

18

Colilert^{*}-18



06-02027-26

IDEXX


IDX 33/02 - 06/12
 IDX 33/01 - 11/09
 WATER ANALYSIS METHODS
<http://nf-validation.afnor.org>

The method Colilert^{*}-18/Quanti-Tray[®] or Quanti-Tray[®]/2000 for water analysis is granted NF Validation by AFNOR Certification as an alternative method to the standard ISO 9308-3 for enumeration of *Escherichia coli* β-glucuronidase positive in bathing water, under the Certificate number: IDX 33/02-06/12.

The method Colilert^{*}-18/Quanti-Tray[®] for water analysis is granted NF Validation by AFNOR Certification as an alternative method to the standard ISO 9308-1 for enumeration of *Escherichia coli* β-glucuronidase positive and coliform bacteria β-galactosidase positive in drinking water (except bottled water), under the Certificate number: IDX 33/01-11/09.

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

La méthode Colilert^{*}-18/Quanti-Tray[®] or Quanti-Tray[®]/2000 pour le contrôle des eaux est certifiée NF Validation par AFNOR Certification comme méthode alternative à la norme NF EN ISO 9308-3 pour le dénombrement des *Escherichia coli* β-glucuronidase positive dans les eaux de baignades sous le n° d'attestation: IDX 33/02 - 06/12.

La méthode Colilert^{*}-18/Quanti-Tray[®] pour le contrôle des eaux est certifiée NF Validation par AFNOR Certification comme méthode alternative à la norme NF EN ISO 9308-1 pour le dénombrement des bactéries coliformes β-galactosidase positive et des *Escherichia coli* β-glucuronidase positive dans les eaux de consommation humaine (hors eaux embouteillées), sous le n° d'attestation: IDX 33/01 - 11/09.

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/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

Introduction

Colilert® -18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) either simultaneously detects total coliforms and *E. coli*; or fecal coliforms in water. It is based on IDEXX's proprietary Defined Substrate Technology[®]. When total or fecal coliforms metabolize Colilert-18's DST[®] nutrient-indicator, ONPG, the sample turns yellow. When *E. coli* metabolize Colilert-18's DST[®] nutrient-indicator, MUG, the sample also fluoresces. Colilert-18 can simultaneously detect these bacteria at 1 cfu/100 mL within 18 hours even with as many as 2 million heterotrophic bacteria per 100 mL present.

Storage

Store at 2–25°C away from light.

Presence/Absence (P/A) Procedure

1. Add contents of one pack to a 100 mL sample in a sterile, transparent, nonfluorescing vessel.
2. Cap vessel and shake.
3. If sample is not already at 33–38°C, then place vessel in a 35°C waterbath for 20 minutes or, alternatively, a 44.5°C waterbath for 7–10 minutes.
4. Incubate at 35±0.5°C for the remainder of the 18 hours.
5. Read results according to Result Interpretation table below.



Quanti-Tray® Enumeration Procedure

1. Add contents of one pack to a 100 mL room temperature water sample in a sterile vessel.
2. Cap vessel and shake until dissolved.
3. Pour sample/reagent mixture into a Quanti-Tray® or Quanti-Tray®/2000 and seal in an IDEXX Quanti-Tray® Sealer.
4. Place the sealed tray in a 35±0.5°C (or 44.5±0.2°C for fecal coliforms) incubator for 18 hours (prewarming to 35°C is not required). For incubation in a water bath, submerge the Quanti-Tray, as is, below the water level using a weighted ring.
5. 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.



Result Interpretation

Appearance	Result
Less yellow than the comparator ¹ when incubated at 35±0.5°C or 44.5±0.2°C	Negative for total coliforms and <i>E. coli</i> ; Negative for fecal coliforms
Yellow equal to or greater than the comparator when incubated at 35±0.5°C	Positive for total coliforms
Yellow equal to or greater than the comparator when incubated at 44.5±0.2°C	Positive for fecal coliforms
Yellow and fluorescence equal to or greater than the comparator when incubated at 35±0.5°C	Positive for <i>E. coli</i>



- Look for fluorescence with a 6-watt, 365-nm UV light within 5 inches of the sample in a dark environment. Face light away from your eyes and towards the sample.
- Colilert-18 results are to be read after 18 hours of incubation.
- However, if the results are ambiguous to the analyst based on the initial reading, incubate up to an additional four hours (but not to exceed 22 hours total) to allow the color and/or fluorescence to intensify.
- Positives observed before 18 hours and negatives observed after 22 hours are also valid.
- In addition, laboratories may incubate samples for additional time (up to 22 hours total) for their convenience.

Procedural Notes

- A slight tinge may be observed when Colilert-18 is added to the sample.
- If excess foam causes problems while using Quanti-Tray, you may choose to use IDEXX Antifoam Solution (Catalog# WAFDB) or IDEXX 120 ml vessels with Antifoam (Catalog# WV120SBAF-200).
- This insert may not reflect your local regulations. For compliance testing, be sure to follow appropriate regulatory procedures. For example, samples run in other countries should be incubated at 36±2°C for 18–22 hours.
- Colilert-18 can be run in any multiple tube format. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*² MPN tables should be used to find Most Probable Numbers (MPNs).
- If a water sample has some background color, compare inoculated Colilert-18 sample to a control blank of the same water sample.
- Colilert-18 can be used for *E. coli* detection (but not coliforms) in marine water. Samples must be diluted at least tenfold. Multiply the MPN value by the dilution factor to obtain the proper quantitative result.
- Use only sterile, nonbuffered, oxidant-free water for dilutions.
- Colilert-18 is a primary water test. Colilert-18 performance characteristics do not apply to samples altered by any pre-enrichment or concentration.
- In samples with excessive chlorine, a blue flash may be seen when adding Colilert-18. If this is seen, consider sample invalid and discontinue testing.
- Aseptic technique should always be followed when using Colilert-18. Dispose of in accordance with Good Laboratory Practices.

Quality Control Procedures—Total Coliform and *E. coli*

1. One of the following quality control procedures is recommended for each lot of Colilert-18:
 - A. IDEXX-QC Coliform and *E. coli*: *Escherichia coli*, *Klebsiella varicola*[†], and *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult[™] *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*.
 2. Fill three sterile vessels with 100 mL of sterile non-buffered oxidant-free water and inoculate with a sterile loop of ATCC[™] 5 strains, *Escherichia coli* ATCC 25922/ WDCM 00013 or ATCC 11775/WDCM 00090, *Klebsiella varicola*[†] ATCC 31488/WDCM 00206 or *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/WDCM 00175, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/WDCM 00024 or ATCC 27853. These strains are not available from IDEXX and must be purchased from ATCC.
 3. 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.

Quality Control Procedures—Fecal Coliform

1. One of the following quality control procedures is recommended for each lot of Colilert-18:
 - A. IDEXX-QC Fecal Coliform[®]: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult[™] *Escherichia coli* (fecal coliform), *Klebsiella pneumoniae* (fecal coliform) and *Pseudomonas aeruginosa* (non-fecal).
 - C. Fill two sterile vessels with 100 mL of sterile non-buffered oxidant-free water and inoculate with a sterile loop of ATCC[®] 3 strains, *Escherichia coli* ATCC 11775 (fecal coliform) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 or 27853 (non-fecal coliform).
2. Follow the Quanti-Tray Enumeration Procedure above.
3. Results should match the Result Interpretation table above.

[®]The Colilert-18 Test is intended to be used only for water quality research and analysis, by technically qualified individuals or under their supervision.

1. IDEXX P/A Comparator, catalog # WP104; Quanti-Tray Comparator # WQTC, or Quanti-Tray/2000 Comparator # WQ2KC
 2. Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, 2005. Washington, DC.
 3. IDEXX-QC Coliform and *E. coli*, IDEXX Catalog # UN3373-WQC-TCEC
 4. Quanti-Cult cultures—IDEXX catalog # WQIT-1001
 5. ATCC is a registered trademark owned by the American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 ext. 509
 6. IDEXX-QC Fecal Coliform—IDEXX Catalog # UN3373-WQC-FC
 †. When following AFNOR validated method for drinking water or bathing water testing, place the sealed tray in a 36±2°C incubator for 18 hours (prewarming to 36°C is not required).
 ‡. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488/WDCM 00206) has been renamed to *Klebsiella varicola*.

