## TABLA DE CONTENIDO


1. OBJETIVO ..... 2
2. ALCANCE ..... 2
3. RESPONSABILIDADES ..... 2
4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS. ..... 2
5. CONDICIONES GENERALES ..... 5
6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO. ..... 5
7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS. ..... 5
8. RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LA MUESTRA. ..... 5
9. CONSERVACION DE LA MUESTRA ..... 6
10.EQUIPOS …… ……..... 6
11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA ..... 6
12. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO ..... 7
13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO. ..... 10
14. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS ..... 11
15. EMISION DEL INFORME DE RESULTADOS. ..... 12
16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS. NO APLICA ..... 12
17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA ..... 12
18. ANEXOS ..... 13
19. CONTROL DE CAMBIOS. ..... 17

## 1. OBJETIVO

Dar los lineamientos para determinar la presencia de *Pseudomona aeruginosa* en muestras de aguas envasada, mediante la utilización del kit de análisis Pseudalert basado en la técnica sustrato definido, bajo la Norma ISO 16266-2:2018

## 2. ALCANCE

Este documento se tomará como referencia única en el Laboratorio de Análisis microbiológico de alimentos del Laboratorio Departamental de Salud Pública, para realizar la determinación de *Pseudomona aeruginosa* mediante la técnica de sustrato definido Pseudalert por el método de número más probable (NMP).

## 3. RESPONSABILIDADES

**Coordinador LDSP**: aprobar el presente documento, supervisar el estricto cumplimiento de lo establecido en el mismo y avalar los resultados que de éste se generen.

**Profesional del Laboratorio Microbiológico de Alimentos, del Laboratorio Departamental deSalud Pública**: aplicar las técnicas descritas en el presente manual con estándares de calidad, oportunidad y avalar los resultados que se generen del mismo.

**Auxiliar del laboratorio de Agua del laboratorio Departamental de Salud Pública:** es responsable de cumplir con lo definido para la ejecución de actividades relacionadas con lavado de material y limpieza de áreas, con el fin de que cumplan con los requerimientos necesarios para la ejecución del ensayo.

## 4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.

**Agua envasada**: el agua envasada para consumo humano es un alimento de alto riesgo epidemiológico, y es necesario establecer las condiciones sanitarias para la obtención y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano, como medida de protección de la salud.

**Resolución 12186** (del 20 de septiembre de 1991) del Ministerio de Salud Por la cual se fijan las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada

con destino al consumo humano.

**Calidad del agua:** Es el resultado de comparar las características físicas, químicas y microbiológicas encontradas en el agua, con el contenido de las normas que regulan la materia.

**Muestras para control:** La toma de muestras del agua potable tratada envasada para control oficial debe ser practicada por la autoridad sanitaria correspondiente, en el momento que lo considere conveniente.

La toma de muestras para control oficial se debe realizar en fabrica, en transporte o en expendio

**Numero de muestras para control oficial** El número de unidades que deben tomarse para análisis fisicoquímicos \ microbiológicos para control oficial es de cinco (5) \ deben corresponder a un mismo lote, las cuales se distribuirán así: tres para análisis microbiológico individual, una para análisis fisicoquímico \ una para contra muestra

En el caso de que la presentación comercial del agua potable tratada sea un botellón, se tomara uno completo para el correspondiente análisis y uno para contra muestra.

**Contramuestra**: Muestra tomada en las mismas condiciones y en el mismo instante que se dejará en poder del interesado debidamente sellada por la autoridad sanitaria que lo realiza.

**Resolución 719** de 2015 por la cual se establece la clasificación de alimentos para consumo humano de acuerdo con el riesgo en salud pública.

**RESOLUCIÓN NÚMERO** 0719 **2015** 11 MAR 2015 **HOJA No** 6

Continuación de la resolución *"Por la cual se establece la clasificación de alimentos para consumo humano de acuerdo con el riesgo en salud pública"*

| GRUPO | | CATEGORÍA | | SUBCATEGORÍA | | RIESGO A | RIESGO M | RIESGO B |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | PRODUCTOS CUYO INGREDIENTE PRINCIPAL ES EL AGUA O DESTINADAS A SER HIDRATADAS O PREPARADAS CON LECHE U OTRA BEBIDA (SE EXCLUYEN LAS DEL GRUPO 1) | 3.1 | Agua, Hielo, helados de agua, agua saborizada, bebidas a base de agua (se excluyen aquellas cuyo contenido de alcohol es superior a 2,5 % ) | 3.1.1 | Agua potable tratada, agua de manantial, agua mineral, agua gasificada | X | | |
| | | | | 3.1.2 | Hielo y helados de agua | X | | |
| | | | | 3.1.3 | Agua saborizada y agua gasificada saborizada, sin adición de azúcar u otro edulcorante ni otros aditivos diferentes a los saborizantes | X | | |
| | | 3.2 | Bebidas cuyo componente principal es agua listas para consumir (se excluyen | 3.2.1 | Bebidas saborizadas a base de agua con gas o sin gas diferentes a las de 3.1.3 y 3.2.2; se incluyen las bebidas | X | | |

'A: Alimento de Mayor Riesgo en Salud Pública.

''M: Alimento de Riesgo Medio en Salud Pública.

'''B: Alimento de Menor Riesgo en Salud Pública.

***Pseudomona aeruginosa***: Bacilo Gram negativo perteneciente al género Pseudomona y a la familia Pseudomonadaceae. Son bacterias aerobias estrictas, móviles, productoras de pigmentos característicos como la pioverdina o la piocianina. Característicamente presentan una gran resistencia a antisépticos y a antibióticos, junto a necesidades nutricionales pequeñas, lo que las convierte en ubicuas. Se encuentran en el medio ambiente a nivel de suelos, aire, polvo y aguas, pero es sobre todo en los ambientes húmedos donde tienen mayor facilidad para proliferar. En el ser humano podemos encontrar Pseudomona aeruginosa en la flora intestinal de un 10%-15% de personas. No es habitante habitual de la piel humana, pero se puede encontrar de forma transitoria en la región ano genital, axilas y conducto auditivo externo del 2% de la población sana.

## 5. CONDICIONES GENERALES

Las condiciones de temperatura del Laboratorio: 15ºC a 25ºC
Almacenar el Kit y los dispositivos Quanti Tray/2000, a 2- $30^0$ C, protegido de la luz.
Para los análisis siga los procedimientos actualizados, la muestra de agua envasada se refrigera hasta su procesamiento.
Durante la realización del ensayo le temperatura debe estar comprendida en el intervalo [38,5ºC+/-0,5ºC] sin considerar la incertidumbre de medida ni las características del incubador. La incertidumbre no influye mientras la temperatura sea controlada.

## 6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO.

El kit de análisis Pseudalert utiliza la tecnología de enzimas bacterianas para detectar Pseudomona aeruginosa. Estos microorganismos crecen y se reproducen rápidamente usando el abundante suministro de aminoácido, vitaminas y otros nutrientes presentes en el reactivo Pseudalert, las cepas Pseudomona aeruginosa en crecimiento activo contiene una enzima que escinde el sustrato para producir florescencia azul bajo luz ultravioleta
Pseudalert detecta Pseudomona aeruginosa, en 24 horas, a una concentración de 1ufc/100 ml, hasta en presencia de 2 millones de bacterias heterotróficas por cada 100 ml.

## 7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS.

- Utilizar solamente agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Para poder realizar las comparaciones a la hora de interpretar los resultados, se puede utilizar como blanco agua estéril incubada con el reactivo Pseudalert (controlde medio).
- El kit Pseudalert no se ha validado para ser utilizado con muestras de aguaembotellada aromatizada, con agua marina o agua carbonatada.

## 8. RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LA MUESTRA.

La toma de muestras de agua para análisis microbiológico es responsabilidad de los técnicos de Salud Ambiental o persona que requiera el análisis.

