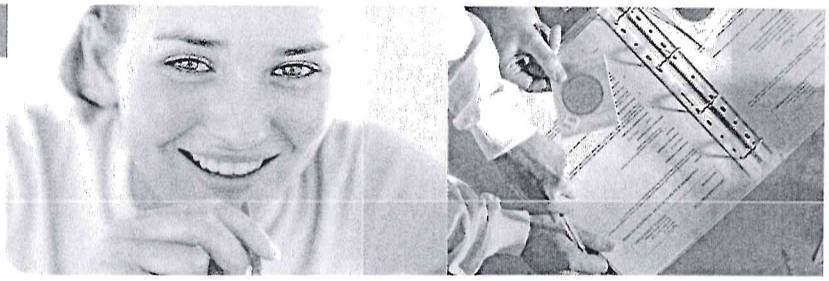
SP-QC-83

วิธีการตรวจวิเคราะห์ ด้านจุลินทรีย์ :

โดยใช้ Petrifilm

AC

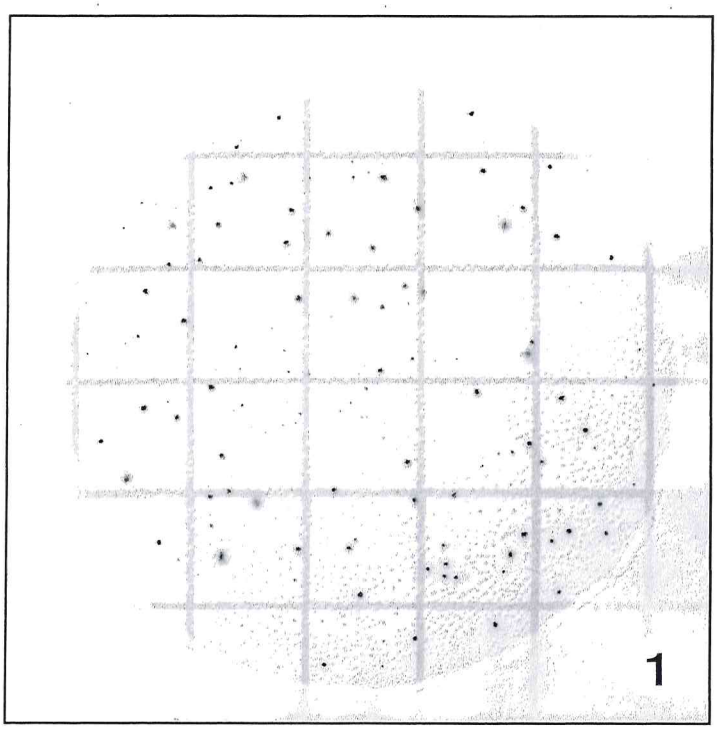


3M Petrifilm™
Aerobic Count Plate

คู่มือการแปลผล

คู่มือฉบับนี้ใช้เป็นแนวทางในการแปลผลที่ได้จากแผ่นเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 3M Petrifilm™ Aerobic Count Plate (AC) ท่านสามารถสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่ บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด

3M Petrifilm™ AC เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปซึ่งประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน เจลที่ละลายได้ในน้ำเย็น และสีย้อม เพื่อช่วยในการนับจำนวนโคโลนี 3M Petrifilm™ AC ใช้สำหรับการตรวจนับจำนวนแอโรบิคแบคทีเรีย



Aerobic Bacteria Count = 152

โคโลนีถูกย้อมด้วยสีย้อมสีแดงในแผ่น นับโคโลนีสีแดงทั้งหมด ไม่ว่าเล็กหรือใหญ่ สีเข้มหรือสีจาง

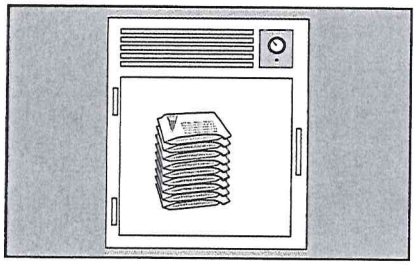
3M

วิธีใช้ 3M Petrifilm™ Aerobic Count Plate

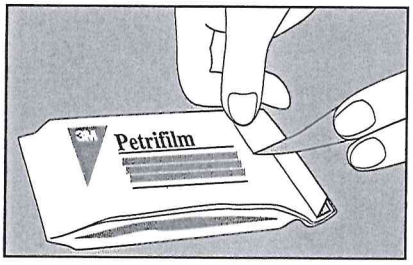
รายละเอียด คำเตือน การรับประกัน ขอบเขตการรับผิดชอบของ 3เอ็ม การเก็บรักษาและการกำจัด และข้อแนะนำในการใช้ ให้ดูหนังสือที่แนบพร้อมผลิตภัณฑ์