*Colilert, Defined Substrate Technology, DST and Quanti-Tray are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries. Quanti-Cult is a trademark or registered trademark of Remel Inc.

Introduction

Colilert* -18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) permet de détecter dans l'eau soit la présence de coliformes totaux et de bactéries *E. coli*, soit la présence de coliformes fécaux. Ce test est basé sur la technologie propriétaire Defined Substrate Technology® (DST*) d>IDEXX. Lorsque les coliformes totaux ou fécaux métabolisent ONPG, le substrat chromogène-indicateur de Colilert-18, l'échantillon vire au jaune. Lorsque l'échantillon est positif, le réactif MUG contenu dans Colilert-18 est métabolisé par les *E. coli* et génère une fluorescence. Colilert-18 peut détecter simultanément ces bactéries à 1 cfu/100 ml en 18 heures, même en présence de bactéries hétérotrophes à une concentration de 2 millions par 100 ml.

Conditions de conservation

Conserver entre 2–25°C à l'abri de la lumière.

Procédure de Présence/Absence (P/A)

1. Ajouter le contenu d'un sachet dans un prélèvement de 100 ml placé dans un récipient stérile, transparent et non fluorescent.
2. Fermer le récipient et agiter.
3. Si le prélèvement n'est pas déjà à 33–38°C, placer le récipient dans un bain-marie à 35°C pendant 20 minutes ou dans un bain-marie à 44,5°C pendant 7 à 10 minutes.
4. Incuber à 35±0,5°C pendant les 18 heures qui suivent.
5. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous.

**Procédure de numération Quanti-Tray***

1. Ajouter le contenu d'un sachet dans un prélèvement de 100 ml d'eau à température ambiante placé dans un récipient stérile.
2. Fermer le récipient et agiter jusqu'à dissolution.
3. Verser le mélange prélèvement/réactif dans un Quanti-Tray* ou un Quanti-Tray*/2000 et fermer hermétiquement dans un IDEXX Quanti-Tray* Sealer.
4. Placer le plateau hermétiquement fermé dans un incubateur à 35±0,5°C† (ou à 44,5±0,2°C pour les coliformes fécaux) pendant 18 heures (aucun réchauffage préalable à 35°C n'est requis). Si le plateau est incubé dans un bain-marie, immerger le Quanti-Tray à l'aide d'un anneau lesté.
5. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous. Compter le nombre de puits positifs et se référer au tableau NPP fourni avec les plateaux Quanti-Tray pour obtenir le Nombre le plus probable (NPP).

**Interprétation des résultats**

Aspect	Résultat
Moins jaune que le comparateur ¹ après une incubation à 35±0,5°C ou à 44,5±0,2°C	Négatif pour les coliformes totaux et <i>E. coli</i> ; négatif pour les coliformes fécaux
Aussi jaune ou plus jaune que le comparateur après une incubation à 35±0,5°C	Positif pour les coliformes totaux
Aussi jaune ou plus jaune que le comparateur après une incubation à 44,5±0,2°C	Positif pour les coliformes fécaux
Couleur jaune et fluorescence égales ou supérieures au comparateur après une incubation à 35±0,5°C	Positif pour <i>E. coli</i>



- Évaluer la fluorescence avec une lampe UV de 6 watts et 365 nm placée à 13 cm de l'échantillon, dans un endroit obscur. Orienter la lumière vers l'échantillon en l'éloignant des yeux de l'opérateur.
- Les résultats du test Colilert-18 doivent être lus après 18 heures d'incubation.
- Toutefois, si les résultats de la première lecture sont ambigus pour l'analyste, incuber jusqu'à quatre heures supplémentaires (sans dépasser 22 heures au total) pour laisser la couleur et/ou la fluorescence s'intensifier.
- Les puits positifs observés avant 18 heures et les puits négatifs observés après 22 heures sont également valables.
- En outre, les laboratoires peuvent incuber des échantillons pendant une durée plus longue (jusqu'à 22 heures en tout) par souci de commodité.

Remarques concernant la procédure

- Il est possible d'observer une légère coloration lorsque Colilert-18 est ajouté au prélèvement.
- Si l'excès de mousse pose des problèmes avec le Quanti-Tray, il est possible d'utiliser la solution antimousse d>IDEXX (réf. n° WAFDB) ou les récipients IDEXX de 120 ml (réf. n° WW120SBAF-200).
- Cette notice d'utilisation peut ne pas refléter les réglementations locales en vigueur dans votre pays. Pour les tests de conformité, assurez-vous de suivre les procédures réglementaires appropriées. Par exemple l'incubation des échantillons dans certains pays doit être réalisée à 36±2 °C pendant 18 à 22 heures.
- Colilert-18 peut être effectué en tubes multiples. Utiliser les tableaux NPP des *Méthodes de référence pour l'analyse de l'eau et des eaux usées*⁵ afin de déterminer les Nombres le plus probables (NPP).
- Si un prélèvement d'eau présente une couleur de fond, comparer le prélèvement inoculé avec Colilert-18 à un échantillon non inoculé du même prélèvement d'eau.
- Colilert-18 peut être utilisé pour la quantification des *E. coli* (pas les coliformes) dans les eaux de mer. Les prélèvements doivent être dilués au moins au dixième. Multiplier la valeur NPP par le facteur de dilution pour obtenir le résultat quantitatif correspondant.
- Utiliser uniquement de l'eau stérile, non tamponnée et sans oxydant pour les dilutions.
- Colilert-18 est avant tout un test pour l'analyse des eaux. Les caractéristiques de performance de Colilert-18 ne s'appliquent pas aux prélèvements modifiés par tout enrichissement préalable ou toute concentration.
- Avec les prélèvements présentant un excédent de chlore, il peut se produire une rapide leur bleuâtre lors de l'ajout de Colilert-18. Si tel est le cas, le prélèvement n'est pas valide et il faut cesser le test.
- Il est recommandé de toujours utiliser des techniques aseptiques avec Colilert-18. À éliminer conformément aux Bonnes pratiques de laboratoire.

Test de contrôle qualité — Coliformes et *E. coli*

1. L'une des procédures de contrôle qualité suivantes est recommandée pour chaque lot de Colilert 18:
 - A. IDEXX-QC pour les Coliformes et *E. coli*:¹ *Escherichia coli*, *Klebsiella variicola*² et *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult³ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.
 - C. Remplir trois récipients stériles avec 100 ml d'eau stérile, non tamponnée et sans oxydant puis inoculer les récipients avec une anse stérile avec des souches ATCC⁴ : *Escherichia coli* ATCC 25922/WDCM 00013 ou ATCC 11775/WDCM 00090, *Klebsiella variicola*² ATCC 31488/WDCM 00206 ou *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/WDCM 00175, et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 ou ATCC 27853. Ces souches ne sont pas disponibles auprès d>IDEXX et doivent être achetées auprès d'ATCC.
2. Suivre la procédure P/A ou la procédure de numération Quanti-Tray ci-dessus.
3. Les résultats doivent correspondre aux résultats du tableau d'interprétation 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.

Procédures de contrôle qualité — Coliformes fécaux

1. L'une des procédures de contrôle qualité suivantes est recommandée pour chaque lot de Colilert 18:
 - A. IDEXX-QC pour les coliformes fécaux: *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult *Escherichia coli* (coliforme fécal), *Klebsiella pneumoniae* (coliforme fécal) et *Pseudomonas aeruginosa* (non fécal).
 - C. Remplir deux récipients stériles avec 100 ml d'eau stérile non tamponnée et sans oxydant puis les inoculer avec une anse stérile de souches ATCC, *Escherichia coli* ATCC 11775 (coliforme fécal) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 ou 27853 (non fécal).
2. Suivre la procédure de numération Quanti-Tray.
3. Les résultats doivent correspondre aux résultats du tableau d'interprétation ci-dessus.

