

Тест-набор Colilert* -18

Введение

С применением тест-систем Colilert* -18 можно определить загрязнение воды централизованного и нецентрализованного питьевого, в том числе горячего, водоснабжения, бассейнов и аквапарков (кроме бассейнов, используемых в бальнеологических целях), упакованную питьевую воду, включая природную минеральную, а также воду для использования в процессах производства алкогольной продукции, морской воде общими колиформными бактериями, обобщенными колиформными бактериями, колиформными бактериями, термотолерантные колиформные бактерии и *E. coli* с применением запатентованной технологии специфического субстрата IDEXX*. Принцип действия, заложенный в тест-систем Colilert* -18 основан на выявлении специфических ферментов ONPG (О-нитрофенил-бета-D-галактопиранозид) и продукта MUG (триптофаназа). Специфическая активность ферментов проявляется в результате расщепления специфических субстратов общими колиформными бактериями, обобщенными колиформными бактериями, колиформными и термотолерантными бактериями и *E. coli*, входящих в состав сред тест-систем Colilert* -18, с образованием флюоресцирующих или имеющих окраску продуктов, которые изменяют цвет среды на желтый, с образованием флюоресцирующего (при воздействии УФ-света) продукта при наличии в образце *E. coli* расщепляет флюорогенный субстрат.

Чувствительность тест-системы Colilert-18 составляет от 1,0 - 9,9*10⁶ КОЕ/ 100 мл или качественно «Обнаружено/не обнаружено КОЕ в нормируемом объеме».

Хранение

Хранить при температуре плюс (6-25)°С в защищенном от света месте.

Процедура наличия/отсутствия (Р/А)

1. Добавьте содержимое одной упаковки к образцу объемом 100 мл в стерильном прозрачном не флуоресцентном флаконе.
2. Закройте флакон крышкой и встряхните.
3. Если образец еще не достиг температуры 34-38°С, поместите флакон на водяную баню с температурой 35°С на 20 минут или, в качестве альтернативы, на водяную баню с температурой 44°С на 7-10 минут.
4. Инкубируйте при температуре 36 ± 2°С в течение оставшихся 18 часов для определения колиформных, обобщенных и общих колиформных бактерий, в том числе *E/coli* или при температуре 44 ± 0,5°С в течение оставшихся 18 часов для определения термотолерантных колиформных бактерий и *E/coli*.
5. Считайте результаты в соответствии с таблицей Интерпретации результатов ниже.



Процедура подсчета Quanti-Tray*

1. Добавьте содержимое одной упаковки к образцу воды комнатной температуры объемом 100 мл в стерильном флаконе.
2. Закройте флакон крышкой и встряхните до полного растворения.
3. Влейте смесь образца/реагента в Quanti-Tray* или Quanti-Tray*/2000 и запечатайте герметиком IDEXX Quanti-Tray*.
4. Поместите запечатанный лоток в инкубатор с температурой 36 ± 2°С на 18 часов (предварительный нагрев до 35°С не требуется). Для инкубации на водяной бане опустите Quanti-Tray, как есть, ниже уровня воды с помощью утяжеленного кольца.
5. Считайте результаты в соответствии с таблицей Интерпретации результатов ниже. Подсчитайте количество положительных лунок и обратитесь к таблице MPN, прилагаемой к лоткам, чтобы получить наиболее вероятное число.



Интерпретация результата

Внешний вид	Результат
Менее желтый по сравнению с компаратором, при инкубации при 36 ± 2°С	Отрицательно на общие колиформные бактерии, обобщенные колиформные бактерии, колиформные бактерии и <i>E. coli</i>
Желтый цвет такой же или более интенсивный, чем цвет компаратора, при инкубации при 36 ± 0,5°С	Положительно на общие колиформные бактерии, обобщенные колиформные бактерии, колиформные бактерии
Желтый цвет такой же или более интенсивный, чем цвет компаратора, при инкубации при 44 ± 0,5°С	Положительно на термотолерантные колиформные бактерии и <i>E. coli</i>

Желтый цвет и флуоресценция такая же или более интенсивная, чем у компаратора, при инкубации при $36 \pm 2^\circ\text{C}$