วิธีใช้และการเก็บรักษา

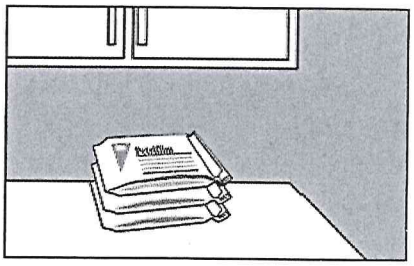
การเก็บรักษา



1 ซองที่ยังไม่ได้เปิด ให้เก็บที่อุณหภูมิ ≤ 8°C (≤ 46°F) ใช้ให้หมดก่อนวันหมดอายุที่ระบุบนแผ่นหรือบรรจุภัณฑ์ ในกรณีที่บริเวณปฏิบัติการมีความชื้นสูง หลังนำซองออกจากตู้เย็น ควรปล่อยให้อุณหภูมิขึ้นถึงอุณหภูมิห้องก่อนเปิดใช้

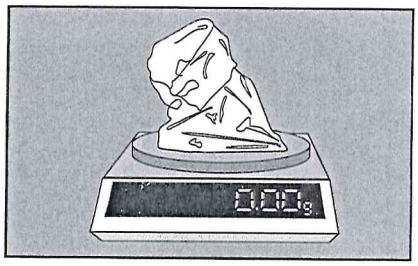


2 ซองที่เปิดแล้วใช้ไม่หมด ให้พับปากซองและปิดด้วยเทปกาว

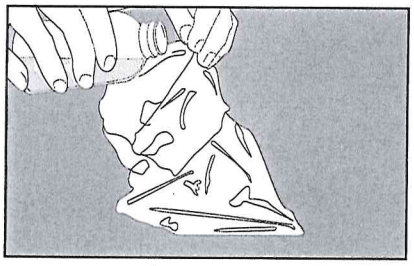


3 เพื่อป้องกันการสัมผัสความชื้น โดย**ห้ามนำซองที่เปิดแล้วกลับไปใส่ตู้เย็นอีก** ให้เก็บซองที่เปิดใช้แล้วในที่เย็นและแห้ง (อุณหภูมิ ≤ 25°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ ≤ 50%) แล้วใช้ให้หมดภายใน 1 เดือนหลังเปิด

การเตรียมตัวอย่าง

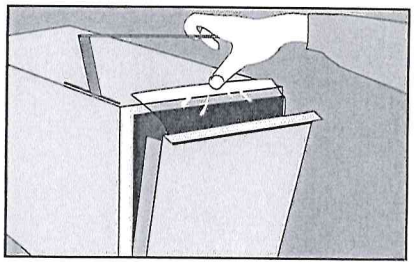


4 เตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจเจือจาง 1:10 หรือมากกว่า โดยชั่งหรือปิเปตอาหารใส่ภาชนะที่เหมาะสม เช่น Stomacher bag, Dilution bottle, Whirl-Pak bag หรือภาชนะปลอดเชื้ออื่น ๆ



5 สารละลายที่ใช้เจือจางตัวอย่าง ได้แก่ Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, 0.0425 g/L KH_2PO_4 pH7.2), 0.1%Peptone water, Peptone salt diluent (ISO method 6887), Buffered Peptone water (ISO method 6579), Saline solution (0.85-0.90%), Bisulfite-free letheen broth, หรือน้ำกลั่น

ห้ามใช้ บัฟเฟอร์ที่มีส่วนผสมของ citrate, bisulfite หรือ thiosulfate เพราะสารประกอบเหล่านี้จะยับยั้งการเจริญของเชื้อ