¹ Comparateur P/A IDEXX, réf. n° WP104; Comparateur Quanti-Tray n° WOTC ou Quanti-Tray/2000 Comparateur n° WOT2KC

² Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, 2005. Washington, DC.

³ IDEXX-QC pour les Coliformes et *E. coli*, IDEXX Catalog #UN3373-WDC-TCC

⁴ Cultures Quanti-Cult IDEXX, réf. n° WK1F-1001

⁵ ATCC est une marque déposée détenue par l'American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

⁶ IDEXX-QC pour les coliformes fécaux — IDEXX Catalog #UN3373-WDC-FC

[†] Lors de l'utilisation de la méthode telle que validée par AFNOR certification pour l'analyse de l'eau potable ou l'eau de baignade ==, placer le plateau hermétiquement fermé dans un incubateur à 36±2°C pendant 18 heures (aucun réchauffage préalable à 36°C n'est requis).

[‡] *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488 / WDCM 00206) a été renommé *Klebsiella variicola*.

*Colilert, Defined Substrate Technology, DST et Quanti-Tray sont des marques de fabrique ou des marques déposées d>IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

Quanti-Cult est une marque de fabrique ou des marques déposées de Remel Inc.

© 2021 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés. • Information sur les brevets: idexx.com/patents.

Introduzione

Colilert*-18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) rileva simultaneamente i coliformi totali e *E. coli* o i coliformi fecali in acqua. Si basa su una tecnologia di substrato definito (DST* o Defined Substrate Technology) di cui IDEXX* è proprietaria del brevetto. Quando i coliformi totali o fecali metabolizzano il nutriente indicatore ONPG di Colilert-18, il campione diventa giallo. Quando l'*E. coli* metabolizza il nutriente-indicatore MUG, il campione presenta anche fluorescenza. Il Colilert-18 è in grado di rilevare simultaneamente questi batteri in concentrazioni di 1 UFC/100 ml entro 18 ore anche se sono presenti addirittura 2 milioni di batteri eterotrofici per 100 ml.

Conservazione

Conservare a 2–25°C lontano dalla luce.

Procedura relativa a Presenza/Assenza (P/A)

- Unire il contenuto di un pacchetto ad un campione da 100 ml in un a provetta sterile, trasparente e non fluorescente.
- Chiudere la provetta ed agitarla.
- Se il campione non è già a 33–38°C, mettere la provetta a bagno maria a 35°C per 20 minuti oppure, alternativamente, a bagno maria a 44,5°C per 7–10 minuti.
- Incubare a 35±0,5°C per il resto delle 18 ore.
- Leggere i risultati secondo la tabella di Interpretazione dei risultati qui sotto.

**Procedura di enumerazione Quanti-Tray***

- Unire il contenuto di un pacchetto ad un campione di acqua da 100 ml a temperatura ambiente in una provetta sterile.
- Chiudere la provetta e agitarla fino a dissoluzione.
- Versare la miscela campione/reagente in un vassoietto Quanti-Tray* o Quanti-Tray*/2000 e sigillarlo in un IDEXX Quanti-Tray* Sealer.
- Posizionare il vassoietto sigillato in un'incubatrice a 35±0,5°C* (o 44,5±0,2°C per i coliformi fecali) per 18 ore (non si richiede il pre-riscaldamento a 35°C). Per l'incubazione in un bagno termostato, immergere completamente il Quanti-Tray nell'acqua utilizzando un anello appesantito.
- Leggere i risultati secondo la tabella di Interpretazione dei risultati qui sotto. Contare il numero di gialli positivi e consultare la tabella MPN fornita insieme ai vassoietti per ottenere il numero più probabile.

**Interpretazione dei risultati**

Aspetto	Risultato
Colore giallo meno intenso del comparatore ¹ quando viene incubato a 35±0,5°C o a 44,5±0,2°C	Negativo per coliformi totali ed <i>E. coli</i> ; negativo per coliformi fecali
Colore giallo uguale o più intenso del comparatore quando viene incubato a 35±0,5°C	Positivo per coliformi totali
Colore giallo uguale o più intenso del comparatore quando viene incubato a 44,5±0,2°C	Positivo per coliformi fecali
Colore giallo e fluorescenza uguali o più intensi del comparatore quando viene incubato a 35±0,5°C	Positivo per <i>E. coli</i>



- Individuare la fluorescenza con una luce a raggi ultravioletti da 6 watt, 365 nm, entro circa 13 cm dal campione in un ambiente non illuminato. Dirigere la luce verso il campione, in direzione opposta ai propri occhi.
- I risultati di Colilert-18 devono essere letti dopo 18 ore di incubazione.
- Tuttavia, se i risultati sono ambigui per l'analisi sulla base della lettura iniziale, incubare fino a quattro ore in più (non superando tuttavia 22 ore in totale) in modo da consentire l'intensificarsi del colore e/o della fluorescenza.
- I pozzetti positivi osservati prima di 18 ore così come i negativi osservati dopo 22 ore sono ugualmente validi.
- Inoltre, i laboratori possono incubare i campioni per un periodo aggiuntivo (fino a 22 ore in totale) per loro comodità.

Note sulla procedura

- Una leggera colorazione si può osservare quando il Colilert-18 viene aggiunto al campione.
- Se la schiuma in eccesso causa problemi mentre si usa il Quanti-Tray, si può scegliere di usare la Soluzione antischiama IDEXX (Codice catalogo WAFDB) o provetta IDEXX da 120 ml con antischiama (Codice catalogo WV120SBAF-200).
- Quest'inserzione potrebbe non rispondere ai regolamenti locali. Per eseguire un test di conformità, assicurarsi di seguire le procedure normative opportune. Ad esempio, i campioni trattati in altri Paesi vengono incubati a 36±2°C per 18–22 ore.
- Il Colilert-18 si può eseguire in qualsiasi formato a provetta multipla. I metodi standard² per l'esame delle tabelle MPN dell'acqua e delle acque di scarico vanno usati per ottenere i numeri più probabili (MPN).
- Se un campione di acqua dovesse presentare della colorazione di sfondo, confrontare il campione Colilert-18 inoculato con controllo negativo dello stesso campione di acqua.
- Nelle acque marine, Colilert 18 può essere utilizzato per determinare la presenza di *E. coli* (ma NON per i coliformi). I campioni devono essere diluiti almeno con fattore 1/10. Moltiplicare il valore MPN per il fattore di diluizione per ottenere il risultato quantitativo adeguato.
- Per le diluizioni usare solo acqua sterile, non tamponata e senza ossidanti e inoculare con un'ansa sterile di ceppi ATCC³, *Escherichia coli* ATCC 25922/ WDCM 00013 o ATCC 11775/ WDCM 00090, *Klebsiella varicola*⁴ ATCC 31488/ WDCM 00206 o *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/ WDCM 00175, e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 o ATCC 27853. Questi ceppi non sono disponibili presso IDEXX e devono essere acquistati da ATCC.
- Il Colilert-18 è un test primario per l'acqua. Le caratteristiche di prestazione del Colilert-18 non sono applicabili a campioni alterati da qualsiasi pre-aricchimento o da concentrazione.
- In campioni con cloro eccessivo, quando si aggiunge il Colilert-18 si potrebbe vedere un lampo azzurro. In questo caso, considerare il campione non valido e interrompere l'analisi.
- Quando si usa il Colilert-18 va sempre seguita la tecnica asettica. Eliminare secondo le buone pratiche di laboratorio.