Una vez recibida en el Laboratorio de salud Pública, se da un numero consecutivo, Tanto al frasco que contiene la muestra, como al Acta de toma de muestras.

## 9. CONSERVACION DE LA MUESTRA

La muestra debe ser analizada en el menor tiempo posible y debe permanecer en las mismas condiciones de temperatura en las que se recolecta

## 10. EQUIPOS

- Selladora (Quanti-Traysealer)
- Incubadora de 38 +/-0,5°Celsius.
- Lámpara de luz UV de 6 vatios.
- Cabina de seguridad biológica

## 11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA

### 11.1 Reactivos

- Reactivo Sustrato Pseudalert
- Agua estéril

### 11.2 Materiales de referencia certificados

- Cepas de referencia:
  *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, para control positivo del método.
  *E. coli* ATCC 2 5 9 2 2 , para control negativo del método.

### 11.3 Materiales

- Toallas absorbentes
- Probeta estéril
- Frasco de vidrio y/o plástico, previamente estéril
- Marcador permanente.
- Dispositivo Quanti-Tray /2000 estériles, uno por cada muestra

## 12. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

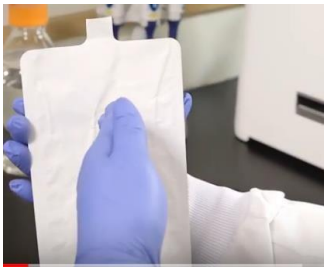
1. Las muestras deben estar a temperatura ambiente para su procesamiento, Si su recolección inicial fue de refrigeración, sacar las muestras de agua envasada, de la nevera y colocarlas en el mesón de trabajo.
2. Alistar los reactivos y materiales de uso para la realización del ensayo.
3. Relacionar las muestras a procesar en el libro de registro de datos primarios, de acuerdo con la numeración dada en la recepción a la muestra.
4. Encender la cabina de seguridad biológica, desinfectar con etanol al 70%.
5. Encender el sellador antes de iniciar el montaje de muestras de agua.
6. Identificar el frasco de vidrio y/o plástico, identificar la bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000, con el código interno, el cual ha sido asignado en la recepción de la muestra.
7. Identificar un frasco de vidrio y/o plástico, identificar una bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000, con el código interno, el cual ha sido asignado en la recepción de la muestra.

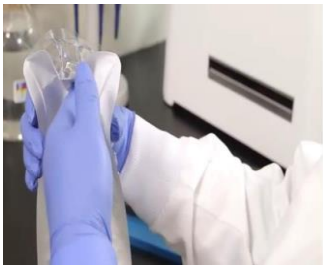
8. Medir en el frasco previamente esterilizado, 100 mL el agua envasada a procesar
9. Añadir el contenido de un vial de sustrato definido Pseudalert al frasco que contiene la muestra de agua, mezclar

10. Agregue 3 gotas de solución antiespumante al frasco que contiene la muestra de agua.

11. Agitar suavemente la mezcla en sentido de las manecillas del reloj hasta disolver.
12. Verter la mezcla de muestra y reactivo en una bandeja para recuento bacteriano Quanti-tray/2000; de la siguiente forma:

12.1 Sostenga en una mano el dispositivo Quanti-tray/2000´, en posición vertical, con el lado de las celdas orientado hacia la palma de la mano.

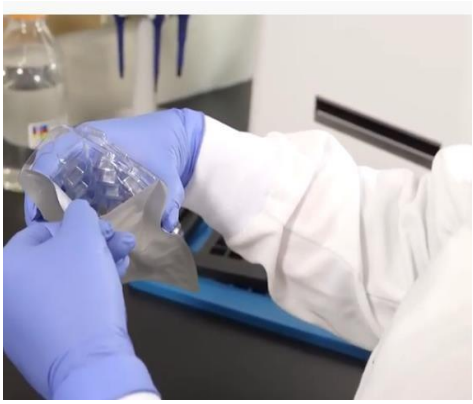




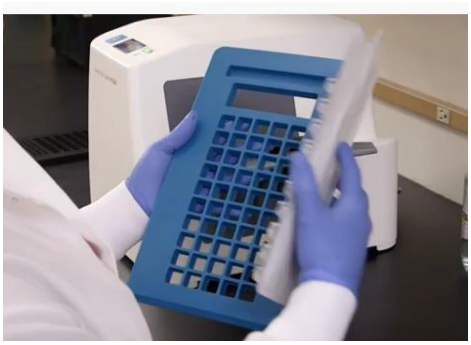
12.2 Apriete la parte superior del dispositivo Quanti-tray/2000, de tal forma se doble hacia la Mano.

12.3 Abra el dispositivo Quanti-tray/2000, tirando e la lengüeta metálica, evite tocar el interior del dispositivo.

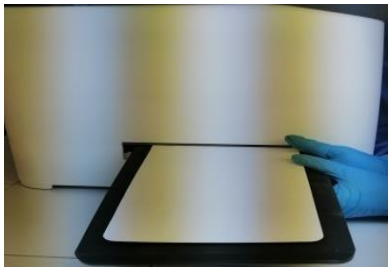
12.4 Verter la mezcla de reactivo y muestra, dentro del dispositivo, sin tocarlo, golpear los Pequeños pocillos 2 a 3 veces para eliminar posibles burbujas de aire. Deje reposar la Espuma.



12.5 Colocar el dispositivo Quanti-tray/2000, en el porta dispositivo de goma el sellador Quanti-tray, orientando las celdas de plástico hacia abajo en el porta dispositivo.



12.6 Sellar el dispositivo en el equipo sellador Quanti-tray (Colocar la bandeja Quanti-tray/2000 sobre la plantilla de caucho



12.7 En caso de tener más de una muestra, seguir con cada una de ellas el procedimiento descrito anteriormente.

13 Colocar la bandeja previamente sellada en incubadora de 38 +/- 0,5°Celsius por 24-48 horas.

14.Transcurrido el tiempo lea los resultados en el equipo de fluorescencia, cuente los pozos de color azul, verificando que el color sea más fuerte que el control, revise la bolsa en la cámara UV para verificar la fluorescencia (pozos color azul) que confirma la presencia de *Pseudomona aeruginosa. Determine en la tabla el NMP* el numero de celdas positivas utilizando la tabla de NMP , contenida en la caja Quanti tray /2000

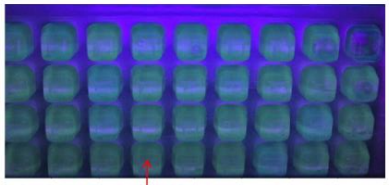
## 13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO.

Se realiza con cada lote de **Quanti tray /2000,** dos veces por estuche Colilert

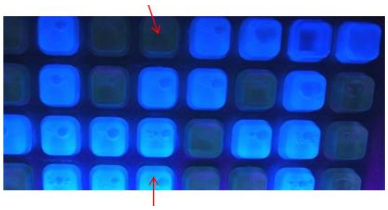
13.1 **Control de esterilidad**: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, disolver un vial de Pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido Pseudalert mencionado anteriormente. No debe tener crecimiento, lo que quiere decir que la bolsa y el reactivo pseudalert están estériles, libres de contaminación.
13.2

13.3 **Control Negativo**: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, inocule la cepa de referencia E. coli ATCC 25922, disolver un vial de pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido mencionado anteriormente. No debe tener crecimiento. Resultado negativo para *Pseudomona aeruginosa*.

13.4 **Control Positivo**: Agregar a un frasco de dilución 100 mL de agua estéril, inocule la cepa de referencia *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 disolver un vial de pseudalert. Seguir el procedimiento sustrato definido mencionado anteriormente
Debe tener crecimiento. Resultado positivo para *Pseudomona aeruginosa*.



Observar el Control Negativo y Control de esterilidad, sin fluorescencia



Observar el Control positivo Pseudomona aeruginosa ATCC 27853, con fluorescencia.