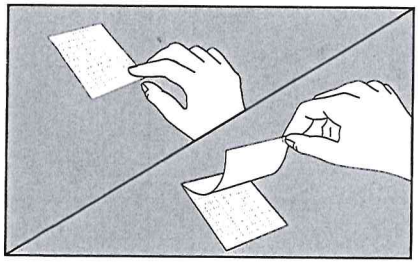


6 ผสมหรือปั่นตัวอย่างตามวิธีที่ปฏิบัติอยู่ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

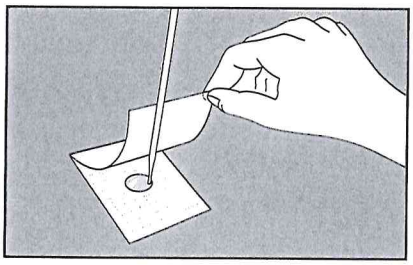
ปรับ pH ของตัวอย่างที่เจือจางแล้วให้อยู่ระหว่าง 6.6 - 7.2

- สำหรับตัวอย่างที่มีความเป็นกรด ให้ปรับสภาพด้วย 1N NaOH
- สำหรับตัวอย่างที่มีความเป็นด่าง ให้ปรับสภาพด้วย 1N HCl

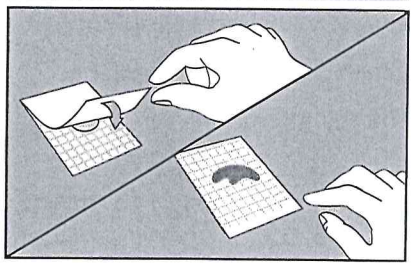
การถ่ายตัวอย่างลงแผ่น



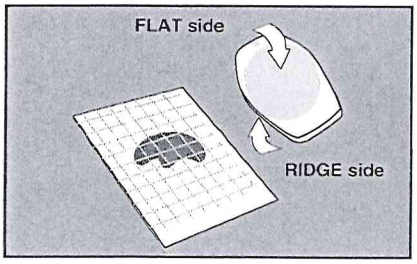
7 วางแผ่น 3M Petrifilm™ AC บนพื้นราบ เปิดแผ่นฟิล์มแผ่นบนขึ้น



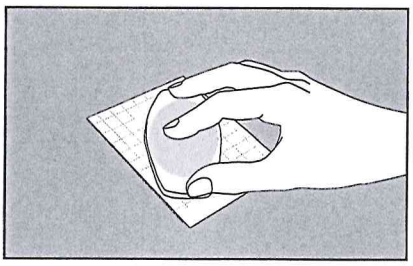
8 ใช้ปิเปตถ่ายตัวอย่าง 1 มล. ลงตรงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นล่างโดยให้ปิเปตตั้งฉากกับแผ่น 3M Petrifilm™ AC



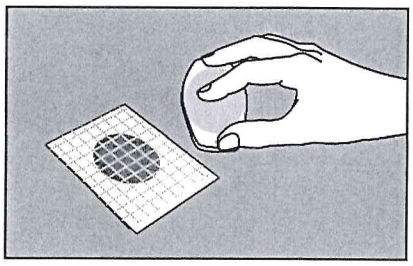
9 ค่อยๆ ปล่อยแผ่นฟิล์มแผ่นบนลงมา ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ (ใช้นิ้วจับแผ่นฟิล์มปิดลงมาตามภาพ อย่าปล่อยให้แผ่นฟิล์มตกลงมาเอง)



10 วางตัวกด (spreader) โดยให้ด้านที่มีขอบคว่ำหน้าลงสัมผัสแผ่นฟิล์มแผ่นบน ให้ส่วนวงกลมครอบบริเวณที่หยดตัวอย่าง

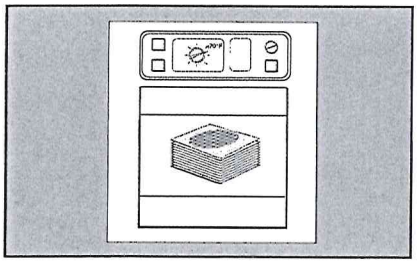


11 ใช้นิ้วชี้กดแรงพอประมาณจนตัวอย่างกระจายเต็มวงกลม อย่าเลื่อนหรือบิด spreader



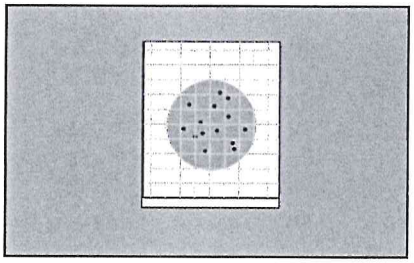
12 ยก spreader ขึ้น รอ 1-2 นาที เพื่อให้เนื้อเจลแข็งตัว ก่อนเคลื่อนย้ายแผ่น 3M Petrifilm™ AC

