

Pseudalert*



06-18569-10

IDEXX



IDX 33/05 – 03/16
WATER ANALYSIS METHODS
<http://nf-validation.afnor.org>

The method Pseudalert/Quanti-Tray* for water analysis is granted NF Validation by AFNOR Certification as an alternative method to the standard ISO 16266 for enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* in drinking water and pool water, under the Certificate number: IDX 33/05-03/16.

For more information about end of validity, please refer to the certificate NF Validation on the website mentioned above.

La méthode Pseudalert/Quanti-Tray* pour le contrôle des eaux est certifiée NF Validation par AFNOR Certification comme méthode alternative à la norme NF EN ISO 16266 pour le dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux de consommation humaine et les eaux de piscine sous le n° d'attestation: IDX 33/05-03/16.

La date de fin de validité de la certification NF Validation est précisée sur l'attestation, disponible auprès d'IDEXX ou d'AFNOR Certification.



IDEXX Water Quality Control Laboratory is accredited to ISO/IEC 17025:2017

IDEXX

IDEXX Laboratories, Inc., One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092 USA
idexx.com/water

For Technical Support, please call:

North America: 1 207 556 4496/1 800 321 0207

Latin America: +0800 728 2482

Europe: +00800 7274 3399

UK: +44 (0) 1638 676800

China: 400-678-6682 ext. 2

Japan: +81 3 5301 6800

Australia: 1300 443 399

Introduction

The Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) test detects the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in water samples. The test is based on a bacterial enzyme detection technology that signals the presence of *Pseudomonas aeruginosa* through the hydrolysis of a substrate present in the Pseudalert reagent. *Pseudomonas aeruginosa* cells rapidly grow and reproduce using the rich supply of amino acids, vitamins and other nutrients present in the Pseudalert reagent. Actively growing strains of *Pseudomonas aeruginosa* have an enzyme that cleaves the substrate to produce a blue fluorescence under ultraviolet (UV) light. Pseudalert detects *Pseudomonas aeruginosa* at 1 cfu in either 100 mL or 250 mL samples within 24 hours.

Storage

Store at 2–30°C away from light

Presence/Absence (P/A) Procedure

1. Add contents of one appropriately sized snap pack to either a 100 mL or 250 mL sample in a sterile, transparent, nonfluorescing vessel.
2. Cap vessel and shake.
3. Incubate at 38±0.5°C for 24 to 28 hours.
4. Read results according to Result Interpretation table below.

**Quanti-Tray* Enumeration Procedure (100 mL Samples Only)**

1. Add contents of one pack to a 100 mL water sample in a sterile vessel.
2. Cap vessel and shake until dissolved.
3. Add 2 drops of IDEXX Antifoam Solution¹ to the sample/reagent mixture.
NOTE: IDEXX 120 mL sample vessels² containing antifoam are also available.
4. Pour sample/reagent mixture into a Quanti-Tray or Quanti-Tray*/2000 and seal in a Quanti-Tray* Sealer.
5. Place the sealed tray in a 38±0.5°C incubator for 24 to 28 hours.
6. Read results according to the Result Interpretation table below. Count the number of positive wells and refer to the MPN table provided with the trays to obtain a Most Probable Number.



NOTE: Quanti-Tray Enumeration Procedure for 250 mL available from IDEXX.

Result Interpretation

| Appearance | Result |
|--------------------------------|--|
| No blue fluorescence | Negative for <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Blue fluorescence ¹ | Positive for <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

¹Presence of blue fluorescence greater than the amount present in a negative control sample

- Look for blue fluorescence with a 365-nm UV light held within 5 inches of the sample in a dark environment. Face light away from your eyes and toward the sample.
- Refer to –/+ fluorescence read guide on kit box. Chart colors are as seen under a UV light.
- Pseudalert results are definitive at 24–28 hours. In the presence/absence procedure, positives for *Pseudomonas aeruginosa* observed before 24 hours, and negatives observed after 28 hours are also valid.

**Procedural Notes**

- Use only sterile, nonbuffered, oxidant-free water for dilutions.
- For comparison, an incubated sterile water blank containing Pseudalert reagent (negative control) can be used when interpreting results.
- This insert may not reflect your local regulations. For compliance testing, be sure to follow appropriate regulatory procedures.
- Pseudalert is a primary water test. Pseudalert performance characteristics do not apply to samples altered by preenrichment or concentration.
- Pseudalert has not been validated for use with flavored bottled water, marine water or carbonated water samples.
- Aseptic technique should always be followed when using Pseudalert. Dispose of materials in accordance with Good Laboratory Practices.
- The presence of a high mineral content (especially magnesium and/or calcium) can cause the Pseudalert reagent mixture to become cloudy, but this does not affect the outcome.
- Interpret any blue fluorescence as positive, even if the fluorescent signal is weak.
- If you are unsure about a well or vessel with weak fluorescence at 24 hours, incubate for another 1–4 hours.
- If using a gas-filled mercury UV bulb to read fluorescence, the power rating should be 6 watts.

Quality Control Procedures

1. One of the following quality control procedures is recommended for each lot of Pseudalert:
 - A. IDEXX-QC *Pseudomonas*³: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Additional Quality Control Methods.
 - i. For each of the American Type Culture Collection (ATCC)^{TM, 4} bacterial strains, (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) or 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) and *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)) streak the culture onto labeled TSA or blood agar plates and incubate at 35±0.5°C for 18–24 hours. These strains are not available from IDEXX and must be purchased from ATCC or other providers.
 - ii. For each bacterial strain, touch a sterile 1 µL inoculating loop to a colony and use it to inoculate a labeled test tube containing 5 mL of sterile deionized water. Close cap and shake thoroughly.
 - iii. For each bacterial strain, take a 1 µL loop from the test tube and use it to inoculate a labeled vessel containing either 100 mL or 250 mL of sterile deionized water. These are your controls.
2. Follow the P/A Procedure or Quanti-Tray Enumeration Procedure above.
3. Results should match the Result Interpretation table above.

NOTE: IDEXX internal quality control testing is performed in accordance with ISO 11133:2014. Quality Control Certificates are available at idexx.com/water.

¹ IDEXX Antifoam Solution catalog number: WAFDB

² IDEXX 120 mL Shrink-banded Vessels with Antifoam catalog number: WV120SBAF-200

³ IDEXX-QC *Pseudomonas*, IDEXX Catalog #WQC-PSE

⁴ ATCC is a registered trademark owned by the American Type Culture Collection. American Type Culture Collection, 1-800-638-6597 atcc.org

*The Pseudalert Test is intended to be used only for water quality research and analysis, by technically qualified individuals or under their supervision.

*Pseudalert and Quanti-Tray are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.

Patent information: idexx.com/patents.

© 2024 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Introduction

Le test Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) détecte la présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans les échantillons d'eau. Le test est basé sur la détection d'une enzyme bactérienne qui, en hydrolysant le substrat présent dans le réactif Pseudalert, met en évidence la présence de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Avec le milieu enrichi en acides aminés, vitamines et autres nutriments présents dans le réactif Pseudalert, la croissance bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa* sont rapides. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* en pleine croissance expriment une enzyme qui clive le substrat, ce qui produit une fluorescence bleue visible sous lumière ultraviolette (UV). Pseudalert détecte *Pseudomonas aeruginosa* à 1 ufc dans des échantillons de 100 ml ou de 250 ml en 24 heures.