Relacionar el resultado del control de calidad en el formato establecido para tal fin

## 14. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS.

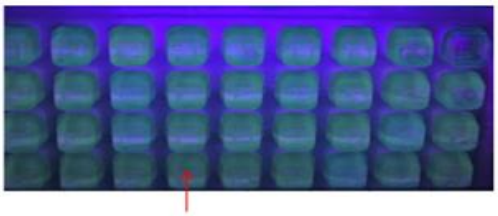
- Leer los resultados de acuerdo con el cuadro de interpretación de resultados de la tabla que trae la caja de Quanti-tray/2000

- Para Pseudalert, se debe contar el número de pocillos positivos y referirse al cuadro NMP, para *Pseudomona aeruginosa.*

- Si se hacen diluciones de muestra, multiplicar el valor NMP por el factor de dilución para obtener el resultado cuantitativo apropiado.

- Seguir las normas de bioseguridad necesarias para realizar el procedimiento anteriormente descrito.

- Leer la fluorescencia usando una luz UV de 6 vatios, 365-365 nm a distancia de unas 5 pulgadas (13 cm) de la muestra, en un entorno oscuro. Apuntar el haz de luz en dirección contraria a los ojos y hacia la muestra.

| ASPECTO | RESULTADO |
|---|---|
| |  |
| Positivo para *Pseudomona aeruginosa* | Negativo para *Pseudomona aeruginosa* |
| Con Fluorescencia azul. | Sin fluorescencia azul. |

*Interpretación de resultados*

## 15. EMISION DEL INFORME DE RESULTADOS.

Los resultados de Pseudalert son definitivos de 24 - 28 horas. Además, los positivos para Pseudomona aeruginosa antes de las 24 horas y los negativos observados después de las 28 horas también son válidas.

- Reportar el resultado de agua envasada

| | |
|---|---|
| NMP Pseudomona aeruginosa | <2 /100 ml |

Los resultados se registran en la base de datos del área de alimentos y bebidas alcohólicas teniendo en cuenta el número asignado en la muestra y en el acta para su posterior emisión del Reporte de resultados en la plantilla previamente combinada

## 16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS. NO APLICA

## 17. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

**Decreto 1541 de 1978,** con relación a las concesiones y/o la reglamentación del uso de las aguas existentes.

**Decreto 1594 de 1984** "Por el cual se reglamenta parcialmente el título I de la ley 9 de 1979, así como el capítulo II del título VI - parte III - libro II y el título III de la parte II

**Resolución 414 de abril 12 2002** "Por la cual se adoptan metodologías analíticas alternas para análisis físico químico y bacteriológico de aguas para consumo humano.

**Standard Methods versión 23 de 2017**

**Resolución 1619 de 2015 "**Por la cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de vigilancia en salud pública y de Gestiónde calidad."

**Resolución 719** de 2015 "Por la cual se establece la clasificación de alimentos para consumo humano de acuerdo con el riesgo en salud pública"

**NTC-ISO/IEC 17025 de 2017.**Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.

https://www.idexx.com/water/products/pseudalert.html. The **Pseudalert** Test detects the presence of Pseudomonas aeruginosa in water samples. The test is based on a bacterial enzyme detection technology.

Calidad del agua. Detección y recuento de Pseudomonas aeruginosa. Parte 2: Método del número más probable. (ISO 16266-2:2018)