การบ่มเชื้อ

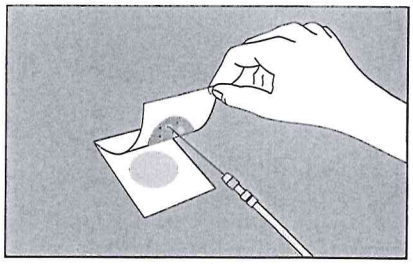


13 บ่มแผ่น 3M Petrifilm™ AC โดยให้ด้านใสอยู่ด้านบน สามารถซ้อนแผ่นได้ไม่เกิน 20 แผ่น อุณหภูมิและเวลาที่บ่ม อ้างอิงตามวิธีที่ได้รับการรับรอง

การแปลผล



14 นับโคโลนี โดยดูคู่มือการแปลผลประกอบ อาจใช้เครื่องนับแบบมาตรฐานหรือแว่นตาที่มีไฟส่องแบบอื่นๆ



15 สามารถเก็บโคโลนีไปตรวจวิเคราะห์ต่อได้ โดยเปิดแผ่นฟิล์มขึ้นและใช้เหล็กปลายแหลมเขี่ยโคโลนีจากเนื้อเจล

อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการบ่ม อ้างอิงตามวิธีที่ได้รับการรับรอง

- **AOAC Official Method 986.33 และ 989.10**
  (นมและผลิตภัณฑ์จากนม) บ่มที่ 32 (± 1°C) เวลา 48 (± 3 ชม.)
- **AOAC Official Method 990.12**
  บ่มที่ 35 (± 1°C) เวลา 48 (± 3 ชม.)
- **AFNOR Validated Method 3M 01/1 - 09/89**
  บ่มที่ 30 (± 1°C) เวลา 72 (± 3 ชม.)

ข้อความและรูปภาพในแผ่นพับ
3M Petrifilm™ Aerobic Count Plate ฉบับนี้
สงวนลิขสิทธิ์ตามกฎหมาย

แผนกผลิตภัณฑ์จุลชีววิทยา
บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด
ชั้น 12 อาคารเสริมมิตรทาวเวอร์
159 ถนนอโศกมนตรี แขวงคลองเตยเหนือ
เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110
โทรศัพท์ 0-2260-8577 ต่อ 1711
โทรสาร 0-2261-7535
www.3M.com

AW2007-01003

Reference: *JAOAC* **71**, 343(1988).

Revised: March 2002

17.2.07

AOAC Official Method 990.12
Aerobic Plate Count in Foods

Dry Rehydratable Film
(Petrifilm™ Aerobic Count Plate) Method
First Action 1990
Final Action 1994

Results of the interlaboratory study supporting acceptance of the method:

Flour: $s_r = 0.225$; $s_R = 0.246$; $RSD_r = 5.3\%$; $RSD_R = 5.8\%$
Nuts: $s_r = 0.272$; $s_R = 0.674$; $RSD_r = 7.4\%$; $RSD_R = 18.4\%$
Shrimp: $s_r = 0.540$; $s_R = 0.615$; $RSD_r = 9.8\%$; $RSD_R = 11.1\%$
Spice: $s_r = 0.274$; $s_R = 0.303$; $RSD_r = 6.0\%$; $RSD_R = 6.6\%$
Turkey: $s_r = 0.278$; $s_R = 0.348$; $RSD_r = 5.3\%$; $RSD_R = 6.6\%$
Vegetables: $s_r = 0.310$; $s_R = 0.454$; $RSD_r = 6.3\%$; $RSD_R = 9.2\%$

A. Principle

See **989.10A** (*see* 17.3.03).

B. Apparatus

See **989.10B**(a) and (c)–(e) (*see* 17.3.03).