Conditions de conservation

À conserver entre 2–30°C, à l'abri de la lumière.

Procédure de présence/absence (P/A)

1. Ajouter le contenu d'un sachet de taille appropriée dans un échantillon de 100 ml ou de 250 ml placé dans un récipient stérile, transparent et non fluorescent.
2. Fermer le récipient et agiter.
3. Incuber à $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 24 à 28 heures.
4. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous.



Procédure de numération Quanti-Tray* (échantillons de 100 ml uniquement)

1. Ajouter le contenu d'un sachet dans un prélèvement de 100 ml d'eau placé dans un récipient stérile.
2. Fermer le récipient et agiter jusqu'à dissolution.
3. Ajouter 2 gouttes de solution anti-mousse IDEXX¹ au mélange échantillon/réactif.
REMARQUE: des récipients IDEXX de 120 ml contenant déjà un agent anti-mousse sont également disponibles.²
4. Verser le mélange échantillon/réactif dans un Quanti-Tray ou Quanti-Tray*/2000 et fermer hermétiquement à l'aide d'une scelleuse Quanti-Tray* Sealer.
5. Placer le plateau scellé dans un incubateur à $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 24 à 28 heures.
6. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous. Compter le nombre de puits positifs puis se référer au tableau NPP fourni avec les Quanti-Tray pour obtenir le Nombre le plus probable (NPP).



REMARQUE: Contacter IDEXX pour une procédure de numération Quanti-Tray pour échantillons de 250 ml.

Interprétation des résultats

| Aspect | Résultat |
|---------------------------------|--|
| Absence de fluorescence bleue | Échantillon négatif pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Fluorescence bleue ¹ | Échantillon positif pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

¹ Présence d'une fluorescence bleue plus importante que la fluorescence détectée dans un échantillon de contrôle négatif.

- Évaluer la fluorescence dans l'obscurité, avec une lampe UV de 365 nm placée à 13 cm de l'échantillon. Orienter la lumière vers le prélèvement, dans la direction opposée à celle des yeux de l'opérateur.
- Pour vous aider à lire les résultats, consultez le guide des couleurs fourni dans la boîte. Les couleurs sont les mêmes que celles visualisées sous lampe UV.
- Les résultats de Pseudalert doivent être lus entre 24–28 heures. Dans le cas d'une procédure de présence/absence, les échantillons positifs pour *Pseudomonas aeruginosa* observés avant 24 heures et les échantillons négatifs observés après 28 heures sont également valides.



Remarques concernant la procédure

- Utiliser uniquement de l'eau stérile, non tamponnée et sans oxydant pour les dilutions.
- Afin de réaliser une comparaison, il est possible d'utiliser de l'eau stérile incubée avec du réactif Pseudalert (contrôle négatif) au moment d'interpréter les résultats.
- Cette notice peut différer des réglementations en vigueur dans votre pays. Pour que tout test soit réalisé en conformité avec ces dernières, suivre les procédures réglementaires appropriées.
- Pseudalert est avant tout un test de contrôle de l'eau. Les caractéristiques de performance de Pseudalert ne s'appliquent pas aux échantillons altérés par un enrichissement préalable ou une concentration.
- Pseudalert n'a pas été validé pour une utilisation avec des échantillons d'eau en bouteille aromatisée, d'eau de mer ou d'eau gazeuse.
- Utiliser systématiquement des techniques aseptiques lors de l'emploi de Pseudalert. Éliminer le matériel conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Le mélange de réactif Pseudalert peut se troubler en présence d'une haute teneur en minéraux (particulièrement en magnésium et (ou) en calcium), mais cela n'a aucune incidence sur le résultat.
- Interpréter toute fluorescence bleue, même faible, comme positive.
- Si vous avez un doute sur un puits ou un récipient présentant une fluorescence faible au bout de 24 heures, incubez pendant 1 à 4 heures supplémentaires.
- Si vous utilisez une ampoule UV au mercure remplie de gaz pour lire la fluorescence, la puissance doit être de 6 watts.

Contrôle qualité

1. L'une des procédures de contrôle qualité suivantes est recommandée pour chaque lot de Pseudalert :
 - A. IDEXX-QC pour *Pseudomonas*³: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Méthodes de contrôle qualité supplémentaires :
 - i. Pour chacune des souches bactériennes American Type Culture Collection (ATCC)^{TM, 4}, (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) ou 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) et *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)), placer la culture sur des plaques TSA ou de gélose au sang dûment étiquetées et incubez à $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24 heures. Ces souches ne sont pas disponibles auprès d>IDEXX et doivent être achetées auprès d'ATCC ou d'un autre fournisseur.
 - ii. Pour chaque souche bactérienne, prélever une colonie avec une anse d'inoculation de $1 \mu\text{l}$ et l'introduire dans un tube à essai étiqueté contenant 5 ml d'eau déminéralisée stérile. Le fermer et bien homogénéiser.
 - iii. Pour chaque souche bactérienne, prélever $1 \mu\text{l}$ du tube à essai à l'aide d'une anse $1 \mu\text{l}$ et l'inoculer dans un récipient étiqueté contenant soit 100 ml soit 250 ml d'eau déminéralisée stérile. Il s'agit de vos contrôles.
2. Suivre la procédure P/A ou la procédure de numération Quanti-Tray ci-dessus pour tester ces contrôles.
3. Les résultats doivent correspondre avec le tableau d'interprétation des résultats ci-dessus.

REMARQUE: les tests de contrôle qualité internes d>IDEXX sont effectués conformément à la norme ISO 11133:2014.

Les certificats de contrôle qualité sont disponibles à l'adresse idexx.fr/water.

1. Numéro de catalogue de la solution anti-mousse IDEXX : WAFDB

2. Numéro de catalogue des récipients IDEXX avec anti-mousse protégés par une bande thermorétractable : WV120SBAF-200

3. IDEXX-QC pour *Pseudomonas* - Catalogue IDEXX n° WQC-PSE

4. ATCC est une marque déposée détenue par l'American Type Culture Collection. American Type Culture Collection: 1-800-638-6597 atcc.org

*Pseudalert et Quanti-Tray sont des marques de fabrique ou des marques déposées d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Information sur les brevets: idexx.com/patents.

Introduzione

Il test Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) rileva la presenza di *Pseudomonas aeruginosa* in campioni di acqua. Il test si basa sul rilevamento di un enzima batterico presente nella *Pseudomonas aeruginosa*, che catalizza l'idrolisi del substrato contenuto nel reagente Pseudalert. I batteri *Pseudomonas aeruginosa* crescono e si riproducono rapidamente sfruttando la ricca fonte di aminoacidi, vitamine e altri nutrienti presenti nel reagente Pseudalert. I ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* che proliferano rapidamente possiedono un enzima che idrolizza il substrato, producendo una fluorescenza blu in presenza di luce ultravioletta (UV). Pseudalert è in grado di rilevare entro 24 ore la presenza di *Pseudomonas aeruginosa* ad una concentrazione di 1 organismo in campioni da 100 ml o 250 ml di acqua.

