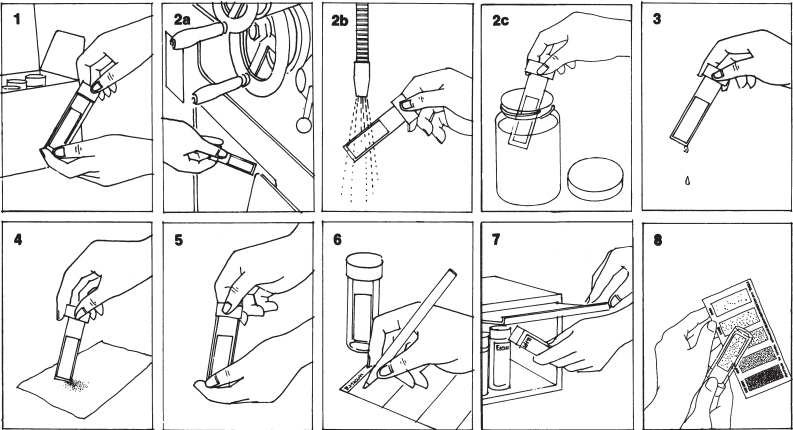
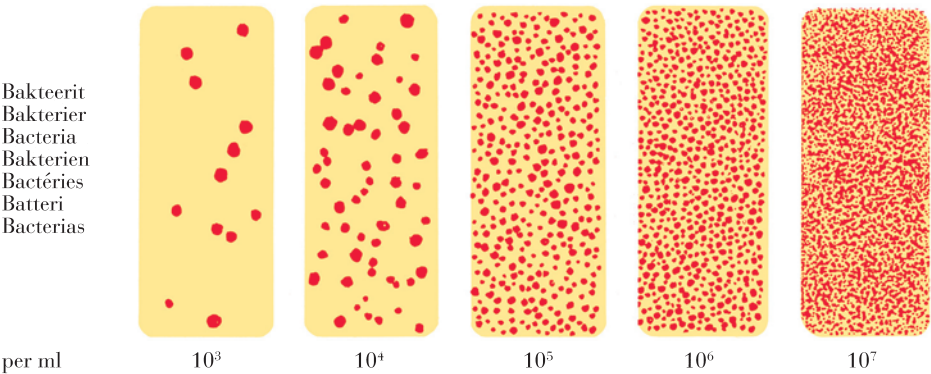
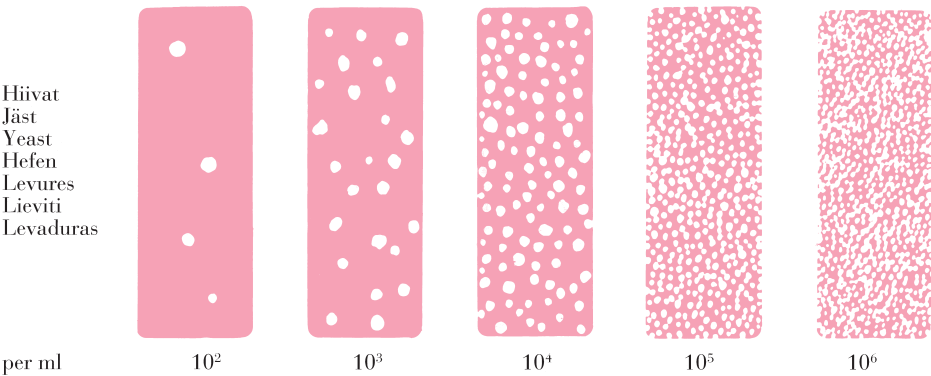




