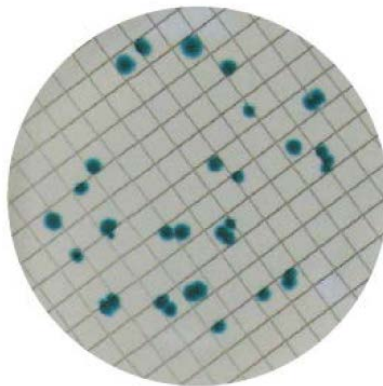

RAPID' *P.aeruginosa* Agar

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 Validation	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

Section 6 Precautions, Limitations of Use, and Quality Control

- 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 ($\text{Ø} = 47 \text{ mm}$, $0.45 \mu\text{m}$ Millipore HAWG 047 Type HA)
- Sterile petri dishes ($\text{Ø} 55 \text{ mm}$)
- 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 a sample of bottled water).
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. Retain only dishes that contain fewer than 50 characteristic colonies and fewer than 100 colonies in total.
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	Bottled water	NF 148	EN ISO 16266	 BRD: 07/21-04/12 Water analysis methods http://nf-validation.afnor.org/en

Section 11 References

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

ISO 11133 (07/2014): Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025 (12/2000): 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008): Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Section 12 Revision History

Release date	Document number	Change
March 2020	10000126751 Ver A	New document design
February 2021	10000126751 Ver B	Translations (French, German, Spanish, Italian, and Portuguese)

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 2 3473 4460 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

Sig 0220



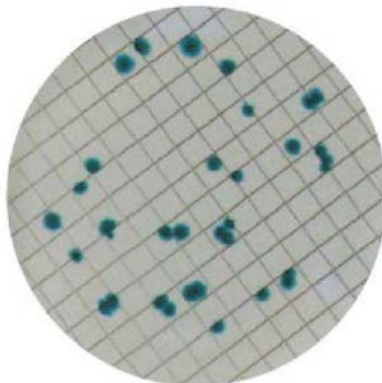
10000126751 Ver B US/EG

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 (par exemple, 250 ml pour un échantillon d'eau embouteillée).
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. Retenir uniquement les boîtes contenant moins de 50 colonies caractéristiques et moins de 100 colonies au total.
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	Eau embouteillée	NF 148	EN ISO 16266	 BRD : 07/21-04/12 Méthodes d'analyse de l'eau http://nf-validation.afnor.org/en

Section 11 Références

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

ISO 11133 (07/2014) : Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

ISO 10725 (12/2000) : 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008) : 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
Mars 2020	10000126751 Ver A	Nouvelle conception de document
Février 2021	10000126751 Ver B	Traductions (français, allemand, espagnol, italien et portugais)

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

Site Web bio-rad.com États-Unis 1 800 424 6723 Australie 61 2 9914 2800 Autriche 00 800 00 24 67 23 Belgique 00 800 00 24 67 23
Brésil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 Chine 86 21 6169 8500 République tchèque 00 800 00 24 67 23 Danemark 00 800 00 24 67 23
Finlande 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Allemagne 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
Hongrie 00 800 00 24 67 23 Inde 91 124 4029300 Israël 0 3 9636050 Italie 00 800 00 24 67 23 Japon 81 3 6361 7000
Corée 82 2 3473 4460 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexique 52 555 488 7670 Pays-Bas 00 800 00 24 67 23
Nouvelle-Zélande 64 9 415 2280 Norvège 00 800 00 24 67 23 Pologne 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
Russie 00 800 00 24 67 23 Singapour 65 6415 3188 Afrique du Sud 00 800 00 24 67 23 Espagne 00 800 00 24 67 23
Suède 00 800 00 24 67 23 Suisse 00 800 00 24 67 23 Taïwan 886 2 2578 7189 Thaïlande 66 2 651 8311
Émirats arabes unis 36 1 459 6150 Royaume-Uni 00 800 00 24 67 23

Sig 0220



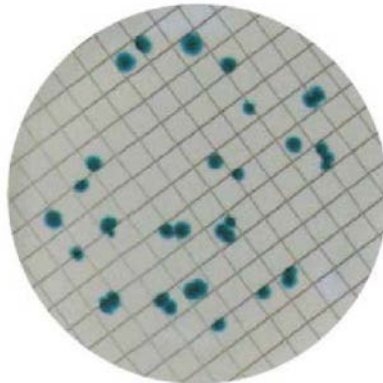
10000126751 Ver B US/EG

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	4
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 bei einer Probe aus einer Flasche mit abgefülltem Wasser).
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. Nur die Petrischalen aufheben, die weniger als 50 charakteristische Kolonien und insgesamt weniger als 100 Kolonien enthalten.
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	In Flaschen abgefülltes Wasser	NF 148	EN ISO 16266	 BRD: 07/21-04/12 Wasseranalysemethoden http://nf-validation.afnor.org/en

Abschnitt 11

Literatur

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

ISO 11133 (07/2014): Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien

ISO 17025 (12/2000): 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008): Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* - Membranfiltrationsverfahren.

