

EasyDisc* R2A Test Kit



06-0013525-01

IDEXX

For Technical Support, please call:

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

Europe: 00800 4339 9111

UK: +44 (0) 1638 676800

China: +86-21-61279528

Japan: 03 5301 6800

Australia: 1300 443 399

IDEXX

IDEXX Laboratories, Inc., One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092 USA

idexx.com/water

EasyDisc® R2A Test Kit

Introduction

The EasyDisc R2A method is used for the quantification of culturable, waterborne bacteria. Culturable is defined as any aerobic bacteria able to form colonies on solid media. It is based on colorimetric technology which detects viable aerobic bacteria by testing for growth and for the presence of key enzymes known to be present in these organisms. It uses a substrate that produces a blue color reaction when metabolized by most waterborne bacteria. The sample is added directly to the EasyDisc R2A plate, incubated, and then examined for blue colonies. The colony values generated by EasyDisc R2A method correlate with the Pour Plate method using Reasoners 2 Agar (R2A) incubated at 20-28°C for 5 to 7 days as described in *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Contents

25 or 100 sterile EasyDisc R2A plates in plastic sleeves.

Storage

Store at 2-25°C away from light and humidity. Expiration date is located on the outer kit label and Quality Control Certificate.

Test Procedure

1. Remove white lid and add 1 ± 0.1 mL water sample directly to the clear EasyDisc R2A plate.
2. Gently swirl *immediately* after sample addition to coat the plate entirely and reattach white lid.
3. Incubate undisturbed at room temperature for at least 20 minutes to allow for the media to set. Transfer plate to incubator within 1 hour of sample addition.
4. Incubate the plate, white lid side up, at 20-28°C for 5 to 7 days.
5. Examine the plates for colony growth as soon as they are removed from the incubators. Reject any plate with confluent growth.
6. Sum all colonies for the result. The result is expressed as colony forming units (CFU) per milliliter.

NOTE: Most microorganisms will produce a blue color on EasyDisc, but some may produce natural pigments with colors other than blue. All colonies should be summed for the final result.

Procedural Notes

1. This insert may not reflect your local regulations. For compliance testing, be sure to follow appropriate regulatory procedures.
2. Chlorinated samples should be treated with sodium thiosulfate prior to testing, preferably upon sample collection.
3. Printed grid is designed to aid in counting colonies.
4. Follow aseptic technique. Dispose of sample and media in accordance with Good Laboratory Practice.
5. Samples may be diluted before adding to the media provided the final volume applied is 1 ± 0.1 mL. The recommended sterile diluents are dechlorinated water and deionized water.
6. Adjust the CFU/mL result to reflect dilutions. For example, if a 10-fold dilution is prepared by adding 0.1 mL of sample into 0.9 mL of diluent, multiply result by 10 to convert to CFU/1 mL.
7. If there are more than 300 colonies on the plates inoculated with the highest dilutions used, express the results as >300 CFU/mL or approximate only.

Quality Control Procedures

1. The following quality control procedures are recommended for each lot of EasyDisc R2A:
 - a. Positive Control option 1: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Positive Control option 2: Fill a sterile vessel with 100 mL of sterile, non-buffered, oxidant-free water and inoculate with a sterile loop of any of the following strains:

Organism	WDCM#	ATCC#
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Negative Control/Blank: Use 1 ml of sterile diluent.
2. Follow Test Procedure Steps 1-6.
 3. Negative Control/Blank test should not contain any colonies.

NOTE: IDEXX internal quality control testing is performed in accordance with ISO 11133:2014³. Quality Control Certificates are available at idexx.com/water.

The EasyDisc R2A Test is intended to be used only for water quality research and analysis, by technically qualified individuals or under their supervision.

1. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WQC-HPC

3. ISO International Standardization Organisation. *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. ISO 11133:2014.

*EasyDisc is a registered trademark of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries. Patent information: idexx.com/patents.

Kit de test EasyDisc® R2A

Introduction

La méthode EasyDisc R2A est utilisée pour la quantification des bactéries revivifiables, d'origine hydrique. Une bactérie revivifiable est définie comme toute bactérie aérobique capable de former des colonies dans un milieu solide. La méthode est basée sur une technologie colorimétrique qui détecte les bactéries aérobies viables en recherchant la croissance et la présence d'enzymes clés, connues pour être présentes dans ces micro-organismes. La méthode utilise un substrat produisant une coloration bleue lorsqu'il est métabolisé par la plupart des bactéries présentes dans l'eau. Le prélèvement est ajouté directement sur la boîte EasyDisc R2A, incubé, puis examiné pour détecter les colonies bleues. Les nombres de colonies générées par la méthode EasyDisc R2A sont similaires aux résultats donnés par la méthode en boîte de Pétri utilisant une numération sur plaque en milieu gélosé R2A (Reasoner's 2 Agar) incubé entre 20 et 28°C pendant 5 à 7 jours, tel que décrit dans les *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Contenu

25 ou 100 boîtes stériles EasyDisc R2A conditionnées dans des pochettes en plastique.

Conservation

Conserver entre 2-25°C, à l'abri de la lumière et de l'humidité. La date de péremption est indiquée sur l'étiquette de la boîte et le certificat de contrôle qualité.

