



Petrifilm®

6407/6417/6445

Product Instructions

 **(EN)** Yeast and Mold Count Plate

 **(FR)** Test pour la numération des Levures et Moisissures

YM
Yeast and Mold

Product Instructions

Yeast and Mold Count Plate

Product Description and Intended Use

The Neogen® Petrifilm® Yeast and Mold Count (YM) Plate is a sample-ready culture medium system which contains nutrients supplemented with antibiotics, a cold-water-soluble gelling agent, and an indicator that facilitates yeast and mold enumeration. Neogen Petrifilm YM Plates are used for the enumeration of yeast and mold in the food, beverage and bottled water industries. Neogen Petrifilm YM Plate components are decontaminated though not sterilized. Neogen® Petrifilm® Plates are manufactured at an ISO (International Standards Organization) 9001 certified site.

Safety

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

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

⚠ WARNING

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

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

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

- Use Neogen Petrifilm YM Plates for food and beverage sample testing that you have validated.
- Follow all product storage instructions contained in the instructions for use.
- Do not use beyond the expiration date.

To reduce risk associated with bacterial infection and workplace contamination:

- Perform Neogen Petrifilm YM Plate testing in a properly equipped laboratory under the control of a skilled microbiologist.
- The user must train its personnel in proper testing techniques. For example, Good Laboratory Practices¹, ISO 7218⁴, or ISO 17025⁵.

To reduce the risks associated with misinterpretation of results:

- Neogen Petrifilm YM Plates do not differentiate any one yeast or mold strain from another.
- Neogen has not documented Neogen Petrifilm YM Plates for use in industries other than food and beverages including bottled water. For example, Neogen has not documented Neogen Petrifilm YM for testing pharmaceuticals, or cosmetics. Neogen has not documented Neogen Petrifilm YM Plates for testing surface and municipal waters, or waters used in the pharmaceutical or cosmetic industries.
- The use of Neogen Petrifilm YM Plates to test water samples in compliance with local water testing regulations is at the sole discretion and responsibility of the end-user. Neogen Petrifilm YM Plates have not been tested with all possible bottled water samples, testing protocols or with all possible strains of microorganisms.
- Do not use Neogen Petrifilm YM Plates in the diagnosis of conditions in humans or animals.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

For information on documentation of product performance, visit our website at www.neogen.com or contact your Neogen representative or authorized distributor.

User Responsibility

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

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

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

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

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

Limitation of Warranties / Limited Remedy

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

Limitation of Neogen Liability

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

Storage

Store unopened Neogen Petrifilm YM Plate pouches refrigerated or frozen at temperatures lower than or equal to 8°C. Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening (20-25°C / <60% RH). Return unused Neogen Petrifilm YM Plates to pouch. Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool dry place (20-25°C / <60% RH) for no longer than 4 weeks. It is recommended that resealed pouches of Neogen Petrifilm YM Plates be stored in a freezer (see below) if the laboratory temperature exceeds 25°C (77°F) and/or the laboratory is located in a region where the relative humidity exceeds 50% (with the exception of air-conditioned premises).

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

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

⚠ Disposal

After use, Neogen Petrifilm YM Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow current industry standards for disposal.

For information on potential biohazards, reference Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition, Section VIII-B: Fungal Agents or equivalent.

Instructions for Use

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

Preparation and Incubation of Samples (Bottled Water Excepted)

Sample Preparation

1. Prepare appropriate dilution(s) of the sample as needed.

Use appropriate sterile diluents:

Butterfield's phosphate-buffered dilution water², 0.1% peptone water, peptone salt diluent³, saline solution (0.85-0.90%), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer, bisulphite-free letheen broth or distilled water. **Do not use diluents containing citrate, bisulphite or thiosulfate with Neogen Petrifilm Plates;** they can inhibit growth. If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40-45°C.

2. Blend or homogenize sample.

Plating

1. Place the Neogen Petrifilm YM Plate on a flat, level surface.
2. Lift the top film and dispense 1 mL of sample suspension onto the center of bottom film.
3. Drop the top film down onto the sample.

4. Place the plastic Neogen® Petrifilm® YM Spreader on the center of the plate. Press gently on the center of the spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire Neogen Petrifilm YM Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the spreader across the film.
5. Remove the spreader and leave the plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

Incubation

Incubate Neogen Petrifilm YM Plates for 5 days at 20-25°C in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 plates.

See “Specific Instructions for Validated Methods” for specific requirements.

Preparation and Incubation of Bottled Water Samples

Water filtration and Plate Incubation

1. Following standard procedures for water analysis, membrane filter water sample using a 47 mm, 0.45 micron pore size Mixed Cellulose Ester (MCE) filter.
2. Carefully lift the top film of the Neogen Petrifilm YM Plate. Avoid touching the circular growth area. Place the filter in the center of the plate.
3. Hydrate the Neogen Petrifilm YM Plate by placing 1 mL appropriate sterile, hydration diluent in the center of the filter. Appropriate sterile hydration diluents include distilled water, deionized (DI) water and reverse-osmosis (RO) water.
4. Slowly roll the top film onto the filter. Minimize trapping air bubbles and creating gaps between the filter and the Neogen Petrifilm YM Plate. Lightly apply pressure by using the Neogen Petrifilm Plate YM spreader.
5. Incubate Neogen Petrifilm YM Plates at 20-25°C for 3-5 days⁶ in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20.

Interpretation

1. Neogen Petrifilm YM Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Gridlines are visible with the use of a backlight to assist with estimated enumeration.
2. To differentiate yeast and mold colonies on the Neogen Petrifilm YM Plate, look for one or more of the following characteristics:

Yeast	Mold
Small colonies	Large colonies
Colonies have defined edges	Colonies have diffuse edges
Pink-tan to blue-green in color	Variable color
Colonies appear raised (3 dimensional)	Colonies appear flat
Colonies have a uniform color	Colonies have a dark center*

* Mold colonies on the surface of a filter may not exhibit a dark center.

3. Read final yeast and mold results on day 5. Large or fast growing molds may obscure results on Neogen Petrifilm YM Plate by day 5. Check plates on day 3 and record results of plates with high counts (this count can be recorded directly on the plate). If the plate is overgrown by day 5, record the 3-day count as an estimated count.
Note: During the hydration of the Neogen Petrifilm YM Plate with a membrane filter, some colonies may be eluted off of the filter onto the surrounding inoculation area. Count all colonies on both the filter and the surrounding media.
4. Mold colonies may spread and cause the entire growth area to turn blue, black, yellow, etc. Record the three day count as an estimated mold count.
5. High numbers of yeast colonies may cause the entire growth area to turn blue or appear as blue growth around the edge of the inoculated area. If Neogen Petrifilm YM Plates appear to have no growth, lift the top film and examine the gel that adheres to the top film. If numerous yeast are present, you may see white colonies in the gel. This is recorded as a yeast count of too numerous to count (TNTC).
6. The circular growth area is approximately 30 cm². Estimates can be made on plates containing greater than 150 colonies by counting the number of colonies in one or more representative squares and determining the average number per square. Multiply the average number by 30 to determine the estimated count per plate.
7. If a more accurate count is required, re-test the sample plating at higher dilutions.