Conservazione

Conservare a 2–30°C lontano dalla luce.

Procedura di presenza/assenza (P/A)

1. Aggiungere il contenuto di una dose di reagente snap della dimensione appropriata ad un campione di 100 ml o 250 ml in un recipiente sterile, trasparente e non fluorescente.
2. Chiudere il recipiente ed agitarlo.
3. Incubare a $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 24–28 ore.
4. Leggere i risultati in base alla seguente tabella di interpretazione dei risultati.

**Procedura di enumerazione Quanti-Tray* (solo per campioni da 100 ml)**

1. Aggiungere il contenuto di una dose di reagente snap ad un campione di acqua da 100 ml, in un recipiente sterile.
2. Chiudere il recipiente ed agitarlo fino alla dissoluzione.
3. Aggiungere 2 gocce di soluzione antischiama IDEXX¹ alla miscela campione/reagente.
Nota: sono disponibili anche recipienti per campioni IDEXX da 120 ml già contenenti antischiama.²
4. Versare la miscela campione/reagente in un Quanti-Tray o un Quanti-Tray*/2000 e sigillarlo con un sigillatore Quanti-Tray* Sealer.
5. Posizionare il contenitore sigillato in un incubatore a $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 24–28 ore.
6. Leggere i risultati in base alla seguente tabella di interpretazione dei risultati. Contare il numero dei pozzetti positivi e consultare la tabella MPN in dotazione con il contenitore per ottenere il numero più probabile (MPN).



NOTA: la procedura di quantificazione con il sistema Quanti-Tray per campioni da 250 ml e' disponibile presso IDEXX.

Interpretazione del risultato

| Aspetto | Risultato |
|-------------------------------|--|
| Nessuna fluorescenza blu | Negativo per <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Fluorescenza blu [†] | Positivo per <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

[†] Presenza di fluorescenza blu superiore a quella presente nel campione di controllo negativo.

- Rileva la fluorescenza con una luce UV di 365 nm a distanza di 13 cm dal campione in ambiente oscuro. Rivolgere la luce in direzione opposta ai propri occhi e verso il campione.
- Per la lettura dei risultati, fare riferimento alla guida "lettura della fluorescenza +/-" contenuta nella confezione. I colori mostrati sono così come appaiono con una luce UV.
- I risultati di Pseudalert sono considerati definitivi dopo 24–28 ore. Nelle analisi di Presenza/Assenza, I risultati positivi allo *Pseudomonas aeruginosa* osservati PRIMA delle 24 ore e quelli negativi dopo le 28 ore, sono da considerarsi validi a tutti gli effetti.

**Note procedurali**

- Per le diluizioni usare solo acqua sterile, non tamponata e senza ossidanti.
- Per il confronto, durante l'interpretazione dei risultati è possibile utilizzare come bianco un campione di acqua sterile incubato contenente il reagente Pseudalert (controllo negativo).
- Questo inserto informativo potrebbe non riflettere i regolamenti locali dell'utente. Per i test in conformità, assicurarsi di seguire le appropriate procedure normative.
- Pseudalert è principalmente un test per l'acqua. Le caratteristiche di prestazione di Pseudalert non sono applicabili a campioni alterati da qualsiasi pre-aricchimento o concentrazione.
- Pseudalert non è stato validato per l'utilizzo con acqua imbottigliata aromatizzata, acqua marina o campioni di acqua gassata.
- Quando si usa Pseudalert è necessario impiegare tecniche asettiche. Smaltire i materiali seguendo le buone pratiche di laboratorio.
- La presenza di un elevato contenuto di minerali (in particolare di magnesio e/o calcio) può rendere torbido la miscela di reagente Pseudalert, ma ciò non influisce sul risultato.
- Interpretare qualsiasi fluorescenza blu come risultato POSITIVO, anche se il segnale fluorescente è debole.
- In caso di dubbio riguardo un pozzetto o un recipiente con fluorescenza debole dopo 24 ore, incubare per altre 1–4 ore.
- Se si utilizza una lampada UV al mercurio riempita di gas per leggere la fluorescenza, la potenza dovrebbe essere di 6 watt.

Procedure per il controllo di qualità

1. Per ciascun lotto di Pseudalert si consiglia una delle seguenti procedure di controllo della qualità:
 - A. *Pseudomonas* IDEXX-QC: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Metodi aggiuntivi di controllo della qualità
 - i. Per ciascun ceppo batterico della American Type Culture Collection (ATCC)^{TM,4} (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) or 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) e *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)), strisciare la coltura su piastre TSA o su piastre Agar sangue e incubare a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 18–24 ore. Questi ceppi non sono disponibili presso IDEXX e devono essere acquistati da ATCC o altri fornitori.
 - ii. Per ciascun ceppo batterico, strisciare sulla colonia un'ansa da inoculazione sterile da 1 μl e usarla per inoculare una provetta etichettata contenente 5 ml di acqua deionizzata sterile. Chiudere la provetta e agitarla accuratamente.
 - iii. Per ciascun ceppo batterico, usare un'ansa da 1 μl , inserirla nella provetta e inoculare un recipiente etichettato contenente 100 ml o 250 ml di acqua deionizzata sterile. Questi campioni rappresentano i controlli per il test.
2. Seguire la procedura P/A o la procedura di enumerazione Quanti-Tray di cui sopra.
3. I risultati dovrebbero corrispondere alla tabella di interpretazione dei risultati di cui sopra.

NOTE: i test di controllo di qualità interni IDEXX sono condotti in conformità con ISO 11133:2014. I certificati di controllo qualità sono disponibili sul sito idexx.it/water.

1. Numero di catalogo della soluzione antischiama IDEXX: WAFDB

2. Numero di catalogo dei contenitori da 120 ml con pellicola termoretraibile e antischiama IDEXX: WV120SBAF-200

3. *Pseudomonas* IDEXX-QC, Catalogo IDEXX N. WQC-PSE

4. ATCC è un marchio registrato di proprietà di American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

*Pseudalert e Quanti-Tray sono marchi di proprietà di, e/o registrati da, IDEXX Laboratories, Inc. o di suoi associate e protetti negli Stati Uniti e/o in altri paesi. Informazioni sui brevetti: idexx.com/patents.

Introducción

El kit Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) detecta la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de agua. El análisis se basa en la detección de una enzima bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* que cataliza la hidrólisis del sustrato presente en el reactivo del kit Pseudalert. Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* crecen y se multiplican con rapidez gracias al gran aporte en aminoácidos, vitaminas y otros nutrientes del reactivo del kit Pseudalert. Las cepas en crecimiento activo de *Pseudomonas aeruginosa* poseen una enzima que hidroliza el sustrato del reactivo y produce una fluorescencia azul cuando se expone a la luz ultravioleta UV. Pseudalert detecta bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en 24 horas a una concentración de 1 UFC en muestras de 100 ml o 250 ml.

Conservación

Almacenar a una temperatura entre 2–30°C protegido de la luz.

Procedimiento de presencia/ausencia (P/A)

- Añadir el contenido de la dosis snap adecuadamente predispensada a una muestra de 100 ó 250 ml en un recipiente estéril transparente, no fluorescente.
- Tapar y agitar el recipiente.
- Incubar a $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24–28 horas.
- Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo.