Total Bacterial Count Agar



Rose Bengal Agar



Suomi

Kokeen suoritus

- Kierrä levy ulos putkesta koskematta agarpintoihin.
- Upota levy säiliössä olevaan nesteeseen, tai kastele levy nestesuihkeessa tai juoksevassa nesteessä (jos neste suihkuaa kovalla paineella on varottava, ettei elatusaine irtoa levyltä), tai sekoita astiassa oleva näyte huolellisesti ja upota levy siihen.
- Levyn tulee olla kosketuksissa tutkittavan nesteen kanssa n. 5 - 10 sekuntia. Molempien elatusaine-pintojen tulee kastua kokonaan.
- Anna ylimääräisen nesteen valua pois levyltä.
- Imeytä viimeiset tipat puhtaaseen imupaperiin.
- Kierrä levy tiiviisti takaisin putkeen.
- Täytä putken mukana oleva etiketti ja kiinnitä se putkeen.
- Aseta putket pystyasennossa lämpökaappiin 27...30°C:n lämpötilaan. 24 - 48 tunnin inkuboinnin jälkeen tulos on luettavissa kokonaisbakteeriagarilta (TTC). Hiivat ja homeet näkyvät Rose Bengal -agarilla noin 3 vrk:n inkuboinnin jälkeen. Jos inkubointi tapahtuu huoneenlämpötilassa, kuluu tulosten saamiseen vastaavasti 2 - 4 vrk ja 4 - 7 vrk.
- Inkuboinnin jälkeen vertaa elatusainepinnoilla olevien pesäkkeiden tiheyttä mallitauluissa esitettyihin tiheyksiin.
- Jos suositeltu inkubointilämpötila poikkeaa oleellisesti tutkittavan nesteen käyttölämpötilasta, saattaa mikrobien kasvu olla hidasta. Tällöin on pyrittävä inkuboimaan lähellä käyttölämpötilaa.

Näytteen laimennus

Jos näyte sisältää niin paljon bakteereita (>10⁷), ettei tarkkaa tulosta kyetä lukemaan tai jos sen viskositeetti on korkea, voidaan näyte laimentaa. Tällöin menetellään seuraavasti:

Suljettavaan pulloon, joka on puhdas ja huolellisesti huuhdeltu, lisätään 100 tai 1000 ml juomakelpoista vesijohtovettä. Veden on ennen täyttämistä annettava juosta 5 min. tai se voidaan myös keittää 15 min. ajan sekä sen jälkeen jäädyttää. Veteen lisätään puhtaalla pipetillä, esim. kertakäyttöpipetillä, 1 ml tutkittavaa nestettä. Pulloon sulkemisen jälkeen ravistellaan seosta (n. 30 kertaa). Pulloon on jäätävä tarpeeksi ilmatilaa, jotta näyte sekoittuu veteen perusteellisesti ravistelemalla. Syntyneeseen laimennukseen kasetaan levy menetellen, kuten kohdissa 1 - 8 jo mainittiin. Laimennukseen käytettävä vesi, jossa on yli 100 bakteeria/ml, on käyttökelvotonta. Veden kontrolloimiseksi voidaan käyttää Easicult TTC-levyä. Tulosten tulkinnessa on otettava huomioon laimennuskerroin. Jos esim. 100 ml:lla laimennetusta näytteestä saadaan tulos 10⁶ bakteeria/ml, merkitsee tämä todellisuudessa 10⁸ bakteeria/ml.

Tulosten tulkinta

Käytännöllisesti katsoen kaikki kyseeseen tulevat bakteerit kasvavat Easicult Combin TTC:tä sisältävällä kokonaisbakteeriagarilla. Hiivat ja homeet näkyvät levyn Rose Bengal -agarilla (vaaleanpunainen elatusaine).

Kokonaisbakteerimääritys (väritön elatusaine)

Useimmat bakteerit kasvavat punaisina pesäkkeinä. Vertaamalla levyllä olevien pesäkkeiden tiheyttä mallitaulussa esitettyihin tiheyksiin saadaan tulokseksi tutkittavan näytteen bakteeripitoisuus millilitraa kohden. Jos levyllä on myös värittömiä pesäkkeitä, nekin on otettava huomioon tiheyttä arvioitaessa. Jos levyllä esiintyy hyvin suurina pesäkkeinä kasvavia bakteereja, on tällöinkin muistettava, että pesäketiheys on tärkeä eikä kasvuston pinta-ala. Kun bakteeripitoisuus näytteessä on hyvin suuri (yli 10⁷/ml), levyllä muodostuu mattomainen kasvu, joka useimmiten ilmenee tasaisen punaisena pintana. Hyvin harvoin tällainen kasvu on täysin väritön. Väritön, yhtenäinen kasvu voidaan helposti tulkita väärin negatiiviseksi tulok-

seksi ja siksi epäilyttävissä tapauksissa on suositeltavaa verrata ko. levyä käyttämättömään levyyn tulosten varmistamiseksi.

