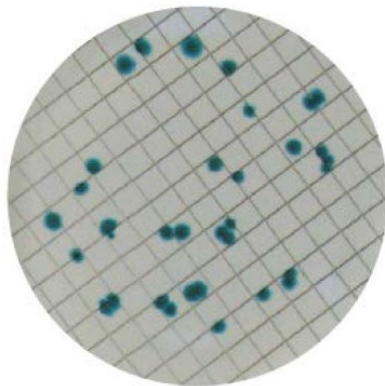

RAPID'*P.aeruginosa* Agar

User Guide

Chromogenic media for the direct enumeration without confirmation of *Pseudomonas aeruginosa* in water samples using the membrane filtration method

Catalog #3563984, Prepared plates, 55 mm x 20 dishes
Catalog #3564900, Dehydrated, 500 g



BIO-RAD

Table of Contents

Section 1	Introduction	1
Section 2	RAPID' <i>P.aeruginosa</i> Principle	1
Section 3	Theoretical Formula	1
Section 4	Shelf Life and Storage	1
Section 5	Materials Required but Not Supplied	1
	Equipment.....	1
	Supplies	2
Section 6	Precautions, Limitations of Use, and Quality Control	2
Section 7	Protocol	3
	Preparation of Dehydrated Medium.....	3
	Sample Preparation	3
	Inoculation and Plate Reading.....	3
Section 8	Confirmation of Positive Results.....	3
Section 9	Confirmation of Other Methods.....	4
Section 10	Test Performance and Validations.....	4
Section 11	References.....	4
Section 12	Revision History	5

Section 1 Introduction

Pseudomonas aeruginosa is a ubiquitous environmental gram-negative bacterium naturally present in fresh and seawater, moist soil, and on the surface of vegetables. *P. aeruginosa* is an opportunistic pathogen that can cause serious illness. Many companies impose regulations on *P. aeruginosa* testing on water for human consumption, with absence as the main criteria. These regulations are often adopted where government regulations do not mandate this testing in order to ensure the safety of drinking water.

Section 2 RAPID'*P.aeruginosa* Principle

The principle of RAPID'*P.aeruginosa* medium is based on the detection of an enzymatic activity typical of *P. aeruginosa*. Under its action, a specific chromogenic substrate is cleaved, leading to the formation of a blue to blue-green or green precipitate on *P. aeruginosa* colonies. The selective mixture makes it possible to inhibit the majority of interfering flora, in particular other *Pseudomonas non-aeruginosa* strains. Other microorganisms may, however, show growth. Their colonies appear transparent or pigmented yellow-green and are easily distinguishable from those of *P. aeruginosa*.

Section 3 Theoretical Formula

Nutritive mix	14 g
Buffer system	2.15 g
Selective agents	0.11 g
Chromogenic mix	0.13 g
Agar	10 g
Distilled water	qsp 1,000 ml

Final pH at 25°C = 7.1 ± 0.2

Section 4 Shelf Life and Storage

- Dehydrated medium: 2–8°C in carefully sealed package, in a dry and dark place
- Prepoured plates: 2–8°C in a dark place
- Plate prepared from dehydrated medium: 15 days at 2–8°C in carefully sealed package, in a dry and dark place

Section 5 Materials Required but Not Supplied

Equipment

- All usual laboratory equipment
- Filtration device

- Scale, sensitivity of 0.1 g
- Stirrer/homogenizer
- Thermostatically controlled incubator or incubation room, precise to $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Water bath, precise to $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Supplies

- Forceps for handling membranes
- Sterile distilled water
- Sterile filtration membranes ($\varnothing = 47$ mm, 0.45 μm Millipore HAWG 047 Type HA)
- Sterile petri dishes ($\varnothing 55$ mm)
- Sterile pipets

Section 6

Precautions, Limitations of Use, and Quality Control

Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 7218). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria such as *Pseudomonas*
- Media that have come in contact with water samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- Avoid trapping air bubbles underneath the membrane during its placement on the agar. Poor membrane-agar contact may lead to an erroneous result. If necessary, gently and carefully flatten the membrane with the forceps

Limitations of Use

Not applicable

Quality Control

- Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit www.bio-rad.com

Section 7 Protocol

Preparation of Dehydrated Medium

1. Always shake bottle before use.
2. Dissolve 26.4 g of powder in 1 L of distilled water and mix until a homogenous suspension is obtained.
3. Heat gently, agitating frequently, then bring to a boil until completely dissolved.
4. Sterilize in an autoclave at $121 \pm 3^\circ\text{C}$ for 15 min.
5. Cool the medium to $44\text{--}47^\circ\text{C}$. Dispense in petri dishes and leave on the bench to dry.
6. One 500 g bottle of powder makes 18.9 L of medium.

Sample Preparation

To be carried out in accordance with the standard of the product concerned.

Inoculation and Plate Reading

1. Bring medium to room temperature.
2. Under sterile conditions, filter the volume of water to be analyzed through a membrane according to the origin of the sample (e.g., 250 ml for bottled water samples or 100 ml for pool water samples).
3. Place the membrane, cross-hatched surface up, on the surface of the medium, taking care that the membrane-agar contact is complete.
4. Incubate plate at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 22–30 hr.
5. *P. aeruginosa* form blue, blue-green or green colonies on RAPID'*P.aeruginosa* agar. All colonies demonstrating typical color should be counted, regardless of size.
6. Refer to ISO 8199 standard for inoculation, enumeration and interpretation of results.
7. Record the total number of *P. aeruginosa* per unit volume of filtered sample.


Section 8 Confirmation of Positive Results

Not applicable

Section 9 Confirmation of Other Methods

Not applicable

Section 10 Test Performance and Validations

Certification	Scope	Validation Protocol	Reference Protocol	Certificate Reference
NF VALIDATION	<p>Bottled water (250 ml)</p> <p>Water for human consumption (wells, springs and boreholes, tap water and drinking fountain water) (100 ml)</p> <p>Treated recreational water (pool water, thermal water) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD 07/21-04/12 Water analysis methods http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>For more information about the end of validity of the NF VALIDATION certification, please refer to the certificate BRD 07/21-04/12 available on the website http://nf-validation.afnor.org/en and/or on request asking Bio-Rad Laboratories</p>

Section 11 References

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

EN ISO 11133: Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025: Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Section 12 Revision History

Release date	Document number	Change
January 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Document number change – previous version 100000126751 Ver C RAPID' <i>P.aeruginosa</i> User Guide - General content updates

Visit www.bio-rad.com/water for more information on our water testing products.

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

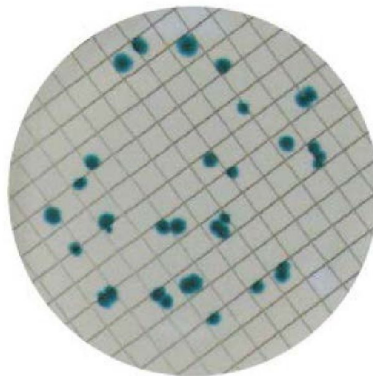
Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23 **Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23 **Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 080 007 7373 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23 **New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23 **Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23 **Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311 **United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

RAPID'*P.aeruginosa* Agar

Guide d'utilisation

Milieu de culture chromogène pour le dénombrement direct (sans confirmation) de *Pseudomonas aeruginosa* dans les échantillons d'eau par la méthode de filtration sur membrane

Catalogue n° 3563984, milieu de culture prêt à l'emploi, 20 boîtes (55 mm)
Catalogue n° 3564900, milieu de culture déshydraté, 500 g