Procedimiento de enumeración Quanti-Tray* (sólo muestras de 100 ml)

- Añadir el reactivo a una muestra de 100 ml de agua, en un recipiente estéril.
- Tapar y agitar el recipiente hasta que el contenido se haya disuelto.
- Añadir 2 gotas de solución antiespumante de IDEXX[®] a la mezcla muestra/reactivo.
Nota: IDEXX también comercializa recipientes para muestras de 120 ml que ya contienen antiespumante.²
- Verter la mezcla muestra/reactivo en una Quanti-Tray o Quanti-Tray*/2000 y sellar utilizando un Quanti-Tray* Sealer.
- Colocar la bandeja sellada en una estufa de incubación a $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24–28 horas.
- Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo. Contar el número de pocillos positivos y referirse a la tabla NMP proporcionada con las bandejas para obtener el número más probable.



NOTA: La cuantificación de Pseudalert 250ml con Quanti-Tray de IDEXX ya está disponible.

Interpretación de resultados

| Apariencia | Resultado |
|-------------------------------------|---|
| Sin fluorescencia azul | Muestra negativa para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Con fluorescencia azul ¹ | Muestra positiva para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

¹ Intensidad de la fluorescencia azul superior a la de la fluorescencia del control negativo.

- Busque fluorescencia con una luz UV de 365 nm a menos de 13 cm de la muestra en un entorno oscuro. Apuntar el haz de luz en dirección contraria a los ojos y hacia la muestra.
- Para los resultados referirse a la guía de lectura -/+ fluorescencia que se incluye en la caja. Estos colores son los que se ven bajo luz UV.
- Los resultados de Pseudalert son definitivos transcurridas 24–28 horas. Siguiendo el procedimiento para Presencia/ Ausencia, los positivos para *Pseudomonas aeruginosa* observados antes de 24 horas y los negativos observados después de 28 horas también son válidos.



Notas sobre el procedimiento

- Utilizar solamente agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Para poder realizar las comparaciones a la hora de interpretar los resultados, se puede utilizar como blanco agua estéril incubada con el reactivo Pseudalert (control negativo).
- Es posible que este prospecto no refleje la normativa local de su país. Para realizar pruebas que la cumplan, asegúrese de seguir los procedimientos reglamentarios correspondientes.
- Pseudalert es fundamentalmente una prueba para analizar agua. Las características de rendimiento de Pseudalert no se pueden aplicar a muestras que hayan sido alteradas previamente por algún tipo de enriquecimiento o concentración.
- El kit Pseudalert no se ha validado para ser utilizado con muestras de agua embotellada aromatizada, con agua marina o agua carbonatada.
- Siempre debe aplicarse una técnica aséptica cuando se utilice Pseudalert. El material debe desecharse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- La mezcla de reactivo del kit Pseudalert puede volverse turbio cuando la muestra presenta un alto contenido en minerales (especialmente magnesio y/o calcio).
- Interprete toda fluorescencia azul como POSITIVA, aun cuando la señal fluorescente sea débil.
- Si no está seguro acerca de un pocillo o recipiente que presente fluorescencia débil al cabo de 24 horas, incúbelo durante 1–4 horas más.
- Si se utiliza una bombilla de UV de mercurio llena de gas para leer la fluorescencia, la potencia debería ser de 6 vatios.

Procedimientos de control de calidad

1. Se recomienda uno de los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de Pseudalert:

A. IDEXX-QC *Pseudomonas*³: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.

B. Métodos de control de calidad adicionales:

- Para cada una de las cepas bacterianas de Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC)^{TM,4} (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) o 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) y *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)), siembre en estrías el cultivo sobre placas etiquetadas de agar sangre o TSA e incube a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 18 a 24 horas. Estas cepas no están disponibles en IDEXX y deben adquirirse en ATCC u otros proveedores.
- Para cada cepa bacteriana, recoja una muestra de la colonia con una asa de siembra estéril de 1µl e inocúela en un tubo de ensayo marcado que contenga 5 ml de agua desionizada estéril. Cierre la tapa y agite bien.
- Para cada cepa bacteriana, introduzca una asa de siembra estéril de 1µl en el tubo de ensayo e inocule en un recipiente marcado que contenga 100 o 250 ml de agua desionizada estéril. Las muestras así obtenidas serán sus controles.

2. Siga el procedimiento P/A o el procedimiento de enumeración de Quanti-Tray que se indica más arriba.

3. Los resultados deben coincidir con la tabla de interpretación de resultados que se indica más arriba.

NOTA: Las pruebas de control de calidad interna de IDEXX se realizan según ISO 11133:2014. Los certificados de control de calidad se encuentran disponibles en idexx.es/water.

1. Referencia de la solución antiespumante de IDEXX: WAFDB

2. Referencia de los recipientes de 120 ml de IDEXX con antiespumante y película termorretráctil: WV120SBAF-200

3. IDEXX-QC *Pseudomonas*, IDEXX Catalog #WQC-PSE

4. ATCC es una marca comercial registrada propiedad de American Type Culture Collection. American Type Culture Collection, 1-800-638-6597 atcc.org

*Pseudalert y Quanti-Tray son marcas o marcas registradas de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en Estados Unidos de América y/o en otros países. Información sobre la patente: idexx.com/patents.

Einleitung

Der Pseudalert*-Test (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) weist *Pseudomonas aeruginosa* in Wasserproben nach. Der Test basiert auf dem Nachweis bakterieller Enzyme und zeigt das Vorliegen von *Pseudomonas aeruginosa* durch Hydrolyse eines im Pseudalert-Reagenz enthaltenen Substrats an. Die Zellen von *Pseudomonas aeruginosa* wachsen und reproduzieren sich rasch, indem sie den hohen Gehalt an Aminosäuren, Vitaminen und anderen Nährstoffen im Pseudalert-Reagenz nutzen. Aktiv wachsende Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* weisen ein Enzym auf, dass das Substrat des Reagenz spaltet und im ultravioletten (UV-)Licht eine blaue Fluoreszenz bewirkt. Pseudalert weist *Pseudomonas aeruginosa* im Bereich von 1 CFU (koloniebildende Einheit/KBE) in 100-ml- oder 250-ml-Wasserproben binnen 24 Stunden nach.

Lagerung

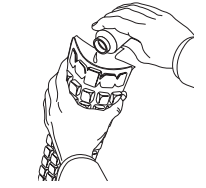
Bei 2–30°C lichtgeschützt lagern.

Presence/Absence (P/A)-Verfahren

- Den Inhalt eines entsprechend großen snap packs zu 100 ml oder 250 ml Wasserprobe geben, die sich in einem sterilen, transparenten und nicht fluoreszierenden Gefäß befindet.
- Gefäß verschließen und schütteln.
- Bei 38 ± 0,5°C 24-28 Stunden inkubieren.
- Die Testergebnisse gemäß der nachstehenden Tabelle zur Ergebnisinterpretation ablesen.