8. The Neogen Petrifilm YM Plates use a phosphatase enzyme indicator to help detect yeast and mold. All living cells contain phosphatase; therefore natural phosphatase in samples can cause the indicator to react in one of two ways:
 - a) A uniform blue background color (often seen from the organisms used in cultured products).
 - b) Intense, pinpoint blue spots (often seen with spices or granulated products).
9. One or more of the following techniques can help distinguish a color reaction caused by natural phosphatase in a product from yeast and mold colonies:
 - a) Dilute the sample further.
 - b) Allow food particles to settle in the sample, then plate the supernate.
 - c) Check the plate after 24-48 hours of incubation and note any color that is present; if color intensity does not change by day 5 of incubation, the color may be from the phosphatase reaction.
10. Where necessary, colonies may be isolated for further identification. Lift the top film and pick the colony from the gel. If using membrane filtration, the filter may adhere to either the top film or the bottom film when lifting the top film. If the filter adheres to the top film, separate the filter from the top film and pick colonies. Test using standard procedures.
11. If the plates cannot be counted at the end of the 5 day incubation period, store for later enumeration by freezing in a sealable container at temperatures lower than or equal to negative 15°C for no longer than one week.

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

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

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Official Methods of AnalysisSM (OMA) #997.02

In an AOAC Official Methods of Analysis study, the Neogen Petrifilm YM Plate method was found to be equivalent to the average log counts of the FDA BAM 7th Edition, Chapter 18 reference method and AOAC SMPR 2021.009.

Scope of Validation:

Enumeration of total yeast and mold in foods and dried cannabis flower.

Incubation:

Incubate Neogen Petrifilm YM Plates for 5 days at 20-25°C.

Interpretation:

Plates containing greater than 150 colonies can either be estimated or recorded as too numerous to count (TNTC). Estimation can be done by counting the number of colonies in one or more representative squares and determining the average number per square. The average number can be multiplied by 30 to determine the estimated count per plate. If a more accurate count is required, the sample can be retested at higher dilutions.

References

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
3. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9610D.

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

Explanation of symbols

info.neogen.com/symbols

AOAC is a registered trademark of AOAC INTERNATIONAL

Official Methods of Analysis is a service mark of AOAC INTERNATIONAL

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

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

Neogen Europe Ltd.

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

Neogen Ireland

Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow,
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

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

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00848A

Instructions relatives au produit

Test pour la numération des Levures et Moisissures

Description et utilisation du produit

Le test Neogen® Petrifilm® pour la numération des Levures et Moisissures (YM) est un milieu de culture prêt à l'emploi qui contient des éléments nutritifs, des antibiotiques, un agent gélifiant soluble dans l'eau froide et un indicateur qui facilite la numération des levures et moisissures. Les tests Neogen Petrifilm YM sont utilisés aux fins de numération des levures et moisissures dans l'industrie des aliments, des boissons et de l'eau en bouteille. Les composants du test Neogen Petrifilm YM sont décontaminés, mais pas stérilisés. Les tests Neogen® Petrifilm® sont fabriqués dans un site certifié ISO (International Standards Organization) 9001.

Sécurité

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

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

⚠ AVERTISSEMENT

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

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

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

- Utiliser les tests Neogen Petrifilm YM pour les analyses des échantillons d'aliments et de boissons que vous avez validées.
- Suivre toutes les instructions relatives à la conservation du produit mentionnées dans les instructions d'utilisation.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.

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

- Effectuer les analyses au moyen du test Neogen Petrifilm YM dans un laboratoire correctement équipé, sous la surveillance d'un microbiologiste compétent.
- L'utilisateur doit former son personnel aux techniques d'analyse appropriées. Il s'agit par exemple des bonnes pratiques de laboratoire¹, de la norme ISO 7218⁴, ou de la norme ISO 17025⁵.

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

- Les tests Neogen Petrifilm YM ne permettent pas de faire de distinction entre les différentes souches de levures ou de moisissures.
- Neogen n'a pas documenté l'utilisation des tests Neogen Petrifilm YM dans des secteurs autres que l'industrie alimentaire, les boissons et l'eau en bouteille. Neogen n'a, par exemple, pas documenté l'utilisation des tests Neogen Petrifilm YM pour l'analyse des produits pharmaceutiques ou des cosmétiques. Neogen n'a pas documenté les tests Neogen Petrifilm YM pour l'analyse des eaux de surface et des eaux municipales, ou les eaux utilisées dans les industries pharmaceutiques ou cosmétiques.
- L'utilisation des tests Neogen Petrifilm YM pour l'analyse d'échantillons d'eau conformément aux réglementations locales en matière d'analyse de l'eau est à la seule discrétion et responsabilité de l'utilisateur final. Les tests Neogen Petrifilm YM n'ont pas été testés avec tous les échantillons d'eau en bouteille possible, protocoles d'analyse ou souches possibles de microorganismes.
- Ne pas utiliser les tests Neogen Petrifilm YM pour réaliser des diagnostics sur l'homme ou l'animal.

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

Visitez notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contactez votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour plus d'informations.

Responsabilité de l'utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de prendre connaissance des instructions et des informations relatives au produit. Visitez notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contactez votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour plus d'informations.

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

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

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

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

Limitations de garanties/Limites de recours

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

Limitation de responsabilité de Neogen

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

Stockage

Conserver les poches non ouvertes de tests Neogen Petrifilm YM au réfrigérateur ou au congélateur à une température inférieure ou égale à 8 °C. Juste avant utilisation, laisser les poches non ouvertes atteindre la température ambiante avant de les ouvrir (entre 20 et 25 °C / < 60 % HR). Replacer les tests Neogen Petrifilm YM non utilisés dans leur poche. Refermer hermétiquement les poches ouvertes avec un ruban adhésif, après avoir plié sur lui-même le côté ouvert. **Ne pas réfrigérer les poches ouvertes pour éviter une exposition à l'humidité.** Les poches refermées doivent être conservées dans un endroit frais et sec (entre 20 et 25 °C / < 60 % HR) pendant 4 semaines au maximum. Lorsque la température d'un laboratoire dépasse 25 °C (77 °F), et/ou que ce laboratoire est situé dans une région où l'humidité relative dépasse 50 % (à l'exception des locaux climatisés), il est recommandé de conserver les poches de tests Neogen Petrifilm YM refermées au congélateur (voir ci-dessous).

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

Ne pas utiliser les tests présentant une altération de la couleur. La date limite d'utilisation et le numéro de lot figurent sur chaque poche de tests Neogen Petrifilm. Le numéro de lot est également indiqué sur chaque test.

△ Élimination des déchets

Après utilisation, les tests Neogen Petrifilm YM peuvent contenir des microorganismes susceptibles de présenter un risque biologique potentiel. Respecter les normes en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Pour en savoir plus sur les risques biologiques potentiels, se référer au document Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition, Section VIII-B: Fungal Agents ou un équivalent.

Instructions d'utilisation

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

Préparation et incubation d'échantillons (hormis l'eau en bouteille)

Préparation de l'échantillon

1. Préparer la ou les dilutions appropriées de l'échantillon selon les besoins.

Utiliser des diluants stériles appropriés :

Eau de dilution tamponnée au phosphate de Butterfield², eau de peptone tamponnée (ISO), eau de peptone à 0,1 %, diluant de sel de peptone³, solution saline (0,85-0,90 %), neutralisant à large spectre Neogen[®], bouillon de letheen sans bisulfite ou eau distillée. **Ne pas utiliser de diluants contenant du citrate, du bisulfite ou du thiosulfate avec les tests Neogen Petrifilm**, car ils peuvent inhiber la croissance. Si une solution tampon au citrate est indiquée dans la procédure standard, la remplacer par l'un des tampons cités plus haut, réchauffé à une température comprise entre 40 et 45 °C.

