

## BILAG 4

### Specifikation af analysemetoder - mikrobiologi

Følgende analysemetoder skal anvendes, medmindre det kan påvises, at de resultater der opnås ved andre metoder, er mindst ligeså pålidelige.

Escherichia coli (E. coli) og Coliforme bakterier	ISO 9308-1
Enterokokker	ISO 7899-2
Pseudomonas aeruginosa	prEN ISO 12780
Kimtal ved 22°C	prEN ISO 6222
Kimtal ved 37°C	prEN ISO 6222

Clostridium perfringens (herunder sporer):

Membranfiltrering efterfulgt af inkubation af membranen under anaerobe forhold med Clostridium perfringens agar-substrat ved 44 +/- 1°C i 21 +/- 3 timer. Tælling af de ugenomsigtige gule kolonier, der bliver lyserrøde eller røde efter at have været udsat for ammoniumhydroxid dampe i 20 til 30 sekunder.

Sammensætning af Clostridium perfringens-agar er:

Basalmedium	
Tryptose	30 g
Gærekstrakt	20 g
Sucrose	5 g
L-cystein hydrochlorid	1 g
MgSO <sub>4</sub> – 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
Bromkresolpurpur	40 mg
Agar	15 g
Vand	1000 ml

Opløs basalmediets ingredienser, juster pH-værdien til 7,6 og autoklaver ved 121°C i 15 minutter.

Afkøl mediet og tilsæt:

D-cycloserin	400 mg
Polymyxin-B-sulphat	25 mg
Indoxyl-β-D glucosid	60 mg
Opløses i 8 ml sterilt vand inden tilsætning	
Filtersteriliseret 0,5% Phenolphthalei-diphosphat-opløsning	20 ml
Filtersteriliseret 4,5% FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	2 ml