**Quanti-Tray* Verfahren zur quantitativen Bakterienzählung (nur für 100-ml-Proben)**

- Den Inhalt eines snap pack zu einer 100-ml-Wasserprobe in einem sterilen Gefäß geben.
- Gefäß verschließen und schütteln, bis das Reagenz vollkommen aufgelöst ist.
- Zwei Tropfen IDEXX Antischaum-Lösung¹ zur Mischung aus Probe und Reagenz hinzufügen.
Hinweis: Ebenfalls erhältlich sind IDEXX 120-ml-Probengefäße, die bereits Antischaummittel enthalten.²
- Die Mischung aus Probe und Reagenz in einen Quanti-Tray oder Quanti-Tray*/2000 gießen und im Quanti-Tray* Sealer versiegeln.
- Den versiegelten Quanti-Tray bei 38 ± 0,5°C 24-28 Stunden inkubieren.
- Die Testergebnisse anhand der nachstehenden Tabelle zur Ergebnisinterpretation ablesen. Die Anzahl der positiven Probenvertiefungen zählen und die wahrscheinlichste Zahl (MPN/Most Probable Number) an Keimen anhand der MPN-Tabelle, die den Trays beiliegt, ermitteln.



NOTE: Quanti-Tray Auszählungs-Verfahren für 250 ml erhältlich von IDEXX.

Ergebnisinterpretation

| Färbung | Ergebnis |
|--------------------------------|---|
| Keine blaue Fluoreszenz | Negativ für <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Blaue Fluoreszenz ¹ | Positiv für <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

¹Vorliegen einer stärkeren blauen Fluoreszenz als in der Negativkontrolle

- Überprüfen Sie in einer dunklen Umgebung die Probe in einem Abstand von bis zu 13 cm unter einer UV-Lichtquelle mit 365nm Wellenlänge nach Fluoreszenz. Bitte schauen Sie dabei nur auf die Probe und nicht direkt in die Lichtquelle.
- Bei nicht eindeutiger Fluoreszenz nehmen Sie die Ablesehilfe der Verpackung zu Hilfe. Die Farben entsprechen der Auswertung wie unter UV Licht.
- Pseudalert-Testergebnisse sind für Proben nach 24–28 Stunden definitiv. Die Ergebnisse aus dem Anwesenheits/Abwesenheits Verfahren sind valide, auch für positive Ergebnisse für *Pseudomonas aeruginosa* beobachtet vor 24 Stunden und Negative, beobachtet nach 28 Stunden.

Hinweise zur Testdurchführung

- Nur steriles, nicht gepuffertes, keine Oxidanzien enthaltendes Wasser zur Verdünnung verwenden.
- Zum Vergleich kann zur Ergebnisinterpretation eine inkubierte Blindprobe aus sterilem Wasser, welches das Pseudalert-Reagenz enthält (Negativkontrolle), herangezogen werden.
- Manche Angaben in dieser Packungsbeilage entsprechen möglicherweise nicht Ihren örtlichen Vorschriften. Stellen Sie sicher, dass die anwendbaren behördlichen Vorschriften befolgt werden.
- Pseudalert ist ein primärer Wassertest. Die Leistungsmerkmale für Pseudalert gelten nicht für Proben, die durch Voranreicherung oder Konzentration modifiziert wurden.
- Pseudalert ist nicht für die Verwendung bei Wasserproben von mit Geschmack versetztem Flaschenwasser, Meerwasser oder kohlenstoffhaltigem Wasser validiert.
- Bei der Verwendung von Pseudalert sollte stets auf ein aseptisches Vorgehen geachtet werden. Entsorgung der Materialien gemäß den Standard-Laborpraktiken (Gute Laborpraxis/GLP).
- Bei hohem Mineralstoffgehalt des Wassers (insbesondere von Magnesium oder Kalzium) kann sich die Pseudalert-Reagenzmischung trüben, was jedoch keine Auswirkungen auf das Ergebnis hat.
- Jede blaue Fluoreszenz ist als POSITIVES Ergebnis zu interpretieren, auch wenn das Fluoreszenzsignal schwach ist.
- Erscheint Ihnen ein Ergebnis aufgrund der schwachen Fluoreszenz einer Plattenvertiefung bzw. eines Probengefäßes nach 24 Stunden als nicht eindeutig, setzen Sie die Inkubation für weitere 1–4 Stunden fort.
- Wenn eine mit Gas gefüllte Quecksilber-UV-Lampe zum Ablesen von Fluoreszenz verwendet wird, sollte die Leistung 6 Watt betragen.

Qualitätskontrollverfahren

- Eines der folgenden Qualitätskontrollverfahren wird für jede Pseudalert-Charge empfohlen:
 - IDEXX-QC *Pseudomonas*³: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - Zusätzliche Qualitätssicherungsmethoden:
 - Für jeden American Type Culture Collection (ATCC)TM-Bakterienstamm (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) oder 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) und *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)) die Kultur auf etikettierte TSA- oder Blutagarplatten streichen und 18-24 Stunden bei 35 ± 0,5°C inkubieren. Diese Stämme sind nicht über IDEXX erhältlich; sie müssen von ATCC oder anderen Anbietern erworben werden.
 - Für jeden Bakterienstamm 1 µl einer Kolonie mittels steriler Inokulationsöse in ein markiertes Teströhrchen mit 5 ml sterilen, entionisierten Wassers transferieren. Röhrchen verschließen und kräftig schütteln.
 - Für jeden Bakterienstamm 1 µl mittels geeigneter Inokulationsöse aus dem Teströhrchen entnehmen und in ein markiertes Gefäß mit 100 ml oder 250 ml sterilen, entionisierten Wassers überführen. Dies sind die Kontrollen.
- Das oben beschriebene P/A-Verfahren oder das Quanti-Tray-Auszählverfahren anwenden.
- Die Ergebnisse sollten mit der Tabelle zur Ergebnisauswertung (siehe oben) übereinstimmen.

HINWEIS: Die internen Qualitätskontrollprüfungen von IDEXX werden im Einklang mit ISO 11133:2014 durchgeführt. Qualitätskontrollzertifikate sind unter idexx.de/water erhältlich.

¹ IDEXX Antischaum-Lösung - Katalognummer: WAFDB

² IDEXX mit Schraubripband verschlossene Einwegbehälter (120 ml) mit Antischaum-Lösung - Katalognummer: WV120SBAF-200

³ IDEXX-QC *Pseudomonas*, IDEXX Bestellnr. WDC-PSE

⁴ ATCC ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

*Pseudalert und Quanti-Tray sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von IDEXX Laboratories, Inc. oder eines Tochterunternehmens von IDEXX in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern. Patentinformation: idexx.com/patents.

Wprowadzenie

Test Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) wykrywa bakterie *Pseudomonas aeruginosa* w próbkach wody. Oparty jest na technologii wykrywania enzymów bakteryjnych, która sygnalizuje obecność *Pseudomonas aeruginosa* poprzez hydrolizę substratu zawartego w odczynniku Pseudalert. Komórki *Pseudomonas aeruginosa* szybko rosną i namnażają się, wykorzystując aminokwasy, witaminy i inne składniki odżywcze, których bogate źródło stanowi odczynnik Pseudalert. Aktywnie rosnące szczepy *Pseudomonas aeruginosa* posiadają enzym, który rozszczepia substrat, prowadząc do uwolnienia cząstek wydolujących niebieską fluorescencję w świetle ultravioletowym (UV). Test Pseudalert wykrywa *Pseudomonas aeruginosa* w liczbie już od 1 jtk w próbkach o objętości 100 ml lub 250 ml w ciągu 24 godzin.

Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2–30°C, z dala od światła.

Procedura oznaczania jakościowego (obecne / nieobecne)

1. Wsypać zawartość jednego opakowania stosownej wielkości do próbki o objętości 100 ml lub 250 ml znajdującej się w sterylnym, przezroczystym, niefluorescencyjnym naczyniu.
2. Zamknąć naczynie i nim wstrząsnąć.
3. Inkubować w temperaturze 38±0,5 °C przez 24 do 28 godzin.
4. Odczytać wyniki zgodnie z zamieszczoną poniżej tabelą interpretacji wyników.

**Procedura oznaczania ilościowego z użyciem tacki Quanti-Tray* (tylko próbki 100 ml)**

1. Wsypać zawartość jednego opakowania do próbki wody o objętości 100 ml znajdującej się w sterylnym naczyniu.
2. Zamknąć naczynie i wstrząsać nim do momentu rozpuszczenia zawartości.
3. Dodać 2 krople środka przeciwdziałającego pienieniu IDEXX Antifoam Solution¹ do mieszaniny próbki i odczynnika.

UWAGA: Dostępne są także naczynia IDEXX na próbki o pojemności 120 ml zawierające środek przeciwdziałający pienieniu².
4. Włożyć mieszaninę próbki i odczynnika do tacki Quanti-Tray lub Quanti-Tray*/2000 i zakleić tackę w zgrzewarce Quanti-Tray*.
5. Włożyć zaklejoną tackę do inkubatora o temperaturze 38±0,5°C na 24 do 28 godzin.
6. Odczytać wyniki zgodnie z poniższą tabelą interpretacji wyników. Zliczyć dołki dodatnie i odnieść się do tabeli NPL dostarczanej wraz z tackami, aby określić Najbardziej Prawdopodobną Liczbę (NPL).



UWAGA: Procedura ilościowego oznaczania z użyciem tacki Quanti-Tray dla próbek o objętości 250 ml dostępna w firmie IDEXX.

Interpretacja wyników

| Wygląd | Wynik |
|--------------------------------------|---|
| Brak niebieskiej fluorescencji | Ujemny dla <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Niebieska fluorescencja [†] | Dodatni dla <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

[†] Obecność niebieskiej fluorescencji o większej intensywności niż w ujemnej próbce kontrolnej.

- Szukaj fluorescencji w świetle UV przy długości fali 365 nm w odległości 13 cm od próbki w ciemnym otoczeniu. Światła nie kierować w stronę oczu, lecz ku próbce.
- Odnieść się do instrukcji odczytu fluorescencji zamieszczonej na opakowaniu testu. Kolory na wykresie są takie, jak te widziane w świetle UV.
- Wyniki uzyskane przy użyciu testu Pseudalert są ostateczne po upływie 24–28 godzin. Dla procedury oznaczania jakościowego ważne są także wyniki dodatnie *Pseudomonas aeruginosa* zaobserwowane przed upływem 24 godzin oraz ujemne zaobserwowane po 28 godzinach.

**Uwagi dot. oznaczania**

- Do rozcieńczenia używać tylko wody sterylnej, niebuforowanej, bez utleniaczy.
- Do celów porównawczych przy interpretacji wyników można użyć inkubowanej, sterylnej wody jako próby ślepej z odczynnikiem Pseudalert (kontrola ujemna).
- Niniejsza ulotka może nie odzwierciedlać przepisów lokalnych. W celu przeprowadzenia testów zgodności należy przestrzegać stosownych procedur regulacyjnych.
- Pseudalert to test do badania wody pierwotnej. Nie służy do badania próbek zmienionych przez wstępne wzbogacenie lub modyfikację stężenia.
- Pseudalert nie jest zatwierdzony do użycia z próbkami smakowej wody butelkowanej, wody morskiej ani wody gazowanej.
- Przeprowadzając test Pseudalert, należy zawsze stosować techniki aseptyczne. Próbek należy pozbywać się zgodnie z Dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
- Obecność dużej ilości składników mineralnych (zwłaszcza magnezu i/lub wapnia) może spowodować zmętnienie mieszaniny z odczynnikiem Pseudalert. Nie wpływa to jednak na wynik testu.
- Każdą błędną fluorescencję interpretować jako wynik dodatni nawet w przypadku słabego sygnału.
- W razie wątpliwości przy interpretacji słabej fluorescencji dołka lub naczynia inkubować próbę dodatkowo od 1 do 4 godzin.
- Jeśli do odczytu fluorescencji używasz gazowej żarówki UV wypełnionej rtęcią, moc powinna wynosić 6 watów.

Procedury kontroli jakości

1. Dla każdej serii testu Pseudalert zaleca się jedną z poniższych procedur kontroli jakości:
 - A. IDEXX-QC *Pseudomonas*: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Dodatkowe metody kontroli jakości:
 - i. Dla każdego szczepu bakterii ATCC (American Type Culture Collection)^{TM 4} (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) lub 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) i *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)) nanieść kultury bakteryjne na oznaczone płytki z agarem tryptozowo-sojowym (TSA) lub płytki z agarem z krwią i inkubować w temperaturze 35±0,5°C przez 18–24 godzin. IDEXX nie prowadzi sprzedaży tych szczepów i należy je kupić od ATCC lub innych dostawców.
 - ii. Dla każdego szczepu bakterii dotknąć kolonii sterylną eşą inokulacyjną 1 µl użyć jej do inokulacji oznakowanej probówki zawierającej 5 ml sterylnej wody dejonizowanej. Zamknąć probówkę i dobrze nią wstrząsnąć.
 - iii. Dla każdego szczepu bakterii wziąć 1 µl ezy z probówki i użyć jej do inokulacji oznaczonego naczynka zawierającego 100 ml lub 250 ml sterylnej wody dejonizowanej. Są to kontrole.
2. Wykonać procedurę oznaczania jakościowego lub ilościowego z użyciem tacki Quanti-Tray, opisanych powyżej.
3. Wyniki powinny być zgodne z podanymi w tabeli interpretacji wyników zamieszczonej powyżej.

UWAGA: Wewnętrzna kontrola jakości firmy IDEXX wykonywana jest zgodnie z normą ISO 11133:2014.

Certyfikaty kontroli jakości znajdują się na stronie idexx.com/water.

1. IDEXX Antifoam Solution [środek przeciwdziałający pienieniu], nr kat. WAFDB

2. IDEXX 120 mL Shrink-banded Vessels with Antifoam [naczynia ze środkiem przeciwdziałającym pienieniu], nr kat. WV120SBAF-200

3. IDEXX-QC *Pseudomonas*, IDEXX, nr kat. WQC-PSE

4. ATCC jest zarejestrowanym znakiem towarowym American Type Culture Collection. American Type Culture Collection, 1-800-638-6597 atcc.org

*Pseudalert i Quanti-Tray są znakami towarowymi lub zarejestrowanymi znakami towarowymi spółki IDEXX Laboratories, Inc. lub jej oddziałów w Stanach Zjednoczonych i/lub innych krajach. Informacje o patentach: idexx.com/patents.