BIO-RAD

Sommaire

Section 1	Introduction.....	1
Section 2	Principe du milieu de culture RAPID' <i>P.aeruginosa</i>	1
Section 3	Formule théorique	1
Section 4	Durée de conservation et stockage.....	1
Section 5	Matériel requis non fourni.....	1
	Matériel.....	1
	Produits	2
Section 6	Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité.....	2
Section 7	Protocole	3
	Préparation du milieu de culture déshydraté	3
	Préparation de l'échantillon.....	3
	Inoculation et lecture	3
Section 8	Confirmation des résultats positifs	3
Section 9	Confirmation d'autres méthodes	4
Section 10	Performance du test et validations.....	4
Section 11	Références	4
Section 12	Historique des révisions	5

Section 1 Introduction

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie environnementale ubiquitaire à Gram négatif, naturellement présente dans l'eau douce et l'eau de mer, les sols humides et sur la surface des végétaux. *P. aeruginosa* est un microorganisme pathogène opportuniste qui peut entraîner une maladie grave. De nombreuses entreprises imposent des réglementations sur les tests de détection de *P. aeruginosa* dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'absence de bactéries étant le principal critère. En vue de garantir la salubrité de l'eau potable, ces réglementations sont souvent adoptées lorsque les réglementations gouvernementales n'imposent pas ce test.

Section 2 Principe du milieu de culture RAPID'*P.aeruginosa*

Le principe du milieu de culture RAPID'*P.aeruginosa* est basé sur la détection d'une activité enzymatique caractéristique de *P. aeruginosa*. Sous son action, un substrat chromogène spécifique est clivé, conduisant à la formation d'un précipité bleu à bleu-vert ou vert sur les colonies de *P. aeruginosa*. Le mélange sélectif permet d'inhiber la majorité de la flore interférente, notamment d'autres souches *Pseudomonas non-aeruginosa*. D'autres microorganismes peuvent cependant présenter une croissance. Ces colonies apparaissent alors transparentes ou pigmentées jaune-vert et se distinguent facilement de celles de *P. aeruginosa*.

Section 3 Formule théorique

Mélange nutritif	14 g
Système tampon	2,15 g
Agents sélectifs	0,11 g
Mélange chromogène	0,13 g
Agar	10 g
Eau distillée	q.s.p. 1 000 ml

pH final à 25 °C = 7,1 ± 0,2

Section 4 Durée de conservation et stockage

- Milieu déshydraté : 2–8 °C en emballage soigneusement scellé, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière
- Boîte pré-coulé : 2–8 °C à l'abri de la lumière
- Boîte préparée à partir du milieu de culture déshydraté : 15 jours à 2-8 °C, en emballage soigneusement scellé, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière

Section 5 Matériel requis non fourni

Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Dispositif de filtration

- Balance, sensibilité 0,1 g
- Agitateur/homogénéisateur
- Incubateur ou salle d'incubation thermostaté(e), précision ± 1 °C
- Bain-marie, précision ± 1 °C

Produits

- Pince pour membranes
- Eau distillée stérile
- Membranes filtrantes stériles (\varnothing 47 mm, 0,45 μ Millipore HAWG 047 Type HA)
- Boîtes de pétri stériles (\varnothing 55 mm)
- Pipettes stériles

Section 6

Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité

Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 7218). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses telles que les *Pseudomonas*.
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons d'eau doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales.
- Éviter de piéger des bulles d'air sous la membrane durant son placement sur la gélose. Un contact membrane-gélose inadéquat est susceptible d'entraîner des résultats erronés. Si nécessaire, aplanir doucement et soigneusement la membrane avec la pince.

Limites d'utilisation

Sans objet

Contrôle qualité

- Chaque produit fabriqué et commercialisé par Bio-Rad est soumis à une procédure d'assurance qualité à toutes les étapes, de la réception des matières premières jusqu'à la mise sur le marché du produit fini. Chaque lot de produits finis subit un contrôle qualité conforme à EN ISO 11133 et est mis sur le marché uniquement s'il satisfait aux critères d'acceptabilité. La documentation relative à la production et au contrôle qualité de chaque lot est archivée.
- Pour consulter la fiche de données de sécurité (FDS) et le certificat d'analyse, visiter www.bio-rad.com

Section 7 Protocole

Préparation du milieu de culture déshydraté

1. Toujours agiter le flacon avant utilisation.
2. Dissoudre 26,4 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et mélanger jusqu'à obtenir une suspension homogène.
3. Chauffer doucement en mélangeant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
4. Stériliser en autoclave à 121 ± 3 °C pendant 15 min.
5. Faire refroidir le milieu de culture à 44–47 °C. Répartir dans les boîtes de pétri et laisser sécher.
6. 500 g de poudre donnent 18,9 L de milieu de culture.

Préparation de l'échantillon

Conformément à la norme applicable au produit concerné.

Inoculation et lecture

1. Équilibrer le milieu de culture à température ambiante.
2. En conditions stériles, filtrer le volume d'eau à analyser à travers une membrane, en fonction de l'origine de l'échantillon (ex: 250 ml pour les eaux embouteillées ou 100 ml pour les eaux de piscines).
3. Placer la membrane sur le milieu de culture, surface quadrillée vers le haut, en prenant soin de garantir un contact membrane-gélose optimal.
4. Incuber la boîte à 36 ± 2 °C pendant 22–30 hr.
5. *P. aeruginosa* forme des colonies bleues, bleues-vertes ou vertes sur la gélose RAPID'*P.aeruginosa*. Il convient de dénombrer toutes les colonies qui présentent une couleur typique, quelque soit la taille.
6. Consulter la norme ISO 8199 pour l'inoculation, le dénombrement et l'interprétation des résultats.
7. Enregistrer le nombre total de *P. aeruginosa* par unité de volume d'échantillon filtré.


Section 8 Confirmation des résultats positifs

Sans objet

Section 9 Confirmation d'autres méthodes

Sans objet

Section 10 Performance du test et validations

Certification	Portée	Protocole de validation	Protocole de référence	Référence de certificat
NF VALIDATION	<p>Eaux embouteillée (250 ml)</p> <p>Eaux destinées à la consommation humaine (puits, sources et forages, eau du robinet et eau de fontaine) (100 ml)</p> <p>Eaux de loisir traitées (eau de piscine, eau thermale) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD : 07/21-04/12 Méthodes d'analyse de l'eau http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>Pour plus d'informations concernant la fin de validité de la certification NF VALIDATION, se reporter au certificat BRD 07/21-04/12 disponible sur le site internet http://nf-validation.afnor.org et/ou également disponible sur demande auprès de Bio-Rad Laboratories</p>

Section 11 Références

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

ISO 11133: Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

ISO 10725: Plans et procédures d'échantillonnage pour acceptation pour le contrôle de matériaux en vrac.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255–262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Qualité de l'eau - Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* - Méthode par filtration sur membrane.