C. Reagent

Dilution water.—To prepare stock solution, dissolve 34 g KH_2PO_4 in 500 mL H_2O, adjust to pH 7.2 with 1M NaOH (ca 175 mL), and dilute to 1 L with water. To prepare buffered water for dilutions, dilute 1.25 mL stock solution to 1 L with boiled and cooled water. Autoclave 15 min at 121°C.

D. Preparation of Test Suspension

See **966.23B** (*see* 17.2.01).

E. Determination

Place dry-film aerobic count plate on flat surface. Lift top film and inoculate 1 mL test suspension onto center of film base. Carefully place top film down on inoculum. Distribute suspension over prescribed growth area with downward pressure in center of plastic spreader device (recessed side down). Leave plate undisturbed 1 min to permit gel to solidify. Incubate plates 48 ± 3 h at 35° ± 1°C.

In incubator, place plates in horizontal position, clear side up, in stacks not exceeding 20 units. Count plates promptly after incubation period. After incubation is complete, plates may be stored frozen (≤–15°C) up to 7 days. Avoid this as a routine practice.

Use standard colony counter for counting purposes. Magnifier-illuminator may also be used to facilitate counting. Colonies stain in various shades of red. Count all colonies in countable range (30–300 colonies).

To compute bacterial count, multiply total number of colonies per plate (or average number of colonies per plate if counting duplicate plates of same dilution) by reciprocal of dilution used. When counting colonies on duplicate plates of consecutive dilutions, compute mean number of colonies for each dilution before determining average bacterial count. Estimated counts can be made on plates with >300 colonies and should be reported as estimated counts. In making such counts, circular growth area can be considered to contain ca twenty 1 cm squares. To isolate colonies for further identification, lift top film and pick colony from gel.

Reference: *JAOAC* **73**, 242(1990).

Revised: March 2002

17.2.07A

AOAC Official Method 2002.07
Detection and Quantification of Total Aerobic Microorganisms

SimPlate Total Plate Count–Color Indicator (TPC–CI) Method
First Action 2002
Final Action 2005

(Applicable to detection and quantification of total aerobic microorganism populations in milk chocolate, cake mix, ground pepper, nut meats, dairy foods, red meats, poultry meats, seafoods, lunch meat, frozen pot pies, cereals, pasta, egg products, flour, hash brown potatoes, vegetables, fruits, and fruit juice.)

Caution: Test portion dilutions and incubated SimPlate devices from food products could contain pathogenic bacteria if the particular test portion was contaminated. Use standard aseptic microbiological laboratory techniques, including decontamination of any spills with disinfectant.

See Tables **2002.07A–C** for the results of the interlaboratory study supporting acceptance of the method.

A. Principle

SimPlate Total Plate Count–Color Indicator (TPC–CI) method is used for detection and quantification of total aerobic populations. The TPC–CI medium and food mixture is dispensed into a SimPlate device and incubated for 24–28 h. The medium changes color in the presence of aerobic microorganisms. The total aerobic microorganisms count is determined by counting the wells with changed color and correlating the number of positive wells with the number of total aerobic microorganisms found in Table **2002.07D**.

B. Media and Reagents

(a) *Dehydrated TPC–CI medium.*—In individually packaged single or multiple test format.

(b) *Supplement A (optional).*—Add 1.0 mL sterile Supplement A solution per 100 mL sterile deionized H_2O. Alternatively, add 1.0 mL Supplement A to 100 mL deionized H_2O and autoclave for 15 min at 121°C.

(c) *Butterfield's phosphate buffered diluent (BPBD).*—*See* **966.23A(m)** (*see* 17.2.01).

(d) *Peptone salt solution.*—Dissolve 1.0 g enzymatic digest of casein and 8.5 g NaCl in 1 L deionized H_2O. Autoclave for 15 min at 121°C. Final pH, 7.0 ± 0.2 at 25°C.

(e) *SimPlate devices.*—Twenty devices per package.

Items (a), (b), and (e) are available from BioControl Systems, Inc. (12822 SE 32nd St, Bellevue, WA 98005, USA; www.rapidmethods.com).

C. Apparatus

(a) *Incubator.*—Maintaining 35°–37°C.

(b) *Micropipetor.*—Accurately dispensing 0.1 and 1.0 mL.

(c) *Pipets.*—Accurately dispensing 1.0 and 10 mL.