2. Mélanger ou homogénéiser l'échantillon.

Utilisation des tests

1. Placer le test Neogen Petrifilm YM sur une surface de travail plane et régulière.
2. Soulever le film supérieur et déposer 1 ml de l'échantillon en suspension au centre du film inférieur.
3. Abaisser le film supérieur sur l'échantillon.
4. Placer le Neogen[®] Petrifilm[®] YM Diffuseur en plastique au centre du test. Répartir l'échantillon uniformément en exerçant une légère pression au centre du diffuseur. Répartir l'inoculum sur la totalité de la zone de croissance du test Neogen Petrifilm YM avant que le gel ne se forme. Ne pas faire glisser le diffuseur sur le film.
5. Retirer le diffuseur et laisser le test reposer durant au moins une minute afin de laisser le gel se former.

Incubation

Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm YM pendant 5 jours à 20-25 °C à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut et sans empiler plus de 20 tests.

Se référer à la section « Instructions spécifiques pour méthodes validées » pour connaître les exigences spécifiques.

Préparation et incubation d'échantillons d'eau en bouteille

Filtration de l'eau et incubation des tests

1. Conformément aux procédures standard d'analyse de l'eau, filtrer l'échantillon d'eau sur membrane à l'aide d'un filtre d'esters de cellulose mélangées (ECM) de 47 mm, dont les pores mesurent 0,45 micron.
2. Soulever soigneusement le film supérieur du test Neogen Petrifilm YM. Ne pas toucher la zone de croissance circulaire. Placer le filtre au centre du test.
3. Hydrater le test Neogen Petrifilm YM en déposant 1 ml de diluant d'hydratation stérile approprié au centre du filtre. Les diluants d'hydratation stériles appropriés comprennent l'eau distillée, l'eau désionisée (DI) et l'eau par osmose inverse (RO).
4. Dérouler lentement le film supérieur sur le filtre. Minimiser l'emprisonnement de bulles d'air et la création d'espaces entre le filtre et le test Neogen Petrifilm YM. Appliquer une légère pression en utilisant le diffuseur YM du test Neogen Petrifilm.
5. Laisser incuber les tests Neogen Petrifilm YM entre 20 et 25 °C pendant 3 à 5 jours⁶ à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut et sans empiler plus de 20 tests.

Interprétation

1. La numération à l'aide des tests Neogen Petrifilm YM peut être effectuée sur un compteur de colonies standard ou au moyen d'une autre loupe éclairante. Les quadrillages sont visibles à l'aide d'un rétroéclairage pour faciliter l'estimation du nombre de colonies.
2. Afin d'identifier les colonies de levures et de moisissures présentes sur le test Neogen Petrifilm YM, rechercher une ou plusieurs des caractéristiques suivantes :

Levures	Moisissures
Petites colonies	Grandes colonies
Les bords des colonies sont nets	Les bords des colonies sont imprécis
Coloration rose à bleu-vert	Couleur variable
Les colonies semblent être en relief (en trois dimensions)	Les colonies semblent plates
Les colonies ont une couleur uniforme	Les colonies ont un centre foncé*

* Les colonies de moisissures sur la surface d'un filtre ne doivent pas présenter de centre foncé.

3. Faire la numération finale des levures et des moisissures le 5e jour. Les moisissures de grande taille ou à la croissance rapide peuvent gêner la lecture des résultats le 5e jour sur le test Neogen Petrifilm YM. Observer les tests le 3e jour, noter les résultats des tests comportant un nombre élevé (ce nombre peut être noté directement sur le test). Si le test est illisible le 5e jour, enregistrer le résultat obtenu le 3e jour comme une numération estimée.

Remarque : Pendant l'hydratation du test Neogen Petrifilm YM avec un filtre à membrane, certaines colonies peuvent être éluées du filtre sur la zone d'inoculation environnante. Compter toutes les colonies sur le filtre et sur le milieu environnant.

4. Les colonies de moisissures peuvent s'étaler et provoquer le virage complet de la zone de croissance au bleu, noir, jaune, etc. Dans ce cas, enregistrer le résultat obtenu le 3e jour comme une numération estimée.

5. Un nombre élevé de colonies de levures peut provoquer le virage au bleu de la zone de croissance ou l'apparition d'une zone bleue aux limites de la zone inoculée. Si aucune croissance n'est visible sur les tests Neogen Petrifilm YM, soulever le film supérieur et observer le gel qui adhère sur le film supérieur. Si de nombreuses levures sont présentes, vous pourrez voir des colonies blanches sur le gel. Ceci est alors enregistré comme un résultat indénombrable.

6. La zone de croissance circulaire est de 30 cm² environ. Les estimations peuvent être effectuées sur les tests contenant plus de 150 colonies en comptant le nombre de colonies dans un ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Multiplier le nombre moyen par 30 pour déterminer le nombre estimé par test.

7. Pour une numération plus précise, vous pouvez effectuer une nouvelle analyse de l'échantillon après dilution supplémentaire.

8. Les tests Neogen Petrifilm YM contiennent un indicateur de phosphatase permettant de détecter les levures et les moisissures. Toutes les cellules vivantes contiennent de la phosphatase ; c'est pourquoi la phosphatase naturelle de l'échantillon peut faire réagir l'indicateur de deux manières :

- Une couleur de fond bleue uniforme (souvent observée à partir des organismes utilisés dans les produits de culture).
- de petits points bleu vif (souvent constatés lors de l'analyse d'épices ou de produits en poudre).

9. Une ou plusieurs des techniques suivantes peuvent permettre de distinguer la réaction colorée due à la phosphatase naturelle de celle due aux colonies de levures et de moisissures :

- Diluer davantage l'échantillon.
- Faire sédimenter les particules alimentaires, puis ensemercer le surnageant.
- Observer le test après 24-48 heures d'incubation et noter la présence éventuelle d'une réaction colorée. Si l'intensité de la couleur n'a pas changé après 5 jours d'incubation, la couleur peut être due à la réaction phosphatase.

10. Si nécessaire, les colonies peuvent être isolées pour être identifiées plus tard. Soulever le film supérieur et prélever la colonie à partir du gel. Si l'on utilise une filtration sur membrane, le filtre peut adhérer soit au film supérieur, soit au film inférieur lorsqu'on soulève le film supérieur. Si le filtre adhère au film supérieur, séparer le filtre du film supérieur et prélever des colonies. Procéder au test en suivant les procédures standard.

11. Si les tests ne peuvent pas être lus à la fin de la période d'incubation de 5 jours, les stocker pour une numération ultérieure en les congelant, dans un récipient étanche, à une température inférieure ou égale à -15 °C, pendant une semaine au maximum.

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

Pour plus d'informations, consulter le « Guide d'interprétation du test Neogen® Petrifilm® pour la numération des Levures et des Moisissures ». Si vous avez des questions au sujet d'applications ou de procédures spécifiques, veuillez visiter notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contacter votre représentant Neogen Food Safety ou votre distributeur Neogen agréé.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

AOAC® Official Methods of AnalysisSM (OMA) #997.02

Une étude AOAC Official Methods of Analysis a démontré que la méthode Test Neogen Petrifilm YM est équivalente à la numération totale moyenne issue du BAM de la FDA, 7e édition, chapitre 18 en ce qui concerne la méthode de référence et l'AOAC SMPR 2021.009.

Portée de la validation :

Dénombrement des levures et moisissures totales dans les aliments et la fleur de cannabis séchée.