## 18. ANEXOS

- Tabla NMP Pseudalert
- Inserto del Kitt de Pseudolert

## *IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table* *(per 100ml)*

| # Large Wells Positive | # Small Wells Positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| 0 | <1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.0 | 8.0 | 9.0 | 10.0 | 11.0 | 12.0 | 13.0 | 14.1 | 15.1 | 16.1 | 17.1 | 18.1 | 19.1 | 20.2 | 21.2 | 22.2 | 23.3 | 24.3 |
| 1 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.1 | 8.1 | 9.1 | 10.1 | 11.1 | 12.1 | 13.2 | 14.2 | 15.2 | 16.2 | 17.3 | 18.3 | 19.3 | 20.4 | 21.4 | 22.4 | 23.5 | 24.5 | 25.6 |
| 2 | 2.0 | 3.0 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.1 | 8.1 | 9.2 | 10.2 | 11.2 | 12.2 | 13.3 | 14.3 | 15.4 | 16.4 | 17.4 | 18.5 | 19.5 | 20.6 | 21.6 | 22.7 | 23.7 | 24.8 | 25.8 | 26.9 |
| 3 | 3.1 | 4.1 | 5.1 | 6.1 | 7.2 | 8.2 | 9.2 | 10.3 | 11.3 | 12.4 | 13.4 | 14.5 | 15.5 | 16.5 | 17.6 | 18.6 | 19.7 | 20.8 | 21.8 | 22.9 | 23.9 | 25.0 | 26.1 | 27.1 | 28.2 |
| 4 | 4.1 | 5.2 | 6.2 | 7.2 | 8.3 | 9.3 | 10.4 | 11.4 | 12.5 | 13.5 | 14.6 | 15.6 | 16.7 | 17.8 | 18.8 | 19.9 | 21.0 | 22.0 | 23.1 | 24.2 | 25.3 | 26.3 | 27.4 | 28.5 | 29.6 |
| 5 | 5.2 | 6.3 | 7.3 | 8.4 | 9.4 | 10.5 | 11.5 | 12.6 | 13.7 | 14.7 | 15.8 | 16.9 | 17.9 | 19.0 | 20.1 | 21.2 | 22.2 | 23.3 | 24.4 | 25.5 | 26.6 | 27.7 | 28.8 | 29.9 | 31.0 |
| 6 | 6.3 | 7.4 | 8.4 | 9.5 | 10.6 | 11.6 | 12.7 | 13.8 | 14.9 | 16.0 | 17.0 | 18.1 | 19.2 | 20.3 | 21.4 | 22.5 | 23.6 | 24.7 | 25.8 | 26.9 | 28.0 | 29.1 | 30.2 | 31.3 | 32.4 |
| 7 | 7.5 | 8.5 | 9.6 | 10.7 | 11.8 | 12.8 | 13.9 | 15.0 | 16.1 | 17.2 | 18.3 | 19.4 | 20.5 | 21.6 | 22.7 | 23.8 | 24.9 | 26.0 | 27.1 | 28.3 | 29.4 | 30.5 | 31.6 | 32.8 | 33.9 |
| 8 | 8.6 | 9.7 | 10.8 | 11.9 | 13.0 | 14.1 | 15.2 | 16.3 | 17.4 | 18.5 | 19.6 | 20.7 | 21.8 | 22.9 | 24.1 | 25.2 | 26.3 | 27.4 | 28.6 | 29.7 | 30.8 | 32.0 | 33.1 | 34.3 | 35.4 |
| 9 | 9.8 | 10.9 | 12.0 | 13.1 | 14.2 | 15.3 | 16.4 | 17.6 | 18.7 | 19.8 | 20.9 | 22.0 | 23.2 | 24.3 | 25.4 | 26.6 | 27.7 | 28.9 | 30.0 | 31.2 | 32.3 | 33.5 | 34.6 | 35.8 | 37.0 |
| 10 | 11.0 | 12.1 | 13.2 | 14.4 | 15.5 | 16.6 | 17.7 | 18.9 | 20.0 | 21.1 | 22.3 | 23.4 | 24.6 | 25.7 | 26.9 | 28.0 | 29.2 | 30.3 | 31.5 | 32.7 | 33.8 | 35.0 | 36.2 | 37.4 | 38.6 |
| 11 | 12.2 | 13.4 | 14.5 | 15.6 | 16.8 | 17.9 | 19.1 | 20.2 | 21.4 | 22.5 | 23.7 | 24.8 | 26.0 | 27.2 | 28.3 | 29.5 | 30.7 | 31.9 | 33.0 | 34.2 | 35.4 | 36.6 | 37.8 | 39.0 | 40.2 |
| 12 | 13.5 | 14.6 | 15.8 | 16.9 | 18.1 | 19.3 | 20.4 | 21.6 | 22.8 | 23.9 | 25.1 | 26.3 | 27.5 | 28.6 | 29.8 | 31.0 | 32.2 | 33.4 | 34.6 | 35.8 | 37.0 | 38.2 | 39.5 | 40.7 | 41.9 |
| 13 | 14.8 | 16.0 | 17.1 | 18.3 | 19.5 | 20.6 | 21.8 | 23.0 | 24.2 | 25.4 | 26.6 | 27.8 | 29.0 | 30.2 | 31.4 | 32.6 | 33.8 | 35.0 | 36.2 | 37.5 | 38.7 | 39.9 | 41.2 | 42.4 | 43.6 |
| 14 | 16.1 | 17.3 | 18.5 | 19.7 | 20.9 | 22.1 | 23.3 | 24.5 | 25.7 | 26.9 | 28.1 | 29.3 | 30.5 | 31.7 | 33.0 | 34.2 | 35.4 | 36.7 | 37.9 | 39.1 | 40.4 | 41.6 | 42.9 | 44.2 | 45.4 |
| 15 | 17.5 | 18.7 | 19.9 | 21.1 | 22.3 | 23.5 | 24.7 | 25.9 | 27.2 | 28.4 | 29.6 | 30.9 | 32.1 | 33.3 | 34.6 | 35.8 | 37.1 | 38.4 | 39.6 | 40.9 | 42.2 | 43.4 | 44.7 | 46.0 | 47.3 |
| 16 | 18.9 | 20.1 | 21.3 | 22.6 | 23.8 | 25.0 | 26.2 | 27.5 | 28.7 | 30.0 | 31.2 | 32.5 | 33.7 | 35.0 | 36.3 | 37.5 | 38.8 | 40.1 | 41.4 | 42.7 | 44.0 | 45.3 | 46.6 | 47.9 | 49.2 |
| 17 | 20.3 | 21.6 | 22.8 | 24.1 | 25.3 | 26.6 | 27.8 | 29.1 | 30.3 | 31.6 | 32.9 | 34.1 | 35.4 | 36.7 | 38.0 | 39.3 | 40.6 | 41.9 | 43.2 | 44.5 | 45.9 | 47.2 | 48.5 | 49.8 | 51.2 |
| 18 | 21.8 | 23.1 | 24.3 | 25.6 | 26.9 | 28.1 | 29.4 | 30.7 | 32.0 | 33.3 | 34.6 | 35.9 | 37.2 | 38.5 | 39.8 | 41.1 | 42.4 | 43.8 | 45.1 | 46.5 | 47.8 | 49.2 | 50.5 | 51.9 | 53.2 |
| 19 | 23.3 | 24.6 | 25.9 | 27.2 | 28.5 | 29.8 | 31.1 | 32.4 | 33.7 | 35.0 | 36.3 | 37.6 | 39.0 | 40.3 | 41.6 | 43.0 | 44.3 | 45.7 | 47.1 | 48.4 | 49.8 | 51.2 | 52.6 | 54.0 | 55.4 |
| 20 | 24.9 | 26.2 | 27.5 | 28.8 | 30.1 | 31.5 | 32.8 | 34.1 | 35.4 | 36.8 | 38.1 | 39.5 | 40.8 | 42.2 | 43.6 | 44.9 | 46.3 | 47.7 | 49.1 | 50.5 | 51.9 | 53.3 | 54.7 | 56.1 | 57.6 |
| 21 | 26.5 | 27.9 | 29.2 | 30.5 | 31.8 | 33.2 | 34.5 | 35.9 | 37.3 | 38.6 | 40.0 | 41.4 | 42.8 | 44.1 | 45.5 | 46.9 | 48.4 | 49.8 | 51.2 | 52.6 | 54.1 | 55.5 | 56.9 | 58.4 | 59.9 |
| 22 | 28.2 | 29.5 | 30.9 | 32.3 | 33.6 | 35.0 | 36.4 | 37.7 | 39.1 | 40.5 | 41.9 | 43.3 | 44.8 | 46.2 | 47.6 | 49.0 | 50.5 | 51.9 | 53.4 | 54.8 | 56.3 | 57.8 | 59.3 | 60.8 | 62.3 |
| 23 | 29.9 | 31.3 | 32.7 | 34.1 | 35.5 | 36.8 | 38.3 | 39.7 | 41.1 | 42.5 | 43.9 | 45.4 | 46.8 | 48.3 | 49.7 | 51.2 | 52.7 | 54.2 | 55.6 | 57.1 | 58.6 | 60.2 | 61.7 | 63.2 | 64.7 |
| 24 | 31.7 | 33.1 | 34.5 | 35.9 | 37.3 | 38.8 | 40.2 | 41.7 | 43.1 | 44.6 | 46.0 | 47.5 | 49.0 | 50.5 | 52.0 | 53.5 | 55.0 | 56.5 | 58.0 | 59.5 | 61.1 | 62.6 | 64.2 | 65.8 | 67.3 |