(d) *Blender/stomacher.*—Waring, or equivalent, for blending test portions; IUL Instruments masticator (IUL, S.A., Torrent de

© 2012 AOAC INTERNATIONAL

Subchapter 2
CHILLED, FROZEN, PRECOOKED, OR PREPARED FOODS, AND NUT MEATS

17.2.01

AOAC Official Method 966.23
Microbiological Methods

First Action 1966
Final Action 1989

(For the determination of aerobic plate count, most probable number of coliform bacteria, and *Escherichia coli* and *Staphylococcus* in products such as frozen cooked meat, poultry, and vegetable products; cooked and/or breaded seafood; bakery products; salads; tree nut meats; and ingredients of food laboratory samples collected during sanitation inspections of food-producing establishments, unless specific directions are given for that product.)

A. Media and Reagents

Ingredients and reagents used to prepare the following media may be products of any manufacturer if comparative tests show that satisfactory results are obtained. Use pure carbohydrates suitable for biological use, ACS reagent grade inorganic chemicals, and dyes certified by the Biological Stain Commission for use in media.

For convenience, dehydrated media of any brand equivalent to formulation may be used. Test each lot of medium for sterility and growth-promoting qualities of suitable organisms (e.g., inoculate media containing lactose with coliform bacteria, *Staphylococcus* media with *Staphylococcus*, etc.).

Determine pH before autoclaving with pH meter standardized against standard buffers, **964.24** (*see* A.1.04). Adjust pH, when necessary, by adding 1M NaOH or 1M HCl so that stated final pH results after autoclaving.

Use sterile glass or plastic, 100 × 15 mm, Petri dishes.

(**a**) *Plate count agar.*—*See* **940.36A(g)** (*see* 17.1.02).

(**b**) *Lauryl sulfate tryptose broth.*—Dissolve 20.0 g Trypticase or tryptose (pancreatic digest of casein), 5.0 g NaCl, 5.0 g lactose, 2.75 g K_2HPO_4, 2.75 g KH_2PO_4, and 0.1 g sodium lauryl sulfate in 1 L H_2O with gentle heat, if necessary. Dispense 10 mL portions into 20 × 150 mm test tubes containing inverted 10 × 75 mm fermentation tubes. Autoclave 15 min at 121°C. Final pH, 6.8 ± 0.1.

(**c**) *Brilliant green lactose bile (BGLB) broth.*—Dissolve 10.0 g peptone and 10.0 g lactose in ca 500 mL H_2O. Add solution (pH 7.0–7.5) of 20 g dehydrated oxgall or oxbile in 200 mL H_2O. Dilute to 975 mL and adjust pH to 7.4. Add 13.3 mL 0.1% solution of brilliant green, and dilute to 1 L with H_2O. Filter through cotton and dispense 10 mL portions into 20 × 150 mm test tubes containing inverted 10 × 75 mm fermentation tubes. Autoclave 15 min at 121°C. Final pH, 7.2 ± 0.1.

(**d**) *Eosin methylene blue agar (Levine).*—*See* **940.36A(d)** (*see* 17.1.02).

(**e**) *Baird-Parker medium (egg tellurite glycine pyruvate agar, ETGPA).*—(*1*) *Basal medium.*—Suspend 10.0 g tryptone, 5.0 g beef extract, 1.0 g yeast extract, 10 g sodium pyruvate, 12.0 g glycine, 5.0 g $LiCl{\cdot}6H_2O$, and 20.0 g agar in 950 mL H_2O. Heat to bp with frequent agitation to dissolve ingredients completely. Dispense 95 mL portions into screw-capped bottles. Autoclave 15 min at 121°C. Final pH, 7.0 ± 0.2 at 25°C. Store ≤1 month at 4° ± 1°C.

(*2*) *Enrichment.*—Bacto EY tellurite enrichment (BD Biosciences Codified Cat. No. 277910, or equivalent) or prepare as follows: Soak fresh eggs ca 1 min in dilution of saturated $HgCl_2$ solution (1 + 1000, w/v). Aseptically crack eggs and separate yolks from whites. Blend yolk and physiological saline solution, **940.36B(c)** (*see* 17.1.02), (3 + 7, v/v) in high-speed blender ca 5 s. To 50 mL egg yolk emulsion, add 10 mL filter-sterilized 1% potassium tellurite solution (w/v). Mix and store at 4° ± 1°C.