Procédure du test

1. Retirez le couvercle blanc et ajoutez $1 \pm 0,1$ ml de prélèvement d'eau directement sur la boîte transparente EasyDisc R2A.
2. Agitez doucement *immédiatement* après l'ajout du prélèvement pour recouvrir la totalité de la boîte et remettez en place le couvercle blanc.
3. Laissez incuber au repos à température ambiante pendant au moins 20 minutes pour permettre l'absorption du prélèvement dans le milieu. Placer la boîte dans une étuve dans l'heure qui suit l'ajout de l'échantillon.
4. Incubez la boîte, le couvercle blanc vers le haut, entre 20 et 28°C pendant 5 à 7 jours.
5. Examinez les boîtes pour vérifier la croissance des colonies immédiatement après leur sortie de l'étuve. Éliminez toute boîte contenant des croissances confluentes.
6. Comptez toutes les colonies. Le résultat est exprimé en unités formant colonies (UFC) par millilitre.

Remarque: la plupart des micro-organismes produiront une coloration bleue sur l'EasyDisc, mais certaines peuvent produire des pigments naturels d'autres couleurs. Toutes les colonies doivent être comptées pour obtenir le résultat définitif.

Remarques concernant la procédure

1. Cette notice peut ne pas correspondre à votre réglementation locale. Pour les tests de conformité, assurez-vous de suivre les procédures réglementaires appropriées.
2. Les prélèvements chlorés doivent être traités avec du thiosulfate de sodium avant d'être analysés, de préférence au moment du prélèvement.
3. Une grille imprimée est conçue pour faciliter le comptage des colonies.
4. Employez une technique aseptique. Éliminez le prélèvement et les milieux conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.
5. Les prélèvements peuvent être dilués avant d'être ajoutés sur les milieux à condition que le volume utilisé soit de $1 \pm 0,1$ ml. Les diluants stériles recommandés sont l'eau déchlorée et l'eau déionisée.
6. Ajustez le résultat en UFC/ml pour refléter les dilutions. Par exemple, si une dilution au 1/10e est réalisée en ajoutant 0,1 ml du prélèvement à 0,9 ml de diluant, multipliez le résultat par 10 pour convertir en UFC/1 ml.
7. Si plus de 300 colonies sont présentes sur les boîtesensemencées avec les dilutions les plus élevées utilisées, exprimez les résultats sous la forme >300 UFC/ml ou donnez uniquement une approximation.

Procédures de contrôle qualité

1. Les procédures de contrôle qualité suivantes sont recommandées pour chaque lot d'EasyDisc R2A:
 - a. Option 1 Contrôle positif: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Option 2 Contrôle positif: Remplissez un récipient stérile avec 100 ml d'eau stérile, non tamponnée, sans substance oxydante etensemencez avec une anse de platine stérile une des souches suivantes.

Organisme	WDCM	ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Contrôle négatif/blanc: Utilisez 1 ml de diluant stérile.
2. Suivez les étapes 1 à 6 de la procédure d'analyse.
 3. Le test du contrôle négatif/blanc ne doit révéler aucune colonie.

REMARQUE: les tests de contrôle qualité internes d>IDEXX sont effectués conformément à la norme ISO 11133:2014³. Les certificats de contrôle qualité sont disponibles à l'adresse idexx.com/water.

¹ *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*.

² IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WQC-HPC

³ ISO International Standardization Organisation. ISO 11133 *Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Microbiologie des aliments pour animaux et des eaux*.

* EasyDisc est une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales, aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Informations sur les brevets : idexx.com/patents.

Kit analitico EasyDisc® R2A

Introduzione

Il metodo analitico EasyDisc R2A, piastre di Petri con agar di Reasoner 2 (R2A), viene utilizzato per la quantificazione dei batteri coltivabili idrofilici. Per coltivabile si intende qualsiasi batterio aerobio in grado di formare colonie su un terreno di coltura solido. Il metodo è basato su una tecnologia colorimetrica che identifica i batteri aerobi vitali mediante l'analisi della crescita e della presenza degli enzimi principali che questi microrganismi notoriamente presentano. Utilizza un substrato che vira al colore blu quando viene metabolizzato dalla maggior parte dei batteri idrofilici. Il campione viene aggiunto direttamente sulla piastra EasyDisc R2A, posto in incubazione e quindi esaminato per presenza di colonie di colore blu. I valori delle colonie generate con il metodo EasyDisc R2A sono correlati a quelli ottenuti con il metodo di inclusione in piastra che utilizza agar di Reasoner 2 con incubazione a 20-28°C per 5-7 giorni, come illustrato in *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Contenuto

25 o 100 piastre EasyDisc R2A sterili in buste di plastica.

Conservazione

Conservare a una temperatura di 2-25°C al riparo dalla luce e dall'umidità. La data di scadenza è indicata sull'etichetta esterna del kit e sul Certificato di controllo qualità.