Procedura Controllo Qualità—coliformi totali ed *E. coli*

- Per ciascun lotto di Colilert-18 si consiglia una delle seguenti procedure di controllo della qualità:
 - Coliformi ed *E. coli*¹: IDEXX-QC: *Escherichia coli*, *Klebsiella varicola*⁴ e *Pseudomonas aeruginosa*.
 - Quant-Cult²: *Escherichia coli* (coliforme fecale), *Klebsiella pneumoniae* (coliforme fecale) e *Pseudomonas aeruginosa* (non fecale).
 - Riempiere tre contenitori sterili con 100 ml di acqua sterile non tamponata e senza ossidanti e inoculare con un'ansa sterile di ceppi ATCC³, *Escherichia coli* ATCC 25922/ WDCM 00013 o ATCC 11775/ WDCM 00090, *Klebsiella varicola*⁴ ATCC 31488/ WDCM 00206 o *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/ WDCM 00175, e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 o ATCC 27853. Questi ceppi non sono disponibili presso IDEXX e devono essere acquistati da ATCC.
 - Seguire la procedura P/A o la procedura di enumerazione Quanti-Tray di cui sopra.
 - I risultati devono corrispondere a quelli inseriti nella tabella di interpretazione di cui sopra.
- NOTA:** 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.

Procedura Controllo Qualità—coliformi fecali

- Per ciascun lotto di Colilert-18 si consiglia una delle seguenti procedure di controllo della qualità:
 - Coliformi fecali IDEXX-QC¹: *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.
 - Quant-Cult² *Escherichia coli* (coliforme fecale), *Klebsiella pneumoniae* (coliforme fecale) e *Pseudomonas aeruginosa* (non fecale).
- Riempiere due contenitori sterili con 100 ml di acqua sterile non tamponata e senza ossidanti e inoculare con un'ansa sterile di ceppi ATCC³, *Escherichia coli* ATCC 25922/ WDCM 00013 o ATCC 11775/ WDCM 00090, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488/ WDCM 00206 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 o 27853.
- Seguire la procedura di enumerazione Quanti-Tray sopra riportata.
- I risultati devono corrispondere alla tabella di interpretazione dei risultati indicata sopra.

¹ Comparatore P/A IDEXX, ref. n° WP104; Comparatore Quanti-Tray n° WQTC o Quanti-Tray/2000 Comparatore n° WQ2KZC

² Eaton, AD, Ciescieri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. Metodo standard per l'esame dell'acqua e delle acque di scarico. American Public Health Association, 2005. Washington, DC.

³ Coliformi ed *E. coli* IDEXX-QC. Catalogo IDEXX N. UN3373-WQC-TECC

⁴ Culture Quant-Cult N. di catalogo IDEXX WQT-1001

⁵ ATCC è un marchio registrato di proprietà di American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

⁶ Coliformi fecali IDEXX-QC—Catalogo IDEXX N. UN3373-WQC-FC

⁷ Nel seguire la validazione di metodo AFNOR per acque potabili o di balneazione, mettere la piastra a pozzetti sigillata nell'incubatore a 36±2° per 18 ore (non e' necessario il preriscaldamento a 36°).

⁸ *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488 / WDCM 00206) è stato rinominato in *Klebsiella varicola*

*Colilert, Defined Substrate Technology, DST 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.

Quant-Cult è un marchio di proprietà di, e/o registrato da, Remel Inc.

© 2021 IDEXX Laboratories, Inc. Tutti i diritti riservati. • Informazioni sui brevetti: idexx.com/patents.

Einführung

Colilert®-18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) ist zum gleichzeitigen Nachweis von Gesamtcoliformen und *E. coli* oder Fäkalcoliformen in Wasser bestimmt. Es basiert auf der gesetzlich geschützten Defined Substrate Technology* (DST™) von IDEXX. Bei der Metabolisierung von ONPG, des Nährstoffindikators von Colilert-18, durch die Gesamtcoliformen oder Fäkalcoliformen verfärbt sich die Probe gelb. Wenn *E. coli* den Nährstoffindikator MUG verstoffwechselt, fluoresziert die Probe. Colilert-18 kann diese Bakterien gleichzeitig im Bereich von 1 CFU/100 ml innerhalb von 18 Stunden nachweisen, selbst wenn 2 Mio. heterotrophe Bakterien pro 100 ml vorhanden sind.

Lagerung

Bei 2–25°C und nicht im Licht lagern.

Presence/Absence (P/A)-Test

- Den Inhalt einer Packung zu einer 100 ml Probe in einem sterilen, transparenten, nicht fluoreszierenden Gefäß hinzugeben.
- Das Gefäß verschließen und schütteln.
- Wenn die Probe noch nicht im Temperaturbereich von 33–38°C ist, das Gefäß 20 Minuten in ein Wasserbad von 35°C oder alternativ 7–10 Minuten lang in ein Wasserbad von 44,5°C stellen.
- Für den verbleibenden 18-Stunden-Zeitraum bei 35±0,5°C inkubieren.
- Die Ergebnisse gemäß der nachstehenden Ergebnisauswerte-Tabelle ablesen.

**Quanti-Tray® Auszähl-Methode**

- Den Inhalt einer Packung zu einer 100 ml Wasserprobe mit Raumtemperatur in einem sterilen Gefäß hinzugeben.
- Das Gefäß verschließen und so lange schütteln, bis der Inhalt aufgelöst ist.
- Die aus Probe und Reagenz bestehende Mischung in ein Quanti-Tray® oder Quanti-Tray/2000 gießen und in einem IDEXX Quanti-Tray Sealer fest verschließen.
- Den versiegelten Quanti-Tray bei 35±0,5°C* (oder bei -Fäkalcoliformen bei 44,5±0,2°C) 18 Stunden inkubieren (ein Vorwärmen auf 35°C ist nicht erforderlich). Sollte die Inkubation des Quanti-Tray im Wasserbad erfolgen, den Tray so beschweren, dass er vollständig von Wasser bedeckt ist.
- Die Ergebnisse anhand der nachstehenden Ergebnisauswerte-Tabelle ablesen. Die Anzahl der positiven Vertiefungen zählen und die wahrscheinlichste Zahl (MPN; Most Probable Number) anhand der MPN-Tabelle, die den Trays beiliegt, ermitteln.

**Ergebnisauswertung**

Aussehen der Probe	Mögliche Ergebnisse
Geringere Gelbfärbung als der Comparator ¹ bei Inkubation bei 35±0,5°C oder bei 44,5±0,2°C	Negativ für Gesamtcoliforme und <i>E. coli</i> ; negativ für fäkale Coliforme
Gleiche oder stärkere Gelbfärbung als der Comparator ¹ bei Inkubation bei 35±0,5°C	Positiv für Gesamtcoliforme
Gleiche oder stärkere Gelbfärbung als der Comparator ¹ bei Inkubation bei 44,5±0,2°C	Positiv für Fäkalcoliforme
Gleiche oder stärkere Gelbfärbung und Fluoreszenz als der Comparator ¹ bei Inkubation bei 35±0,5°C	Positiv für <i>E. coli</i>



- Die Anwesenheit von Fluoreszenz wird mit einer UV-Lampe von 6 Watt bei einer Wellenlänge von 365 nm im Dunkeln in einem Höchstabstand von 12 cm von der Probe geprüft. Dabei muß das UV-Licht von den Augen des Anwenders weg- und zur Probe gerichtet sein.
- Colilert-18-Ergebnisse sollten nach einer Inkubationszeit von 18 Stunden abgelesen werden.
- Wenn die Ergebnisse jedoch nach der ersten Ablesung nicht eindeutig sind, nochmals bis zu vier Stunden (insgesamt jedoch nicht länger als 18 Stunden) inkubieren, um die Intensivierung der Farbe und/oder Fluoreszenz zu ermöglichen.
- Positive Ergebnisse vor Ablauf von 18 Stunden und negative Ergebnisse nach Ablauf von 22 Stunden sind auch gültig.
- Darüber hinaus können Labors die Proben aus praktischen Gründen auch länger (insgesamt bis zu 22 Stunden) inkubieren.

