

ISO 16266: 2006

Θρεπτικά υλικά έτοιμα προς χρήση

Ποιοτικός έλεγχος νερού
Ανίχνευση και καταμέτρηση της *Pseudomonas aeruginosa*

Μέθοδος διήθησης του νερού με φίλτρο.

Κατάλογος θρεπτικών υλικών BioPrepare κατά ISO 16266: 2006

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΧΡ. ΖΩΗΣ (Ημέρες)	ΦΥΛΑΞΗ
PSEUDOMONAS CN AGAR (UNE-EN 12780, EN ISO 16266) Για την απομόνωση και ταυτοποίηση της <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	050429	10 x 60mm	90	6 – 12 °C
Oxidase Test Strip	MID-61G	1x50 Strips	1,5 χρόνο	2 – 8 °C
NUTRIENT AGAR (ISO 16266) Για την επιβεβαίωση της <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	010557	10 x 90mm	150	6 – 12 °C
PSEUDOMONAS F AGAR (KING B) (USP) Για τη διαφοροποίηση της <i>Pseudomonas spp</i> (παραγωγή fluorescein).	010538	10 x 90mm	150	6 – 12 °C
ACETAMIDE BROTH (ISO 16266 UNE-EN 12780) Επιβεβαίωση <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	070561	40 x 10ml	180	6 – 12 °C
NESSLER REAGENT	370707	2 x 1ml	365	8 – 25 °C

ISO 16266: 2006

Θρεπτικά υλικά έτοιμα προς χρήση

Πεδίο εφαρμογής

Το ISO 16266 καθορίζει μια μέθοδο για την απομόνωση και καταμέτρηση της *Pseudomonas aeruginosa* σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού με μια τεχνική διήθησης μεμβράνης.

Αυτή η μέθοδος μπορεί επίσης να εφαρμοστεί και σε άλλους τύπους νερού με χαμηλή χλωρίδα, για παράδειγμα, τα νερά της πισίνας και νερά που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Καλλιέργεια – απομόνωση – καταμέτρηση

Θρεπτικά υλικά

PSEUDOMONAS CN AGAR

Τρυβλίο 60mm, Κωδικός: 050429.

Διαδικασία

Φιλτράρετε 100ml νερού χρησιμοποιώντας ένα φίλτρο μεμβράνης κυτταρίνης διαμέτρου 47-50mm και διάμετρο πόρων 0,45μm.

Μετά τη διήθηση τοποθετήστε τη μεμβράνη στην επιφάνεια του CN Agar εξασφαλίζοντας ότι δεν θα εγκλωβιστεί αέρας κάτω από το φίλτρο. Αναποδογυρίστε το CN Agar και επωάστε στους $36 \pm 2^\circ\text{C}$ για 44 ± 4 ώρες.

Εξετάστε το τρυβλίο για ανάπτυξη μετά από 22 ± 2 ώρες και 44 ± 4 ώρες.

Μετρήστε όλες τις αποικίες που παράγουν μπλε – πράσινο χρώμα (παραγωγή πυοκυανίνης). Εξετάστε τη μεμβράνη κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία (UV) και μετρήστε τις αποικίες που φθορίζουν.

Επιβεβαιώστε της πιθανές αποικίες *Pseudomonas aeruginosa*.

Μετρήστε της αποικίες *Pseudomonas aeruginosa* που επιβεβαιώθηκαν οι οποίες παράγουν πυοκυανίνη (CN Agar), είναι οξειδάση (+) (OXIDASE TEST), φθορίζουν κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία (KING B) και παράγουν αμμωνία από το ακεταμίδιο (ACETAMIDE BROTH).



ISO 16266: 2006

Θρεπτικά υλικά έτοιμα προς χρήση

Επιβεβαίωση 1

Θρεπτικά υλικά **NUTRIENT AGAR**

Τρυβλίο 90mm, Κωδικός: 010557.

Διαδικασία

Επιλέξτε τις πιθανές *P. aeruginosa* αποικίες από το τρυβλίο CN Agar.
Κάντε επίστρωση κάθε μίας από τις αποικίες με διαδοχικές αραιώσεις σε διαφορετικά τρυβλία N.A.

Επωάστε τα τρυβλία στους 36 ± 2 °C για 22 ± 2 ώρες.



Επιβεβαίωση 2

OXIDASE TEST STRIP

50 STRIPS Έτοιμα προς χρήση, Κωδικός: MID-61G.

Διαδικασία

Επιλέξτε μια καλά μεμονωμένη αποικία από κάθε ένα από τα τρυβλία N.A.
Κάντε επίστρωση της αποικίας πάνω στη ταινία οξειδάσης.
Η εμφάνιση ανοιχτού μοβ χρώματος μετά από 30" δείχνει θετική (+) αντίδραση.



Επιβεβαίωση 3

Θρεπτικά υλικά **PSEUDOMONAS F AGAR (KING B)**

Τρυβλίο 90mm, Κωδικός: 010538.

Διαδικασία

Επιλέξτε τις οξειδάση θετικές (+) αποικίες από τα τρυβλία N.A. Κάντε επίστρωση κάθε μίας από τις αποικίες στα τρυβλία KING B με διαδοχικές αραιώσεις.

Επωάστε τα τρυβλία στους 36 ± 2 °C έως 5 μέρες.

Εξετάστε τα τρυβλία κάθε 24 ώρες κάτω από UV ακτινοβολία για παρουσία φθορισμού.

Μετά από 5 μέρες σημειώστε ως θετικές (+) τις αποικίες που φθορίζουν.



ISO 16266: 2006

Θρεπτικά υλικά έτοιμα προς χρήση

Επιβεβαίωση 4

Θρεπτικά υλικά
ACETAMIDE BROTH
Σωληνάριο 10ml, Κωδικός: 070561.

Διαδικασία

Επιλέξτε τις οξειδάση θετικές (+) αποικίες από τα τρυβλία Ν.Α.
Εμβολιάστε στα σωληνάρια Acetamide Broth.

Επώαστε τα σωληνάρια στους 36 ± 2 °C για 22 ± 2 ώρες.

Μετά την επώαση προσθέστε 1 – 2 σταγόνες από το αντιδραστήριο Nessler (370707).
Εξετάστε τα σωληνάρια για την παραγωγή αμμωνίας με την αλλαγή του χρώματος από κίτρινο έως κεραμιδί ανάλογα με τη συγκέντρωση της αμμωνίας.