Procedura analitica

1. Rimuovere il coperchio bianco e aggiungere $1 \pm 0,1$ ml del campione d'acqua direttamente sulla piastra trasparente EasyDisc R2A.
2. *Immediatamente* dopo aver aggiunto il campione, far roteare delicatamente la piastra per distribuirlo uniformemente su tutta la superficie e rimettere il coperchio.
3. Lasciar incubare a temperatura ambiente per almeno 20 minuti senza toccare, per consentire al terreno di solidificarsi. Trasferire la piastra nell'incubatore entro 1 ora dall'aggiunta del campione.
4. Mantenere la piastra, con il coperchio bianco in alto, a 20-28°C per 5-7 giorni.
5. Esaminare le piastre per crescita di colonie non appena vengono rimosse dall'incubatrice. Scartare qualsiasi piastra che presenti aree di crescita confluenti.
6. Sommare tutte le colonie per il risultato. Il risultato è espresso in unità formanti colonie (CFU) per millilitro.
Nota: la maggior parte dei microrganismi produrrà una colorazione blu sulle piastre EasyDisc, tuttavia alcuni potrebbero produrre pigmenti naturali di colore diverso dal blu. Per il risultato finale devono essere sommate tutte le colonie.

Note procedurali

1. Questo inserto potrebbe non rispecchiare i regolamenti locali. Per eseguire un test di conformità, assicurarsi di seguire le procedure normative opportune.
2. Prima dell'analisi i campioni clorurati devono essere trattati con tiosolfato di sodio, preferibilmente al momento della raccolta.
3. La griglia stampata è concepita quale ausilio per la conta delle colonie.
4. Adottare tecniche asettiche. Smaltire i campioni e i terreni secondo le Buone Prassi di Laboratorio.
5. I campioni possono essere diluiti prima di aggiungerli al terreno, a condizione che il volume finale utilizzato sia di $1 \pm 0,1$ ml. I diluenti sterili raccomandati sono l'acqua dechlorurata e l'acqua deionizzata.
6. Tenere conto del fattore di diluizione. Ad esempio, se viene preparata una diluizione 1:10 aggiungendo 0,1 ml di campione a 0,9 ml di diluente, moltiplicare il risultato per 10 al fine di convertirlo in CFU/1 ml.
7. Qualora sulle piastre inoculate alla massima diluizione utilizzata vi siano più di 300 colonie, indicare il risultato come >300 CFU/ml o esprimerlo solo in modo approssimativo.

Procedure controllo qualità

1. Per ciascun lotto di EasyDisc R2A si consigliano le seguenti procedure di controllo della qualità:

- a. Controllo positivo, opzione 1: HPC/TVC IDEXX-QC²: *Enterococcus faecalis*
- b. Controllo positivo, opzione 2: inserire in un recipiente sterile 100 ml di acqua sterile non tamponata priva di ossidanti e, utilizzando un'ansa sterile, inoculare uno qualsiasi dei seguenti ceppi:

Microrganismo	N. rif. WDCM	N. rif. ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Controllo negativo/nullo: usare 1 ml di diluente sterile.
2. Seguire i passaggi della procedura analitica da 1 a 6.
 3. L'analisi di controllo negativa/nulla non deve contenere alcuna colonia.

NOTA: i test di controllo di qualità interni IDEXX sono condotti in conformità alla norma ISO 11133:2014³. I certificati di controllo qualità sono disponibili sul sito idexx.com/water.

¹ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017).

² IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WOC-HPC

³ ISO International Standardization Organisation. *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. ISO 11133:2014.

*EasyDisc è un marchio registrato di IDEXX Laboratories Inc. o delle sue affiliate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi. Informazioni brevetti: idexx.co/patents.

EasyDisc®-R2A-Test-Kit

Einführung

Die EasyDisc-R2A-Methode wird zur Quantifizierung kultivierbarer, im Wasser vorkommender Bakterien verwendet. „Kultivierbar“ ist definiert als jedes aerobe Bakterium, das in festem Nährmedium Kolonien bilden kann. Die Methode basiert auf der Kolorimetrie, bei der lebensfähige aerobe Bakterien durch die Untersuchung auf Wachstum und die Anwesenheit von Enzymen, die bekanntermaßen in diesen Organismen vorhanden sind, nachgewiesen werden. Bei dieser Methode wird ein Substrat verwendet, das eine blaue Farbreaktion erzeugt, wenn es von in Wasser vorkommenden Bakterien verstoffwechselt wird. Die Probe wird direkt zur EasyDisc-R2A-Platte hinzugefügt, inkubiert und dann auf blaue Kolonien untersucht. Die durch die EasyDisc-R2A-Methode gewonnenen Werte korrelieren mit der Pour-Plattierungsmethode unter Verwendung von Reasoners 2 Agar (R2A) und Inkubation bei 20–28°C für 5 bis 7 Tage, wie unter „Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)“ beschrieben.

Inhalt

25 oder 100 sterile EasyDisc-R2A-Platten in Kunststoffhüllen.

Lagerung

Bei 2–25°C vor Licht und Feuchtigkeit schützen. Das Verfallsdatum befindet sich auf dem Etikett außen am Kit und auf dem Qualitätskontrollzertifikat.

Testverfahren

1. Den weißen Deckel abnehmen und 1 ± 0,1 ml Wasserprobe direkt zur leeren EasyDisc-R2A-Platte hinzufügen.
2. **Unmittelbar** nach Zugabe der Probe schwenken, um die Platte vollständig zu bedecken, und den weißen Deckel wieder anbringen.
3. Bei Raumtemperatur ungestört mindestens 20 Minuten lang inkubieren, damit das Nährmedium sich setzen kann. Die Platte innerhalb von 1 Stunde nach Hinzufügen der Probe in den Inkubator geben.
4. Die Platte mit der Deckelseite nach oben 5 bis 7 Tage bei 20–28°C inkubieren.
5. Die Platten auf Kolonienwachstum überprüfen, sobald sie aus dem Inkubator genommen werden. Platten mit Konfluenz verwerfen.
6. Alle Kolonien summieren, um das Ergebnis zu erhalten. Das Ergebnis wird in koloniebildenden Einheiten (colony forming units, CFU) pro Milliliter ausgedrückt.
Hinweis: Die meisten Mikroorganismen erzeugen auf der EasyDisc eine blaue Farbe, manche stellen jedoch natürliche Pigmente mit anderen Farben als Blau her. Alle Kolonien werden summiert, um das Endergebnis zu erhalten.

