

### Provtagning och förfarande (Bild 1–5)

För att undvika kontaminering, får tillväxtmediet ej komma i kontakt med något annat material än det som skall testas. Å andra sidan, är det viktigt att tillväxtmediet kommer helt i kontakt med materialet som skall testas.

### Trögflytande vätskor och vätskor med hög bakteriehalt (>10<sup>7</sup> CFU/ml)

Om viskositeten eller bakteriehalten är hög, bör provet spädas. Vid spädning, fyll 100 eller 1000 ml med drickbart kranvatten i en ren, välsköljd och torkad flaska med kork. Vattnet som används för utspädning får ej ha en bakteriehalt överstigande 100 CFU/ml. Innan fyllning av flaskan, låt vattnet rinna i 5 minuter eller koka det i 15 minuter och låt sedan svalna. Använd en ren (engångs-)pipett, tillsätt 1 ml av provet i flaskan. Tillslut flaskan och blanda väl genom att skaka den ca 30 gånger. Doppa sliden i lösningen och fortsätt enligt beskrivning för flytande prover.

### Flytande prover

- Ta ut sliden från röret utan att vidröra agarytorna.
- Doppa sliden i vätskan. Alternativt kan sliden hållas under en rinnande stråle av vätskan eller vätska sprejas på sliden. Om vätskan är under tryck, måste sliden hanteras varsamt för att undvika att agarn lossnar. Om provet är i en behållare, blanda innehållet och doppa sliden i den. Båda agarsidorna bör våtas helt. Sliden måste vara i kontakt med vätskan i 5 till 10 sekunder.
- Låt överskottsvätska rinna av sliden. Sug upp de sista dropparna från nedre delen av sliden med ett absorberande papper.
- Efter provtagning, skruva tillbaka sliden tätt i röret. Fyll i etiketten och fäst den på röret.
- Inkubera sliden i 27...30°C i 24–48 timmar för upptäckt av bakterier. Jäst och mögel behöver tre dagars inkubation innan resultat kan avläsas. Vid inkubering i rumstemperatur, är inkubationstiden 2–4 dygn respektive 4–7 dygn. Om normaltemperatur för testade vätskor skiljer sig väsentligt från inkubationstemperaturer enligt ovan, kan det resultera i långsam växt av bakterier. En inkubationstemperatur närmare vätskans normaltemperatur rekommenderas då.

## Easicult® Combi

**Käyttöohje • Suomi**

### Käyttötarkoitus

Easicult Combi on tarkoitettu mikrobiologisen puhtauden tarkkailuun eri tyypisissä teollisuusympäristöissä. Testi voidaan tehdä paikan päällä ja se soveltuu hyvin myös näytteen kuljetusalustaksi.

Testilevyn toinen puoli on päällystetty kellertävällä TTC-elatusaineella, jolla useimmat yleisimmistä bakteereista kasvavat. Toinen puoli on päällystetty punaisella Rose-Bengal -elatusaineella, jolla kasvavat sekä hiivat että homeet.

Testin säännöllisellä käytöllä saadaan tärkeää tietoa kokonaisbakteerimääristä sekä hiivojen ja homeiden määristä ja niissä tapahtuvista muutoksista.

### Testipakkauksen sisältö

Easicult Combi	Tuotenumero 67987, 05984
Testiputket	10 kpl
Näytetarrat	10 kpl
Käyttöohje	1 kpl

### Tyypillinen koostumus

TTC Agar	Rose-Bengal Agar
Tryptoni	Peptoni
Soijapeptoni	Dextroosi
Dinatriumsukkinaatti	Kaliumvetyfosfaatti
TTC-liuos	Magnesiumsulfaatti
Agar agar	Natriumkloridi
Vesi	Rose Bengal
	Natriumhydroksidi
	Gentamysiinsulfaatti
	Kloramfenikoli
	Agar agar
	Vesi

### Turvamääräykset ja varoitoimenpiteet

Älä käytä tuotetta pakkaukseen merkityn vanhenemispäivämäärän jälkeen.

Älä koske käyttämätöntä elatusainetta.

Älä käytä tuotetta, jos

- elatusaineen väri on muuttunut tai se on kuivunut
- elatusaine on irronnut levyltä
- elatusaineella näkyy pesäkkeitä.

Kasvustoa ei tule koskettaa, koska elatusaineella kasvavat pesäkkeet saattavat olla tauteja aiheuttavia.

### Säilytys

Säilytä testipakkaus huoneenlämmössä (noin 20°C) vedolta, lämpötilan vaihteluilta ja valonlähteiltä suojattuna. Vältä säilytystä lämpöä tuottavien laitteiden läheisyydessä. Levyt eivät saa jäätyä. Vanhenemispäivämäärä (vuosi-kk-pv) on merkitty sekä pakkaukseen että testiputken korkkiin.

### Näytteenotto ja testin suorittaminen (kuvat 1–5)

Näytteenoton yhteydessä on tärkeää, ettei elatusaine joudu kosketuksiin muun kuin varsinaisen näytteen tai näytteenottokohdan kanssa. Toisaalta on tärkeää, että koko elatusainepinta joutuu kosketuksiin tutkittavan kohteen kanssa.