| 25 | 33.6 | 35.0 | 36.4 | 37.9 | 39.3 | 40.8 | 42.2 | 43.7 | 45.2 | 46.7 | 48.2 | 49.7 | 51.2 | 52.7 | 54.3 | 55.8 | 57.3 | 58.9 | 60.5 | 62.0 | 63.6 | 65.2 | 66.8 | 68.4 | 70.0 |
| 26 | 35.5 | 36.9 | 38.4 | 39.9 | 41.4 | 42.8 | 44.3 | 45.9 | 47.4 | 48.9 | 50.4 | 52.0 | 53.5 | 55.1 | 56.7 | 58.2 | 59.8 | 61.4 | 63.0 | 64.7 | 66.3 | 67.9 | 69.6 | 71.2 | 72.9 |
| 27 | 37.4 | 38.9 | 40.4 | 42.0 | 43.5 | 45.0 | 46.5 | 48.1 | 49.6 | 51.2 | 52.8 | 54.4 | 56.0 | 57.6 | 59.2 | 60.8 | 62.4 | 64.1 | 65.7 | 67.4 | 69.1 | 70.8 | 72.5 | 74.2 | 75.9 |
| 28 | 39.5 | 41.0 | 42.6 | 44.1 | 45.7 | 47.3 | 48.8 | 50.4 | 52.0 | 53.6 | 55.2 | 56.9 | 58.5 | 60.2 | 61.8 | 63.5 | 65.2 | 66.9 | 68.6 | 70.3 | 72.0 | 73.7 | 75.5 | 77.3 | 79.0 |
| 29 | 41.7 | 43.2 | 44.8 | 46.4 | 48.0 | 49.6 | 51.2 | 52.8 | 54.5 | 56.1 | 57.8 | 59.5 | 61.2 | 62.9 | 64.6 | 66.3 | 68.0 | 69.8 | 71.5 | 73.3 | 75.1 | 76.9 | 78.7 | 80.5 | 82.4 |
| 30 | 43.9 | 45.5 | 47.1 | 48.7 | 50.4 | 52.0 | 53.7 | 55.4 | 57.1 | 58.8 | 60.5 | 62.2 | 64.0 | 65.7 | 67.5 | 69.3 | 71.0 | 72.9 | 74.7 | 76.5 | 78.3 | 80.2 | 82.1 | 84.0 | 85.9 |
| 31 | 46.2 | 47.9 | 49.5 | 51.2 | 52.9 | 54.6 | 56.3 | 58.1 | 59.8 | 61.6 | 63.3 | 65.1 | 66.9 | 68.7 | 70.5 | 72.4 | 74.2 | 76.1 | 78.0 | 79.9 | 81.8 | 83.7 | 85.7 | 87.6 | 89.6 |
| 32 | 48.7 | 50.4 | 52.1 | 53.8 | 55.6 | 57.3 | 59.1 | 60.9 | 62.7 | 64.5 | 66.3 | 68.2 | 70.0 | 71.9 | 73.8 | 75.7 | 77.6 | 79.5 | 81.5 | 83.5 | 85.4 | 87.5 | 89.5 | 91.5 | 93.6 |
| 33 | 51.2 | 53.0 | 54.8 | 56.5 | 58.3 | 60.2 | 62.0 | 63.8 | 65.7 | 67.6 | 69.5 | 71.4 | 73.3 | 75.2 | 77.2 | 79.2 | 81.2 | 83.2 | 85.2 | 87.3 | 89.3 | 91.4 | 93.6 | 95.7 | 97.8 |
| 34 | 53.9 | 55.7 | 57.6 | 59.4 | 61.3 | 63.1 | 65.0 | 67.0 | 68.9 | 70.8 | 72.8 | 74.8 | 76.8 | 78.8 | 80.8 | 82.9 | 85.0 | 87.1 | 89.2 | 91.4 | 93.5 | 95.7 | 97.9 | 100.2 | 102.4 |
| 35 | 56.8 | 58.6 | 60.5 | 62.4 | 64.4 | 66.3 | 68.3 | 70.3 | 72.3 | 74.3 | 76.3 | 78.4 | 80.5 | 82.6 | 84.7 | 86.9 | 89.1 | 91.3 | 93.5 | 95.7 | 98.0 | 100.3 | 102.6 | 105.0 | 107.3 |
| 36 | 59.8 | 61.7 | 63.7 | 65.7 | 67.7 | 69.7 | 71.7 | 73.8 | 75.9 | 78.0 | 80.1 | 82.3 | 84.5 | 86.7 | 88.9 | 91.2 | 93.5 | 95.8 | 98.1 | 100.5 | 102.9 | 105.3 | 107.7 | 110.2 | 112.7 |
| 37 | 62.9 | 65.0 | 67.0 | 69.1 | 71.2 | 73.3 | 75.4 | 77.6 | 79.8 | 82.0 | 84.2 | 86.5 | 88.8 | 91.1 | 93.4 | 95.8 | 98.2 | 100.6 | 103.1 | 105.6 | 108.1 | 110.7 | 113.3 | 115.9 | 118.6 |
| 38 | 66.3 | 68.4 | 70.6 | 72.7 | 74.9 | 77.1 | 79.4 | 81.6 | 83.9 | 86.2 | 88.6 | 91.0 | 93.4 | 95.8 | 98.3 | 100.8 | 103.4 | 105.9 | 108.6 | 111.2 | 113.9 | 116.6 | 119.4 | 122.2 | 125.0 |
| 39 | 70.0 | 72.2 | 74.4 | 76.7 | 78.9 | 81.3 | 83.6 | 86.0 | 88.4 | 90.9 | 93.4 | 95.9 | 98.4 | 101.0 | 103.6 | 106.3 | 109.0 | 111.8 | 114.6 | 117.4 | 120.3 | 123.2 | 126.1 | 129.2 | 132.2 |
| 40 | 73.8 | 76.2 | 78.5 | 80.9 | 83.3 | 85.7 | 88.2 | 90.8 | 93.3 | 95.9 | 98.5 | 101.2 | 103.9 | 106.7 | 109.5 | 112.4 | 115.3 | 118.2 | 121.2 | 124.3 | 127.4 | 130.5 | 133.7 | 137.0 | 140.3 |
| 41 | 78.0 | 80.5 | 83.0 | 85.5 | 88.0 | 90.6 | 93.3 | 95.9 | 98.7 | 101.4 | 104.3 | 107.1 | 110.0 | 113.0 | 116.0 | 119.1 | 122.2 | 125.4 | 128.7 | 132.0 | 135.4 | 138.8 | 142.3 | 145.9 | 149.5 |
| 42 | 82.6 | 85.2 | 87.8 | 90.5 | 93.2 | 96.0 | 98.8 | 101.7 | 104.6 | 107.6 | 110.6 | 113.7 | 116.9 | 120.1 | 123.4 | 126.7 | 130.1 | 133.6 | 137.2 | 140.8 | 144.5 | 148.3 | 152.2 | 156.1 | 160.2 |
| 43 | 87.6 | 90.4 | 93.2 | 96.0 | 99.0 | 101.9 | 105.0 | 108.1 | 111.2 | 114.5 | 117.8 | 121.1 | 124.6 | 128.1 | 131.7 | 135.4 | 139.1 | 143.0 | 147.0 | 151.0 | 155.2 | 159.4 | 163.8 | 168.2 | 172.8 |
| 44 | 93.1 | 96.1 | 99.1 | 102.2 | 105.4 | 108.6 | 111.9 | 115.3 | 118.7 | 122.3 | 125.9 | 129.6 | 133.4 | 137.4 | 141.4 | 145.5 | 149.7 | 154.1 | 158.5 | 163.1 | 167.9 | 172.7 | 177.7 | 182.9 | 188.2 |
| 45 | 99.3 | 102.5 | 105.8 | 109.2 | 112.6 | 116.2 | 119.8 | 123.6 | 127.4 | 131.4 | 135.4 | 139.6 | 143.9 | 148.3 | 152.9 | 157.6 | 162.4 | 167.4 | 172.6 | 178.0 | 183.5 | 189.2 | 195.1 | 201.2 | 207.5 |
| 46 | 106.3 | 109.8 | 113.4 | 117.2 | 121.0 | 125.0 | 129.1 | 133.3 | 137.6 | 142.1 | 146.7 | 151.5 | 156.5 | 161.6 | 167.0 | 172.5 | 178.2 | 184.2 | 190.4 | 196.8 | 203.5 | 210.5 | 217.8 | 225.4 | 233.3 |
| 47 | 114.3 | 118.3 | 122.4 | 126.6 | 130.9 | 135.4 | 140.1 | 145.0 | 150.0 | 155.3 | 160.7 | 166.4 | 172.3 | 178.5 | 185.0 | 191.8 | 198.9 | 206.4 | 214.2 | 222.4 | 231.0 | 240.0 | 249.5 | 259.5 | 270.0 |
| 48 | 123.9 | 128.4 | 133.1 | 137.9 | 143.0 | 148.3 | 153.9 | 159.7 | 165.8 | 172.2 | 178.9 | 186.0 | 193.5 | 201.4 | 209.8 | 218.7 | 228.2 | 238.2 | 248.9 | 260.3 | 272.3 | 285.1 | 298.7 | 313.0 | 328.2 |
| 49 | 135.5 | 140.8 | 146.4 | 152.3 | 158.5 | 165.0 | 172.0 | 179.3 | 187.2 | 195.6 | 204.6 | 214.3 | 224.7 | 235.9 | 248.1 | 261.3 | 275.5 | 290.9 | 307.6 | 325.5 | 344.8 | 365.4 | 387.3 | 410.6 | 435.2 |