Section 12 Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Janvier 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Modification du numéro de document - version précédente 100000126751 Ver C RAPID' <i>P.aeruginosa</i> User Guide - Mise à jour du contenu général

Consulter www.bio-rad.com/water pour plus d'informations sur les produits d'analyse de l'eau.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Life Science
Group

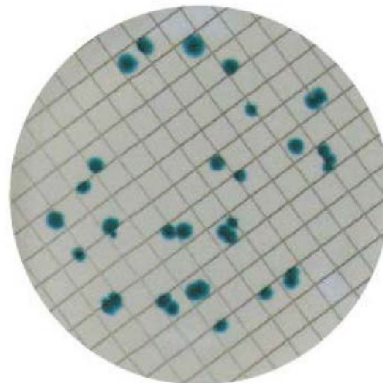
Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23
Brazil 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23
Finland 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300
Hungary 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000
Korea 82 080 007 7373 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23
New Zealand 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23
Sweden 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311
United Arab Emirates 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

RAPID'*P.aeruginosa* Agar

Anwenderhandbuch

Chromogenes Medium zur direkten Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* in Wasserproben ohne erforderliche Bestätigung mittels Membranfiltration

Katalog-Nr. 3563984, gebrauchsfertige Agarplatten, 55 mm x 20
Katalog-Nr. 3564900, dehydriert, 500 g



BIO-RAD

Inhaltsverzeichnis

Abschnitt 1	Einleitung.....	1
Abschnitt 2	RAPID' <i>P.aeruginosa</i> Testprinzip.....	1
Abschnitt 3	Theoretische Zusammensetzung.....	1
Abschnitt 4	Haltbarkeit und Lagerung.....	1
Abschnitt 5	Zusätzlich benötigtes Material.....	1
	Geräte	1
	Zubehör	2
Abschnitt 6	Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle.....	2
Abschnitt 7	Protokoll	3
	Vorbereitung des dehydrierten Mediums	3
	Probenvorbereitung.....	3
	Beimpfung und Auswertung der Platten.....	3
Abschnitt 8	Bestätigung positiver Ergebnisse.....	3
Abschnitt 9	Bestätigung anderer Methoden.....	4
Abschnitt 10	Testleistung und Testvalidierung	4
Abschnitt 11	Literatur	4
Abschnitt 12	Revisionshistorie	5

Abschnitt 1

Einleitung

Pseudomonas aeruginosa ist ein ubiquitäres gramnegatives Bakterium, das von Natur aus in Süß- und Salzwasser, feuchten Böden und auf der Oberfläche von Gemüse vorkommt. Es handelt sich um einen opportunistischen Keim, der schwerwiegende Krankheiten verursachen kann. In vielen Unternehmen gibt es Regelungen zur Testung von Wasser, das für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist, auf *P. aeruginosa*, insbesondere, wenn solche Tests behördlich nicht vorgeschrieben sind. Zur Gewährleistung der Sicherheit des Trinkwassers muss der Test hinsichtlich des Vorhandenseins des Keims negativ ausfallen.

Abschnitt 2

RAPID'*P.aeruginosa* Testprinzip

Das Testprinzip von RAPID'*P.aeruginosa* basiert auf dem Nachweis einer für *P. aeruginosa* typischen enzymatischen Aktivität. Diese bewirkt, dass ein spezifisches chromogenes Substrat gespalten wird, was zur Bildung eines blauen bis blaugrünen oder grünen Niederschlags auf *P. aeruginosa*-Kolonien führt. Die selektive Zusammensetzung ermöglicht es, das Wachstum eines Großteils der Begleitflora, insbesondere das anderer *Pseudomonas*-Stämme (d. h. solche, bei denen es sich nicht um *P. aeruginosa* handelt), zu hemmen.

Es ist jedoch möglich, dass ein Wachstum anderer Mikroorganismen stattfindet. Ihre Kolonien erscheinen transparent oder gelbgrün pigmentiert und sind leicht von denen von *P. aeruginosa* zu unterscheiden.

Abschnitt 3

Theoretische Zusammensetzung

Nährstoffmischung	14 g
Puffersystem	2,15 g
Selektive Agenzien	0,11 g
Chromogenes Substrat	0,13 g
Agar	10 g
Destilliertes Wasser	qsp 1.000 ml

Finaler pH-Wert bei 25 °C = 7,1 ± 0,2

Abschnitt 4

Haltbarkeit und Lagerung

- Dehydriertes Medium: Trocken und lichtgeschützt in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 2–8 °C.
- Gebrauchsfertige Agarplatten: Lichtgeschützt bei 2–8 °C
- Aus dehydriertem Medium hergestellte Agarplatten: 15 Tage bei trockener und lichtgeschützter Lagerung in der sorgfältig verschlossenen Packung bei 2–8 °C.

Abschnitt 5

Zusätzlich benötigtes Material

Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte

- Filtrationsvorrichtung
- Waage, bis auf 0,1 g genau
- Rührer / Homogenisator
- Thermostatisch kontrollierter Inkubator oder Inkubationskammer, bis auf $\pm 1^\circ\text{C}$ genau
- Wasserbad, bis auf $\pm 1^\circ\text{C}$ genau

Zubehör

- Pinzette zur Handhabung der Membranfilter
- Steriles, destilliertes Wasser
- Sterilfiltrationsmembranen (Durchmesser = 47 mm, 0,45 μm Millipore HAWG 047 Typ HA)
- Sterile Petri-Schalen (Durchmesser = 55 mm)
- Sterile Pipetten

Abschnitt 6

Vorsichtsmaßnahmen, Anwendungsbeschränkungen und Qualitätskontrolle

Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis einzuhalten (EN ISO 7218). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen, lebenden Bakterien wie *Pseudomonas* sollte angemessene Schutzkleidung wie Handschuhe und Laborkittel getragen werden.
- Medien, die mit Wasserproben in Kontakt gekommen sind, sind als kontaminiert zu betrachten und gemäß den vor Ort geltenden Vorschriften und Bestimmungen zu entsorgen.
- Beim Auflegen der Membran auf den Agar darauf achten, dass sich darunter keine Luftblasen ansammeln. Ungenügender Kontakt zwischen Membran und Agar kann zu einem fehlerhaften Ergebnis führen. Die Membran gegebenenfalls vorsichtig mit der Pinzette glätten.

Anwendungsbeschränkungen

Nicht zutreffend.

Qualitätskontrolle

- Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt einer umfassenden Qualitätssicherung, d.h. vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte. Jede Charge des fertigen Produkts wird einer Qualitätskontrolle gemäß EN ISO 11133 unterzogen und gelangt nur dann in den Handel, wenn sie die Akzeptanzkriterien erfüllt. Die Unterlagen zur Produktion und Qualitätskontrolle jeder Charge werden archiviert.
- Sicherheitsdatenblätter (SDS) und Analysezertifikate für die Produkte sind auf www.bio-rad.com erhältlich.

Abschnitt 7

Protokoll

Vorbereitung des dehydrierten Mediums

1. Den Behälter vor dem Gebrauch stets schütteln.
2. 26,4 g Pulver werden in 1 L destilliertem Wasser gelöst und zu einer homogenen Suspension gemischt.
3. Unter ständigem Rühren vorsichtig erhitzen und zum Kochen bringen, bis sich das Medium vollständig gelöst hat.
4. In einem Autoklaven 15 min bei $121 \pm 3^\circ\text{C}$ sterilisieren.
5. Das Medium auf $44\text{--}47^\circ\text{C}$ abkühlen lassen. In Petrischalen geben und auf dem Tisch trocknen lassen.
6. 500 g Pulver ergeben 18,9 L Medium.

Probenvorbereitung

Nach den Standardvorgehensweisen im Zusammenhang mit dem jeweiligen Produkt vorgehen.

Beimpfung und Auswertung der Platten

1. Das Medium auf Raumtemperatur bringen.
2. Unter sterilen Bedingungen, einer der Herkunft entsprechende Menge an Wasser, die analysiert werden soll, durch eine Membran filtern (z.B.: 250 ml für in Flaschen abgefülltes Wasser oder 100 ml für Wasserproben aus Schwimmbädern).
3. Die Membran mit der schraffierten Oberfläche nach oben auf das Medium legen und darauf achten, dass die ganze Membran den Agar berührt.
4. Die Platte 22–30 hr bei $36 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.
5. *P. aeruginosa* bildet auf RAPID'*P. aeruginosa* Agar blaue, blaugrüne oder grüne Kolonien. Es sollten alle Kolonien mit typischer Farbe gezählt werden, unabhängig von ihrer Größe.
6. Für die Inokulierung, die Zählung sowie die Auswertung der Ergebnisse verweisen wir auf den ISO 8199 Standard.
7. Die Gesamtzahl von *P. aeruginosa* pro Volumeneinheit der gefilterten Probe protokollieren.