Abschnitt 12 Revisionshistorie

Versionsdatum	Dokumentnummer	Änderung
März 2020	10000126751 Ver A	Neues Dokumentendesign
Februar 2021	10000126751 Ver B	Übersetzungen (Französisch, Deutsch, Spanisch, Italienisch und Portugiesisch)

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 Australien 61 2 9914 2800 Österreich 00 800 00 24 67 23 Belgien 00 800 00 24 67 23
Brasilien 4003 0399 Kanada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Tschechische Republik 00 800 00 24 67 23 Dänemark 00 800 00 24 67
23
Finnland 00 800 00 24 67 23 Frankreich 00 800 00 24 67 23 Deutschland 00 800 00 24 67 23 Hongkong 852 2789 3300
Ungarn 00 800 00 24 67 23 Indien 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italien 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000
Korea 82 2 3473 4460 Luxemburg 00 800 00 24 67 23 Mexiko 52 555 488 7670 Niederlande 00 800 00 24 67 23
Neuseeland 64 9 415 2280 Norwegen 00 800 00 24 67 23 Polen 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
Russische Föderation 00 800 00 24 67 23 Singapur 65 6415 3188 Südafrika 00 800 00 24 67 23 Spanien 00 800 00 24 67 23
Schweden CO 800 00 24 67 23 Schweiz 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311
Vereinigte Arabische Emirate 36 1 459 6150 Vereinigtes Königreich 00 800 00 24 67 23

Sig 0220



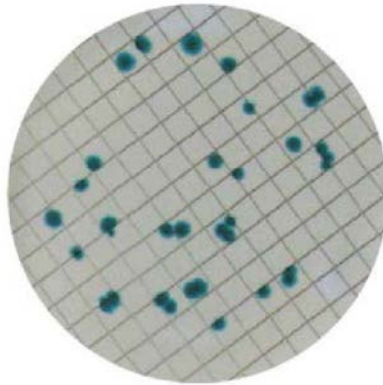
10000126751 Ver B US/EG

RAPID' *P.aeruginosa* Agar

User Guide

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

Sezione 6 Precauzioni, limitazioni d'uso e controllo qualità

- 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, appiattire 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 (ad es. 250 ml per un campione di acqua in bottiglia).
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. Mantenere solamente le piastre che contengono meno di 50 colonie caratteristiche e meno di 100 colonie in totale.
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	Acqua in bottiglia	NF 148	EN ISO 16266	 BRD: 07/21-04/12 Water analysis methods http://nf-validation.afnor.org/en

Sezione 11 Riferimenti bibliografici

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

ISO 11133 (07/2014): Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025 (12/2000): 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008): Water quality - Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Sezione 12

Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero documento	Modifica
Marzo 2020	10000126751 Ver A	Nuova struttura del documento
Febbraio 2021	10000126751 Ver B	Traduzioni (francese, tedesco, spagnolo, italiano e portoghese)

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

Sito web bio-rad.com USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgio 00 800 00 24 67 23
Brasile 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 Cina 86 21 6169 8500 Corea del Sud 82 2 3473 4460 Danimarca 00 800 00 24 67 23
Emirati Arabi Uniti 36 1 459 6150 Finlandia 00 800 00 24 67 23 Francia 00 800 00 24 67 23 Germania 00 800 00 24 67 23
Giappone 81 3 6361 7000 Hong Kong 852 2789 3300 India 91 124 4029300 Israele 0 3 9636050 Italia 00 800 00 24 67 23
Lussemburgo 00 800 00 24 67 23 Messico 52 555 488 7670 Norvegia 00 800 00 24 67 23 Nuova Zelanda 64 9 415 2280
Paesi Bassi 00 800 00 24 67 23 Polonia 00 800 00 24 67 23 Portogallo 00 800 00 24 67 23 Regno Unito 00 800 00 24 67 23
Repubblica Ceca 00 800 00 24 67 23 Russia 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 Spagna 00 800 00 24 67 23
Svezia CO 800 00 24 67 23 Svizzera 00 800 00 24 67 23 Sud Africa 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189
Thailandia 66 2 651 8311 Ungheria 00 800 00 24 67 23