(*3*) *Complete medium.*—Add 5 mL warmed enrichment to 95 mL molten basal medium cooled to 45°–50°C. Mix well, avoiding bubbles, and pour 15–18 mL into sterile 100 × 15 mm Petri dishes. Store plates at room temperature (≤25°C) for ≤5 days before use. Medium should be densely opaque; do not use nonopaque plates. Dry plates before use by one of the following methods: (*a*) in convection oven or incubator 30 min at 50°C with lids removed and agar surface downward; (*b*) in forced-draft oven or incubator 2 h at 50°C with lids on and agar surface upward; (*c*) in incubator 4 h at 35°C with lids on and agar surface upward; or (*d*) on laboratory bench 16–18 h at room temperature with lids on and agar surface upward.

(*4*) *Interpretation.*—Colonies of *S. aureus* are typically circular, smooth, convex, moist, 2–3 mm in diameter on uncrowded plates, gray-black to jet-black, frequently with light-colored (off-white) margin, surrounded by opaque zone (precipitate) and frequently with outer clear zone; colonies have buttery to gummy consistency when touched with inoculating needle. Occasional nonlipolytic strains may be encountered which have same appearance, except that surrounding opaque and clear zones are absent. Colonies isolated from frozen or desiccated foods which have been stored for extended periods are frequently less black than typical colonies and may have rough appearance and dry texture.

(**f**) *Trypticase (tryptic) soy broth with 10% sodium chloride.*—Add 95 g NaCl to 1 L of solution of 17.0 g Trypticase or tryptose (pancreatic digest of casein), 3.0 g Phytone (papaic digest of soya meal), 5.0 g NaCl, 2.5 g K_2HPO_4, and 2.5 g glucose. Heat gently if necessary. Dispense into 16–20 mm diameter tubes to depth of 5–8 cm. Autoclave 15 min at 121°C. Final pH, 7.3 ± 0.2.

(**g**) *EC broth.*—Dissolve 20.0 g Trypticase or tryptose (pancreatic digest of casein), 1.5 g Bacto bile salt No. 3 or bile salt mixture, 5.0 g lactose, 4.0 g K_2HPO_4, 1.5 g KH_2PO_4, and 5.0 g NaCl in 1 L H_2O. Dispense 8 mL into 16 × 150 mm test tubes containing inverted 10 × 75 mm fermentation tube. Autoclave 15 min at 121°C. Final pH, 6.9 ± 0.1.

(**h**) *Brain-heart infusion.*—*See* **967.25A(r)** (*see* 17.9.01). Dispense into bottles or tubes for storage and autoclave 15 min at 121°C.

(**i**) *Desiccated coagulase plasma (rabbit) with EDTA.*—Reconstitute according to manufacturer's directions. If not available, reconstitute desiccated coagulase plasma (rabbit) and add Na_2H_2EDTA to final concentration of 0.1% in reconstituted plasma.

(**j**) *Tryptophane broth.*—*See* **940.36A(h)** (*see* 17.1.02) but dispense in 10 mL portions.

(**k**) *Buffered glucose broth (MR-VP medium).*—*See* **940.36A(b)** (*see* 17.1.02).

(**l**) *Koser's citrate broth.*—*See* **940.36A(e)** (*see* 17.1.02).

(**m**) *Butterfield's buffered phosphate diluent.*—(*1*) *Stock solution.*—Dissolve 34.0 g KH_2PO_4 in 500 mL H_2O, adjust to pH 7.2 with ca 175 mL 1M NaOH, and dilute to 1 L. Store in refrigerator. (*2*) *Diluent.*—Dilute 1.25 mL stock solution to 1 L with H_2O.

© 2012 AOAC INTERNATIONAL

Prepare dilution blanks with this solution, dispensing enough to allow for losses during autoclaving. Autoclave 15 min at 121°C.

B. Preparation of Test Suspensions

(Prepare all decimal dilutions with 90 mL sterile diluent plus 10 mL previous dilution unless otherwise specified. Shake all dilutions 25 times in 30 cm arc. Pipets must accurately deliver required volume. Do not use to deliver <10% of their total volume. For example, to deliver 1 mL, do not use pipet >10 mL; to deliver 0.1 mL, do not use pipet >1 mL.)