Verfahrenshinweise

- Beim Hinzugeben von Colilert-18 zur Probe kann eine leichte Färbung beobachtet werden.
- Wenn die Verwendung des Quanti-Tray durch übermäßige Schaumentwicklung erschwert wird, kann die IDEXX Antifoam Solution (Antischaum-Lösung; Best.-Nr. WAFDB) oder IDEXX 120 ml Gefäße mit Antifoam (Best.-Nr. WV120SBAF-200) verwendet werden.
- Diese Packungsbeilage entspricht unter Umständen nicht Ihren örtlichen Bestimmungen. Bei Konformitätsprüfungen unbedingt die entsprechenden aufsichtsbehördlichen Verfahren anwenden. In anderen Ländern werden zum Beispiel zu untersuchende Proben 18–22 Stunden bei 36±2°C inkubiert.
- Das Colilert-18 Verfahren kann in jedem Multiple-Tube-Format durchgeführt werden. Zur Ermittlung der MPNs (wahrscheinlichste Zahlen) sollten MPN-Tabellen für Standardverfahren² zur Untersuchung von Wasser und Abwasser verwendet werden.
- Wenn eine Wasserprobe etwas Hintergrundfarbe aufweist, ist die inokulierte Colilert-18 Probe mit einer Kontrollprobe derselben Wasserprobe zu vergleichen.
- Colilert-18 kann zum Nachweis von *E. coli* (aber nicht für Coliforme) in Meerwasser verwendet werden. Die Proben müssen mindestens 10fach verdünnt werden. Multiplizieren Sie den ermittelten MPN Wert mit dem Verdünnungsfaktor um das quantitative Ergebnis zu erhalten.
- Nur steriles, nicht gepuffertes, keine Oxidantien enthaltendes Wasser zur Verdünnung verwenden.
- Colilert-18 ist ein primärer Wassertest. Die Leistungsmerkmale von Colilert-18 gelten nicht für Proben, die durch Voranreicherung oder Konzentration modifiziert wurden.
- In Proben mit übermäßigem Chlorgehalt wird bei der Zugabe von Colilert-18 u.U. ein blaues Aufleuchten beobachtet. In diesem Fall ist die Probe als ungültig zu betrachten und der Test abzubrechen.
- Bei der Verwendung von Colilert-18 ist ein aseptisches Vorgehen vorgeschrieben. Entsorgung gemäß Standard-Laborpraktiken.

Qualitätskontrollverfahren—Coliforme und *E. coli*

- Eines der folgenden Qualitätskontrollverfahren wird für jede Colilert-18-Charge empfohlen:
 - IDEXX-QC Coliform und *E. coli*:¹ *Escherichia coli*, *Klebsiella varicola*⁴ und *Pseudomonas aeruginosa*.
 - Quant-Cult[®]* *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa*.
- Drei sterile Gefäße mit 100 ml sterilem, ungepuffertem, oxidationsfreiem Wasser füllen und mit einer sterilen Öse ATCC™-5-Stämme, *Escherichia coli* ATCC 25922/WDCM 00013 oder ATCC 11775/WDCM 00090, *Klebsiella varicola*⁴ ATCC 31488/WDCM 00206 oder *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/WDCM 00175, und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/WDCM 00024 oder ATCC 27853 inokulieren. Diese Stämme sind nicht über IDEXX erhältlich; sie müssen von ATCC gekauft werden.
- Das oben beschriebene P/A-Verfahren oder das Quanti-Tray-Auszählverfahren befolgen.
- 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.

Qualitätskontrollverfahren—Fäkalcoliforme

- Eines der folgenden Qualitätskontrollverfahren wird für jede Colilert-18-Charge empfohlen:
 - IDEXX-QC Fecal Coliform¹: *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*.
 - Quant-Cult *Escherichia coli* (Fäkalcoliform), *Klebsiella pneumoniae* (Fäkalcoliform) und *Pseudomonas aeruginosa* (nicht fäkal).
 - Zwei sterile Gefäße mit 100 ml sterillem, ungepuffertem, oxidationsfreiem Wasser füllen und mit einer sterilen Öse ATCC-Stämme, *Escherichia coli* ATCC 11775 (Fäkalcoliform) und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 oder 27853 (nicht fäkal) inokulieren.
- Das oben geschilderte Quanti-Tray Auszählverfahren befolgen.
- Die Ergebnisse müssen mit der Auswertungstabelle oben übereinstimmen.

1. Comparateur P/A IDEXX, Art. Nr. WP104; Comparateur Quanti-Tray Nr. WQTC oder Quanti-Tray/2000 Comparateur Nr. WQ2K2C
 2. Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Standardverfahren für die Wasser- und Abwasseruntersuchung)*. American Public Health Association, 2005. Washington, DC, USA.
 3. IDEXX-QC Coliform und *E. coli*, IDEXX Bestellnr. UN3373-WQC-TCEC
 4. Quant-Cult Kulturen—IDEXX Best.-Nr. WKTF-1001
 5. ATCC ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org
 6. IDEXX-QC Fecal Coliform—IDEXX Bestellnr. UN3373-WQC-FC
 7. Falls das Colilert-18/Quanti-Tray Verfahren entsprechend der AFNOR Validierung für Trink- oder Badegewässer durchgeführt wird, das verschlossene Tray für 18 Stunden bei 36±f-2°C inkubieren. (Vorwärmen auf 36°C ist nicht erforderlich).
 8. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488 / WDCM 00206) wurde *Klebsiella varicola* umbenannt
 *Colilert, Defined Substrate Technology, DST 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. Quant-Cult ist ein Schutzmarken oder eine eingetragene Schutzmarken von Remel Inc.
 © 2021 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten. • Patentinformation: idexx.com/patents.

Introducción

Colilert* -18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) detecta de manera simultánea los coliformes totales y *E. coli* o coliformes fecales en el agua. Se basa en la Defined Substrate Technology* (Tecnología de sustrato definido [DST*]), propiedad exclusiva de IDEXX. Cuando los coliformes totales o los coliformes fecales metabolizan el indicador de nutrientes de Colilert-18, la muestra se vuelve de color amarillo. Cuando *E. coli* metaboliza el indicador MUG de nutrientes de Colilert-18, la muestra además fluoresce. Colilert-18 puede detectar simultáneamente estas bacterias a una concentración de 1 ufc/100 ml dentro de las 18 horas, hasta en presencia de 2 millones de bacterias heterotróficas por cada 100 ml.

Almacenamiento

Almacenar a temperatura de 2–25°C, alejado de la luz.

Procedimiento de presencia/ausencia (P/A)

1. Añadir el contenido de un paquete a una muestra de 100 ml, en un recipiente estéril transparente, no fluorescente.
2. Tapar y agitar el recipiente.
3. Si la muestra no está ya a temperatura de 33–38°C, colocar el recipiente en un baño baño termostático a 35°C durante 20 minutos o, como alternativa, en un baño baño termostático a 44,5°C entre 7 a 10 minutos.
4. Incubar a 35±0,5°C durante el resto de las 18 horas.
5. Leer los resultados de acuerdo con el cuadro de interpretación de resultados, más abajo.



Procedimiento de enumeración Quanti-Tray*

1. Añadir el contenido de un paquete a una muestra de 100 ml de agua a temperatura ambiente, en un recipiente estéril.
2. Tapar y agitar el recipiente hasta disolver.
3. Verter la mezcla de muestra/reactivo en una Quanti-Tray* o una Quanti-Tray*/2000 y sellar en un IDEXX Quanti-Tray* Sealer.
4. Colocar la bandeja sellada en una estufa de incubación a 35±0,5°C* (o a 44,5±0,2°C para los coliformes fecales) durante 18 horas (no se necesita precalentar a 35°C). Si se incuba en un baño termostático, sumergir la Quanti-Tray con la ayuda de un anillo pesado, hasta situarla por debajo del nivel del agua.
5. Leer los resultados de acuerdo con el cuadro de interpretación de resultados, más abajo. Contar el número de pocillos positivos y referirse al cuadro NMP proporcionado con las bandejas para obtener el número más probable.