Incubation :

Incuber les tests Neogen Petrifilm YM pendant 5 jours entre 20 et 25 °C.

Interprétation :

Lorsque le test contient plus de 150 colonies, il est possible de procéder à une estimation ou d'enregistrer les résultats comme indénombrables. Les estimations peuvent être effectuées en comptant le nombre de colonies dans un ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Ce nombre moyen peut ensuite être multiplié par 30 pour déterminer le nombre estimé par test. Pour une numération plus précise, il est possible d'effectuer une nouvelle analyse de l'échantillon après dilution supplémentaire.

Références

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), Reagents Index for BAM consulté sur : <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
3. ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
6. American Public Health Association. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. Method 9610D.

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

Explication des symboles

info.neogen.com/symbols

AOAC est une marque déposée d'AOAC INTERNATIONAL

Official Methods of Analysis est une marque déposée d'AOAC INTERNATIONAL

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

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

Neogen Europe Ltd.

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

Neogen Ireland

Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow,
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

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

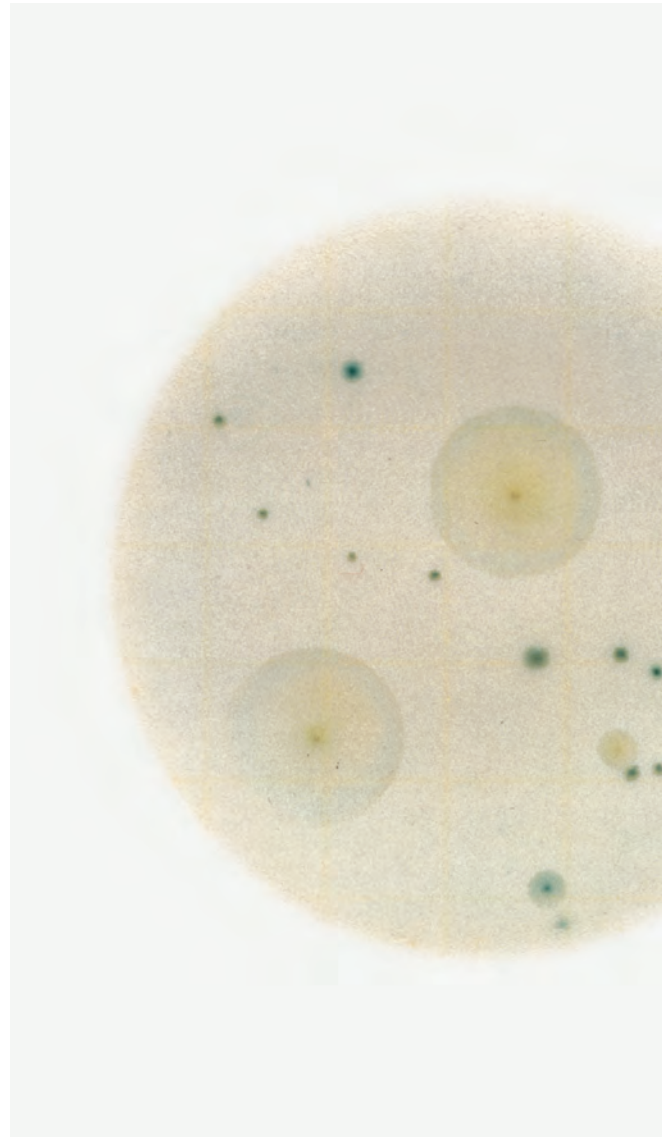
© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00848A



Petrifilm[®]

Interpretation Guide

The Neogen[®] Petrifilm[®] Yeast and Mold Count Plate is a sample-ready culture medium system which contains nutrients supplemented with antibiotics, a cold-water-soluble gelling agent, and an indicator that facilitates yeast and mold enumeration. Petrifilm Yeast and Mold Plates are used for the enumeration of yeast and mold in the food and beverage industries.



YM

Yeast and Mold Count Plate

Food and Beverage Applications

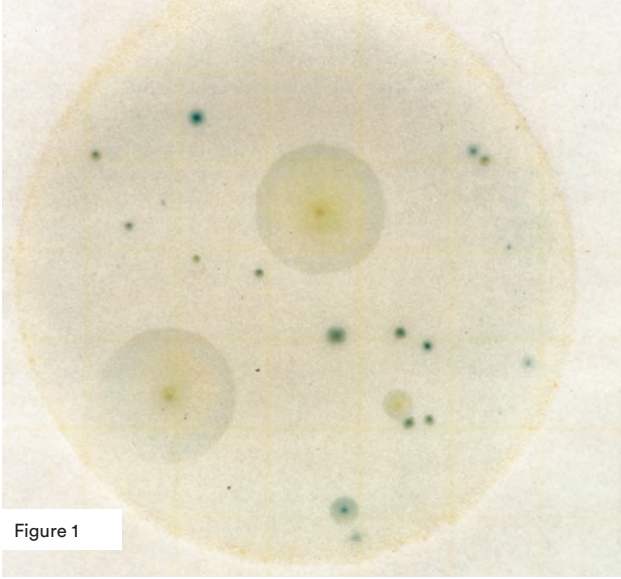


Figure 1

Total count = 20
Yeast count = 16
Mold count = 4

Petrifilm Yeast and Mold Count Plate contains both yeast colonies and mold colonies.

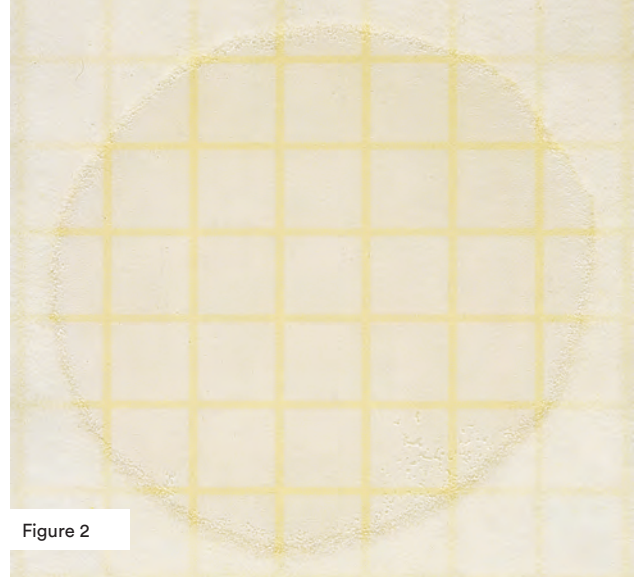


Figure 2

Yeast and mold count = 0

Petrifilm Yeast and Mold Count Plate without yeast or molds. Gridlines are visible with the use of a backlight to assist with estimated enumeration.

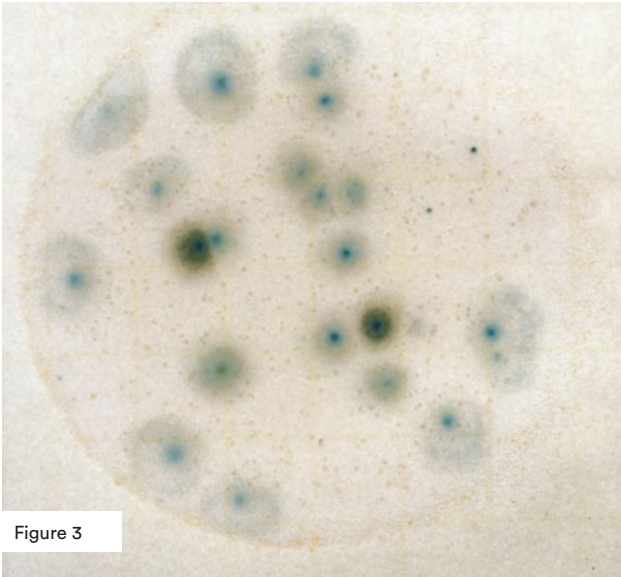


Figure 3

Estimated total count = 500
Estimated yeast count = 480
Estimated mold count = 21

When colonies number more than 150, estimate the count. Gridlines are visible with the use of a backlight to assist with estimated enumeration. Determine the average number of colonies in one square (1 cm²) and multiply it by 30 to obtain the total count per plate. The inoculated area is approximately 30 cm². Yeast colonies may range in color from tan (as in this example) to pink to blue-green.