09-63235-01

## *IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table* *(per 100ml)*

| # Large Wells Positive | # Small Wells Positive | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 |
| 0 | 25.3 | 26.4 | 27.4 | 28.4 | 29.5 | 30.5 | 31.5 | 32.6 | 33.6 | 34.7 | 35.7 | 36.8 | 37.8 | 38.9 | 40.0 | 41.0 | 42.1 | 43.1 | 44.2 | 45.3 | 46.3 | 47.4 | 48.5 | 49.5 |
| 1 | 26.6 | 27.7 | 28.7 | 29.8 | 30.8 | 31.9 | 32.9 | 34.0 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.2 | 39.3 | 40.4 | 41.4 | 42.5 | 43.6 | 44.7 | 45.7 | 46.8 | 47.9 | 49.0 | 50.1 | 51.2 |
| 2 | 27.9 | 29.0 | 30.0 | 31.1 | 32.2 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.5 | 38.6 | 39.7 | 40.8 | 41.9 | 43.0 | 44.0 | 45.1 | 46.2 | 47.3 | 48.4 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.8 |
| 3 | 29.3 | 30.4 | 31.4 | 32.5 | 33.6 | 34.7 | 35.8 | 36.8 | 37.9 | 39.0 | 40.1 | 41.2 | 42.3 | 43.4 | 44.5 | 45.6 | 46.7 | 47.8 | 48.9 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.4 | 54.5 |
| 4 | 30.7 | 31.8 | 32.8 | 33.9 | 35.0 | 36.1 | 37.2 | 38.3 | 39.4 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 43.9 | 45.0 | 46.1 | 47.2 | 48.3 | 49.5 | 50.6 | 51.7 | 52.9 | 54.0 | 55.1 | 56.3 |
| 5 | 32.1 | 33.2 | 34.3 | 35.4 | 36.5 | 37.6 | 38.7 | 39.9 | 41.0 | 42.1 | 43.2 | 44.4 | 45.5 | 46.6 | 47.7 | 48.9 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.6 | 55.8 | 56.9 | 58.1 |
| 6 | 33.5 | 34.7 | 35.8 | 36.9 | 38.0 | 39.2 | 40.3 | 41.4 | 42.6 | 43.7 | 44.8 | 46.0 | 47.1 | 48.3 | 49.4 | 50.6 | 51.7 | 52.9 | 54.1 | 55.2 | 56.4 | 57.6 | 58.7 | 59.9 |
| 7 | 35.0 | 36.2 | 37.3 | 38.4 | 39.6 | 40.7 | 41.9 | 43.0 | 44.2 | 45.3 | 46.5 | 47.7 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.3 | 53.5 | 54.7 | 55.9 | 57.1 | 58.3 | 59.4 | 60.6 | 61.8 |
| 8 | 36.6 | 37.7 | 38.9 | 40.0 | 41.2 | 42.3 | 43.5 | 44.7 | 45.9 | 47.0 | 48.2 | 49.4 | 50.6 | 51.8 | 53.0 | 54.1 | 55.3 | 56.5 | 57.7 | 59.0 | 60.2 | 61.4 | 62.6 | 63.8 |
| 9 | 38.1 | 39.3 | 40.5 | 41.6 | 42.8 | 44.0 | 45.2 | 46.4 | 47.6 | 48.8 | 50.0 | 51.2 | 52.4 | 53.6 | 54.8 | 56.0 | 57.2 | 58.4 | 59.7 | 60.9 | 62.1 | 63.4 | 64.6 | 65.8 |
| 10 | 39.7 | 40.9 | 42.1 | 43.3 | 44.5 | 45.7 | 46.9 | 48.1 | 49.3 | 50.6 | 51.8 | 53.0 | 54.2 | 55.5 | 56.7 | 57.9 | 59.2 | 60.4 | 61.7 | 62.9 | 64.2 | 65.4 | 66.7 | 67.9 |
| 11 | 41.4 | 42.6 | 43.8 | 45.0 | 46.3 | 47.5 | 48.7 | 49.9 | 51.2 | 52.4 | 53.7 | 54.9 | 56.1 | 57.4 | 58.6 | 59.9 | 61.2 | 62.4 | 63.7 | 65.0 | 66.3 | 67.5 | 68.8 | 70.1 |
| 12 | 43.1 | 44.3 | 45.6 | 46.8 | 48.1 | 49.3 | 50.6 | 51.8 | 53.1 | 54.3 | 55.6 | 56.8 | 58.1 | 59.4 | 60.7 | 62.0 | 63.2 | 64.5 | 65.8 | 67.1 | 68.4 | 69.7 | 71.0 | 72.4 |
| 13 | 44.9 | 46.1 | 47.4 | 48.6 | 49.9 | 51.2 | 52.5 | 53.7 | 55.0 | 56.3 | 57.6 | 58.9 | 60.2 | 61.5 | 62.8 | 64.1 | 65.4 | 66.7 | 68.0 | 69.3 | 70.7 | 72.0 | 73.3 | 74.7 |
| 14 | 46.7 | 48.0 | 49.3 | 50.5 | 51.8 | 53.1 | 54.4 | 55.7 | 57.0 | 58.3 | 59.6 | 60.9 | 62.3 | 63.6 | 64.9 | 66.3 | 67.6 | 68.9 | 70.3 | 71.6 | 73.0 | 74.4 | 75.7 | 77.1 |
| 15 | 48.6 | 49.9 | 51.2 | 52.5 | 53.8 | 55.1 | 56.4 | 57.8 | 59.1 | 60.4 | 61.8 | 63.1 | 64.5 | 65.8 | 67.2 | 68.5 | 69.9 | 71.3 | 72.6 | 74.0 | 75.4 | 76.8 | 78.2 | 79.6 |
| 16 | 50.5 | 51.8 | 53.2 | 54.5 | 55.8 | 57.2 | 58.5 | 59.9 | 61.2 | 62.6 | 64.0 | 65.3 | 66.7 | 68.1 | 69.5 | 70.9 | 72.3 | 73.7 | 75.1 | 76.5 | 77.9 | 79.3 | 80.8 | 82.2 |
| 17 | 52.5 | 53.9 | 55.2 | 56.6 | 58.0 | 59.3 | 60.7 | 62.1 | 63.5 | 64.9 | 66.3 | 67.7 | 69.1 | 70.5 | 71.9 | 73.3 | 74.8 | 76.2 | 77.6 | 79.1 | 80.5 | 82.0 | 83.5 | 84.9 |
| 18 | 54.6 | 56.0 | 57.4 | 58.8 | 60.2 | 61.6 | 63.0 | 64.4 | 65.8 | 67.2 | 68.6 | 70.1 | 71.5 | 73.0 | 74.4 | 75.9 | 77.3 | 78.8 | 80.3 | 81.8 | 83.3 | 84.8 | 86.3 | 87.8 |
| 19 | 56.8 | 58.2 | 59.6 | 61.0 | 62.4 | 63.9 | 65.3 | 66.8 | 68.2 | 69.7 | 71.1 | 72.6 | 74.1 | 75.5 | 77.0 | 78.5 | 80.0 | 81.5 | 83.1 | 84.6 | 86.1 | 87.6 | 89.2 | 90.7 |
| 20 | 59.0 | 60.4 | 61.9 | 63.3 | 64.8 | 66.3 | 67.7 | 69.2 | 70.7 | 72.2 | 73.7 | 75.2 | 76.7 | 78.2 | 79.8 | 81.3 | 82.8 | 84.4 | 85.9 | 87.5 | 89.1 | 90.7 | 92.2 | 93.8 |
| 21 | 61.3 | 62.8 | 64.3 | 65.8 | 67.3 | 68.8 | 70.3 | 71.8 | 73.3 | 74.9 | 76.4 | 77.9 | 79.5 | 81.1 | 82.6 | 84.2 | 85.8 | 87.4 | 89.0 | 90.6 | 92.2 | 93.8 | 95.4 | 97.1 |
| 22 | 63.8 | 65.3 | 66.8 | 68.3 | 69.8 | 71.4 | 72.9 | 74.5 | 76.1 | 77.6 | 79.2 | 80.8 | 82.4 | 84.0 | 85.6 | 87.2 | 88.9 | 90.5 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.1 | 98.8 | 100.5 |
| 23 | 66.3 | 67.8 | 69.4 | 71.0 | 72.5 | 74.1 | 75.7 | 77.3 | 78.9 | 80.5 | 82.2 | 83.8 | 85.4 | 87.1 | 88.7 | 90.4 | 92.1 | 93.8 | 95.5 | 97.2 | 98.9 | 100.6 | 102.4 | 104.1 |
| 24 | 68.9 | 70.5 | 72.1 | 73.7 | 75.3 | 77.0 | 78.6 | 80.3 | 81.9 | 83.6 | 85.2 | 86.9 | 88.6 | 90.3 | 92.0 | 93.8 | 95.5 | 97.2 | 99.0 | 100.7 | 102.5 | 104.3 | 106.1 | 107.9 |