Verfahrenshinweise

1. Diese Beilage entspricht möglicherweise nicht den Vorschriften, die in Ihrem Land gelten. Befolgen Sie zur Konformitätsprüfung auf jeden Fall die geltenden aufsichtsbehördlichen Verfahren.
2. Chlorierte Proben sollten vor dem Test mit Natriumthiosulfat behandelt werden, vorzugsweise bei Abnahme der Probe.
3. Ein aufgedrucktes Raster soll das Auszählen der Kolonien erleichtern.
4. Aseptische Techniken anwenden. Die Proben und Nährmedien sind gemäß der Guten Laborpraxis zu entsorgen.
5. Die Proben können vor Zugabe des Nährmediums verdünnt werden, vorausgesetzt, das endgültige aufgebrauchte Volumen ist 1 ± 0,1 ml. Als sterile Verdünnungsmittel werden entchlortes Wasser und entionisiertes Wasser empfohlen.
6. Das Ergebnis in CFU/ml so anpassen, dass es die Verdünnungen widerspiegelt. Wenn z. B. durch Hinzufügen von 0,1 ml Probe zu 0,9 ml Verdünnungsmittel eine 10-fache Verdünnung hergestellt wird, multiplizieren Sie das Ergebnis mit 10, um in CFU/ml umzurechnen.
7. Wenn auf den Platten, die mit den höchsten verwendeten Verdünnungsgraden inokuliert wurden, mehr als 300 Kolonien vorhanden sind, drücken Sie die Ergebnisse als >300 CFU/ml oder nur als Näherungswerte aus.

Qualitätskontrollverfahren

1. Die folgenden Qualitätskontrollverfahren werden für jede EasyDisc-R2A-Charge empfohlen:
 - a. Positive Kontrolle, Option 1: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Positive Kontrolle, Option 2: Füllen Sie ein steriles Gefäß mit 100 ml sterilem, nicht gepuffertem, oxidationsmittelfreiem Wasser und inokulieren Sie es mit einer sterilen Öse mit einem der folgenden Stämme:

Organismus	WDCM#	ATCC#
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Negative Kontrolle/Blindprobe: 1 ml steriles Verdünnungsmittel verwenden.
2. Die Verfahrensschritte 1–6 des Tests durchführen.
 3. Die negative Kontrolle/Blindprobe sollte keine Kolonien enthalten.
- HINWEIS:** Die internen Qualitätskontrollprüfungen von IDEXX werden im Einklang mit ISO 11133:2014³ durchgeführt. Qualitätskontrollzertifikate sind unter idexx.com/water erhältlich.

1. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017).

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog # UN3373-WQC-HPC

3. ISO International Standardization Organisation. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media. ISO 11133:2014.

*EasyDisc ist eine eingetragene Marke von IDEXX Laboratories, Inc. oder ihrer angeschlossenen Unternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern. Patentinformationen: idexx.com/patents.

Kit de prueba de R2A EasyDisc*

Introducción

El método de R2A EasyDisc se utiliza para la cuantificación de bacterias de transmisión hídrica cultivables. El término cultivable hace referencia a cualquier bacteria aerobia capaz de formar colonias en medios sólidos. La prueba se basa en la tecnología colorimétrica, que detecta las bacterias aerobias viables mediante el análisis del crecimiento y la presencia de enzimas clave que se sabe que se encuentran en estos organismos. Utiliza un sustrato que reacciona produciendo un color azul cuando lo metabolizan la mayoría de bacterias de transmisión hídrica. La muestra se añade directamente a la placa de R2A EasyDisc, se incuba y posteriormente se observa si hay colonias azules. El número de colonias generado a través del método de R2A EasyDisc guarda relación con el método de vertido en placa con agar 2 de Reasoner (R2A) incubado a 20-28°C entre 5 y 7 días, tal y como se describe en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Contenido

25 o 100 placas de R2A EasyDisc estériles en fundas de plástico.

Almacenamiento

Debe conservarse a una temperatura de 2-25°C lejos de la luz y la humedad. La fecha de caducidad aparece indicada en la etiqueta externa del kit y el certificado de control de calidad.

Procedimiento de análisis

1. Retire la tapa blanca y añada 1 ± 0,1 ml de muestra de agua directamente a la placa de R2A EasyDisc transparente.
2. **Inmediatamente** después de añadir la muestra, gire con cuidado la placa para que su superficie quede recubierta por completo y vuelva a colocar la tapa blanca.
3. Incube ininterrumpidamente a temperatura ambiente durante 20 minutos al menos para que el medio adquiera consistencia. Coloque la placa en la incubadora en la hora posterior a la adición de la muestra.
4. Incube la placa con la tapa blanca hacia arriba a 20-28°C entre 5 y 7 días.
5. En cuanto las retire de las incubadoras, compruebe el crecimiento bacteriano en las placas. Descarte las placas con crecimiento confluyente.
6. Sume todas las colonias para obtener el resultado. Este se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro.