For a more accurate count, further dilution of the sample may be necessary.

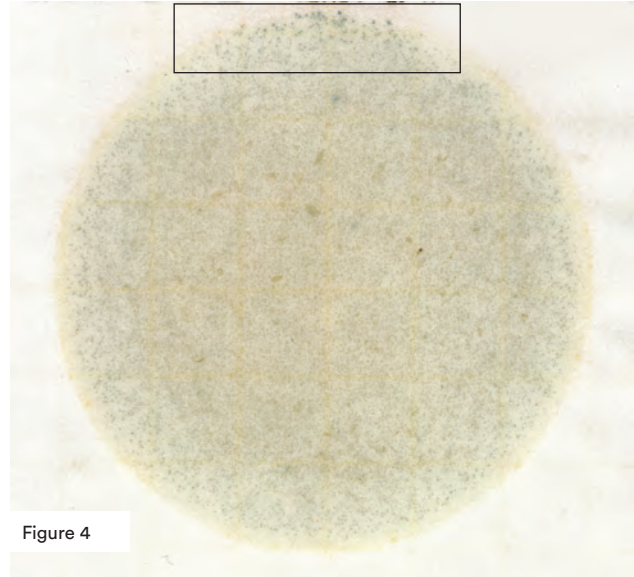


Figure 4

Estimated yeast count = TNTC

Petrifilm Yeast and Mold Count Plate containing yeast colonies too numerous to count (TNTC). The small, blue colonies at the edge of the plate (highlighted in the box) are present throughout the entire plate although less visible.

For a more accurate count, further dilution of the sample may be necessary.

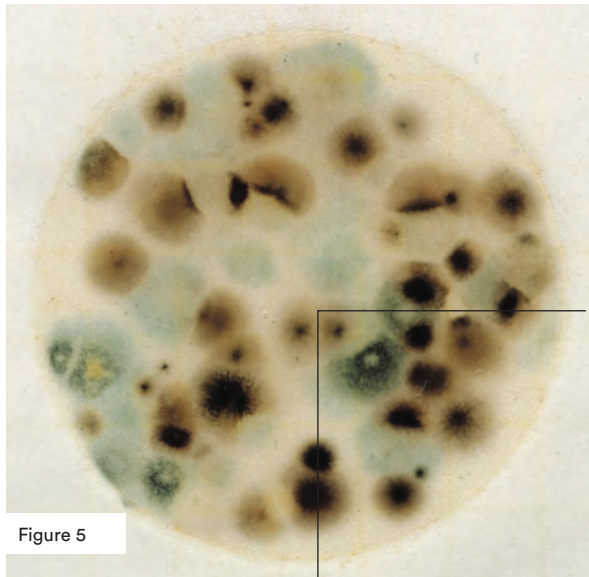


Figure 5

Estimated mold count = 64

Mold colonies are beginning to crowd and overlap each other on the plate. Count each colony margin or focus. The plate can be divided into sections to assist in counting. In this example, approximately 1/4 of the plate was counted, then the number of colonies counted was multiplied by 4 to get the estimated count on the plate. The section shown has 16 molds.

For a more accurate count, further dilution of the sample may be necessary.

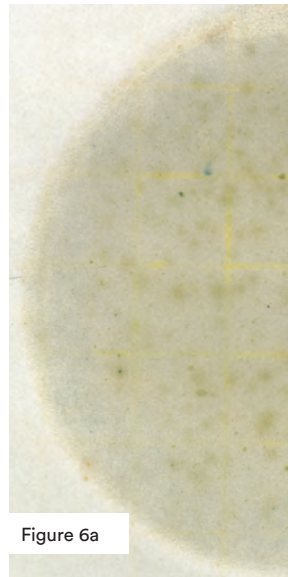


Figure 6a

Mold count = TNTC

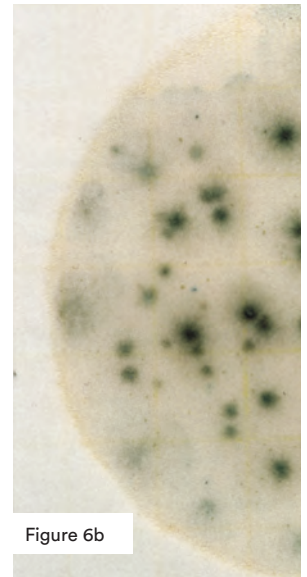


Figure 6b

Mold count = 64

Plates in Figures 6a and 6b are the same sample. Figure 6a is a 1:10 dilution and has colonies that are small, faint and numerous, making it difficult to count. Figure 6b is a 1:100 dilution and shows how diluting a sample to obtain a colony count of less than 150 colonies makes counting easier. As with most growth media, in a highly competitive environment (such as Figure 6a), typical colony growth will be inhibited. For heavily contaminated samples such as these, further dilutions are recommended for a more accurate count and more typical colony growth (as in Figure 6b).