Положительно на *E. coli*

- Проверьте наличие флуоресценции с помощью 6-ваттного УФ-излучения в 365 нм в пределах 5 дюймов от образца в темноте. Отведите свет в направлении от глаз к образцу.
- Результаты Colilert-18 следует считать по прошествии 18 часов с момента инкубации.
- Однако, при получении сомнительного результата лицом, проводящим тест, при первом считывании, проведите дополнительную инкубацию до четырех часов (общее время инкубации не должно превышать 22 часа), для того, чтобы цвет и/или флуоресценция усилились.
- Положительные результаты, как для общих колиформных бактерий, обобщенных колиформных бактерий, колиформных бактерий, так и для *E. coli*, полученные в течение периода до 18 часов, и отрицательные, полученные по прошествии 22 часов, также являются действительными.
- Кроме того, лаборатории могут инкубировать образцы в течение более длительного времени (общее время инкубации до 22 часов) для их удобства.

Процедурные заметки

- Легкий оттенок может наблюдаться при добавлении Colilert-18 в образец.
- Если избыток пены вызывает проблемы при использовании Quanti-Tray, вы можете использовать раствор пеногасителя IDEXX Antifoam Solution (№ по каталогу: WAFDB) или флаконы IDEXX на 120 мл с пеногасителем (№ по каталогу: WV120SBAF-200).
- В данном листке-вкладыше могут быть не отражены местные нормативные правила. Для тестирования на соответствие обязательно следуйте соответствующим нормативным процедурам. Например, образцы, исследуемые в других странах, следует инкубировать при $36 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18-22 часов.
- Colilert-18 можно исследовать в любом формате с несколькими пробирками. Для определения наиболее вероятных величин (MPN) следует использовать *стандартные методы исследования таблиц MPN*.
- Если в образце воды присутствует фоновый цвет, сравните инокулированный Colilert-18 образец с контрольной пробой того же образца воды.
- Colilert-18 можно использовать для обнаружения *E. coli* (но не колиформных бактерий) в морской воде. Образцы необходимо разбавить не менее чем в десять раз. Умножьте значение MPN на коэффициент разбавления, чтобы получить точный количественный результат.
- Для разбавления используйте только стерильную воду без буфера и окислителя.
- Colilert-18 - это тест для первичной воды. Рабочие характеристики Colilert-18 не применяются к образцам, измененным каким-либо предварительным обогащением или образцам с измененной концентрацией.
- В образцах с избыточным содержанием хлора при добавлении Colilert-18 может наблюдаться синяя вспышка. В этом случае, образец следует рассматривать, как недействительный, и следует прекратить тестирование.
- При использовании Colilert-18 всегда следует соблюдать методы асептики. Утилизируйте в соответствии с надлежащей лабораторной практикой.

Процедуры контроля для каждой партии Colilert-18 рекомендуется одна из следующих процедур контроля качества:

Положительный контроль				Отрицательный контроль			
Тест-штаммы	цвет	Количественная оценка * КОЕ/ 100 мл	Качественная оценка	Тест-штаммы	цвет	Количественная оценка	Качественная оценка
Escherichia coli	Желтый	от 1,0 - 9,9*10 ³	Обнаружены	P.aeruginosa	Без изменения	отсутствие	Не обнаружено
Klebsiella pneumoniae	Желтый	от 1,0 - 9,9*10 ³	Обнаружены	P.fluorescens	Без изменения	отсутствие	Не обнаружено
Escherichia coli	Желтый с флуоресценцией	от 1,0 - 9,9*10 ³	Обнаружены	Klebsiella pneumoniae	желтый без флуоресценции	отсутствие	Не обнаружено

В качестве контрольных (эталонных) штаммов используют тест-штаммы с типичными биохимическими свойствами из официально признанных коллекций микроорганизмов, отличающиеся генетической стабильностью и изученными фенотипическими характеристиками, в том числе чувствительностью к антибактериальным препаратам. В условиях лаборатории штаммы должны иметь паспорт и храниться в соответствии с действующими санитарными правилами таким образом, чтобы возможность мутаций и контаминации культур была минимальной.

* Результаты должны соответствовать приведенной выше таблице интерпретации результатов в соответствии с таблицей Quanti-Tray.