Nota: Con EasyDisc, la mayoría de microorganismos producen un color azul, pero algunas pueden desarrollar pigmentos naturales de colores distintos al azul. Para obtener el resultado final se deben sumar todas las colonias.

Notas del procedimiento

1. Es posible que este prospecto no recoja la normativa local. A la hora de realizar análisis normativos, asegúrese de seguir los procedimientos normativos adecuados.
2. Las muestras cloradas deben tratarse con tiosulfato sódico antes de las pruebas, preferiblemente al recoger las muestras.
3. La cuadrícula impresa sirve de ayuda para el recuento de colonias.
4. Siga una técnica aséptica. Deseche las muestras y los medios según las buenas prácticas de laboratorio.
5. Las muestras pueden diluirse antes de añadirse al medio siempre que el volumen final utilizado sea de 1 ± 0,1 ml. Los diluyentes estériles recomendados son el agua sin cloro y el agua desionizada.
6. Ajuste el resultado en UFC/ml para adecuarlo a las diluciones realizadas. Por ejemplo, si prepara una dilución 1:10 añadiendo 0,1 ml de muestra a 0,9 ml de diluyente, multiplique el resultado por 10 para convertirlo a UFC/1 ml.
7. Si las placas inoculadas con las diluciones más altas presentan más de 300 colonias, exprese los resultados como > 300 UFC/ml o de forma aproximada únicamente.

Procedimientos de control de calidad

1. Se recomienda utilizar los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de R2A EasyDisc:
 - a. Opción 1 de control positivo: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Opción 2 de control positivo: Coloque en un recipiente estéril 100 ml de agua estéril, no tamponada y libre de oxidantes e inocular con un asa de siembra estéril cargada con una de las siguientes cepas:

Organismo	N.º WDCM	N.º ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Control negativo/blanco: Utilice 1 ml de diluyente estéril.
2. Siga los pasos 1 a 6 del procedimiento de análisis.
 3. En la prueba de control negativo/blanco no debe aparecer ninguna colonia.

NOTA: Las pruebas de control de calidad interna de IDEXX se realizan según la ISO 11133:2014³. Los certificados de control de calidad se encuentran disponibles en idexx.com/water.

1. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WOC-HPC

3. ISO International Standardization Organisation. *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. ISO 11133:2014.

*EasyDisc es una marca comercial registrada de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en los Estados Unidos y/o en otros países. Información de la patente: idexx.com/patents.

Kit de teste R2A EasyDisc*

Introdução

O método R2A EasyDisc é utilizado para quantificação de uma cultura de bactérias transmissíveis através da água. Por cultura considera-se qualquer bactéria aeróbica capaz de formar colônias em meios sólidos. Baseia-se na tecnologia colorimétrica que detecta bactérias aeróbicas viáveis ao testar o crescimento e a presença de enzimas-chave, que se sabe estarem presentes nestes organismos. Esta utiliza um substrato que produz uma reação de cor azul quando metabolizado com a maioria das bactérias transmissíveis através da água. A amostra é colocada diretamente na placa R2A EasyDisc, incubada e, em seguida, examinada quanto à presença de colônias azuis. Os valores da colônia gerados pelo método R2A EasyDisc correlacionam-se com o método pour-plate, utilizando Reasoners 2 Agar (R2A) incubados à temperatura de 20-28°C durante 5 a 7 dias, conforme descrito nos *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Conteúdo

25 ou 100 placas R2A EasyDisc esterilizadas em saco plástico.

Armazenamento

Armazenar entre 2-25°C longe da luz e umidade. A data de validade está localizada na etiqueta externa do kit e no Certificado de Controle de Qualidade.

Procedimento do teste

1. Retire a tampa branca e adicione $1 \pm 0,1$ ml da amostra de água diretamente na placa transparente R2A EasyDisc.
2. Agite delicadamente, *imediatamente* após a adição da amostra, de modo a revestir totalmente a placa, e volte a colocar a tampa branca.
3. Efetue a incubação, sem qualquer alteração, à temperatura ambiente durante, pelo menos 20 minutos, para estabilização do meio. Transfira a placa para a incubadora no período de 1 hora após adição da amostra.
4. Efetue a incubação da placa, com a tampa branca para cima, à temperatura de 20-28°C durante 5 a 7 dias.
5. Examine as placas quanto ao crescimento de colônia assim que forem retiradas das incubadoras. Rejeite todas as placas com crescimento confluyente.
6. Some todas as colônias para obter o resultado. O resultado é expresso em Unidades formadoras de colônias (UFC) por mililitro.
Nota: A maioria dos microrganismos irá produzir uma cor azul no EasyDisc, mas alguns podem produzir pigmentos naturais de outras cores. Todas as colônias devem ser contabilizadas para obtenção do resultado final.