Yleispäteviä arvoja, jotka osoittaisivat kriittiset mikrobimäärät, ei voida antaa, vaan kutakin tapausta on tarkasteltava erikseen. Prosessivesien ja erilaisten jäähdytys-nesteiden ollessa kyseessä voidaan käyttää seuraavia ohje-arvoja:

Jos tulos on

10 ⁴	näyte on vähän saastunut
10 ⁵ . . . 10 ⁶	näyte on kohtalaisen saastunut
10 ⁶ tai enemmän	näyte on erittäin saastunut.

Homeet ja hiivat (vaaleanpunainen elatusaine)

Levyllä esiintyvä kasvu saattaa olla puhtaasti homekasvu, puhtaasti hiivakasvu tai sekä homeiden että hiivojen aiheuttamaa sekakasvu. Homeet kasvavat pehmeinä ja nukkaisina pesäkkeinä, kun taas hiivapesäkkeet ovat tavallisesti pallomaisia ja kohollaan pinnasta tai joskus myös litteitä ja kuivia. Vertailu mallitauluun hiivojen osalta suoritetaan kuten bakteereilla. Koska homepesäkkeet voivat saada alkunsa rihmaston osista tai yksityisistä itiöistä, ei vertailutaulun avulla saatu tulos ole kvantitatiivinen, vaan osoittaa, onko kyseessä vähäinen (+), kohtalainen (+ +)

Svenska

Bruksanvisning

- Skruva dipsliden ur röret utan att vidröra agarytorna.
- a) Doppa sliden i cirkulationssystemets förvaringstank, eller
b) Håll sliden i en vätskestråle eller under rinnande vätska. Om vätskan sprutar med hårt tryck på sliden kan substratet lossna. Detta undviks genom att förfara enligt punkt c.
c) Alternativt kan provet uppsamlas i ett rent kärl. Rör om provet väl och doppa därefter sliden i provet.
Håll sliden i provet 5 - 10 sekunder.
Slidens båda substrattytor bör vätras helt och hållet.
- Låt överskottsvätskan rinna av sliden.
- Sug upp de sista dropparna med rent läskpapper.
- Skruva fast sliden i röret. Tillsa ett locket sluter tätt.
- Fyll i den medföljande etiketten och fäst den utanpå röret.
- Ställ rören upprätt i ett värmeskåp och inkubera vid 27...30°C. Efter 24 - 48 timmar kan den totala bakteriemängden avläsas på TTC-substratet. Jäst och mögel blir synliga på Rose Bengal -substratet efter cirka 3 dygns inkubering. Om inkuberingen sker vid rumstemperatur bör inkuberingstiden förlängas till 2 - 4 dygn respektive 4 - 7 dygn.
- Jämför kolonitätheten på substrattytorna med modellbildernas tätheter.
Om den inkubationstemperatur som ovan rekommenderats avsevärt avviker från vätskans 'normala' temperatur, kan mikrobernas tillväxt bli långsam. I sådana fall bör inkubationstemperaturen justeras att motsvara den 'normala' temperaturen.

Utspädning av prov

Om provet innehåller mycket bakterier (över 10⁷ bakt./ml) eller om viskositeten är hög kan man, för att erhålla ett noggrant resultat, späda ut provet. En korkförsedd, ren, väl sköljd och torkad flaska fylls med 100 eller 1000 ml drickbart kranvatten (som fått rinna 5 min. eller koka i 15 min. och därefter avkylts). Med en ren pipett, t. ex. engångspipett, tillsätts 1 ml av provet. Flaskan tillsluts och blandningen omskakas väl ca 30 gånger. Fyll ej flaskan helt, utan lämna rum för omskakningen. Dipsliden doppas därefter i det utspädda provet enligt punkterna 1 - 8. Vattnet som används för utspädning får ej innehålla mer än 100 bakterier/ml. Testa vattnet vid behov med Easicult TTC. Utspädningsfaktorn bör beaktas vid tolkningen. Om provet utspäts med 100 ml vatten och resultatet efter inkubering blir 10⁶ bakterier, är det verkliga värdet 10⁸ bakterier/ml.

Tolkning av resultat

Praktiskt taget alla bakterier växer på Easicult Combis TTC-substrat. Jäst och mögel växer på det skära Rose Bengal -substratet.