Interpretación de resultados

Aspecto	Resultado
Menos amarillo que el comparador ¹ cuando se incuba a 35±0,5°C o a 44,5±0,2°C	Negativo para coliformes totales y <i>E. coli</i> ; negativo para coliformes fecales
Amarillo igual o mayor que el del comparador ¹ cuando se incuba a 35±0,5°C	Positivo para coliformes totales
Amarillo igual o mayor que el del comparador ¹ cuando se incuba a 44,5±0,2°C	Positivo para coliformes fecales
Amarillo y fluorescencia iguales o mayores que los del comparador ¹ cuando se incuba a 35±0,5°C	Positivo para <i>E. coli</i>



- Buscar fluorescencia usando una luz UV de 6 vatios, 365 nm a distancia de unos 13 cm de la muestra en un ambiente oscuro. Apuntar el haz de luz en dirección contraria a los ojos y hacia la muestra.
- Los resultados de Colilert-18 se deben leer a las 18 horas de incubación.
- Es posible prolongar el tiempo de lectura 4 horas mas, hasta las 22 horas, para que en raro pero posible caso de duda el color o la fluorescencia se intensifiquen.
- Los resultados positivos observados antes de 18 horas y los negativos observados después de 22 horas también son válidos.
- Asimismo, los laboratorios pueden incubar muestras (hasta 22 horas en total) si lo desean, para mayor comodidad.

Notas sobre el procedimiento

- Cuando se agrega Colilert-18 a la muestra es posible que se observe una tinción leve.
- Si el exceso de espuma causa problemas mientras se usa Quanti-Tray, se puede decidir utilizar solución antiespumante IDEXX (Nº de catálogo WAFDB) o recipientes de 120 ml IDEXX con antiespumante (Nº de catálogo WV120SBAF-200).
- Es posible que este prospecto no refleje sus regulaciones locales. Para las pruebas de conformidad, asegúrese de seguir los procedimientos reglamentarios apropiados. Por ejemplo, las pruebas realizadas en otros países deben incubarse a 36±2°C durante 18 a 22 horas.
- Colilert-18 puede procesarse en cualquier formato de múltiples tubos. Deben usarse los Métodos estándares² para examen del agua y las tablas NMP de aguas residuales para encontrar.
- Si la muestra de agua tiene un cierto color de fondo, comparar la muestra inoculada de Colilert-18 con un blanco testigo de la misma muestra de agua.
- Colilert-18 puede usarse para la recuento de *E. coli* (pero no para coliformes) en aguas marinas. Las muestras deben diluirse al menos diez veces. Multiplicar el valor NMP por el factor de dilución para obtener el resultado cuantitativo apropiado.
- Usar solamente agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Colilert-18 es una prueba principalmente para agua. Las características de rendimiento de Colilert-18 no se aplican a muestras alteradas por enriquecimiento o concentración previos.
- En el caso de muestras con un exceso de cloro, tal vez se observe un destello azul al añadir Colilert-18. Si se observa, considerar que la muestra no es válida y suspender la prueba.
- Siempre debe utilizarse una técnica aseptica cuando se use Colilert-18. Desechar en cumplimiento con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

Procedimientos para el Control de Calidad—Coliformes Totales y *E. coli*

1. Se recomienda uno de los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de Colilert-18:
 - A. IDEXX-QC Coliform and *E. coli*³: *Escherichia coli*, *Klebsiella variicola*⁴ y *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult[®] *E. coli* (coliforme fecal), *Klebsiella pneumoniae* (coliforme fecal) y *Pseudomonas aeruginosa* (no fecal)
 - C. Llene tres recipientes estériles con 100 ml de agua estéril, libre de oxidantes, no tamponada e inocule con un asa estéril de cepas ATCC^{5,6}, *Escherichia coli* ATCC 25922/WDCM 00013 o ATCC 11775/WDCM 00090, *Klebsiella variicola*⁴ ATCC 31488/WDCM 00206 lub *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/ WDCM 00175, y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 o ATCC 27853. Estas cepas no están disponibles en IDEXX y deben adquirirse en ATCC.
 2. Seguir el procedimiento P/A o el procedimiento de enumeración Quanti-Tray mencionado anteriormente.
 3. Los resultados deben corresponder a los del Cuadro de Interpretación de resultados, 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.

Procedimientos de control de calidad: Coliforme fecal

1. Se recomienda uno de los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de Colilert-18:
 - A. IDEXX-QC de coliforme fecal⁶: *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult de *Escherichia coli* (coliforme fecal), *Klebsiella pneumoniae* (coliforme fecal) y *Pseudomonas aeruginosa* (no fecal).
 - C. Llenar dos recipientes estériles con 100 ml de agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes para inocular con un asa estéril de cepas ATCC, *Escherichia coli* ATCC 11775 (coliforme fecal) y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 o 27853 (no fecal).
2. Seguir el procedimiento de enumeración Quanti-Tray mencionado anteriormente.
3. Los resultados deben corresponder a los del cuadro de interpretación de resultados, más arriba.

1. Comparateur P/A IDEXX, réf. n° WP104; Comparateur Quanti-Tray n° WQTC ou Quanti-Tray/2000 Comparateur n° WQ2TKC
 2. Eaton, AD, Diessner, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater (Métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales)*. American Public Health Association; 2005. Washington, DC.
 3. IDEXX-QC de coliformes y *E. coli*. N.º de catálogo de IDEXX: UN3373-WQC-TCEC
 4. Cultivos Quanti-Cult—Nº de catálogo IDEXX WKIT-1001
 5. ATCC es una marca comercial registrada propiedad de American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org
 6. IDEXX-QC de coliforme fecal. N.º de catálogo de IDEXX: UN3373-WQC-FC
 †. Cuando se siga el método AFNOR para agua destinada al consumo humano o aguas de baño, marinas o recreativas, coloque la bandeja sellada en una estufa a 36+/-2 durante 18 horas (no es necesario un precalentamiento a 36°C).
 ‡. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488 / 00206 WDCM) se ha renombrado como *Klebsiella variicola*
 *Colilert, Defined Substrate Technology, DST y Quanti-Tray son marcas o marcas registradas de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en los Estados Unidos de América y/o en otros países.
 Quanti-Cult es una marca o una marca registrada de Remel Inc.
 © 2021 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados. • Información sobre la patente: idexx.com/patents.

Wprowadzenie

Test Colilert*-18 (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) wykrywa jednocześnie bakterie grupy coli i *E.coli* oraz bakterie grupy coli typu fekalnego w wodzie. Oparty jest na opatentowanej przez firmę IDEXX technologii wskaźnikowych substratów odżywczych DST (Defined Substrate Technology). Bakterie grupy coli, w tym należące do tej grupy bakterie typu fekalnego, metabolizują zawarty w teście Colilert-18 wskaźnikowy substrat odżywczy ONPG, przez co próbka zmienia zabarwienie na żółte. Gdy zawarty w teście Colilert-18 wskaźnikowy substrat odżywczy MUG metabolizowany jest przez bakterie *E.coli*, dochodzi do fluorescencji próbki. Test Colilert*-18 umożliwia jednocześnie wykrywanie tych bakterii w liczbie już od 1 jtk/100 ml w ciągu 18 godzin, nawet w obecności 2 milionów bakterii heterotroficznych w 100ml.

Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2–25°C, z dala od światła.

Procedura oznaczania jakościowego (obecne / nieobecne)

1. Wypać zawartość jednego opakowania do próbki o objętości 100 ml znajdującej się w sterylnym przezroczystym i niefluorescencyjnym naczynku.
2. Zamknąć naczynko i nim wstrząsnąć.
3. Jeśli próbka nie osiągnęła jeszcze temperatury 33–38°C, umieścić naczynko w łaźni wodnej o temperaturze 35°C na 20 minut lub w łaźni wodnej o temperaturze 44,5°C na 7–10 minut.
4. Inkubować w temperaturze 35±0,5°C przez czas pozostały do 18 godzin.
5. Odczytać wyniki zgodnie z zamieszczoną poniżej tabelą interpretacji wyników.