Introdução

O Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) permite detectar a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de águas. A base do teste é a detecção de uma enzima bacteriana da *Pseudomonas aeruginosa* que catalisa a hidrólise do substrato presente no reagente no kit Pseudalert. A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* cresce e multiplica-se rapidamente devido às elevadas concentrações de aminoácidos, vitaminas e outros nutrientes presentes no reagente no kit Pseudalert. As estirpes de *Pseudomonas aeruginosa* em crescimento activo possuem uma enzima que cliva o substrato para produzir uma fluorescência azul sobre luz UV. O Pseudalert detecta a *Pseudomonas aeruginosa* a uma concentração de 1ufc em amostras de 100ml ou 250 ml.

Armazenamento

Armazenar a 2-30°C protegido da luz.

Procedimento para Presença/Ausência (P/A) para amostras de água não carbonadas

1. Adicionar o conteúdo de uma dose snap adequadamente pré dispensada a uma amostra de 100 ml ou 250 ml num recipiente estéril, transparente e não fluorescente.
2. Tapar e agitar o recipiente.
3. Incubar a 38°C ±0,5 °C durante 24-28 horas.
4. Ler os resultados de acordo com a tabela de interpretação de resultados mais abaixo.



Procedimento de Enumeração Quanti-Tray* (só para amostras de 100ml)

1. Adicionar o reagente a uma amostra de 100 ml de água, contida num recipiente estéril.
2. Tapar e agitar o recipiente até dissolver.
3. Adicionar 2 gotas da solução anti-espuma¹ da IDEXX à mistura amostra/reagente
Nota: estão disponíveis frascos de 120 mL da IDEXX com solução anti-espuma².
4. Verter a mistura amostra/reagente para uma Quanti-Tray ou uma Quanti-Tray*/2000 e selar num selador de Quanti-Tray.
5. Colocar a tray selada num incubador a 38°C ±0,5°C durante 24-28 horas.
6. Ler os resultados de acordo com a tabela de interpretação de resultados mais abaixo. Contar o número de poços positivos e referir-se à tabela MPN fornecida com as trays para obter o Número Mais Provável.



NOTA: O Procedimento de Quanti-Tray 250 está disponível na IDEXX.

Interpretação dos Resultados

| Aspecto | Resultado |
|---------------------------------|---|
| Sem fluorescência azul | Negativo para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Fluorescência Azul ¹ | Positivo para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

¹ Presença de fluorescência azul com cor superior á presente na amostra de controlo negativo.

- Avalie a fluorescência em ambiente escuro com uma lâmpada UV de 365 nm colocada a 13 cm da amostra. Apontar o feixe de luz na direcção contrária aos olhos e na direcção da amostra.
- Referir-se ao guia de leitura de fluorescência -/+ da caixa do kit. Os gráficos de cor são como são vistos sob luz UV.
- Os resultados do Pseudalert são definitivos às 24-28 horas. No procedimento de presença / ausência, os resultados positivos observados para *Pseudomonas aeruginosa* antes das 24 horas, e negativos após 28 horas também são válidos.



Notas Sobre o Procedimento

- Para efectuar as diluições, usar somente água estéril, não tamponada e livre de oxidantes.
- Para comparação quando se está a interpretar os resultados pode ser utilizado um branco de água estéril incubado com o reagente Pseudalert (controlo negativo).
- Estas instruções podem não ser inteiramente compatíveis com os regulamentos em vigor no seu país. Para testes de conformidade, siga os procedimentos normativos apropriados.
- O Pseudalert é fundamentalmente um teste para analisar água. As características de desempenho do Pseudalert não se aplicam a amostras alteradas por qualquer processo de concentração ou pré-enriquecimento.
- O pseudalert não foi validado para ser usado com águas engarrafadas com sabor, água marinhas ou águas carbonatadas.
- Devem ser seguidas técnicas assépticas quando se usa o Pseudalert. Descarte os materiais em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório.
- A presença de um conteúdo elevado de minerais (especialmente magnésio ou cálcio) pode tornar o reagente do kit Pseudalert turvo.
- A fluorescência azul deve ser interpretada como POSITIVA, mesmo que o sinal fluorescente seja fraco.
- Em caso de dúvida sobre o resultado de uma cavidade ou frasco com fluorescência fraca após 24 horas, incube por mais 1 a 4 horas.
- Se estiver usando uma lâmpada UV de mercúrio preenchida com gás para ler fluorescência, a classificação de potência deve ser de 6 watts.

Procedimentos de Controlo de Qualidade

1. Recomenda-se o seguinte procedimento de controlo de qualidade para cada lote de Pseudalert.
 - A. IDEXX-QC *Pseudomonas*³: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Métodos de controlo de qualidade adicionais:
 - i. Para cada uma das estirpes bacterianas da American Type Culture Collection (ATCC)^{TM 4} (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) ou 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) e *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)), inocular placas de Agar de sangue ou TSA devidamente rotuladas e incubar a 35 ±0,5°C durante 18-24 horas. A IDEXX não disponibiliza essas cepas, que devem ser compradas da ATCC ou em outros fornecedores.
 - ii. Para cada estirpe bacteriana, tocar com uma ansa de inoculação de 1 ul, estéril, numa colónia e inocular um tubo de teste com 5 ml de água desionizada estéril. Fechar a tampa e agitar vigorosamente.
 - iii. Para cada estirpe bacteriana, retirar do tubo anterior 1 ul com uma ansa de inoculação e inocular recipientes com 100ml ou 250 ml de água desionizada estéril. Estes são os seus controlos.
2. Seguir o procedimento P/A ou o procedimento de enumeração Quanti-tray descrito acima.
3. Os resultados devem coincidir com a tabela de interpretação dos resultados apresentada acima.

NOTA: O teste de controlo de qualidade interno da IDEXX é realizado de acordo com a ISO 11133:2014. Os certificados de controlo de qualidade estão disponíveis no site idexx.pt/water.

¹ Solução Anti-espuma IDEXX, número de catálogo: WAFDB

² Recipiente de 120ml com Anti-espuma da IDEXX, número de catálogo: WV120SBAF-200

³ IDEXX-QC *Pseudomonas*, IDEXX Catálogo n.º WQC-PSE

⁴ ATCC é uma marca registada de propriedade da American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

*O Pseudalert e as Quanti-tray são marcas comerciais ou marcas registadas de IDEXX Laboratories, Inc. ou suas filiais nos Estados Unidos da América e/ou outros países. Informações sobre as patentes: idexx.com/patents.

Введение

Тест-набор Pseudalert* (98-18076-00, 98-18078-00, 98-26014-00) предназначен для обнаружения наличия *Pseudomonas aeruginosa* в пробах воды. Тест основан на технологии обнаружения специфических бактериальных ферментов, которые сигнализируют о наличии *Pseudomonas aeruginosa* посредством гидролиза субстрата, присутствующего в реагенте Pseudalert. Клетки *Pseudomonas aeruginosa* быстро растут и размножаются, используя богатый запас аминокислот, витаминов и других питательных веществ, присутствующих в реагенте Pseudalert. Активно растущие штаммы *Pseudomonas aeruginosa* имеют фермент, который расщепляет субстрат и в результате получается голубая флуоресценция под действием ультрафиолетового (УФ) света. Pseudalert обнаруживает *Pseudomonas aeruginosa* в концентрации 1 КОЕ в пробах объемом 100 мл или 250 мл в течение 24 часов.