Abschnitt 8

Bestätigung positiver Ergebnisse

Nicht zutreffend.


Abschnitt 9

Bestätigung anderer Methoden

Nicht zutreffend.

Abschnitt 10

Testleistung und Testvalidierung

Zertifizierungsstelle	Umfang	Validierungsprotokoll	Referenzprotokoll	Zertifikat-Referenz
NF VALIDATION	<p>In Flaschen abgefülltes Wasser (250 ml)</p> <p>Wasser für den menschlichen Verzehr (Brunnen-, Quell- und Bohrwasser, Leitungswasser, und trinkbares Springbrunnenwasser) (100 ml)</p> <p>Behandeltes, der Erholung dienendes Wasser (Schwimmbadwasser, Thermalwasser) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD: 07/21-04/12 Wasseranalysemethoden http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>Für weitere Informationen zum Ende der Validierung der NF VALIDATION Zertifizierung wird auf das Zertifikat BRD 07/21-04/12 verwiesen, das auf der Webseite http://nf-validation.afnor.org/en zu finden ist und/oder auf Anfrage bei Bio-Rad Laboratories</p>

Abschnitt 11

Literatur

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

ISO 11133: Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien

ISO 17025: Annahmestichprobenanweisungen und -verfahren für die Prüfung von Massengütern.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* - Membranfiltrationsverfahren.

Abschnitt 12 Revisionshistorie

Versionsdatum	Dokumentnummer	Änderung
Januar 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Änderung der Dokumentennummer - vorherige Version 100000126751 Ver C RAPID' <i>P.aeruginosa</i> des Anwenderhandbuchs - Aktualisierung allgemeiner Inhalte

Weitere Informationen über unsere Produkte zur Durchführung von Wassertests finden Sie bei uns im Internet auf www.bio-rad.com/water.

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

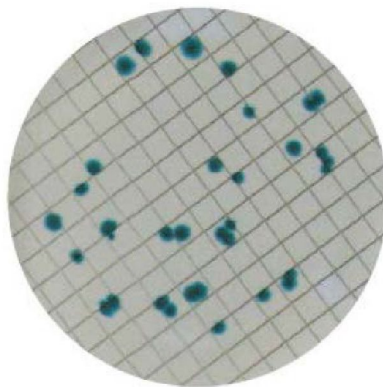
Website bio-rad.com USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgium 00 800 00 24 67 23
 Brazil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 00 800 00 24 67 23 Denmark 00 800 00 24 67 23
 Finland 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Germany 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
 Hungary 00 800 00 24 67 23 India 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italy 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000
 Korea 82 080 007 7373 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexico 52 555 488 7670 The Netherlands 00 800 00 24 67 23
 New Zealand 64 9 415 2280 Norway 00 800 00 24 67 23 Poland 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
 Russian Federation 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 South Africa 00 800 00 24 67 23 Spain 00 800 00 24 67 23
 Sweden 00 800 00 24 67 23 Switzerland 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311
 United Arab Emirates 36 1 459 6150 United Kingdom 00 800 00 24 67 23

RAPID' *P.aeruginosa* Agar

Manuela d'uso

Terreni cromogenici per il conteggio diretto senza conferma di *Pseudomonas aeruginosa* in campioni di acqua attraverso il metodo delle membrane filtranti

Catalogo # 3563984, piastre preparate, 55 mm x 20 piastre petri
Catalogo # 3564900, disidratato, 500 g



BIO-RAD

Indice

Sezione 1	Introduzione.....	1
Sezione 2	Principio di RAPID' <i>P.aeruginosa</i>	1
Sezione 3	Formula teorica	1
Sezione 4	Validità e conservazione	1
Sezione 5	Materiali necessari ma non inclusi	1
	Apparecchiatura	1
	Materiali in dotazione	2
Sezione 6	Precauzioni, limitazioni d'uso e controllo qualità.....	2
Sezione 7	Protocollo	3
	Preparazione del terreno disidratato	3
	Preparazione dei campioni.....	3
	Inoculazione e lettura delle piastre.....	3
Sezione 8	Conferma dei risultati positivi	3
Sezione 9	Conferma di metodi alternativi	4
Sezione 10	Prestazioni del test e validazioni	4
Sezione 11	Riferimenti bibliografici	4
Sezione 12	Cronologia delle revisioni	5

Sezione 1

Introduzione

Pseudomonas aeruginosa è un batterio ubiquitario ambientale gram-negativo presente naturalmente in acqua dolce e marina, in terreni umidi e sulla superficie delle verdure. *P. aeruginosa* è un agente patogeno opportunistico in grado di provocare gravi malattie. Numerose aziende impongono disposizioni in materia di test per il rilevamento di *P. aeruginosa* nell'acqua per il consumo umano, con l'assenza come criterio principale. Tali disposizioni vengono spesso adottate qualora le normative di governo non prevedano l'obbligo di test simili al fine di garantire la sicurezza dell'acqua potabile.

Sezione 2

Principio di RAPID'*P.aeruginosa*

Il principio del terreno RAPID'*P.aeruginosa* si basa sulla rilevazione di un'attività enzimatica tipica di *P. aeruginosa*. La sua azione scinde uno specifico substrato cromogenico, portando alla formazione di un precipitato dal colore blu, blu-verde o verde sulle colonie di *P. aeruginosa*. La miscela selettiva consente l'inibizione della maggior parte della flora interferente, in particolare altri ceppi di *Pseudomonas non aeruginosa*. Altri microorganismi potrebbero tuttavia mostrare una crescita. Le loro colonie appaiono trasparenti o pigmentate giallo-verdi e sono facilmente distinguibili rispetto a quelle di *P. aeruginosa*.

Sezione 3

Formula teorica

Miscela nutritiva	14 g
Sistema tampone	2,15 g
Agenti selettivi	0,11 g
Miscela cromogenica	0,13 g
Agar	10 g
Acqua distillata	qsp 1000 ml

pH finale a 25°C = 7,1 ± 0,2

Sezione 4

Validità e conservazione

- Terreno disidratato: 2-8°C in una confezione sigillata attentamente, in un luogo asciutto e buio
- Piastre preparate: 2-8°C in un luogo buio
- Piastra preparata da un terreno disidratato: 15 giorni a 2-8°C in una confezione sigillata attentamente, in un luogo asciutto e buio

Sezione 5

Materiali necessari ma non inclusi

Apparecchiatura

- Tutta l'apparecchiatura da laboratorio usuale
- Dispositivo di filtrazione

- Bilancia, sensibilità pari a 0,1 g
- Agitatore/omogeneizzatore
- Incubatore dotato di termostato o camera di incubazione, con precisione pari a $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Bagnomaria, con precisione pari a $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Materiali in dotazione

- Pinze per la manipolazione di membrane
- Acqua distillata sterile
- Membrane filtranti sterili ($\varnothing = 47$ mm, 0,45 μ Millipore HAWG 047 Type HA)
- Piastre petri sterili ($\varnothing 55$ mm)
- Pipette sterili

Sezione 6

Precauzioni, limitazioni d'uso e controllo qualità

Precauzioni

- Nel rispetto della buona pratica di laboratorio (EN ISO 7218). Quando si è a contatto con batteri vivi potenzialmente infetti come *Pseudomonas* devono essere indossate protezioni adeguate come guanti e camici da laboratorio.
- I terreni entrati in contatto con campioni di acqua devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali.
- Evitare la formazione di bolle d'aria al di sotto della membrana durante il posizionamento su agar. Il contatto difettoso tra membrana e agar potrebbe portare a un risultato inesatto. Se necessario, appiattare la membrana con cura e attenzione utilizzando le pinze