| 25 | 71.7 | 73.3 | 75.0 | 76.6 | 78.3 | 80.0 | 81.7 | 83.3 | 85.1 | 86.8 | 88.5 | 90.2 | 92.0 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.1 | 100.9 | 102.7 | 104.5 | 106.3 | 108.2 | 110.0 | 111.9 |
| 26 | 74.6 | 76.3 | 78.0 | 79.7 | 81.4 | 83.1 | 84.8 | 86.6 | 88.4 | 90.1 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.3 | 99.2 | 101.0 | 102.9 | 104.7 | 106.6 | 108.5 | 110.4 | 112.3 | 114.2 | 116.2 |
| 27 | 77.6 | 79.4 | 81.1 | 82.9 | 84.6 | 86.4 | 88.2 | 90.0 | 91.9 | 93.7 | 95.5 | 97.4 | 99.3 | 101.2 | 103.1 | 105.0 | 106.9 | 108.8 | 110.8 | 112.7 | 114.7 | 116.7 | 118.7 | 120.7 |
| 28 | 80.8 | 82.6 | 84.4 | 86.3 | 88.1 | 89.9 | 91.8 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.4 | 101.3 | 103.3 | 105.2 | 107.2 | 109.2 | 111.2 | 113.2 | 115.2 | 117.3 | 119.3 | 121.4 | 123.5 | 125.6 |
| 29 | 84.2 | 86.1 | 87.9 | 89.8 | 91.7 | 93.7 | 95.6 | 97.5 | 99.5 | 101.5 | 103.5 | 105.5 | 107.5 | 109.5 | 111.6 | 113.7 | 115.7 | 117.8 | 120.0 | 122.1 | 124.2 | 126.4 | 128.6 | 130.8 |
| 30 | 87.8 | 89.7 | 91.7 | 93.6 | 95.6 | 97.6 | 99.6 | 101.6 | 103.7 | 105.7 | 107.8 | 109.9 | 112.0 | 114.2 | 116.3 | 118.5 | 120.6 | 122.8 | 125.1 | 127.3 | 129.5 | 131.8 | 134.1 | 136.4 |
| 31 | 91.6 | 93.6 | 95.6 | 97.7 | 99.7 | 101.8 | 103.9 | 106.0 | 108.2 | 110.3 | 112.5 | 114.7 | 116.9 | 119.1 | 121.4 | 123.6 | 125.9 | 128.2 | 130.5 | 132.9 | 135.3 | 137.7 | 140.1 | 142.5 |
| 32 | 95.7 | 97.8 | 99.9 | 102.0 | 104.2 | 106.3 | 108.5 | 110.7 | 113.0 | 115.2 | 117.5 | 119.8 | 122.1 | 124.5 | 126.8 | 129.2 | 131.6 | 134.0 | 136.5 | 139.0 | 141.5 | 144.0 | 146.6 | 149.1 |
| 33 | 100.0 | 102.2 | 104.4 | 106.6 | 108.9 | 111.2 | 113.5 | 115.8 | 118.2 | 120.5 | 122.9 | 125.4 | 127.8 | 130.3 | 132.8 | 135.3 | 137.8 | 140.4 | 143.0 | 145.6 | 148.3 | 150.9 | 153.7 | 156.4 |
| 34 | 104.7 | 107.0 | 109.3 | 111.7 | 114.0 | 116.4 | 118.9 | 121.3 | 123.8 | 126.3 | 128.8 | 131.4 | 134.0 | 136.6 | 139.2 | 141.9 | 144.6 | 147.4 | 150.1 | 152.9 | 155.7 | 158.6 | 161.5 | 164.4 |
| 35 | 109.7 | 112.2 | 114.6 | 117.1 | 119.6 | 122.2 | 124.7 | 127.3 | 129.9 | 132.6 | 135.3 | 138.0 | 140.8 | 143.6 | 146.4 | 149.2 | 152.1 | 155.0 | 158.0 | 161.0 | 164.0 | 167.1 | 170.2 | 173.3 |
| 36 | 115.2 | 117.8 | 120.4 | 123.0 | 125.7 | 128.4 | 131.1 | 133.9 | 136.7 | 139.5 | 142.4 | 145.3 | 148.3 | 151.3 | 154.3 | 157.3 | 160.5 | 163.6 | 166.8 | 170.0 | 173.3 | 176.6 | 179.9 | 183.3 |
| 37 | 121.3 | 124.0 | 126.8 | 129.6 | 132.4 | 135.3 | 138.2 | 141.2 | 144.2 | 147.3 | 150.3 | 153.5 | 156.7 | 159.9 | 163.1 | 166.5 | 169.8 | 173.2 | 176.7 | 180.2 | 183.7 | 187.3 | 191.0 | 194.7 |
| 38 | 127.9 | 130.8 | 133.8 | 136.8 | 139.9 | 143.0 | 146.2 | 149.4 | 152.6 | 155.9 | 159.2 | 162.6 | 166.1 | 169.6 | 173.2 | 176.8 | 180.4 | 184.2 | 188.0 | 191.8 | 195.7 | 199.7 | 203.7 | 207.7 |
| 39 | 135.3 | 138.5 | 141.7 | 145.0 | 148.3 | 151.7 | 155.1 | 158.6 | 162.1 | 165.7 | 169.4 | 173.1 | 176.9 | 180.7 | 184.7 | 188.7 | 192.7 | 196.8 | 201.0 | 205.3 | 209.6 | 214.0 | 218.5 | 223.0 |
| 40 | 143.7 | 147.1 | 150.6 | 154.2 | 157.8 | 161.5 | 165.3 | 169.1 | 173.0 | 177.0 | 181.1 | 185.2 | 189.4 | 193.7 | 198.1 | 202.5 | 207.1 | 211.7 | 216.4 | 221.1 | 226.0 | 231.0 | 236.0 | 241.1 |
| 41 | 153.2 | 157.0 | 160.9 | 164.8 | 168.9 | 173.0 | 177.2 | 181.5 | 185.8 | 190.3 | 194.8 | 199.5 | 204.2 | 209.1 | 214.0 | 219.1 | 224.2 | 229.4 | 234.8 | 240.2 | 245.8 | 251.5 | 257.2 | 263.1 |
| 42 | 164.3 | 168.6 | 172.9 | 177.3 | 181.9 | 186.5 | 191.3 | 196.1 | 201.1 | 206.2 | 211.4 | 216.7 | 222.2 | 227.7 | 233.4 | 239.2 | 245.2 | 251.3 | 257.5 | 263.8 | 270.3 | 276.9 | 283.6 | 290.5 |
| 43 | 177.5 | 182.3 | 187.3 | 192.4 | 197.6 | 202.9 | 208.4 | 214.0 | 219.8 | 225.8 | 231.8 | 238.1 | 244.5 | 251.0 | 257.7 | 264.6 | 271.7 | 278.9 | 286.3 | 293.8 | 301.5 | 309.4 | 317.4 | 325.7 |
| 44 | 193.6 | 199.3 | 205.1 | 211.0 | 217.2 | 223.5 | 230.0 | 236.7 | 243.6 | 250.6 | 258.1 | 265.6 | 273.3 | 281.2 | 289.4 | 297.8 | 306.3 | 315.1 | 324.1 | 333.3 | 342.8 | 352.4 | 362.3 | 372.4 |
| 45 | 214.1 | 220.9 | 227.9 | 235.2 | 242.7 | 250.4 | 258.4 | 266.7 | 275.3 | 284.1 | 293.3 | 302.6 | 312.3 | 322.3 | 332.5 | 343.0 | 353.8 | 364.9 | 376.2 | 387.9 | 399.8 | 412.0 | 424.5 | 437.4 |
| 46 | 241.5 | 250.0 | 258.9 | 268.2 | 277.8 | 287.8 | 298.1 | 308.8 | 319.9 | 331.4 | 343.3 | 355.5 | 368.1 | 381.1 | 394.5 | 408.3 | 422.5 | 437.1 | 452.0 | 467.4 | 483.3 | 499.6 | 516.3 | 533.5 |
| 47 | 280.9 | 292.4 | 304.4 | 316.9 | 330.0 | 343.6 | 357.8 | 372.5 | 387.7 | 403.4 | 419.8 | 436.6 | 454.1 | 472.1 | 490.7 | 509.9 | 529.8 | 550.4 | 571.7 | 593.8 | 616.7 | 640.5 | 665.3 | 691.0 |
| 48 | 344.1 | 360.9 | 378.4 | 396.8 | 416.0 | 436.0 | 456.9 | 478.6 | 501.2 | 524.7 | 549.3 | 574.8 | 601.5 | 629.4 | 658.6 | 689.3 | 721.5 | 755.6 | 791.5 | 829.7 | 870.4 | 913.9 | 960.6 | 1011.2 |
| 49 | 461.1 | 488.4 | 517.2 | 547.5 | 579.4 | 613.1 | 648.8 | 686.7 | 727.0 | 770.1 | 816.4 | 866.4 | 920.8 | 980.4 | 1046.2 | 1119.9 | 1203.3 | 1299.7 | 1413.6 | 1553.1 | 1732.9 | 1986.3 | 2419.6 | >2419.6 |