Notas do procedimento

1. Este folheto poderá não refletir os seus regulamentos locais. Para conformidade do teste, certifique-se de que segue os procedimentos regulatórios adequados.
2. As amostras cloradas devem ser tratadas com tiosulfato de sódio antes do teste, preferencialmente após a coleta das amostras.
3. A grade impressa está desenhada para auxiliar na contabilização de colônias.
4. Siga uma técnica asséptica. Elimine a amostra e o meio em conformidade com as Boas Práticas Laboratoriais.
5. As amostras podem ser diluídas antes de adicionar os meios, desde que o volume final aplicado seja $1 \pm 0,1$ ml. Os diluentes estéreis recomendados são água sem cloro e água desionizada.
6. Ajuste o resultado UFC/ml para refletir as diluições. Por exemplo, se tiver sido preparada uma diluição 10 vezes através da adição de 0,1 ml de amostra em 0,9 ml de diluente, multiplique o resultado por 10 para converter para UFC/1 ml.
7. Se houver mais do que 300 colônias nas placas inoculadas com as diluições mais elevadas utilizadas, divulgue os resultados apenas como > 300 UFC/ml ou valor aproximado.

Procedimentos de controle de qualidade

1. São recomendados os seguintes procedimentos de controle de qualidade para cada lote de R2A EasyDisc:
 - a. Opção de controle positivo 1: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Opção de controle positivo 2: Coloque num recipiente esterilizado 100 ml de água esterilizada, não tamponada, sem oxidantes e efetua a inoculação com um círculo estéril de qualquer uma das seguintes cepas:

Organismo	WDCM#	ATCC#
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Controle negativo/branco: Utilize 1 ml de diluente estéril.
2. Siga as etapas 1-6 do procedimento de teste.
 3. O teste de controle negativo/branco não deve conter quaisquer colônias.

Nota: O teste de controle de qualidade interno IDEXX é realizado de acordo com a ISO 11133:2014³. Os certificados de controle de qualidade estão disponíveis em idexx.com.br/agua.

1. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WQC-HPC

3. ISO International Standardization Organisation. *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. ISO 11133:2014.

*EasyDisc é uma marca comercial registada dos Laboratórios IDEXX, Inc. ou empresas pertencentes ao mesmo grupo nos Estados Unidos e/ou outros países. Informação sobre a patente: idexx.com/patents.

Zestaw do badań EasyDisc® R2A

Wprowadzenie

Metoda EasyDisc R2A jest stosowana do ilościowego oznaczenia możliwych do wyhodowania bakterii znajdujących się w wodzie. Możliwe do wyhodowania oznacza wszelkie bakterie tlenowe, które mogą tworzyć kolonie na podłożach stałych. Metoda opiera się na pomiarze kolorometrycznym, który wykrywa żywotne bakterie tlenowe na drodze badania ich wzrostu oraz obecności najważniejszych enzymów znajdujących się w ich organizmach. Wykorzystuje substrat, metabolizowany przez większość bakterii znajdujących się w wodzie, który zmienia w wyniku reakcji barwę na niebieską. Próbkę dodaje się bezpośrednio na płytkę EasyDisc R2A, inkubuje, a następnie bada pod kątem obecności kolonii zabarwionych na niebiesko. Liczba kolonii uzyskana metodą EasyDisc R2A jest porównywalna z wynikami uzyskanymi metodą płytek lanych przy użyciu agaru Reasonera 2 (Reasoner's 2 Agar, R2A) inkubowanych w temperaturze 20-28°C przez 5 do 7 dni zgodnie z opisem w *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*¹.

Zawartość

25 lub 100 jałowych płytek EasyDisc R2A w rękawach z tworzywa sztucznego.

Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2-25°C z dala od światła i wilgoci. Data ważności znajduje się na zewnętrznej etykiecie zestawu oraz w świadectwie kontroli jakości.

Wykonanie testu

1. Zdjąć białe wieczko i dodać 1±0,1 ml próbki wody bezpośrednio na czystą płytkę EasyDisc R2A.
2. *Natychmiast* delikatnie rozprowadzić próbkę ruchem wirowym, aby całkowicie pokryć płytkę, a następnie ponownie nakryć białym wieczkiem.
3. Inkubować, unikając poruszania, w temperaturze pokojowej przez co najmniej 20 minut, aby podłoże mogło osiąść. Przenieść płytkę do ciepłarki w ciągu 1 godziny od dodania próbki.
4. Inkubować płytkę białym wieczkiem do góry, w temperaturze 20-28°C przez 5 do 7 dni.
5. Sprawdzić płytki pod kątem wzrostu kolonii po ich wyjęciu z ciepłarki. Odrzucić płytki ze wzrostem zlewnym.
6. Aby uzyskać wynik, zliczyć wszystkie kolonie. Wynik przedstawia się jako liczbę jednostek tworzących kolonie jtk (colony forming units, CFU) w 1 mililitrze.

Uwaga: Większość mikroorganizmów wywoła niebieską barwę, rosnąc na EasyDisc, ale niektóre mogą wytwarzać naturalne barwniki o innych kolorach niż niebieski. Aby uzyskać końcowy wynik, należy zsumować wszystkie kolonie.