English

Instructions for use

- Unscrew the tube and withdraw the slide without touching the agar surfaces.
- a) Dip the slide into a fluid tank, or
b) wet the slide by spraying or under a running stream of the fluid. If the fluid is under pressure the slide must be handled carefully so that the agar is not dislodged from it, or
c) mix the sample in a container and dip the slide into it.
- Both agar surfaces should become completely wet. The slide must be in contact with the fluid to be examined for about 5 - 10 seconds.
- Allow excess fluid to drain off the slide.
- Blot lower edge of the slide on clean absorbent paper.
- Screw the slide tightly back into the tube.
- Fill in the label and affix it to the tube.
- Place the tube upright in an incubator at 27. . .30°C. After 24 - 48-hours incubation the result can be read on the total bacterial count agar (TTC). Yeasts and fungi will show on the Rose Bengal agar after about 3 days incubation. If the incubation takes place at room temperature, the results can be read after 2 - 4 days and 4 - 7 days respectively.
- After incubation remove the slide from the tube. Compare the density of the colonies growing on the medium with the model density charts without actually counting the colonies. If the normal temperature of the fluid tested substantially differs from the incubation temperature stated above, this may result in slow bacterial growth during incubation. An incubation temperature corresponding to the tested fluid is then recommended.

Dilution of the sample

If the bacterial content of the sample exceeds 10⁷/ml, or the viscosity is high, the sample should be diluted. For dilution put 100 or 1000 ml of tap water into a clean, well-rinsed and dried bottle with a cap. Before filling the bottle let the water run for 5 minutes or boil it for 15 minutes and then cool. Using a clean (disposable) pipette, add 1 ml of the sample, close the bottle and mix thoroughly by shaking (about 30 times). Dip the slide into this dilution and proceed as described in 1 - 8. Water used for dilution should not contain more than 100 bacteria/ml. Make checks at regular intervals with Easicult TTC.

The dilution factor should be taken into account in the evaluation. For example, if 1 ml of the sample added to 100 ml water reveals, after incubation, 10⁶ bacteria, the real result is 10⁸ bacteria/ml.

Interpretation of results

Practically all aerobic bacteria grow on the total bacterial count side (containing TTC) of the Easicult Combi slide.

vai voimakas (+ + +) infektio. Pesäkkeitä voidaan ottaa levyltä ja tarkastella mikroskoopilla. Homeinfektion esiintyminen voidaan usein todeta paljaalla silmällä matto-maisena kasvuna nesteen pinnalla.

Käytettyjen levyjen hävittäminen

Koska käytetyt levyt ovat mikrobiviljelmiä, niitä on käsiteltävä varovasti. Levyjen hävittäminen tapahtuu parhaiten polttamalla tai upottamalla kansi-levy-yhdistelmä ja putki erikseen esimerkiksi johonkin tavalliseen talouksissa käytettävään desinfiointiaineseen yön ajaksi.

Säilytys

Easicult-levyjä on säilytettävä vedolta ja valolta suojatussa paikassa huoneen lämmössä (n. 20°C). Eräätymispäivä on ilmoitettu pakkauksessa. Putkia ei pidä kuitenkaan säilyttää jääkaapissa, jossa ovea usein avattaessa lämpötilanvaihtelu saattaa olla huomattavaa ja vaikuttaa putkien säilyvyyteen. Easicult-levyt eivät saa jäätyä. Jos elatusainepinnoilla näkyy bakteeripesäkkeitä ennen käyttöä, levy on käyttökelvoton.

Den totala bakteriemängden (färglösa substratet)

De flesta bakterier producerar röda kolonier på detta substrat. Provet bakteriehalt (antalet bakterier per ml) fås genom att jämföra tätheten av bakteriekolonierna på substratet med modellbilderna. Förekommer ofärgade kolonier på substratet skall också dessa beaktas vid bedömningen av bakteriehalten. Ifall kolonierna har vuxit mycket stora bör man beakta att kolonitätheten är utslagsgivande och inte kolonistorleken. Då bakteriehalten är mycket hög (över 10⁷ bakterier/ml) bildas det på substratytan en sammanhängande växt. Denna ter sig ofta som en enhetlig röd jämn yta. Endast i undantagsfall förekommer en totalt färglös växt. Emedan en färglös växt lätt kan misstolkas som ett negativt resultat bör man i tveksamma fall jämföra den inkuberade sliden med en oanvänd, varvid växten är lätt att upptäcka. Allmängiltiga gränsvärden för kritiska mikrobmängder kan ej anges. Erfarenheten får avgöra i vart enskilt fall, och följande riktvärden kan användas för cirkulationsvatten och kylvätskor av olika slag:

Bakteriehalt på

10 ⁴	låg infektionsgrad
10 ⁵ . . . 10 ⁶	moderat infektionsgrad
10 ⁶ eller mer	hög infektionsgrad

Mögel och jäst (skära substratet)

Växten på det skära substratet kan bestå av enbart mögel, enbart jäst eller av en blandkultur av mögel och jäst. Mögelväxten är "dunig". Jästkolonierna är ofta runda och kupade men flata och torra kolonier förekommer också. Jämför jästkoloniernas täthet med modellbilderna på samma sätt som bakterietätheten avlästes. Emedan mögelväxtens upphov kan vara antingen myceliefragment eller individuella sporer är mögelkoloniernas täthet, mätt med modellbilderna, inte exakt. De indikerar om föroreningsgraden är låg (+), moderat (+ +) eller hög (+ + +). Mögel- och jästsvampar kan plockas från sliden för mikroskopisk undersökning. Om systemet är förorenat av mögel kan detta ofta konstateras med blotta ögat som en mattartad växt på vätskans yta.

Destruktion

Inkuberade slider är mikrobkulturer och måste därför behandlas försiktigt. Använda slider kan förstöras genom förbränning eller genom att både rör och slider nedsänks i desinfektionslösning över natten. För ändamålet duger ett för hushåll avsett vanligt desinfektionsmedel.

Förvaring

Förvara öppnade Easicult-rör i rumstemperatur (ca 20°C) på ett dragfritt ställe och skyddade för ljus. Se utgångsdatum på förpackningen. Kylskåpsförvaring bör undvikas då stora temperaturväxlingar kan förekomma om dörren ofta öppnas. Easicult-sliderna får ej frysa. Om det på agarytorna förekommer bakterie- eller mögelväxt före användandet, är sliden obrukbar.

Yeasts and fungi appear on the Rose Bengal agar of the slide (pink agar).

Determination of total bacterial count (colourless agar)

Most bacteria give rise to red colonies. The bacterial count/ml of the sample is determined by comparing the density of the colonies appearing on the slide with densities shown on the model chart. If there are colourless colonies present, these should also be taken into account when estimating the density of growth. In cases where large colonies occur it should be remembered that it is the density of the colonies which is important and not their size. If the bacterial content is very high (over 10⁷/ml) there is a confluent growth of bacteria. This may appear as a uniformly red surface layer. This kind of growth may be misinterpreted as a poor or negative result and it is advisable in doubtful cases to compare the incubated slide with an unused one. It is not possible to give any universally valid limits to illustrate the critical microbial count. This has to be determined by experience. With process waters and different coolants the following guide may be used:

bacterial count 10 ⁴	slight infection
bacterial count 10 ⁵ to 10 ⁶	moderate infection
bacterial count 10 ⁶ or more	heavy infection.

Determination of yeasts and fungi (pink agar)

Growth appearing on the slide may consist either purely of fungi or yeasts or may be caused by both fungi and yeasts forming mixed growth. Fungi give rise to soft and fluffy colonies while yeast colonies are usually ballshaped and slightly puffed up. Sometimes they are flat and dry. Comparison of yeast growth with the model chart is carried out as with bacteria.

Since fungal colonies may originate from fragments of mycelium or from individual spores, the result obtained by comparison with the model chart is not quantitative, but shows whether there is slight (+), moderate (+ +) or heavy (+ + +) infection. Colonies can be removed from the slide and examined under the microscope. Fungal infection can also be noticed by the naked eye as a coating on the surface of the liquid.

Disposal of used slides

As the incubated slides are bacterial cultures they should be handled carefully. Disposal of used slides can best be achieved by incinerating, by immersing both slide and container in a household bleach overnight or by autoclaving them after loosening the cap (a pressure cooker can be used for this).

Storage

Unopened Easicult tubes should be stored at room temperature (about +20°C/68°F) and protected from light and draught. The expiry date is marked on the package. Easicult slides must not be frozen. Unused slides showing bacterial growth should be discarded.