Phosphatase Reaction

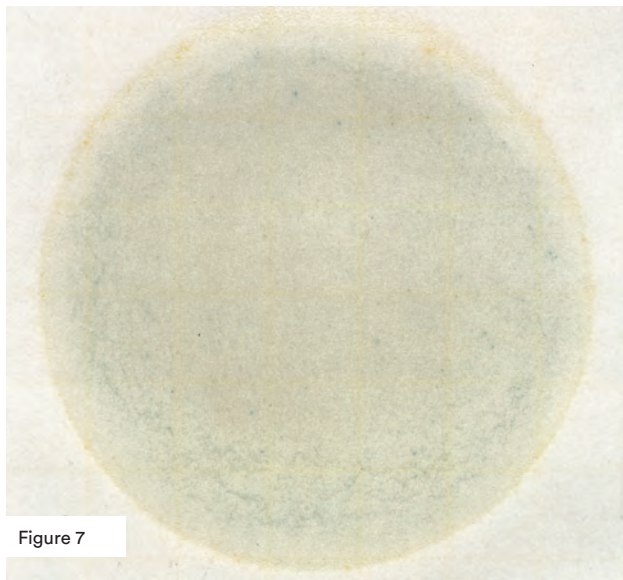


Figure 7

Yeast and mold count = 0

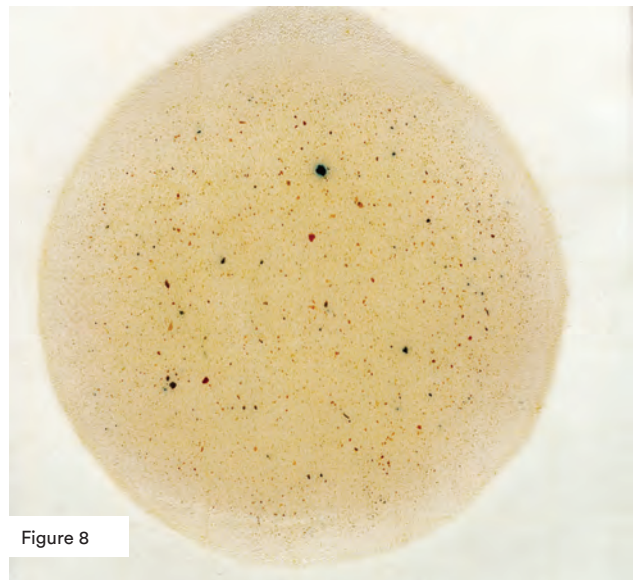


Figure 8

Yeast and mold count = 0

The Petrifilm Yeast and Mold Count Plates utilize a phosphatase indicator dye. All living cells contain phosphatase; therefore, natural phosphatase in samples can cause the indicator to react. Two types of color reactions are sometimes seen: a uniform blue background color or intense, blue spots. Figure 7 shows uniform blue background color and Figure 8 shows intense blue spots which are often seen with spices or granulated products. Figure 8 also shows food particles that yielded phosphatase.

To reduce a phosphatase reaction, follow one or more of these techniques:

1. Dilute Sample: Further sample dilution will minimize blue background color or reduce the number of intense blue spots.
2. Sample Preparation: Mix sample and let settle before plating. Draw sample from center portion of sample container or use filtered homogenizer bag to avoid plating large particles.
3. Check and Note: Observe plates within 24–48 hours of incubation and make note of any color change to aid in final interpretation.

Bottled Water Applications

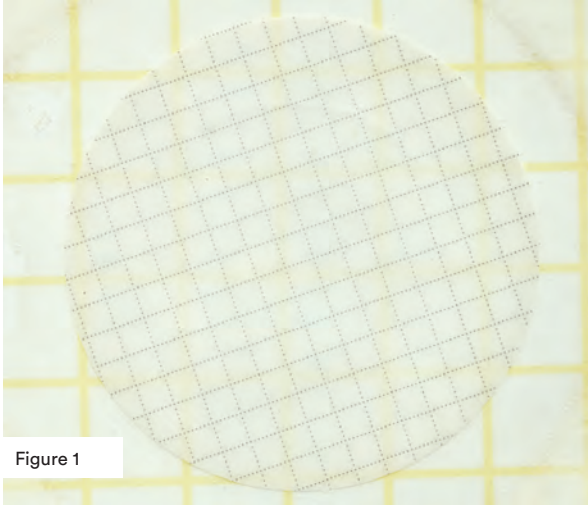


Figure 1

Yeast and mold count: 0

Petrifilm Yeast and Mold Count Plate with no colonies.

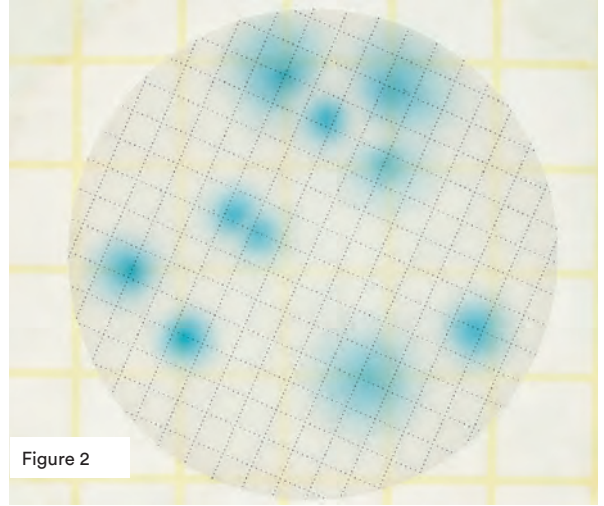


Figure 2

Yeast and mold count: 10

Mold colonies are large with a dark center and diffuse edge.

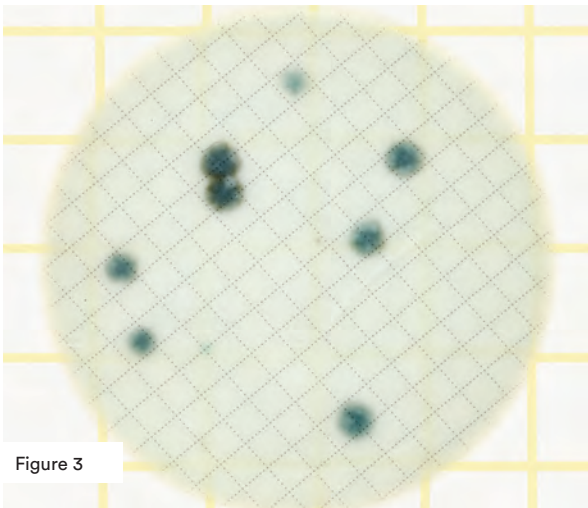


Figure 3

Yeast and mold count: 10

Note two small, faint colonies.

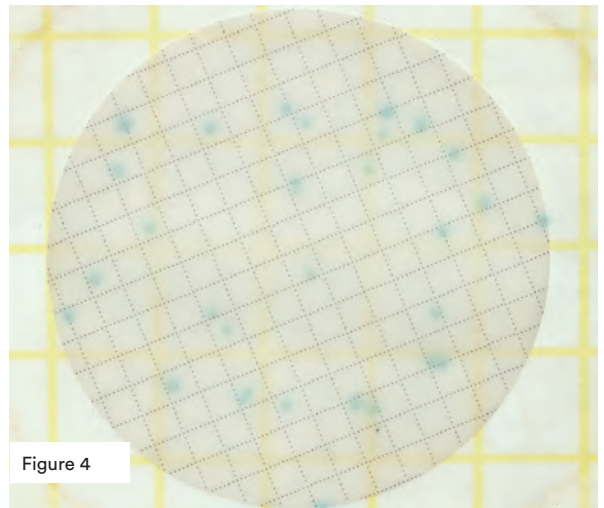


Figure 4

Yeast and mold count: 31

Count colonies partially or totally off of the filter.

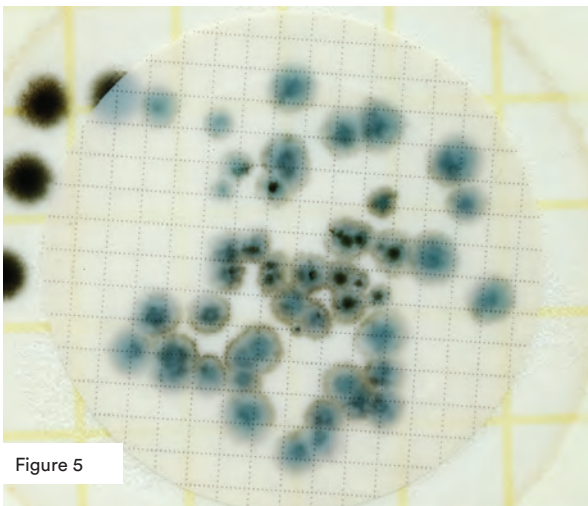


Figure 5

Yeast and mold count: 51

Estimate colony count when molds merge; darker centers can help enumerate colonies. Count colonies partially or totally off of the filter.