Limitazioni d'uso

Non applicabile

Controllo qualità

- Ogni prodotto fabbricato e distribuito da Bio-Rad è soggetto a procedura di garanzia qualità in tutte le fasi, dal ricevimento delle materie prime fino alla distribuzione del prodotto finito. Ogni batch di prodotto finito viene sottoposto a un controllo qualità in conformità a EN ISO 11133 e viene distribuito solo se soddisfa i criteri di accettazione. La documentazione relativa alla produzione e al controllo qualità di ogni batch viene conservata su file
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto e per il certificato di analisi, visitare www.bio-rad.com

Sezione 7

Protocollo

Preparazione del terreno disidratato

1. Agitare sempre il flacone prima dell'utilizzo.
2. Dissolvere 26,4 g di polvere in 1 L di acqua distillata e miscelare fino a ottenere una sospensione omogenea.
3. Riscaldare delicatamente, agitare di frequente e in seguito portare a ebollizione fino a che non si dissolve completamente.
4. Sterilizzare in autoclave a $121 \pm 3^\circ\text{C}$ per 15 min.
5. Raffreddare il terreno fino a $44-47^\circ\text{C}$. Dispensare in piastre petri e lasciare asciugare sul piano di lavoro.
6. Da un flacone di polvere da 500 g si ottengono 18,9 L di terreno.

Preparazione dei campioni

Da eseguire in conformità agli standard del prodotto in questione.

Inoculazione e lettura delle piastre

1. Portare il terreno a temperatura ambiente.
2. In condizioni sterili, filtrare il volume d'acqua da analizzare attraverso una membrana in base all'origine del campione (es: 250 ml di acqua in bottiglia o 100 ml di acqua di piscina).
3. Posizionare la membrana retinata rivolta verso l'alto sulla superficie del terreno, assicurando il contatto completo tra membrana e agar.
4. Incubare la piastra a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 22-30 hr.
5. *P. aeruginosa* forma colonie blu, blu-verdi o verdi su agar RAPID'*P.aeruginosa*. Devono essere contate come colonie tutte quelle che presentano il colore tipico, a prescindere dalla dimensione.
6. Riferirsi alla norma ISO 8199 per l'inoculo, enumerazione e interpretazione del risultato
7. Registrare il numero totale di *P. aeruginosa* per unità di volume di campione filtrato.

Sezione 8

Conferma dei risultati positivi

Non applicabile


Sezione 9

Conferma di metodi alternativi

Non applicabile

Sezione 10

Prestazioni del test e validazioni

Certificazione	Oggetto	Protocollo di validazione	Protocollo di riferimento	Riferimento del certificato
VALIDAZIONE NF	<p>Acqua in bottiglia (250 ml)</p> <p>Acque per il consumo umano (pozzi, sorgenti, acqua di rubinetto e acqua potabile) (100 ml)</p> <p>Acqua trattata a scopo ricreativo (piscine, acque termali) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD: 07/21-04/12 Water analysis methods http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>Per maggiori informazioni in merito alla fine della validità del certificato di validazione NF, si prega di fare riferimento al certificato BRD07/21-04/12 disponibile sul sito internet http://nf-validation.afnor.org/en e/o richiedendolo a Bio-Rad Laboratorie</p>

Sezione 11

Riferimenti bibliografici

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

ISO 11133: Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025: Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Water quality - Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Sezione 12 Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero documento	Modifica
Gennaio 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Modifica del numero di documento – versione precedente 100000126751 Ver C RAPID'P.aeruginosa User Guide - Aggiornamento del contenuto generale

Visitare www.bio-rad.com/water per maggiori informazioni relative ai nostri prodotti per i test dell'acqua.

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgium 00 800 00 24 67 23
 Brazil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 00 800 00 24 67 23 Denmark 00 800 00 24 67 23
 Finland 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Germany 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
 Hungary 00 800 00 24 67 23 India 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italy 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000
 Korea 82 080 007 7373 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexico 52 555 488 7670 The Netherlands 00 800 00 24 67 23
 New Zealand 64 9 415 2280 Norway 00 800 00 24 67 23 Poland 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
 Russian Federation 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 South Africa 00 800 00 24 67 23 Spain 00 800 00 24 67 23
 Sweden 00 800 00 24 67 23 Switzerland 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311
 United Arab Emirates 36 1 459 6150 United Kingdom 00 800 00 24 67 23

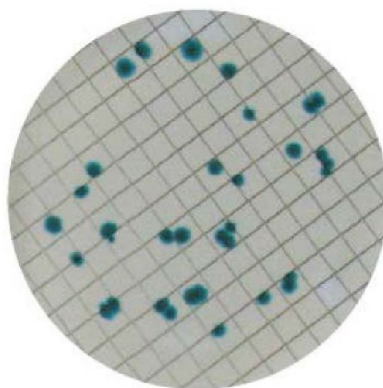
RAPID'*P.aeruginosa* Agar

Guia do usuário

Meios cromogênicos para a enumeração direta sem confirmação de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de água pelo método de filtração por membrana

N° do catálogo 3563984, Meios de cultura preparados, 55 mm x 20 placas

N° do catálogo 3564900, Desidratado, 500 g



BIO-RAD

Índice

Seção 1	Introdução	1
Seção 2	RAPID' <i>P.aeruginosa</i> Princípio	1
Seção 3	Fórmula Teórica	1
Seção 4	Prazo de Validade e Armazenamento	1
Seção 5	Materiais necessários, mas não fornecidos	1
	Equipamento	1
	Suprimentos	2
Seção 6	Precauções, limitações de uso e controle de qualidade	2
Seção 7	Protocolo	3
	Preparação do Meio Desidratado	3
	Preparação da amostra	3
	Inoculação e Leitura de Placas	3
Seção 8	Confirmação de Resultados Positivos	3
Seção 9	Confirmação de outros métodos	4
Seção 10	Desempenho e validação do teste	4
Seção 11	Referências	4
Seção 12	Histórico de Revisão	5

Seção 1

Introdução

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa ambiental onipresente, naturalmente presente em água doce e do mar, em solo úmido e na superfície de vegetais. *P. aeruginosa* é um patógeno oportunista que pode causar doenças graves. Muitas empresas impõem normas para testes de *P. aeruginosa* em água para consumo humano, com a ausência como critério principal. Esses regulamentos geralmente são adotados quando os regulamentos governamentais não exigem esse teste para garantir a segurança da água potável.

Seção 2

RAPID'*P.aeruginosa* Princípio

O princípio do meio RAPID'*P.aeruginosa* se baseia na detecção de uma atividade enzimática típica de *P. aeruginosa*. Sob sua ação, um substrato cromogênico específico é clivado, levando à formação de um precipitado azul a azul esverdeado ou verde nas colônias de *P. aeruginosa*. A mistura seletiva permite inibir a maioria da flora interferente, em particular outras cepas de *Pseudomonas* não-*aeruginosa*. Outros microorganismos podem, no entanto, mostrar crescimento. Suas colônias aparecem em verde-amarelo transparente ou pigmentado e são facilmente distinguíveis das de *P. aeruginosa*.