### Viskoosit nesteet ja nesteet, joiden bakteeripitoisuus on korkea (>10<sup>7</sup> PMY/ml)

Jos näyte on hyvin viskoosi tai sen bakteeripitoisuus on korkea, näyte on ensin laimennettava. Ota laimennusta varten 100 tai 1000 ml kylmää vesijohtovettä. Puhtaaseen, hyvin huuhdeltuun ja kuivattuun korkilliseen pulloon. Koska käytettävän veden bakteerimäärä ei saisi ylittää 100 pmy/ml, anna veden valua hanasta 5 min ennen käyttöä TAL keitä vettä 15 min ja anna jäähtyä. Lisää 1 ml tutkittavaa näytettä pulloon käyttäen puhdasta (kertakäyttö)pipettiä. Sulje korkki ja sekoita kunnolla kääntämällä pulloa ylösalaisin n. 30 kertaa. Kasta testilevy laimennokseen ja jatka ohjeen mukaan (nestemäinen näyte).

### Nestemäinen näyte

- Kierrä testilevy ulos putkesta koskematta elatusaineeseen.
- Kasta testilevyä näytteeseen. Huuhdothaustesti voit kastella levyn nestesuihkussa tai vaihuttaa nestettä levylle. Jos neste on paineistettu, käsittele testilevyä varovaisesti, ettei elatusaine irtoamaa levyltä. Sekoita astiassa oleva näyte suolellisesti ja upota testilevy siihen. Testin molempien elatusainepintojen tulee kastua kokonaan. Pidä testilevy näytteessä 5–10 sekuntia.
- Anna ylimääräisen nesteen valua pois levyltä. Imeytä levyltä valuva ylimääräinen neste puhtaaseen imupaperiin.
- Kierrä testilevy näytteenoton ja kiinnitän huolellisesti takaisin putkeen. Täytä näytetarra ja kiinnitä putkeen.
- Bakteerimäärittystä varten levyjä kasvatetaan 24–48 tuntia 27...30°C lämpötilassa. Hiivat ja homeet tarvitsevat 3 päivän kasvatuksen. Jos kasvatus tehdään huoneenlämmössä, kasvatusaika on bakteereille 2–4 päivää ja hiivoille sekä homeille 4–7 päivää. Bakteerien kasvu voi olla hitaampaa, jos kasvatuslämpötila eroaa paljon näytteen normaalista lämpötilasta. Siksi on suositeltavaa, että kasvatuslämpötila on mahdollisimmin lähellä näytteen normaalilämpötilaa.

### Tolkning av resultat (Bild 6)

Ta försiktigt ut sliden från röret efter inkubering och fastställ den mikrobiella halten (antal koloniformationer, CFU) genom att jämföra tätheten av växt på sliden med tolkningsmallen. Notera de separata tolkningsmallarna för TTC och Rose-Bengal.

Om provet var utspätt, måste spädningsfaktorn tas i beaktande vid uppskattningen. Till exempel, om en spädning på 1 + 100 ml (1 ml av provet i 100 ml vatten) visar ett resultat på 10<sup>6</sup> CFU/ml, är det verkliga resultatet för provet 10<sup>8</sup> CFU/ml.

### Rose-Bengal medium, bestämmande av svamp

Växt på Rose-Bengal Agar kan bestå av enbart jästsvamp, enbart mögelväxt eller en blandning av dessa. Mögelkolonier är mjuka och luddiga och vanligtvis ljusa, gröna eller svarta i färgen. Jäst växer vanligtvis i bollformade kolonier men platta och torra kolonier förekommer också. Då mögelkolonier kan härstamma från fragmat av mycel eller från individuella sporer, är tolkningsmallen inte kvantitativ. Mallen indikerar om föroreningen är låg (+), måttlig (++) eller kraftig (+++). Kolonier kan vid behov tas från sliden och undersökas under mikroskop. Förorening av mögel är ibland synbar för blotta ögat som en hinna på vätskans yta.

### TTC Agar, bestämmande av total bakteriehalt

De flesta aeroba bakterier växer på TTC Agar som röda kolonier. Jäst och mögel kan också växa långsamt på detta medium. Trots att bakterieväxt nästan alltid är i form av röda kolonier, skall även färglösa kolonier tas i beaktande när tätheten bedöms.

Om stora kolonier uppstått, bör man ha i åtanke att kolonitätheten, inte storleken på enskilda kolonier, skall beaktas.

Om bakteriehalten är mycket hög (mer än 10<sup>7</sup> CFU/ml), är växten sammanhängande. Denna kan framträda som ett enhetligt rött ytskikt. Endast i undantagsfall förekommer en helt färglös växt. Slider som visar en till synes jämn yta bör jämföras med en oanvänd slide för att undvika misstolkning. Då allmänna tillämpliga gränsvärden existerar, får gränsvärden bestämmas genom erfarenhet. För bakteriekontamination i kylvätskor, kan följande guide användas:

Bakterier		
CFU/ml	Kontamination	
< 10 <sup>4</sup>	lätt	vanligtvis inga problem <sup>1</sup>
10 <sup>4</sup> –10 <sup>6</sup>	måttlig	
> 10 <sup>6</sup>	hög	ej acceptabelt <sup>1</sup>

### Begränsningar av metoden

Om bakteriehalten överskrider 10<sup>7</sup> CFU/ml, eller om viskositeten är hög, bör provet spädas.

I undantagsfall växer bakterier på TTC mediet som färglösa kolonier.

Den lägsta tillförlitliga detektionsgränsen för bakterier är 10<sup>3</sup> CFU/ml.

Växt av en del coccoidbakterier kan försvagas av TTC.

### Avfall

All växt på sliderna kan vara patogen. Använda slider skall därför förstöras genom bränning eller, efter öppnande av röret, antingen genom autoklavering (en tryckkokare kan användas för detta) eller nedsänkning i en desinfektionslösning över natten. Lokala lagar och föreskrifter skall alltid följas.