Procedura oznaczania ilościowego z użyciem tacki Quanti-Tray*

1. Wypać zawartość jednego opakowania do próbki wody o objętości 100 ml o temperaturze pokojowej znajdującej się w sterylnym naczynku.
2. Zamknąć naczynko i nim wstrząsnąć do momentu rozpuszczenia zawartości.
3. Wlać mieszaninę próbki i odczynnika do tacki Quanti-Tray* lub Quanti-Tray*/2000 i zakleić tackę w zgrzewce IDEXX Quanti-Tray*.
4. Włożyć zaklejoną tackę do inkubatora o temperaturze 35±0,5°C¹ (lub 44,5±0,2°C w przypadku bakterii grupy coli typu fekalnego) na 18 godzin (wstępne nagrzanie do temperatury 35°C nie jest wymagane). W przypadku inkubacji w łaźni wodnej zanurzyć tackę Quanti-Tray* w wodzie przy pomocy obciążonej obrączki.
5. Odczytać wyniki zgodnie z zamieszczoną poniżej tabelą interpretacji wyników. Zliczyć dołki dodatnie i odnieść się do tabeli NPL dostarczanej wraz z tackami, aby określić Najbardziej Prawdopodobną Liczbę (NPL).



Interpretacja wyników

Wygląd	Wynik
Zabarwienie na żółto mniej intensywne niż wzorzec ¹ przy inkubacji w temperaturze 35±0,5°C lub 44,5±0,2°C	Ujemny dla bakterii grupy coli i dla <i>E.coli</i> ; Ujemny dla bakterii grupy coli typu fekalnego
Zabarwienie na żółto takie samo lub intensywniejsze niż wzorzec przy inkubacji w temperaturze 35±0,5°C	Dodatni dla bakterii grupy coli
Zabarwienie na żółto takie samo lub intensywniejsze niż wzorzec przy inkubacji w temperaturze 44,5±0,2°C	Dodatni dla bakterii grupy coli typu fekalnego
Zabarwienie na żółto i fluorescencja takie same lub intensywniejsze niż wzorzec przy inkubacji w temperaturze 35±0,5°C	Dodatni dla bakterii <i>E.coli</i>

- Fluorescencję obserwować w świetle UV o długości fali 365 nm, 6W, w odległości ok. 13 cm od próbki w ciemnym otoczeniu. Światła nie kierować w stronę oczu, lecz ku próbce.
- Wyniki testu Colilert*-18 można odczytać po 18 godzinach inkubacji.
- Jeśli jednak analityk uzna wyniki po pierwszym odczycie za niejednoznaczne, próbkę należy inkubować przez maks. 4 dodatkowe godziny (nie przekraczając łącznie 22 godzin), aby mogło dojść do intensyfikacji zabarwienia i/lub fluorescencji.
- Wyniki dodatnie zaobserwowane przed upływem 18 godzin oraz ujemne zaobserwowane po 22 godzinach również są ważne.
- Dla własnej wygody laboratorium mogą też inkubować próbki przez dodatkowy czas (maks. do 22 godzin).

Uwagi dot. oznaczania

- Nieznaczny odcień można zaobserwować po dodaniu testu Colilert*-18 do próbki.
- Jeśli nadmiar piany stwarza problemy przy użyciu tacki Quanti-Tray*, można użyć środka przeciwdziałającego pienieniu IDEXX Antifoam Solution (Nr kat. WAFDB) lub naczynek IDEXX o poj. 120 ml ze środkiem przeciwdziałającym pienieniu (Nr kat. WV120SBAF-200).
- Niniejsza ulotka może nie odzwierciedlać przepisów lokalnych. W celu przeprowadzenia testów zgodności należy przestrzegać odpowiednich procedur regulacyjnych. Dla przykładu: próbki oznaczane w innych krajach powinny być inkubowane w temperaturze 36±2 °C przez 18-22 godzin.
- Test Colilert*-18 można wykonać w próbkach różnego rodzaju. W celu określenia Najbardziej Prawdopodobnej Liczby (NPL) należy użyć tabeli NPL.
- Jeśli próbka wody ma jakiś kolor tła, porównać próbkę inokulowaną testem Colilert-18 z próbą ślepa tej samej próbki wody.
- Testu Colilert*-18 można użyć do wykrywania bakterii *E.coli* (ale nie bakterii grupy coli) w wodzie morskiej. Próbki należy rozcieńczyć co najmniej dziesięciokrotnie. Aby uzyskać właściwy wynik ilościowy, wartość NPL należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.
- Do rozcieńczania używać tylko wody sterylnej, niebuforowanej i bez utleniaczy.
- Colilert*-18 to test do badania wody pierwotnej. Nie służy do badania próbek zmienionych przez wstępne wzbogacenie lub modyfikację stężenia.
- Przy dodawaniu testu Colilert-18 do próbek zawierających nadmierną ilość chloru można zaobserwować niebieski błysk. Jeśli tak się zdarzy, próbkę należy uznać za nieważną i przerwać oznaczanie.
- Używając test Colilert*-18, należy zawsze stosować technikę aseptyczną. Próbek należy pozbywać się zgodnie z Dobrymi Praktykami Laboratoryjnymi.

Procedury kontroli jakości – bakterie grupy coli i *E.coli*

1. Dla każdej serii testu Colilert*-18 zaleca się jedną z poniższych procedur kontroli jakości:
 - A. IDEXX-QC Coliform and *E. coli* ²: *Escherichia coli*, *Klebsiella varicola* ³ i *Pseudomonas aeruginosa*
 - B. Quanti-Cult⁴ ⁵ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*.
 - C. Napelnic 3 sterylne naczynka 100 ml sterylnej, niebuforowanej wody bez utleniaczy i zaszczepić je eszą inokulacyjną ze szczepami ATCC^{6, 5}, *Escherichia coli* ATCC 25922/WDCM 00013 lub ATCC 11775/WDCM 00090, *Klebsiella varicola* ATCC 31488/WDCM 00206 lub *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048/WDCM 00175, i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/WDCM 00024 lub ATCC 27853. IDEXX nie prowadzi sprzedaży tych szczepów i należy je kupować od ATCC.
2. Wykonać oznaczanie jakościowe lub ilościowe z użyciem tacki Quanti-Tray*, opisane powyżej. IDEXX nie prowadzi sprzedaży tych szczepów i należy je kupować od ATCC.
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.

Procedury kontroli jakości – bakterie grupy coli typu fekalnego

1. Dla każdej serii testu Colilert*-18 zaleca się jedną z następujących procedur kontroli jakości:
 - A. IDEXX-QC Fecal Coliform⁶: *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult⁴ ⁵ *Escherichia coli* (bakteria grupy coli typu fekalnego), *Klebsiella pneumoniae* (bakteria grupy coli typu fekalnego) i *Pseudomonas aeruginosa* (bakteria typu innego niż kałowy).
 - C. Napelnic 2 sterylne naczynka 100 ml sterylnej, niebuforowanej wody bez utleniaczy i zaszczepić je eszą inokulacyjną ze szczepami ATCC⁶, *Escherichia coli* ATCC 11775 (bakterie grupy coli typu fekalnego) i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 lub 27853 (bakterie grupy coli typu innego niż fekalny).
2. Wykonać procedurę oznaczania ilościowego z użyciem tacki Quanti-Tray*, opisaną powyżej.
3. Wyniki powinny być zgodne z podanymi w tabeli interpretacji wyników zamieszczonej powyżej.

1. IDEXX P/A Comparator, nr kat. WP104; Quanti-Tray Comparator nr kat. WQTC lub Quanti-Tray@/2000 Comparator nr kat. WQ2KC
 2. Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [Standardowe metody badania wody i ścieków]. American Public Health Association, 2005. Washington, DC.
 3. IDEXX-QC Coliform and *E.coli*, IDEXX Nr kat. UN3373-WQC-TCEC
 4. Quanti-Cult⁴ cultures — IDEXX nr kat. WKIT-1001
 5. ATCC jest zarejestrowanym znakiem towarowym American Type Culture Collection. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org
 6. IDEXX-QC Fecal Coliform — IDEXX nr kat. UN3373-WQC-FC
 7. Przy stosowaniu metody zatwierdzonej przez AFNOR do badania wody przeznaczonej do spożycia lub wody w kąpieliskach włożyć zaklejoną tackę do inkubatora o temperaturze 36±2°C na 18 godzin (wstępne nagrzanie do temperatury 36°C nie jest wymagane).
 8. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488/WDCM 00206) zmieniła nazwę na *Klebsiella varicola*.