Seção 3

Fórmula Teórica

Mistura nutritiva	14 g
Sistema tampão	2,15 g
Agentes seletivos	0,11 g
Mistura cromogênica	0,13 g
Agar	10 g
Água destilada	qsp 1,000 ml

pH final em 25°C = 7,1 ± 0,2

Seção 4

Prazo de Validade e Armazenamento

- Meio desidratado: 2-8°C se a embalagem estiver cuidadosamente vedada e em um ambiente seco e arejado
- Placas pré-derramadas: 2-8°C em local escuro
- Placa preparada a partir de meio desidratado: 15 dias a 2-8°C se a embalagem estiver cuidadosamente vedada e em um ambiente seco e arejado

Seção 5

Materiais necessários, mas não fornecidos

Equipamento

- Todo o equipamento de laboratório comum
- Dispositivo de filtragem

- Escala, sensibilidade de 0,1 g
- Misturador/homogeneizador
- Incubadora ou sala de incubação controlada termostaticamente, com precisão de $\pm 1^\circ\text{C}$
- Banho-maria, preciso a $\pm 1^\circ\text{C}$

Suprimentos

- Pinça para entrega de membranas
- Água destilada estéril
- Membranas de filtração estéreis ($\varnothing = 47\text{ mm}$, $0,45\ \mu$ Millipore HAWG 047 Tipo HA)
- Placas de Petri estéreis ($\varnothing 55\text{ mm}$)
- Pipetas estéreis

Seção 6

Precauções, limitações de uso e controle de qualidade

Precauções

- Respeite as boas práticas de laboratório (EN ISO 7218). Proteção adequada, como luvas e jalecos, deve ser usada ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas, como *Pseudomonas*
- O meio que entrou em contato com amostras de água deve ser considerado contaminado e descartado de acordo com as regras e regulamentos locais
- Evite prender bolhas de ar sob a membrana durante a sua colocação no ágar. Um mau contato membrana-ágar pode levar a um resultado incorreto. Se necessário, alise delicadamente e com cuidado a membrana com a pinça

Limitações de uso

Não aplicável

Controle de qualidade

- Todos os produtos fabricados e comercializados pela Bio-Rad estão sujeitos aos procedimentos de garantia de qualidade em todas as etapas, desde a recepção da matéria-prima até a comercialização do produto final. Cada lote de produto acabado passa por um controle de qualidade de acordo com a EN ISO 11133 e é comercializado apenas quando satisfaz os critérios de aceitabilidade. A documentação relativa à produção e ao controle de qualidade de cada lote é mantida arquivada
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite www.bio-rad.com

Seção 7

Protocolo

Preparação do Meio Desidratado

1. Agite sempre a garrafa antes de usar.
2. Dissolva 26,4 g de pó em 1 L de água destilada e misture até obter uma suspensão homogênea.
3. Aqueça delicadamente, agitando com frequência, e deixe ferver até dissolver completamente.
4. Esterilizar em autoclave a 121 ± 3 °C por 15 min.
5. Resfriar o meio a 44-47 °C. Dispense em placas de Petri e deixe na bancada para secar.
6. Um frasco de 500 g de pó produz 18,9 L de meio.

Preparação da amostra

A realizar de acordo com a norma do produto em causa.

Inoculação e Leitura de Placas

1. Leve o meio à temperatura ambiente.
2. Sob condições estéreis, filtre o volume de água a ser analisado através de uma membrana de acordo com a origem da amostra (ex: 250 ml para amostras de água engarrafada ou 100ml para amostras de água de piscina).
3. Coloque a membrana, superfície hachurada, na superfície do meio, cuidando para que o contato membrana-ágar esteja completo.
4. Faça a incubação da placa a 36 ± 2 °C por 22-30 hr.
5. *P. aeruginosa* forma colônias azuis, azul-esverdeadas ou verdes no ágar RAPID'*P.aeruginosa*. Todas as colônias que demonstram cores típicas devem ser contadas, independentemente do tamanho.
6. Consulte o padrão ISO 8199 para inoculação, enumeração e interpretação dos resultados.
7. Registre o número total de *P. aeruginosa* por unidade de volume de amostra filtrada.

Seção 8


Confirmação de Resultados Positivos

Não aplicável

Seção 9 Confirmação de outros métodos

Não aplicável

Seção 10 Desempenho e validação do teste

Certificação	Escopo	Protocolo de Validação	Protocolo de Referência	Referência de Certificado
NF VALIDATION	<p>Água engarrafada (250 ml)</p> <p>Água para consumo humano (poços, nascentes, água da torneira e água de bebedouro) (100 ml)</p> <p>Água de recreio tratada (água da piscina, água termal) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD: 07/21-04/12 Métodos de análise de água http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>Para mais informações sobre o fim da validade da certificação NF VALIDATION, consulte o certificado BRD 07/21-04/12 disponível no site http://nf-validation.afnor.org/en e/ou mediante solicitação à Bio-Rad Laboratories</p>

Seção 11 Referências

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

ISO 11133: Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025: Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Seção 12 Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Janeiro 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Alteração do número do documento – versão anterior 100000126751 Ver C Guia do usuário RAPID' <i>P.aeruginosa</i> - Atualização de conteúdo geral

Visite www.bio-rad.com/water para obter informações sobre nossos produtos para teste de água.

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais usadas neste documento são de propriedade de seus respectivos proprietários.



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

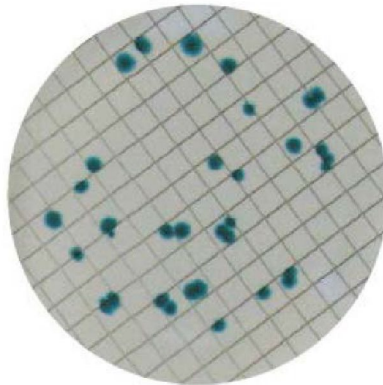
Website bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23
Brazil 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23
Finland 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300
Hungary 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000
Korea 82 080 007 7373 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23
New Zealand 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23
Sweden 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311
United Arab Emirates 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

RAPID'*P. aeruginosa* Agar

Manual de usuario usuario

Medio cromogénico para el recuento directo de *Pseudomonas aeruginosa* sin confirmación en muestras de agua utilizando el método de filtración por membrana

Referencia #3563984, placas preparadas, placas de 55 mm x 20
Referencia #3564900, medio deshidratado, 500 g



BIO-RAD

Tabla de Contenidos

Apartado 1	Introducción.....	1
Apartado 2	Principio de RAPID' <i>P. aeruginosa</i>	1
Apartado 3	Fórmula teórica	1
Apartado 4	Vida útil y almacenamiento	1
Apartado 5	Materiales necesarios, pero no suministrados.....	1
	Instrumentación.....	1
	Materiales.....	2
Apartado 6	Precauciones, limitaciones de uso y control de calidad.....	2
Apartado 7	Protocolo	3
	Preparación del medio deshidratado	3
	Preparación de muestras	3
	Inoculación y lectura de la placa	3
Apartado 8	Confirmación de resultados positivos	3
Apartado 9	Confirmación de otros métodos	4
Apartado 10	Aplicación del ensayo y validaciones.....	4
Apartado 11	Referencias	4
Apartado 12	Historial de revisiones	5

Apartado 1

Introducción

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria ambiental gram-negativa, presente de forma natural en agua dulce y marina, en suelos húmedos y en la superficie de los vegetales. *P. aeruginosa* es un patógeno oportunista que puede causar enfermedades graves. Muchas empresas imponen reglamentos sobre análisis de *P. aeruginosa* en agua de consumo humano, con resultado de ausencia como criterio principal. Estas directrices se adoptan a menudo en los casos en que los reglamentos gubernamentales no obligan a realizar estos análisis para garantizar la seguridad del agua potable.