For All Applications

Macroscopic Differentiation

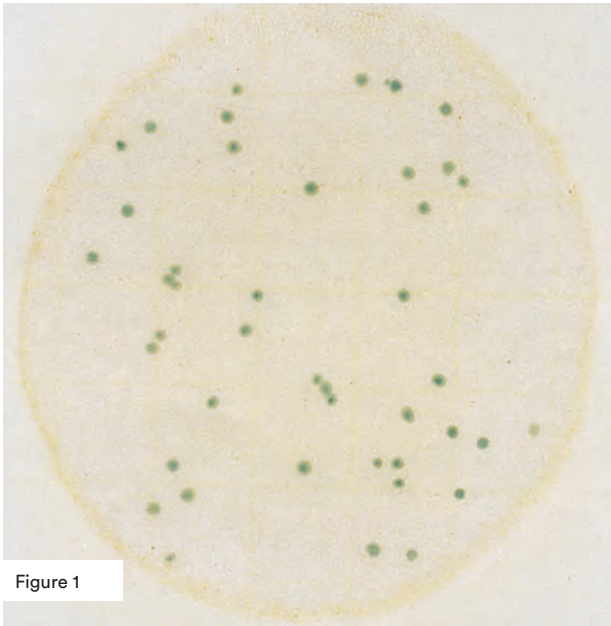


Figure 1

Yeast count = 43

Figure 1 shows typical yeast colonies. Characteristics typical of yeast include:

- Colony is small
- Colony has defined edges
- Colony color can range from pink-tan to blue-green
- Colony may appear raised
- Colony typically is uniform in color, no center focus (dark center)

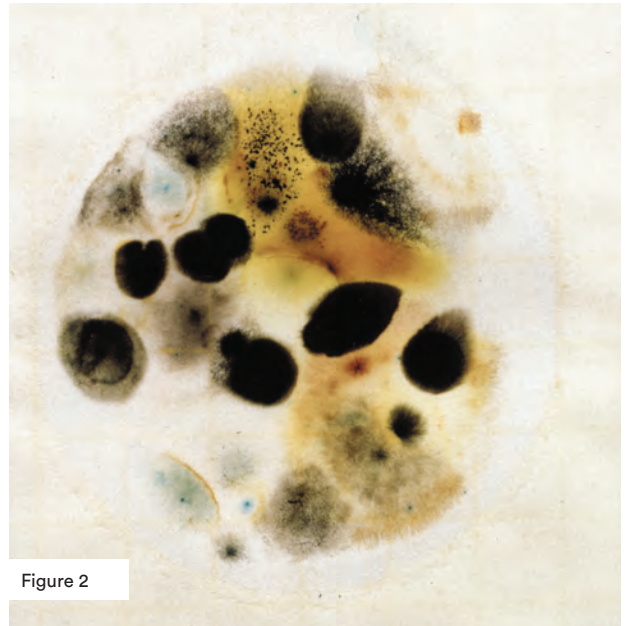


Figure 2

Mold count = 29

Figure 2 shows typical mold colonies. Characteristics typical of mold include:

- Colony grows large
- Colony has diffuse edges
- Colony color may vary as molds produce a variety of pigments (i.e., brown, beige, orange, blue-green)
- Colony appears flat
- Colony usually has a center focus (i.e., usually darker in color, may also be different color)

Microscopic Differentiation

Yeasts and molds are closely related and cannot always be distinguished from each other without microscopic examination.

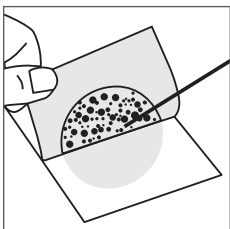


Figure 3

To isolate colonies for further identification, lift the top film and pick from the colony within the gel using a loop or similar device.

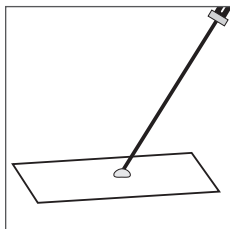


Figure 4

Transfer the colony to a drop of sterile water on a microscope slide, cover with a coverslip, and view under a microscope.

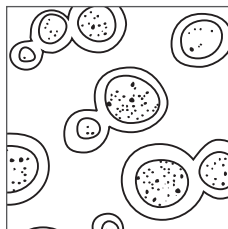


Figure 5

Yeast typically appear oval and may show budding.

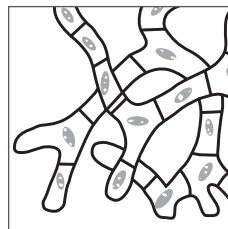


Figure 6

Mold typically appear as branching or thread-like filaments (mycelium).

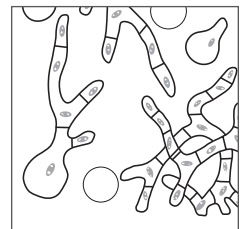


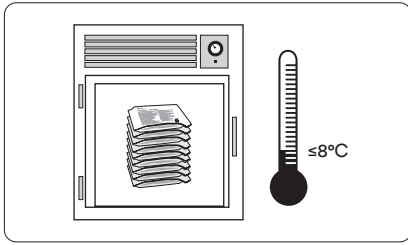
Figure 7

Molds shown above are in various stages of germination.

Reminders For Use

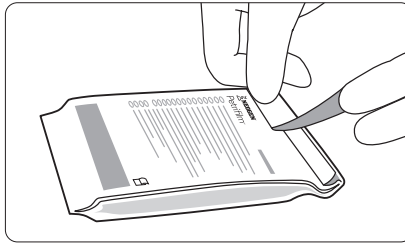
Food and Beverage Applications

Storage



01

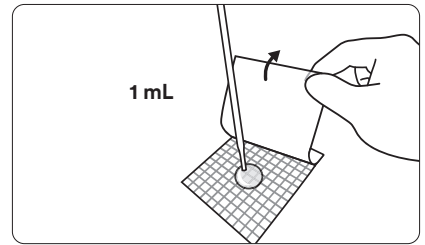
Store the unopened Petrifilm Yeast and Mold Count Plate pouches at refrigerated or frozen at temperatures $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Use before expiration date on package. Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening.



02

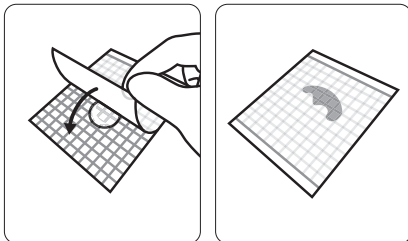
Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool, dry place for no longer than one month.

Inoculation



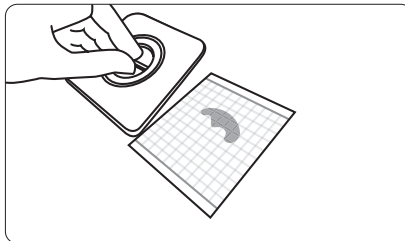
03

Place the Petrifilm Yeast and Mold Count Plate on a flat level surface. Lift the top film and with a pipette **perpendicular** to the inoculation area, dispense 1 mL of sample suspension onto the center of the bottom film.



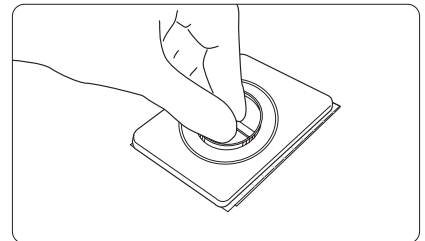
04

Drop the top film down onto the sample.



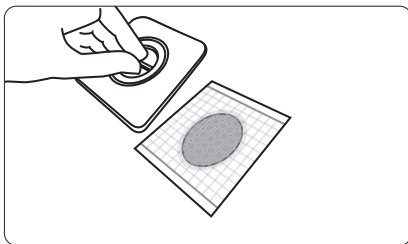
05

Place the Petrifilm Yeast and Mold Spreader on the center of the plate.