09-63235-01

Estuche de reactivo Pseudalert

# Kit de análisis Pseudalert*

**Introducción**

El kit Pseudalert* detecta la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de agua. El análisis se basa en la detección de una enzima bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* que cataliza la hidrólisis del sustrato presente en el reactivo del kit Pseudalert. Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* crecen y se multiplican con rapidez gracias al gran aporte en aminoácidos, vitaminas y otros nutrientes del reactivo del kit Pseudalert. Las cepas en crecimiento activo de *Pseudomonas aeruginosa* poseen una enzima que hidroliza el sustrato del reactivo y produce una fluorescencia azul cuando se expone a la luz ultravioleta UV. Pseudalert detecta bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en 24 horas a una concentración de 1 UFC en muestras de 100 ml o 250 ml.

**Conservación**

Almacenar a una temperatura entre 2–30°C protegido de la luz.

**Procedimiento de presencia/ausencia (P/A)**

1. Añadir el contenido de la dosis Snap adecuadamente predispensada a una muestra de 100 ó 250 ml en un recipiente estéril transparente, no fluorescente.
2. Tapar y agitar el recipiente.
3. Incubar a 38 ± 0,5°C durante 24 horas.
4. Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo.

**Procedimiento de enumeración Quanti-Tray* (sólo muestras de 100 ml)**

1. Añadir el reactivo a una muestra de 100 ml de agua, en un recipiente estéril.
2. Tapar y agitar el recipiente hasta que el contenido se haya disuelto.
3. Añadir 2 gotas de solución antiespumante de IDEXX[1] a la mezcla muestra/reactivo.
   **Nota:** IDEXX también comercializa recipientes para muestras de 120 ml que ya contienen antiespumante.[2]
4. Verter la mezcla muestra/reactivo en una Quanti-Tray o Quanti-Tray*/2000 y sellar utilizando un Quanti-Tray* Sealer.
5. Colocar la bandeja sellada en una estufa de incubación a 38 ± 0,5°C durante 24 horas.
6. Leer los resultados de acuerdo con la tabla de interpretación de resultados que figura abajo. Contar el número de pocillos positivos y referirse a la tabla NMP proporcionada con las bandejas para obtener el número más probable.

**Interpretación de resultados**

| Apariencia | Resultado |
|---|---|
| Sin fluorescencia azul | Muestra negativa para *Pseudomonas aeruginosa* |
| Con fluorescencia azul[1] | Muestra positiva para *Pseudomonas aeruginosa* |

[1] Intensidad de la fluorescencia azul superior a la de la fluorescencia del control negativo.

- Observar la fluorescencia azul en un ambiente oscuro y con una luz UV de 6 vatios y 365 nm, mantenida a unos 12 cm de la muestra. Aleje la luz de sus ojos y oriéntela hacia la muestra.
- Para los resultados referirse a la guía de lectura - /+ fluorescencia que se incluye en la caja. Estos colores son los que se ven bajo luz UV.
- Los resultados de Pseudalert son definitivos transcurridas 24–28 horas. Además, los positivos para *Pseudomonas aeruginosa* observados antes de 24 horas y los negativos observados después de 28 horas también son válidos.

**Notas sobre el procedimiento**

- Utilizar solamente agua estéril, no tamponada, libre de oxidantes, para efectuar las diluciones.
- Para poder realizar las comparaciones a la hora de interpretar los resultados, se puede utilizar como blanco agua estéril incubada con el reactivo Pseudalert (control negativo).
- Es posible que este prospecto no refleje la normativa local de su país. Para realizar pruebas que la cumplan, asegúrese de seguir los procedimientos reglamentarios correspondientes.
- Pseudalert es fundamentalmente una prueba para analizar agua. Las características de rendimiento de Pseudalert no se pueden aplicar a muestras que hayan sido alteradas previamente por algún tipo de enriquecimiento o concentración.
- El kit Pseudalert no se ha validado para ser utilizado con muestras de agua embotellada aromatizada, con agua marina o agua carbonatada.
- Siempre debe aplicarse una técnica aséptica cuando se utilice Pseudalert. El material debe desecharse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- La mezcla de reactivo del kit Pseudalert puede volverse turbio cuando la muestra presenta un alto contenido en minerales (especialmente magnesio y/o calcio).

**Procedimientos de control de calidad**

1. Se recomienda uno de los siguientes procedimientos de control de calidad para cada lote de Pseudalert:
   A. IDEXX-QC *Pseudomonas*[3]: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*.
   B. Métodos de control de calidad adicionales:
      i. Para cada una de las cepas bacterianas de Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC)* (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 o 10145, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525), siembre en estrías el cultivo sobre placas etiquetadas de agar sangre o TSA e incube a 35 ± 0,5°C durante 18 a 24 horas.
      ii. Para cada cepa bacteriana, recoja una muestra de la colonia con una asa de siembra estéril de 1µl e inocúlela en un tubo de ensayo marcado que contenga 5 ml de agua desionizada estéril. Cierre la tapa y agite bien.
      iii. Para cada cepa bacteriana, introduzca una asa de siembra estéril de 1µl en el tubo de ensayo e inocule con ella un recipiente marcado que contenga 100 o 250 ml de agua desionizada estéril. Las muestras así obtenidas serán sus controles.
2. Siga el procedimiento P/A o el procedimiento de enumeración de Quanti-Tray que se indica más arriba.
3. Los resultados deben coincidir con la tabla de interpretación de resultados que se indica más arriba.

## 19. CONTROL DE CAMBIOS.

| CONTROL DE CAMBIOS | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **VERSIÓN** | **FECHA** | **DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO** | **REVISÓ** | **APROBÓ** |
| 0 | 03/03/2022 | Emisión inicial del documento | **ALBA ROCIO ORDUZ A**<br>Coordinador Grupo LSP<br><br>**GERMAN MARIN C**<br>Director de Salud Integral<br><br>**DIEGO A SANCHEZ BAEZ**<br>Coord. Grupo de Apoyo a la gestión y calidad.<br>CESAR ERNESTO ARANDA<br>Director de Planeación | **JAVIER VILLAMIZAR SUAREZ**<br>Secretario de Salud de Santander |