Apartado 2

Principio de RAPID'*P. aeruginosa*

El principio del medio RAPID'*P. aeruginosa* se basa en la detección de una actividad enzimática típica de *P. aeruginosa*. Bajo su acción, un sustrato cromogénico específico se escinde, dando lugar a la formación de un precipitado que varía desde el azul a verdoso en las colonias de *P. aeruginosa*. La mezcla selectiva permite inhibir la mayoría de la flora inerferente, en particular otras cepas de *Pseudomonas no-aeruginosa*. Sin embargo, otros microorganismos pueden mostrar crecimiento. Sus colonias son transparentes o de color verde amarillento y se distinguen fácilmente de las de *P. aeruginosa*.

Apartado 3

Fórmula teórica

Mezcla nutritiva	14 g
Buffer	2,15 g
Agentes selectivos	0,11 g
Mezcla cromogénica	0,13 g
Agar	10 g
Agua destilada	qsp 1,000 ml

pH final a 25 °C = 7,1 ± 0,2

Apartado 4

Vida útil y almacenamiento

- Medio deshidratado: 2 - 8 °C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro
- Placas preparadas: 2 - 8 °C en lugar oscuro
- Placa preparada a partir de medio deshidratado: 15 días a 2 - 8 °C en un paquete cuidadosamente sellado, en un lugar seco y oscuro

Apartado 5

Materiales necesarios, pero no suministrados

Instrumentación

- Todo el equipo de laboratorio habitual
- Dispositivo de filtración

Apartado 6 Precauciones, limitaciones de uso y control de calidad

- Balanza, sensibilidad de 0,1 g
- Agitador/homogeneizador
- Incubadora o sala de incubación controlada termostáticamente, con una precisión de ± 1 °C
- Un baño termostático, con una precisión de ± 1 °C

Materiales

- Pinzas para manipular las membranas
- Agua destilada estéril
- Membranas de filtración estériles ($\varnothing = 47$ mm, 0,45 μ Millipore HAWG 047 de tipo HA)
- Placas de Petri estériles ($\varnothing 55$ mm)
- Pipetas estériles

Apartado 6

Precauciones, limitaciones de uso y control de calidad

Precauciones

- Respetar las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 7218). Se debe usar una protección adecuada, como guantes y batas de laboratorio, cuando se trabaja con bacterias vivas potencialmente infecciosas como *Pseudomonas*
- Los medios que han estado en contacto con muestras de agua deben considerarse contaminados y deben eliminarse de conformidad con las normas y reglamentos locales
- Evite atrapar burbujas de aire debajo de la membrana durante su colocación en el agar. Un mal contacto entre la membrana y el agar puede llevar a un resultado erróneo. Si es necesario, suavemente y con cuidado aplane la membrana con las pinzas.

Limitaciones de uso

No aplicable

Control de calidad

- Todos los productos fabricados y comercializados por Bio-Rad están sujetos a un procedimiento de garantía de calidad en todas las etapas, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos acabados. Cada lote de producto acabado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y sólo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y el control de calidad de cada lote se mantiene archivada
- Para información relativa a la seguridad sobre el producto (SDS) y del certificado de análisis, visite www.bio-rad.com

Apartado 7 Protocolo

Preparación del medio deshidratado

1. Agitar siempre el frasco antes de usarlo.
2. Disolver 26,4 g de polvo en 1 L de agua destilada y mezcle hasta obtener una suspensión homogénea.
3. Calentar suavemente, agitando frecuentemente, y luego llevar a ebullición hasta que se disuelva completamente.
4. Esterilizar en un autoclave a 121 ± 3 °C durante 15 min.
5. Enfriar el medio a 44 - 47 °C. Dispensar en placas Petri y dejar en la mesa de trabajo para que se sequen.
6. Un frasco de 500 g de medio deshidratado permite obtener 18,9 L de medio.

Preparación de muestras

Se efectuará de acuerdo con la norma del producto en cuestión.

Inoculación y lectura de la placa

1. Llevar el medio a temperatura ambiente.
2. En condiciones de esterilidad, filtrar a través de membrana el volumen de agua a analizar según el origen de la muestra (ej., 250 ml para muestras de agua embotellada o 100 ml para muestras de agua de piscina).
3. Colocar la membrana en la superficie del medio, con la parte cuadrículada hacia arriba, teniendo cuidado de que el contacto entre la membrana y el agar sea completo.
4. Incubar la placa a 36 ± 2 °C durante 22 - 30 hr.
5. *P. aeruginosa* forma colonias de color azul, azul-verde o verde en el agar RAPID' *P. aeruginosa*. Deben contarse todas las colonias que muestren un color típico, sin importar su tamaño.
6. Consultar la norma ISO 8199 para la inoculación, enumeración e interpretación de resultados
7. Registre el número total de *P. aeruginosa* por unidad de volumen de muestra filtrada.


Apartado 8 Confirmación de resultados positivos

No aplicable

Apartado 9 Confirmación de otros métodos

No aplicable

Apartado 10 Aplicación del ensayo y validaciones

Certificación	Alcance	Protocolo de validación	Protocolo de referencia	Referencia de certificado
NF VALIDATION	<p>Agua embotellada (250 ml)</p> <p>Agua para consumo humano (pozos, manantiales y perforaciones, agua del grifo y agua de bebederos) (100 ml)</p> <p>Agua para uso recreativo que ha sido tratada (agua de piscina, agua termal) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD: 07/21-04/12 Water analysis methods (Métodos de análisis del agua) http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>Para más información sobre el fin de la validez de la certificación NF VALIDATION, por favor referirse al certificado BRD 07/21-04/12 disponible en la página web http://nf-validation.afnor.org/en y/o solicitándolo a Bio-Rad Laboratories</p>

Apartado 11 Referencias

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

EN ISO 11133: Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025: Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.

Lisa A.T., P.R. Beassoni, M.J. Massimelli, L.H. Otero, C.E. Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Apartado 12 Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
Enero 2024	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - Modificación del numero de documento – versión anterior 100000126751 Ver C RAPID' <i>P.aeruginosa</i> User Guide - Actualizaciones generales de contenido

Visite www.bio-rad.com/water para más información sobre nuestros productos de análisis del agua.

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Life Science
Group

Website bio-rad.com USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgium 00 800 00 24 67 23
Brazil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 00 800 00 24 67 23 Denmark 00 800 00 24 67 23
Finland 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Germany 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
Hungary 00 800 00 24 67 23 India 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italy 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000
Korea 82 080 007 7373 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexico 52 555 488 7670 The Netherlands 00 800 00 24 67 23
New Zealand 64 9 415 2280 Norway 00 800 00 24 67 23 Poland 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 South Africa 00 800 00 24 67 23 Spain 00 800 00 24 67 23
Sweden 00 800 00 24 67 23 Switzerland 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311
United Arab Emirates 36 1 459 6150 United Kingdom 00 800 00 24 67 23

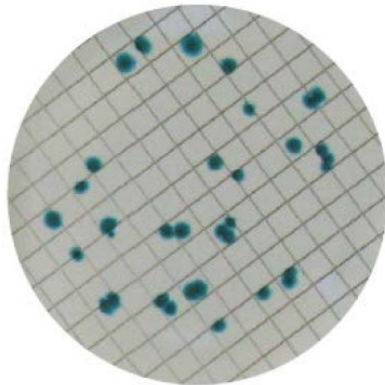
RAPID' *P.aeruginosa* Agar

用户指南

采用膜过滤法直接计数而不需再次确认水样中的铜绿假单胞菌的显色培养基

目录 #3563984，即用型，55 mm x 20 平板

目录 #3564900，干粉，500 g



BIO-RAD

目录

第 1 部分 简介	1
第 2 部分 RAPID' <i>P.aeruginosa</i> 原理	1
第 3 部分 理论配方	1
第 4 部分 保质期及储存条件	1
第 5 部分 其他仪器、试剂与耗材	2
仪器	2
试剂和耗材	2
第 6 部分 预防措施、使用限制和质量控制	2
第 7 部分 操作流程	3
干粉培养基的制备	3
样品制备	3
接种和平板读数	3
第 8 部分 阳性结果的确认	3
第 9 部分 其他方法的确认	3
第 10 部分 测试性能和验证	4
第 11 部分 参考资料	4
第 12 部分 修订记录	5