*Colilert, technologia wskaźnikowych substratów odżywczych DST (Defined Substrate Technology) i Quanti-Tray są znakami towarowymi lub zarejestrowanymi znakami towarowymi spółki IDEXX Laboratories, Inc. lub jej oddziałów w Stanach Zjednoczonych i/lub w innych krajach. Quanti-Cult jest znakiem towarowym lub zarejestrowanym znakiem towarowym spółki Remel Inc.

はじめに

Colilert-18[®] (98-08876-00, 98-27164-00, 98-08877-00) は IDEXX が知的財産権を持つ Defined Substrate Technology[®] (DST[®]) (特定酵素基質法) を用いて、水中の大腸菌群と大腸菌を同時に、又は糞便性大腸菌群のみを検出します。大腸菌群または糞便性大腸菌群が、コリラート18に含まれる栄養指標の ONPG を代謝することにより、検水は黄色に変色します。さらに、大腸菌がもう一つの栄養指標であるMUGを代謝すると、検水は蛍光を呈します。コリラート18は、100mL当たり最大200万個の従属栄養細菌の存在下においても、18時間以内に1cfu/100mLの感度で対象細菌を検出することができます。

保管

直射日光を避け、2~25°Cで保管してください。

定性検査手順

1. スナップバック1つの中身を、滅菌済みの透明な蛍光を発しない容器に入った100mLの検水に加えてください。
2. 容器の蓋を締め、振ってください。
3. 検水がこの時点で33~38°C でない場合、35°Cの恒温槽に20分、または44.5°Cの恒温槽に7~10分間置いてください。
4. 36±1°Cで、18時間培養してください。
5. 以下の結果判定表に従って、結果判定してください。

**Quanti-Tray[®] 定量検査手順**

1. スナップバック1つの中身を、滅菌済み容器水に入った室温の検水100mLに加えてください。
2. 容器の蓋を締め溶けるまで静かに振ってください。
3. Quanti-Tray/2000 に検水/コリラート18混合液を注ぎ、シーラーで密封してください。
4. 密封されたトレイを36±1°C (糞便性大腸菌群の場合は44.5±0.2°C) で18時間培養してください (前もって35°Cにする必要はありません)。
5. 以下の結果判定表に従って、結果を判定してください。陽性ウェルの数を数え、専用MPN表を参照して、最確数を求めてください。

**結果判定**

培養液の状態	結果
36°Cまたは44.5±0.2°Cで培養した場合、比色管より薄い黄色	大腸菌群と大腸菌共に陰性
36°Cで培養した場合、比色管と同等かそれより濃い黄色	大腸菌群陽性
44.5±0.2°Cで培養した場合、比色管と同等かそれより濃い黄色	糞便性大腸菌群陽性
36°Cで培養した場合、比色管と同等かそれより濃い黄色および蛍光	大腸菌陽性



- 暗所で6W・365nmのUVランプから13cm以内に検水置き、判定してください。光は目に向けないようにし、検水に向けてください。
- コリラート18の結果は培養開始から18時間後に判定してください。
- 但し、初回の判定において結果があいまいな場合には、さらに最長4時間(総時間数が22時間を超えないように)培養し、再判定を行ってください。
- 結果判定は18~22時間でいきますが、18時間以前に陽性、または22時間以降に陰性が確認できた場合、それらの結果は有効として差し支えありません。
- また、検査の便宜上、検水の培養時間を延長(総培養時間22時間まで)することも可能です。

操作上の注意

- コリラート18を検水に加えた時、かすかな色が見られる場合があります。
- トレイを使用中に、泡が問題になる場合は、IDEXX 消泡液(カタログ# WAFDB)、または消泡剤入りのIDEXX 100mL容器(カタログ# WW120SBAF-200)の使用をお勧めします。
- 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。例えば、他の国で検査を行う際は、36±2°Cで18~22時間培養する必要があります。
- コリラート18は、5本法などの最確数法でも実施できます。最確数表を使用して最確数(MPN)を求めてください。
- 検水に何らかの着色がある場合、同じ検水を用いたブランクと比較してください。²
- コリラート18は、海水中の大腸菌に使用可能です(大腸菌群を除く)。検水を10倍以上希釈してください。MPN値に希釈倍数を掛けて、適切な定量結果を求めてください。
- 希釈には、緩衝液や酸化物質の入っていない、滅菌された水だけを使用してください。
- コリラート18は、水の一次検査です。コリラート18の性能特性として、増菌培地で培養または濃縮によって変質した検水に使用できません。
- 塩素を過剰に含む検水では、コリラート18を加えると、青色を呈することがあります。この場合、検査は無効ですので検査を中止してください。
- コリラート18を使用する際は、常に無菌操作を行ってください。結果判定後の検水と容器はGLPに従って、廃棄してください。

品質管理手順 - 大腸菌群および大腸菌

1. コリラート18を使用する場合、ロット毎に次の品質管理手順のいずれかを行うことをお勧めします。:
 - A. IDEXX-QC大腸菌群および大腸菌³: *Escherichia coli* (大腸菌)、*Klebsiella variicola*⁴、*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)
 - B. Quanti-Cult[™]: *Escherichia coli* (大腸菌)、*Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌)、*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)
 - C. 滅菌済み容器3本に、緩衝剤や酸化剤の入っていない滅菌水を100 mLずつ入れます。*Escherichia coli* (ATCC 25922/WDCM 00013または ATCC 11775/WDCM 00090)、*Klebsiella variicola*⁴ (ATCC 31488/WDCM 00206) または *Klebsiella aerogenes* (ATCC 13048/WDCM 00175)、そして *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145/ WDCM 00024 または ATCC[™]: 27853) の菌株を、1容器につき1菌株、滅菌ループを用いて接種してください。
2. 上記の定性検査手順、またはQuanti-Tray[®]定量検査手順に従ってください。これらの菌株は、IDEXXからは入手できず、ATCCから購入する必要があります。
3. 結果が上記の結果判定表と一致することを確認してください。

注: IDEXXの社内品質管理検査は、ISO 11133:2014に準拠して行われます。成績証明証(品質管理認証)は idexx.co.jp/water/にて利用可能です。

品質管理手順 - 糞便性大腸菌

1. コリラート18を使用する場合、ロット毎に次の品質管理手順のいずれかを行うことをお勧めします。:
 - A. IDEXX-QC糞便性大腸菌群⁵: *Escherichia coli* (大腸菌) および *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)。
 - B. Quanti-Cult[™]: 大腸菌(糞便性大腸菌)、*Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌) (糞便性大腸菌)、*Pseudomonas aeruginosa* (非糞便性)
 - C. 滅菌容器2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、大腸菌ATCC 11775 (糞便性大腸菌)、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145または27853 (非糞便性)のATCC菌株を、滅菌ループを用いて接種してください。
2. 上記のQuanti-Tray[®]定量検査手順に従ってください。
3. 結果が上の結果判定表と一致することを確認してください。

1. IDEXX P/A用 比色管 カタログ番号 WP104、Quanti-Tray用比色トレイ カタログ番号 WOT2KC

2. Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, 2005. Washington, DC.

3. IDEXX-QC大腸菌群および大腸菌 - IDEXX カタログ番号 UN3373-WDC-TCEC

4. Quanti-Cult[™] - IDEXX カタログ # WW1-1001

5. ATCCは、American Type Culture Collectionが所有している登録商標です。American Type Culture Collection 1-800-638-6697 atcc.org

6. IDEXXの糞便性大腸菌群 - IDEXX カタログ番号 UN3373-WDC-FC

7. AFNORが認証した飲料水用には浴槽水の検査に従う際には、密封されたQuanti-Trayを36±2°Cの恒温槽に18時間静置して下さい。(前もって36°Cに予熱する必要はありません。)

8. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488/WDCM 00206) は *Klebsiella variicola*⁴ と菌株名の変更が行われました。

9. ColiCert Defined Substrate Technology, DST, および Quanti-Trayは、米国および他国のIDEXX Laboratories, Inc.またはその関連会社の、商標または登録商標です。

Quanti-Cult Remel Inc.の商標です。

© 2021 IDEXX Laboratories, Inc. 全著作権所有 • Patent information: idexx.com/patents.