Uwagi dotyczące procedury

1. Ten fragment może nie być zgodny z miejscowo obowiązującymi przepisami. W ramach badania zgodności należy pamiętać o przestrzeganiu odpowiednich przepisów prawnych.
2. Przed badaniem próbki chlorowane należy poddać działaniu tiosiarczanu sodu, najlepiej tuż po pobraniu próbki.
3. Nadrukowana siatka ma na celu ułatwić liczenie kolonii.
4. Należy przestrzegać zasad pracy jałowej. Próbkę i podłoża należy wyrzucić zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną.
5. Próbki można rozcieńczać przed dodaniem do podłoża, o ile zastosowana objętość końcowa wynosi 1±0,1 ml. Zalecane jałowe środki rozcieńczające to woda odchlorowana i woda dejonizowana.
6. Przeliczyć wynik jtk/ml, uwzględniając rozcieńczenia. Na przykład, jeśli zastosowano 10-krotne rozcieńczenie, dodając 0,1 ml próbki do 0,9 ml rozcieńczalnika, przemnożyć wynik przez 10, aby przeliczyć go na jtk/1 ml.
7. Jeśli na płytkach inokulowanych najbardziej rozcieńczonymi próbkami jest ponad 300 kolonii, wyniki należy wyrazić jako >300 jtk/ml lub podać je jako przybliżone.

Procedury kontroli jakości

1. Zaleca się stosowanie następujących procedur kontroli jakości dla każdej partii EasyDisc R2A:
 - a. Kontrola pozytywna, opcja 1: IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. Kontrola pozytywna, opcja 2: Napełnić jałowe naczynie 100 ml jałowej, niebuforowanej, pozbawionej czynników utleniających wody i inokulować ją za pomocą ezy jednym z poniższych szczepów:

Organizm	Nr WDCM	Nr ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	00087	29212
<i>Escherichia coli</i>	00090	11775

- c. Kontrola negatywna/próba ślepa: Użyć 1 ml jałowego rozcieńczalnika.
2. Przeprowadzić etapy 1-6 procedury badania.
 3. W kontroli negatywnej/próbie ślepej nie powinno się stwierdzać żadnych kolonii.

UWAGA: Badania wewnętrznej kontroli jakości IDEXX są przeprowadzane zgodnie z ISO 11133:2014³. Świadectwa kontroli jakości są dostępne na idexx.com/water.

¹ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)

² IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WOC-HPC

³ ISO International Standardization Organisation. *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. ISO 11133:2014.

*EasyDisc jest znakiem towarowym lub zastrzeżonym znakiem towarowym spółki IDEXX Laboratories, Inc. lub jej podmiotów stowarzyszonych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych krajach. Informacja o patentach: idexx.com/patents.

EasyDisc® R2A 検査キット

はじめに

EasyDisc R2A検査キットは、水中に存在する培養可能な細菌を計数するための培地です。培養可能な細菌とは、固形培地上でコロニーを形成する能力を持つ好気性細菌と定義されています。また、この培地は、発色酵素基質培地であり、好気性細菌の増殖、及びそれらの持つ特定の酵素の存在により細菌を検出します。培地に含まれる基質は、ほとんどの水中細菌が共通して持つ酵素により代謝され、青色を呈します。そのため、検水を EasyDisc R2Aプレートへ直接添加し、培養後、青いコロニーを数えることにより、菌数を計数することが可能です。EasyDisc R2Aプレートによって計数されたコロニー値は、R2A培地を用いた混釈法（20～28℃、5～7日間培養）の結果との相関が認められています。（R2A培地を用いた検査法については *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*）をご参照ください

内容物

25枚または100枚の滅菌されたEasyDisc R2Aプレート

保管方法

2～25℃で光を避けて保管してください。使用期限については、外箱のラベル及び試験成績書をご参照ください。

検査方法

1. 白い蓋を開け、1±0.1mLの検水を透明なEasyDisc R2Aプレートに添加する。
2. 検水を添加後、直ちにゆっくりとプレートを回し、検水をプレート全体に広げ、白い蓋を閉める。
3. 室温で20分以上静置し、検水添加後1時間以内に、プレートを培養器へ移す。
4. 白い蓋の面を上にして、プレートを20～28℃で5～7日間、培養する。
5. 培養器から取り出したらすぐに、プレート上のコロニーの状態を確認し、コロニーが密集増殖したプレートについては計数できないため、取り除く。
6. 計数可能なプレートのみ、コロニーを計数し、結果はCFU/mLで表す。
注記：ほとんどの細菌はEasyDisc上で青色を呈しますが、一部に青色ではなく自然の色を呈するものもあります。すべてのコロニーを計数し、最終結果としてください。

操作上の注意

1. 本文書は、本説明書の内容は該当する地域の法律・条例に適合していない場合があります。法律・条例に準拠した検査を行うために、必ず適切な規制手順に従ってください。
2. 塩素の含まれる検水は、検査前、可能であればサンプリング時にチオ硫酸ナトリウムで中和してください。
3. プレートに印字された格子は、コロニーの計数用です。
4. 試験は無菌的に実施してください。検水や培地は、GLPIに従って廃棄してください。
5. 培地への最終的な添加容量が1±0.1 mLであれば、検水を希釈することも可能です。滅菌希釈液として、脱塩素水と脱イオン水をご使用ください。
6. 希釈した際は、CFU/mLの値を希釈に応じて算出してください。例えば、0.1mLの検水を0.9mLの滅菌希釈液で10倍希釈した場合、プレート上で計数されたコロニー数を10倍することにより、CFU/mLへ換算します。
7. 最も希釈された検水を用いて試験を行ったプレート上のコロニー数が300を超えている場合、結果を「> 300 CFU/mL」として記載、または概算値として扱ってください。