Sig 0220



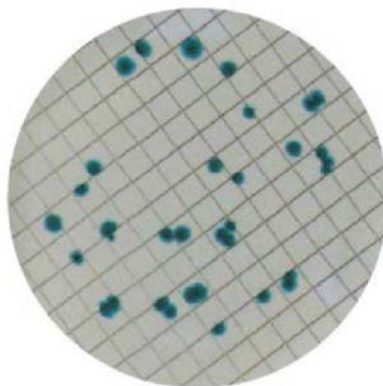
RAPID'*P.aeruginosa* Agar

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° no catálogo 3563984, Meios de cultura preparados, 55 mm x 20 placas

N° no 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	Error! Bookmark not defined.

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

Seção 6 Precauções, limitações de uso e controle de qualidade

- 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 (p.ex., 250 ml para uma amostra de água engarrafada).
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. Guarde apenas meios de cultura que contenham menos de 50 colônias características e menos de 100 colônias no total.
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	Água engarrafada	NF 148	EN ISO 16266	 BRD: 07/21-04/12 Métodos de análise de água http://nf-validation.afnor.org/en

Seção 11

Referências

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

ISO 11133 (07/2014): Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

ISO 17025 (12/2000): 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008): Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Membrane filtration method.

Seção 12

Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Março de 2020	10000126751 Ver A	Novo design de documento
Fevereiro de 2021	10000126751 Ver B	Traduções (francês, alemão, espanhol, italiano e português)

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.

Grupo de Ciências
da Vida

Site bio-rad.com EUA 1 800 424 6723 Austrália 61 2 9914 2800 Áustria 00 800 00 24 67 23 Bélgica 00 800 00 24 67 23
Brasil 4003 0399 Canadá 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 República Tcheca 00 800 00 24 67 23 Dinamarca 00 800 00 24 67 23
Finlândia 00 800 00 24 67 23 França 00 800 00 24 67 23 Alemanha 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300
Hungria 00 800 00 24 67 23 Índia 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Itália 00 800 00 24 67 23 Japão 81 3 6361 7000
Coreia 82 2 3473 4460 Luxemburgo 00 800 00 24 67 23 México 52 555 488 7670 Países Baixos 00 800 00 24 67 23
Nova Zelândia 64 9 415 2280 Noruega 00 800 00 24 67 23 Polónia 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23
Federação Russa 00 800 00 24 67 23 Cingapura 65 6415 3188 África do Sul 00 800 00 24 67 23 Espanha 00 800 00 24 67 23
Suécia CO 800 00 24 67 23 Suíça 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Tailândia 66 2 651 8311
Emirados Árabes Unidos 36 1 459 6150 Reino Unido 00 800 00 24 67 23

Sig 0220

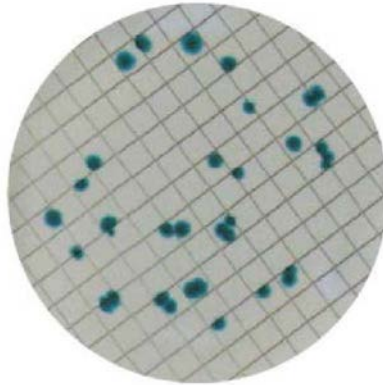


RAPID'*P. aeruginosa* Agar

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 ineficiente, 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 (por ejemplo, 250 ml para una muestra de agua embotellada).
3. Colocar la membrana en la superficie del medio, con la parte cuadriculada 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. Considere sólo las placas que contengan menos de 50 colonias características y menos de 100 colonias en total.
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	Agua embotellada	NF 148	EN ISO 16266	 BRD: 07/21-04/12 Water analysis methods (Métodos de análisis del agua) http://nf-validation.afnor.org/en

Apartado 11 Referencias

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

ISO 11133 (07/2014): Análisis microbiológicos de alimentos, piensos o agua - Preparación, producción, almacenamiento y pruebas de rendimiento de medios de cultivo.

ISO 17025 (12/2000): Planes y procedimientos de muestreo para la inspección de material a granel. 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.

NF EN ISO 16266 (08/2008): Calidad del agua. Detección y recuento de *Pseudomonas aeruginosa*. Método por filtración en membrana.

Apartado 12 Historial de revisiones

Fecha de publicación	N.º de documento	Cambio
Marzo de 2020	10000126751 Ver A	Nuevo diseño del documento
Febrero de 2021	10000126751 Ver B	Traducciones (francés, alemán, español, italiano y portugués)

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 2 3473 4460 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 CO 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

Sig 0220



10000126751 Ver B US/EG