(a) *Frozen and/or prepared foods.*—Use balance with capacity of ≥2 kg and readability of 0.1 g to aseptically weigh 50 g unthawed (if frozen) test portion into sterile high-speed blender jar. Add 450 mL diluent, **A(m)**(*2*), and blend 2 min. (If necessary to temper frozen test sample to remove 50 g portion, hold ≤18 h at 2°–5°C.) Not >15 min should elapse from time test sample is blended until all dilutions are in appropriate media.

If entire test sample consists of <50 g, weigh portion equivalent to ½ test sample and add volume of sterile diluent required to make 1:10 dilution. Total volume in blender jar must completely cover blades.

(b) *Tree nut meat halves and larger pieces.*—Aseptically weigh 50 g test portion into sterile jar. Add 50 mL diluent, **A(m)**(*2*), and shake vigorously (50 times through 30 cm arc) to obtain 10^0 dilution. Let stand 3–5 min and shake just before making serial dilutions and inoculations.

(c) *Nut meal.*—Aseptically weigh 10 g test portion into sterile jar. Add 90 mL diluent, **A(m)**(*2*), and shake vigorously (50 times through 30 cm arc) to obtain 10^{-1} dilution. Let stand 3–5 min and shake to resuspend just before making serial dilutions and inoculations.

C. Aerobic Plate Count

Seed duplicate Petri dishes in dilutions of 1:10, 1:100, 1:1000, etc., using plate count agar, **A(a)**. Ordinarily, 1:100 through 1:10 000 are satisfactory. Place 1 mL appropriate dilution in each plate, and add molten agar (cooled to 42°–45°C) within 15 min from time of original dilution. Incubate 48 ± 2 h at 35°C and count duplicate plates in suitable range (30–300 colonies). If plates do not contain 30–300 colonies, record dilution counted and note number of colonies found. Average counts obtained and report as aerobic plate count/g.

17.2.02

AOAC Official Method 966.24
Coliform Group and *Escherichia coli*

Microbiological (MPN) Method
First Action 1966
Final Action 1971

Seed 3-tube most probable number (MPN) series into lauryl sulfate tryptose broth, **966.23A(b)** (*see* 17.2.01), using 1 mL inocula of 1:10, 1:100, and 1:1000 dilutions, with triplicate tubes at each dilution. (For nut meats [halves and larger pieces], begin MPN determination with 10^0 dilution; for nut meal, begin with 10^{-1} dilution.) Incubate 48 ± 2 h at 35°C for gas formation as evidenced by displacement of liquid in insert tube or by vigorous effervescence when tubes are shaken *gently*. Examine tubes for gas formation at 24 and 48 h intervals. Transfer, using 3 mm loop, from gassing tubes to BGLB, **966.23A(c)** (*see* 17.2.01), (omit this transfer for tree nuts), and EC broth, **966.23A(g)** (*see* 17.2.01), at time gas formation is noted.

Incubate BGLB broth 48 ± 2 h at 35°C. Using MPN Table **966.24A**, compute MPN on basis of number of tubes of BGLB broth producing gas by end of incubation period. Report as MPN of coliform bacteria/g.

Incubate EC broth 48 ± 2 h at 45.5° ± 0.02°C in covered water bath. Submerge broth tubes in bath so that water level is above highest level

Table 966.24A. Most probable numbers (MPN) per 1 g test portion, using 3 tubes with each of 0.1, 0.01, and 0.001 g portions

Positive tubes															
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	<3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2[a]	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3[a]	9	1	0	3[a]	15	2	0	3[a]	26	3	0	3[a]	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2[a]	9.2	1	1	2[a]	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3[a]	12	1	1	3[a]	19	2	1	3[a]	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1[a]	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2[a]	12	1	2	2[a]	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3[a]	16	1	2	3[a]	24	2	2	3[a]	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1[a]	13	1	3	1[a]	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2[a]	16	1	3	2[a]	24	2	3	2[a]	44	3	3	2	1100
0	3	3[a]	19	1	3	3[a]	29	2	3	3[a]	53	3	3	3	>1100

[a] Such highly improbable results suggest that factors were present that interfered with recovery or identification at the lower dilutions. Therefore, the indicated MPN value could be much lower than the true concentration.

© 2012 AOAC INTERNATIONAL