Условия хранения

Хранить при температуре 2–30 °С вдали от источников света.

Процедура определения присутствия/отсутствия (П/О)

1. Добавьте содержимое одной упаковки тест-набора подходящего размера к пробе воды объемом 100 мл или 250 мл в стерильный, прозрачный, нефлуоресцирующий флакон.
2. Закройте флакон крышкой и встряхните.
3. Инкубируйте при температуре $38 \pm 0,5$ °С в течение 24–28 часов.
4. Считайте полученные результаты анализа, используя таблицу интерпретации результатов, приведенную ниже.

**Процедура подсчета Quanti-Tray* (только для проб объемом 100 мл)**

1. Добавьте содержимое одной упаковки тест-набора к пробе воды объемом 100 мл, используя стерильный флакон
2. Закройте флакон крышкой и встряхивайте до полного растворения реагента.
3. Добавьте 2 капли раствора пеногасителя IDEXX¹ в смесь проба/реагент
ПРИМЕЧАНИЕ. Также доступны колбы с пеногасителем для проб объемом 120 мл компании IDEXX¹.
4. Залейте раствор проба/реагент в Quanti-Tray или Quanti-Tray*/2000 и герметично закупорьте в герметизаторе Quanti-Tray*.
5. Поместите герметично закупоренный поддон в термостат-инкубатор при температуре $38 \pm 0,5$ °С на 24–28 часов.
6. Считайте полученные результаты анализа, используя таблицу интерпретации результатов, приведенную ниже. Подсчитайте количество положительных лунок и используйте таблицу для расчета наиболее вероятного числа, прилагаемую к поддонам.
ПРИМЕЧАНИЕ. Процедура подсчета Quanti-Tray для проб объемом 250 мл доступна для заказа в компании IDEXX.

**Интерпретация результатов**

| Внешний вид | Результат |
|---|------------------------------------|
| Отсутствие флуоресценции голубого цвета | Отрицательный результат анализа на |
| Флуоресценция голубого цвета ¹ | Положительный результат анализа на |

¹ Наличие флуоресценции голубого цвета больше, чем количество, присутствующее в отрицательном контрольном образце.

- СЧИТЫВАЙТЕ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИЮ или ПРОВЕРЬТЕ НАЛИЧИЕ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ в темноте с использованием УФ-света длиной волны 365 нм на расстоянии 13 САНТИМЕТРОВ от образца. Отведите свет в направлении от глаз к образцу.
- Смотрите руководство по флуоресценции - /+ на коробке с набором. Цвета шкалы видны под действием УФ-излучения.
- Результаты анализа Pseudalert являются окончательными через 24–28 часов. При проведении процедуры определения присутствия/отсутствия -- положительные результаты анализа на *Pseudomonas aeruginosa*, наблюдаемые до 24 часов, и отрицательные результаты, наблюдаемые после 28 часов, также действительны.

**Примечания к процедурам**

- Для разбавления используйте только стерильную, небуферизованную, не содержащую окислителей воду.
- Для сравнения при интерпретации результатов можно использовать инкубированную стерильную холодную пробу воды, содержащую реагент Pseudalert (отрицательный контроль).
- В этом листке-вкладыше могут не отражаться местные нормативные требования. Для проверки на соответствие соблюдайте соответствующие нормативные процедуры.
- Pseudalert -- это первичный анализ воды. Рабочие характеристики Pseudalert не применимы к пробам, измененным в результате предварительного обогащения или концентрирования.
- Pseudalert не прошел валидацию для использования с пробами ароматизированной бутилированной, морской или газированной воды.
- При использовании Pseudalert всегда следует соблюдать методы асептики. Утилизируйте материалы в соответствии с правилами Надлежащей лабораторной практики.
- Наличие большого количества минералов (особенно магния и/или кальция) может привести к помутнению смеси реагента Pseudalert, но это не повлияет на результат.
- Интерпретируйте любую флуоресценцию голубого цвета как положительную, даже если флуоресцентный сигнал слабый.
- Если вы не уверены в результате флуоресценции лунки или флакона через 24 часа, инкубируйте дополнительно еще в течение 1–4 часов.
- Если для считывания флуоресценции используется ртутная газонаполненная УФ-лампа, то ее мощность должна составлять 6 ватт.

Процедуры контроля качества

1. Для каждой партии Pseudalert рекомендуется проведение одной из следующих процедур контроля качества:
 - A. IDEXX-QC *Pseudomonas*¹: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
 - B. Дополнительные методы контроля качества:
 - i. Для каждого из бактериальных штаммов из American Type Culture Collection (ATCC)^{TM-4} bacterial strains, (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (WDCM 00025) или 10145 (WDCM 00024), *Escherichia coli* ATCC 25922 (WDCM 00013) и *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (WDCM 00115)) нанесите штрих на поверхности среды в маркированных чашках с TSA или кровяным агаром (blood agar) и инкубируйте при температуре $35 \pm 0,5$ °С в течение 18–24 часов. Эти штаммы не доступны у компании IDEXX и могут быть приобретены в ATCC или у других поставщиков.
 - ii. Для каждого бактериального штамма прикоснитесь стерильной инокуляционной петлей объемом 1 мкл к колонии и используйте ее для инокуляции маркированной контрольной пробирки, содержащей 5 мл стерильной деионизированной воды. Закройте крышку и тщательно встряхните.
 - iii. Для каждого бактериального штамма возьмите 1 мкл петли из контрольной пробирки и используйте ее для инокуляции маркированного флакона, содержащего 100 мл или 250 мл стерильной деионизированной воды. Это ваши средства контроля.
2. Выполните описанную выше процедуру определения П/О или подсчета с помощью тест-системы Quanti-Tray.
3. Результаты должны совпадать с таблицей интерпретации результатов, приведенной выше.

ПРИМЕЧАНИЕ. Внутренний выпускающий контроль качества компании IDEXX проводится в соответствии со стандартом ISO 11133:2014. С сертификатами контроля качества можно ознакомиться на веб-сайте: idexx.com/water.

1. Номер по каталогу раствора пеногасителя IDEXX: WAFDB
2. IDEXX флаконы с плоской крышкой для записи объемом 120 мл с пеногасителем: WV120SBAF-200
3. IDEXX-QC *Pseudomonas*, номер по каталогу IDEXX WQC-PSE
4. ATCC -- зарегистрированный товарный знак, принадлежащий American Type Culture Collection. Телефон American Type Culture Collection: 1-800-638-6597; веб-сайт: atcc.org

*Pseudalert и Quanti-Tray -- товарные знаки или зарегистрированные товарные знаки компании IDEXX Laboratories, Inc. или ее филиалов в Соединенных Штатах и/или других странах. Информация о патенте: idexx.com/patents.