06

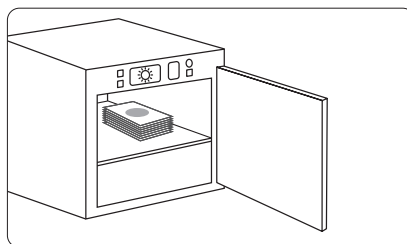
Gently apply pressure on the spreader to distribute the inoculum over circular area. **Do not twist or slide the spreader.**



07

Lift the spreader and leave the plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

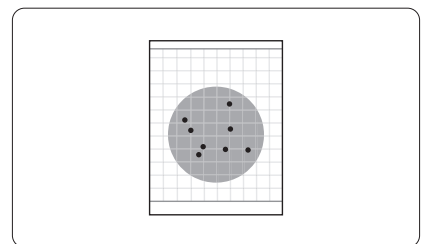
Incubation



08

Incubate plates with clear side up in stacks of up to 20. **Please refer to product instructions for third party validated methods.** Because some molds may grow quickly, it may be useful to read and count plates at 3 days as smaller colonies may be obscured by larger, overgrown molds at 5 days. If this happens, the 3 day count may be used; however, it should be reported as an estimated count.

Interpretation



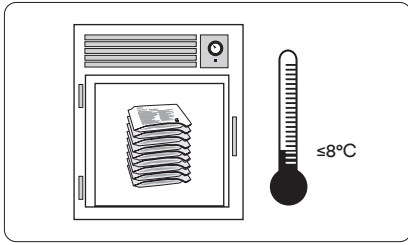
09

Petrifilm Yeast and Mold Count Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier.

Reminders For Use

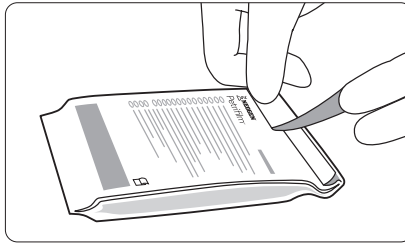
Bottled Water Applications

Storage



01

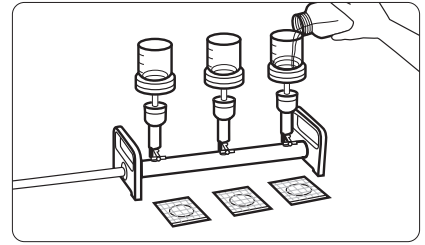
Store unopened pouches at $\leq 8^{\circ}\text{C}$ ($\leq 46^{\circ}\text{F}$). Use before expiration date on package. Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening.



02

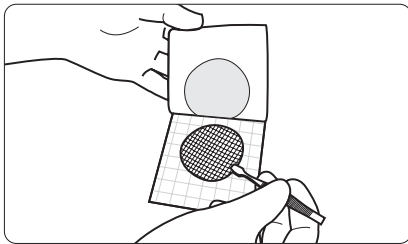
To seal opened pouches, fold end over and apply adhesive tape. **Do not refrigerate opened pouches.** Use Petrifilm Yeast and Mold Count Plates within one month after opening.

Hydration Procedure



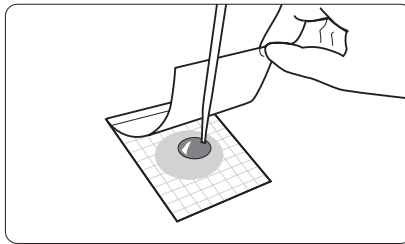
03

Following standard procedures for water analysis, membrane filter water sample using a 47 mm, 0.45 micron pore size Mixed Cellulose Ester (MCE) filter.



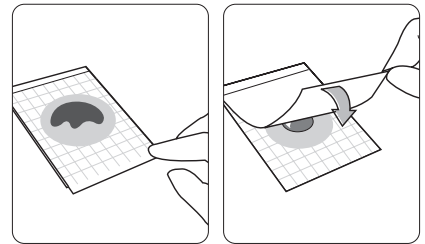
04

Place filter in the center of the plate.



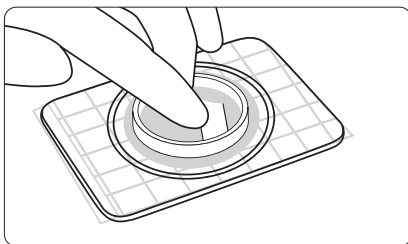
05

With the pipette **perpendicular** to the Petrifilm Yeast and Mold Count Plate, place 1 mL of hydration diluent onto the center of the filter. Appropriate sterile diluents include distilled water, deionized (DI) water and reverse osmosis (RO) water.



06

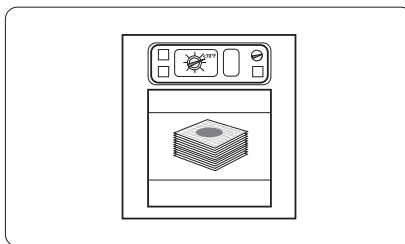
Carefully roll top film down onto the filter.



07

Lightly apply pressure to the Petrifilm Yeast and Mold Spreader to ensure uniform contact of the filter with the gel and to eliminate any air bubbles.

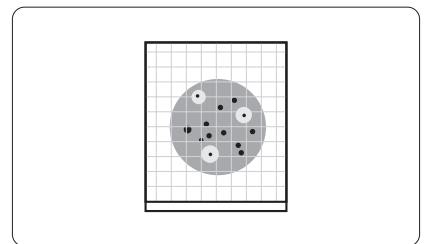
Incubation



08

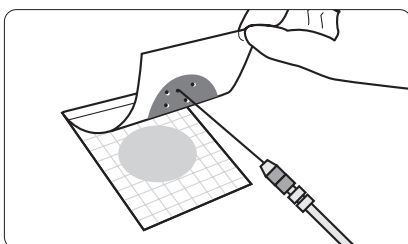
Incubate Petrifilm Yeast and Mold Count Plates in a horizontal position, clear side up, in stacks on no more than 20 plates at $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ for 3–5 days.

Interpretation



09

Petrifilm Yeast and Mold Count Plates can be counted on a standard colony counter or other illuminated magnifier.



10

Colonies may be isolated for further identification. Lift top film and pick the colony from the gel.

Use Appropriate Sterile Diluents

Butterfield's phosphate buffer, 0.1% peptone water, peptone salt diluent, saline solution (0.85–0.90%), Wide-Spectrum Neutralizer, bisulphite-free letheen broth or distilled water.

Do not use diluents containing citrate, bisulphite or thiosulfate with Petrifilm Yeast and Mold Count Plates; they can inhibit growth.

If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40–45°C.

Neogen offers a full line of products to accomplish a variety of your microbial testing needs.

For more product information, visit info.neogen.com/petrifilm

User's Responsibilities: Neogen Petrifilm Plate performance has not been evaluated with all combinations of microbial flora, incubation conditions and food matrices. It is the user's responsibility to determine that any test methods and results meet the user's requirements. Should re-printing of this Interpretation Guide be necessary, user's print settings may impact picture and color quality.

For detailed CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES/LIMITED REMEDY and LIMITATION OF NEOGEN LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information and INSTRUCTIONS FOR USE, see product instructions.



Neogen Corporation, 620 Leshar Place, Lansing, MI 48912 USA.

© Neogen Corporation 2023. All rights reserved. Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.

FS00582_0823