

EasyDisc* YEA Test Kit



06-0013523-02

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® YEA Test Kit

Introduction

The EasyDisc YEA 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 YEA plate, incubated, and then examined for blue colonies. The colony values generated by EasyDisc YEA method correlate with the Pour Plate method using Yeast Extract Agar incubated at 22°C for 68 hours and 36°C for 44 hours as described in ISO 6222: Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium¹.

Contents

25 or 100 sterile EasyDisc YEA 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.
- Do not remove desiccant from the bag upon opening. After each use, seal the foil bag by folding at least twice before securing with tape or clip.

Test Procedure

1. Remove white lid and add 1 ± 0.1 mL water sample directly to the clear EasyDisc YEA 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, in a 22 ± 2°C incubator for 68 ± 4 hours or in a 36 ± 2°C incubator for 44 ± 4 hours. Inoculate at least one plate for incubation at each temperature.
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 YEA:
 - 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 YEA Test is intended to be used only for water quality research and analysis, by technically qualified individuals or under their supervision.

1. ISO International Standardization Organisation. *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. ISO 6222:1999.

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® YEA

Introduction

La méthode EasyDisc YEA est utilisée pour la quantification des bactéries revivifiables, d'origine hydrique. Une bactérie revivifiable est définie comme toute bactérie aérobie capable de former des colonies dans un milieu solide. La méthode repose 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 YEA, incubé, puis examiné pour détecter les colonies bleues. Les nombres de colonies générées par la méthode EasyDisc YEA sont similaires aux résultats donnés par la méthode en boîte de Pétri utilisant une gélose à l'extrait de levure incubé à 22°C pendant 68 heures et à 36°C pendant 44 heures tel que décrit dans la norme ISO 6222:1999 - *Qualité de l'eau — Dénombrement des micro-organismes revivifiables — Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélifié*¹.

Contenu

25 ou 100 boîtes stériles EasyDisc YEA 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.
- Ne pas retirer l'absorbant d'humidité lors de l'ouverture du sachet. Après chaque utilisation, fermer le sachet en aluminium en le pliant au moins deux fois avant de le sécuriser avec du ruban adhésif ou une attache.

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 YEA.
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, dans une étuve à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures ou dans un incubateur à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 44 ± 4 heures. Ensemencez au moins une boîte pour chaque température d'incubation.
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 certains 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 boîtes ensemencées 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 YEA:
 - 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 et ensemencez 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 ISO International Standardization Organisation. ISO 6222 Qualité de l'eau - Dénombrement des micro-organismes revivifiables - Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélifié.

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® YEA

Introduzione

Il metodo analitico EasyDisc YEA, piastre di Petri con agar all'estratto di lievito (YEA), 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 YEA, posto in incubazione e quindi esaminato per presenza di colonie di colore blu. I valori delle colonie generate con il metodo EasyDisc YEA sono correlati a quelli ottenuti con il metodo di inclusione in piastra che utilizza agar all'estratto di lievito con incubazione a 22°C per 68 ore e a 36°C per 44 ore, come indicato nella norma ISO 6222: Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium¹.

Contenuto

25 o 100 piastre EasyDisc YEA 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.
- Non rimuovere l'essiccante dal sacchetto al momento dell'apertura. Dopo ogni utilizzo, sigillare il sacchetto in alluminio piegandolo per almeno due volte prima di chiuderlo con del nastro o con un fermaglio.

Procedura analitica

1. Rimuovere il coperchio bianco e aggiungere 1 ± 0,1 ml del campione d'acqua direttamente sulla piastra trasparente EasyDisc YEA.
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 22 ± 2°C per 68 ± 4 ore oppure a 36 ± 2°C per 44 ± 4 ore. Inoculare almeno una piastra per l'incubazione a ciascuna temperatura.
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 ± 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 YEA 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. ISO International Standardization Organisation. Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium. ISO 6222:1999.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #JUN3373-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 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®-YEA-Test-Kit

Einführung

Die EasyDisc-YEA-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-YEA-Platte hinzugefügt, inkubiert und dann auf blaue Kolonien untersucht. Die mit der EasyDisc-YEA-Methode erzielten Koloniewerte korrelieren mit der Pour-Plattierungsmethode unter Verwendung von Yeast Extract Agar und Inkubation bei 22°C für 68 Stunden und 36°C für 44 Stunden, wie in ISO 6222: *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*¹.

Inhalt

25 oder 100 sterile EasyDisc-YEA-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.
- Trockenmittel beim Öffnen des Beutels nicht entfernen. Folienbeutel nach jedem Gebrauch vor dem Sichern mit Klebeband oder Clip durch mindestens zweimaliges Falten verschließen.

Testverfahren

1. Den weißen Deckel abnehmen und 1 ± 0,1 ml Wasserprobe direkt zur leeren EasyDisc-YEA-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 68 ± 4 Stunden bei 22 ± 2°C oder 44 ± 4 Stunden bei 36 ± 2°C inkubieren. Für beide Temperaturen jeweils mindestens eine Platte zur Inkubation impfen.
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-YEA-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 ISO International Standardization Organisation. *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. ISO 6222:1999.

² IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #JUN3373-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 teste YEA EasyDisc*

Introdução

O método YEA 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 YEA EasyDisc, incubada e, em seguida, examinada quanto à presença de colônias azuis. Os valores da colônia gerados pelo método YEA EasyDisc correlacionam-se com o método Pour Plate utilizando extrato de levedura Agar, incubado à temperatura de 22°C durante 68 horas e 36°C durante 44 horas, conforme descrito na ISO 6222: *Qualidade da água - Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*¹.

Conteúdo

25 ou 100 placas YEA 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.
- Não remova o dessecante da bolsa ao abrir. Após cada uso, feche a bolsa de alumínio dobrando-a pelo menos duas vezes antes de lacrar com fita ou clipe.

Procedimento do teste

1. Retire a tampa branca e adicione $1 \pm 0,1$ ml da amostra de água diretamente na placa transparente YEA 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, numa incubadora, à temperatura de 22 ± 2 °C durante 68 ± 4 horas ou numa incubadora à temperatura de 36 ± 2 °C durante 44 ± 4 horas. Efetue a inoculação de, pelo menos, uma placa para incubação para cada temperatura.
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 YEA 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. ISO International Standardization Organisation. *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. ISO 6222:1999.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #JUN3373-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.

Kit de prueba de YEA EasyDisc*

Introducción

El método de YEA 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 YEA EasyDisc y se incuba. Posteriormente, se observa si hay colonias azules. El número de colonias generado a través del método de YEA EasyDisc guarda relación con el método de vertido en placa de agar de extracto de levadura incubado a 22°C durante 68 horas y a 36°C durante 44 horas, tal y como se describe en la norma ISO 6222: *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*¹.

Contenido

25 o 100 placas de YEA 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.
- No extraer el desecante de la bolsa una vez abierta. Después de cada uso, cierre bien la bolsa doblándola al menos dos veces y utilizando una cinta o una pinza.

Procedimiento de análisis

1. Retire la tapa blanca y añada $1 \pm 0,1$ ml de muestra de agua directamente a la placa de YEA 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 en una incubadora a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 68 ± 4 horas o una incubadora a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 44 ± 4 horas. Inocule al menos una placa para incubar a cada temperatura.
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 algunos 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 $1 \pm 0,1$ 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 YEA 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 inocule 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. ISO International Standardization Organisation. *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. ISO 6222:1999.

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 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.

Zestaw do badań EasyDisc[®] YEA

Wprowadzenie

Metoda EasyDisc YEA 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 YEA, inkubuje, a następnie bada pod kątem obecności kolonii zabarwionych na niebiesko. Liczba kolonii uzyskana metodą EasyDisc YEA jest porównywalna z wynikami uzyskanymi metodą płytek lanych przy użyciu agaru z ekstraktem drożdżowym (Yeast Extract Agar) inkubowanych w temperaturze 22°C przez 68 godzin i w temperaturze 36°C przez 44 godziny zgodnie z opisem w ISO 6222: *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*¹.

Zawartość

25 lub 100 jałowych płytek EasyDisc YEA 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.
- Nie wyjmować środka osuszającego z worka po jego otwarciu. Po każdym użyciu szczelnie zamknąć worek foliowy, składając go przynajmniej dwa razy i zabezpieczając taśmą lub klipsem.

Wykonanie testu

- Zdjąć białe wieczko i dodać 1±0,1 ml próbki wody bezpośrednio na czystą płytkę EasyDisc YEA.
- Natychmiast* delikatnie rozprowadzić próbkę ruchem wirowym, aby całkowicie pokryć płytkę, a następnie ponownie nakryć białym wieczkiem.
- Inkubować, unikając poruszenia, w temperaturze pokojowej przez co najmniej 20 minut, aby podłoże mogło osiąść. Przenieść płytkę do cieplarki w ciągu 1 godziny od dodania próbki.
- Inkubować płytkę białym wieczkiem do góry, w cieplarnie nastawionej na temperaturę 22±2°C przez 68±4 godzin lub w cieplarnie nastawionej na temperaturę 36±2°C przez 44±4 godziny. Inkulować co najmniej jedną płytkę do inkubacji w każdej z temperatur.
- Sprawdzić płytki pod kątem wzrostu kolonii po ich wyjęciu z cieplarki. Odrzucić płytki ze wzrostem zlewnym.
- 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

- Ten fragment może nie być zgodny z miejscowo obowiązującymi przepisami. W ramach badania zgodności należy pamiętać o przestrzeganiu odpowiednich przepisów prawnych.
- Przed badaniem próbki chlorowane należy poddać działaniu tiosiarczanu sodu, najlepiej tuż po pobraniu próbki.
- Nadrukowana siatka ma na celu ułatwić liczenie kolonii.
- Należy przestrzegać zasad pracy jałowej. Próbkę i podłoża należy wyrzucić zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną.
- 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.
- 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.
- 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

- Zaleca się stosowanie następujących procedur kontroli jakości dla każdej partii EasyDisc YEA:
 - Kontrola pozytywna, opcja 1: IDEXX-QC HPC/TVC[®]: *Enterococcus faecalis*
 - 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

- Kontrola negatywna/próba ślepa: Użyć 1 ml jałowego rozcieńczalnika.
- Przeprowadzić etapy 1-6 procedury badania.
 - 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. ISO International Standardization Organisation. *Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. ISO 6222:1999.

2. IDEXX-QC HPC/TVC, IDEXX Catalog #UN9373-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.