第 1 部分

简介

*铜绿假单胞菌*是一种普遍存在于环境中的革兰氏阴性杆菌，存在于淡水和海水、潮湿土壤和蔬菜表面。

*铜绿假单胞菌*是一种机会致病菌，可引起严重疾病。许多公司对人类饮用水中的 *铜绿假单胞菌*检测有一定的规定，以不存在为主要标准。在政府没有强制规定要求进行铜绿假单胞菌检测的地方，通常会采用这些规定，以确保饮用水的安全。

第 2 部分

RAPID *P.aeruginosa* 原理

RAPID *P.aeruginosa* 培养基的原理是基于对 *铜绿假单胞菌*的典型酶活性的检测。在其作用下，特定的显色底物被裂解，导致在 *铜绿假单胞菌*菌落上形成蓝色至蓝绿色或绿色沉淀物。这种选择性的混合物可以抑制大多数的干扰菌群，特别是其他非*铜绿假单胞菌*菌株。虽然其他微生物可能会出现生长，但由于它们的菌落呈透明或黄绿色，因此很容易与*铜绿假单胞菌*的菌落区分开来。

第 3 部分

理论配方

营养混合物	14 g
缓冲液	2.15 g
选择性制剂	0.11 g
显色混合物	0.13 g
琼脂	10 g
蒸馏水	qsp 1,000 ml

25°C 时的最终 pH 值 = 7.1 ± 0.2

第 4 部分

保质期及储存条件

- 干粉培养基：在 2–8°C 下妥善密封包装，置于干燥避光处
- 即用型平板：2–8°C 避光处
- 由干粉培养基制备的平板：在 2–8°C 下妥善密封包装，干燥避光处储存 15 天

第 5 部分

其他仪器、试剂与耗材

仪器

- 所有常用的实验室仪器
- 过滤装置
- 天平，灵敏度为 0.1 g
- 搅拌器/均质器
- 恒温控制的孵化器或孵化室，精确到 $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 水浴，精确到 $\pm 1^{\circ}\text{C}$

试剂和耗材

- 处理膜的镊子
- 无菌蒸馏水
- 无菌过滤膜 ($\varnothing = 47 \text{ mm}$, 0.45 μm Millipore HAWG 047 HA 型)
- 无菌培养皿 ($\varnothing 55 \text{ mm}$)
- 无菌移液管

第 6 部分

预防措施、使用限制和质量控制

预防措施

- 遵守良好实验室规范 (EN ISO 7218)。在处理 *假单胞菌* 等具有潜在传染性的活细菌时，应穿戴适当的防护装置，如手套和实验室外套
- 与水样接触过的培养基应被视为受到污染，并应按照当地法规进行处置
- 将膜放置在平板上的过程中，要避免膜下形成气泡。膜-平板接触不良可能会导致错误的结果。如有必要，用镊子缓慢、小心地将膜压平。

使用限制

不适用

质量控制

- Bio-Rad 公司生产和销售的每一种产品，从接收原材料到销售成品的各个阶段都要遵循质量保证程序的要求。每批成品都根据 EN ISO 11133 进行质量控制，只有满足验收标准方可上市。与每批次生产和质量控制有关的文件均进行存档。
- 有关 SDS 产品安全信息和分析证书，请访问 www.bio-rad.com。

第 7 部分

操作流程

干粉培养基的制备

1. 使用前务必混匀瓶子。
2. 将 26.4 g 粉末溶解在 1 L 蒸馏水中，并进行搅拌，直到得到均匀的悬浮液。
3. 缓慢加热，不断搅拌，然后煮沸直至完全溶解。
4. 在高压灭菌器中于 $121\pm 3^{\circ}\text{C}$ 下灭菌 15 分钟。
5. 将培养基冷却至 $44\text{-}47^{\circ}\text{C}$ ，分装在培养皿中，放在台面上晾干。
6. 一瓶 500 g 粉末可制成 18.9 L 培养基。

样品制备

应按照有关产品的标准进行。

接种和平板读数

1. 将培养基放置于室温环境下。
2. 在无菌条件下，根据样品的来源，计算膜过滤法需要用的水的体积（例如，瓶装水样品为 250 ml 或池水样品为 100 ml）。
3. 将膜以十字纹表面朝上的方式放在培养基的表面，注意膜-平板要完全接触。
4. 在 $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养平板 22–30 小时。
5. 铜绿假单胞菌在 RAPID'*P.aeruginosa* 培养板上呈现蓝色、蓝绿色或绿色菌落。所有显现出典型颜色的菌落都应该被计算在内，无论大小。
6. 关于接种、计数和结果的解释，请参考 ISO 8199 标准。
7. 记录每单位体积过滤后的样品中铜绿假单胞菌的总数。

第 8 部分

阳性结果的确认

不适用

第 9 部分

其他方法的确认

不适用

第 10 部分

测试性能和验证

证书	范围	验证方案	参考方案	证书参考
NF 验证	<p>瓶装水 (250 ml)</p> <p>供人饮用的水 (井水、泉水和深井水、自来水和饮水机水) (100 ml)</p> <p>经处理的再生加工用水 (池水、温泉水) (100 ml)</p>	NF 148	EN ISO 16266	 <p>BRD : 07/21-04/12 水质分析方法 http://nf-validation.afnor.org/en</p> <p>欲询问 NF VALIDATION 认证有效期结束的更多信息，请参考网站 (http://nf-validation.afnor.org/en) 提供的相关证书 BRD 07/21-04/12 或咨询 Bio-Rad 实验室</p>

第 11 部分

参考资料

Balasubramanian D, Mathee K. (2009). Comparative transcriptome analyses of *Pseudomonas aeruginosa*. *Genomics* 4, 349-361.

EN ISO 11133: Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025: Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.

Lisa A.T., P.R.Beassoni, M.J.Massimelli, L.H.Otero, C.E.Domenech (2007). *Appl Microbiol.* 255-262.

Lucchesi G.I., C. Pallotti, A. T. Lisa, C. E. Domenech (1998). *Microbiol Letters* (12), 123-126.

EN ISO 16266: Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

第 12 部分 修订记录

发布日期	文件编号	变更
2024 年 01 月	10000171245 Ver A	<ul style="list-style-type: none"> - 文档编号更改 –之前版本号 100000126751 Ver C RAPID'铜 绿假单胞菌用户指南 - 相关内容更新

请访问 www.bio-rad.com/water , 了解有关我们水质检测产品的更多信息。

BIO-RAD 是 Bio-Rad Laboratories, Inc. 的商标。此处使用的所有商标均为其各自所有者的财产。



**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Website bio-rad.com USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgium 00 800 00 24 67 23
 Brazil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 00 800 00 24 67 23 Denmark 00 800 00 24 67 23
 Finland 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Germany 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
 Hungary 00 800 00 24 67 23 India 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italy 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000
 Korea 82 080 007 7373 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexico 52 555 488 7670 The Netherlands 00 800 00 24 67 23
 New Zealand 64 9 415 2280 Norway 00 800 00 24 67 23 Poland 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
 Russian Federation 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 South Africa 00 800 00 24 67 23 Spain 00 800 00 24 67 23
 Sweden 00 800 00 24 67 23 Switzerland 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311
 United Arab Emirates 36 1 459 6150 United Kingdom 00 800 00 24 67 23

10000171245 Ver C US/EG

Sig 0124