品質管理手順

1. R2Aを使用する場合、ロット毎に次の品質管理手順を行うことをお勧めします。
 - a. 陽性対照オプション1：IDEXX-QC HPC/TVC²: *Enterococcus faecalis*
 - b. 陽性対照オプション2：滅菌容器3本に、それぞれ緩衝剤や酸化剤の入っていない滅菌水100 mLを入れ、以下の菌株を、滅菌ループを用いて接種する。

細菌	WDCM番号	ATCC番号
<i>Enterococcus faecalis</i> (フェカリス菌)	00087	29212
<i>Escherichia coli</i> (大腸菌)	00090	11775

- c. 陰性対照／ブランク：の滅菌希釈液1mL
2. 検査手順1～6を実施してください。
 3. 陰性対照／ブランクでは、コロニーの形成が認められてはいけません。

注記：IDEXX社内での品質管理検査は、ISO 11133:2014³に準拠して行われます。成績証明書は idexx.com/waterにて取得いただけます。

1. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 Heterotrophic Plate Count (2017)*.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN3373-WQC-HPC

3. ISO International Standardization Organisation. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media. ISO 11133:2014.

*EasyDiscは米国及び/又は他国におけるIDEXX Laboratories, Inc.の登録商標です。

特許情報: idexx.com/patents.

© 2021 IDEXX Laboratories, Inc. 無断複写・転載を禁じます。

EasyDisc® R2A 试剂盒

简介

EasyDisc R2A 方法对可培养的、水传播的细菌进行定量检测。可培养是指在固体培养基上能形成菌落的任何需氧菌。它是基于比色技术，通过检测存在于这些生物体中关键酶的生长和存在来发现有活性的需氧菌。它使用被大多数水传播细菌代谢时产生蓝色反应的底物。将样本直接加入到 EasyDisc R2A 培养皿上，培养，然后检查蓝色菌落。EasyDisc R2A 方法产生的菌落值与《水与废水标准检验方法 *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: SM9215 异养板计数 (2017)*》使用 Reasoners 2 琼脂 (R2A) 在 20–28° C 培养 5 – 7 天的平皿倾注方法无差异。

包装

25 个或 100 个 EasyDisc R2A 无菌平皿，装在塑料套中。

储存

避光储存于 2–25° C。到期日期位于试剂盒外部标签和质量控制证书上。

检测步骤

1. 取下白色盖子，直接加入 1 ± 0.1 mL 的水样到透明的 EasyDisc R2A 平皿上。
2. 加入样本后，立即轻轻旋转，将平皿完全覆盖，然后重新盖上白色盖子。
3. 在室温下不受干扰培养至少 20 分钟，使培养基固定。在加入样本后 1 小时内将平皿移入培养箱中。
4. 在 20–28° C 温度下培养平皿 5–7 天，白色盖子朝上。
5. 一旦从培养箱中取出，就要检查平皿的菌落生长情况。注意菌落成片生长的情况无法计数。
6. 将所有菌落加和得到结果。结果表达为每毫升菌落形成单位 (CFU)。

注意：大多数微生物会在 EasyDisc 上产生蓝色，但也有一些微生物会产生蓝色以外的天然色素。所有菌落均应加和，算出最后结果。

注意事项

1. 本说明可能并未反映您的本地监管规定。为了合规测试，请务必遵守相关监管程序。
2. 氯化后的样本应在检测前用硫代硫酸钠处理，最好在采集样本后立即进行处理。
3. 印刷网格的设计是为了帮助菌落计数。
4. 请遵照无菌操作法。请按照药物非临床研究质量管理规范处理样本和培养基。
5. 样品可以在加入培养基前进行稀释，但最终的体积为 1 ± 0.1 mL。推荐的无菌稀释剂是脱氯水和去离子水。
6. 调整 CFU/mL 结果以反映稀释情况。例如，如果将 0.1 mL 样本加入 0.9 mL 的稀释液中，稀释 10 倍，将稀释结果乘以 10 转换为 CFU/1 mL。
7. 如果用最高稀释度倍数接种的平皿上有超过 300 个菌落，则用 > 300 CFU/mL 表示或只近似表示结果。

质量控制步骤

1. 建议对每批 EasyDisc R2A 采取以下质量控制程序：

- a. 阳性对照选项 1: IDEXX-QC HPC/TV₂: 粪肠球菌质控样品
- b. 阳性对照选项 2: 向无菌容器中注入 100 mL 无菌、非缓冲、无氧化的水，然后用无菌环接种以下任何菌株：

Organismo	WDCM#	ATCC#
粪肠球菌	00087	29212
大肠埃希氏菌	00090	11775

- c. 阴性对照/空白: 使用 1 mL 无菌稀释剂。

2. 遵循操作步骤第 1–6 步。

3. 阴性对照/空白检测不应包含任何菌落。

注意：IDEXX 内部质量控制检测按照 ISO 11133:2014³ 执行。质量控制认证见 idexx.com/water。

1. 水与废水标准检验方法: SM9215 异养板计数 (2017)。

2. IDEXX-QC HPC/TV₂, IDEXX C 产品货号 #UN3373-WQC-HPC

3. 国际标准化组织。食品、动物饲料和水的微生物学。培养基的制备、生产、储存和性能试验 ISO 11133:2014。

*EasyDisc 为 IDEXX Laboratories, Inc. 或其在美国和 / 或其他国家的附属公司的注册商标。

专利信息: idexx.com/patents。