

# Base de Caldo Acetamida ISO

Cat. 1155

Para la confirmación de *Pseudomonas aeruginosa* a través del método de filtración por membrana

## Información práctica

---

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: ISO 16266

## Principios y usos

---

Base de Caldo Acetamida ISO contiene acetamida como única fuente de carbono. Es empleado para la confirmación e identificación de *Pseudomonas aeruginosa*, según lo especificado por la ISO 16266. Se basa en la habilidad de las bacterias Gram-negativas no-fermentadoras de desaminar la acetamida. La desaminación de la acetamida produce amoníaco que aumenta el pH del medio, la desaminación de acetamida es realizada por *P. aeruginosa*, *P. acidovorans*, Grupo III (*Achromobacter xylosoxidans*), y *Alcaligenes odorans*.

La acetamida es la única fuente de carbono. La sal de potasio tiene una alta capacidad de amortiguación y el cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico.

Está elaborado de acuerdo con la norma ISO 16266.

*Pseudomonas aeruginosa* es un agente patógeno oportunista para los seres humanos, capaz de crecer en agua con una baja concentración de nutrientes. Esta es la razón por la que el agua mineral natural y el agua de manantial están libres de *Pseudomonas aeruginosa* en el momento de su comercialización. Este microorganismo también se puede encontrar en el agua de la piscina.

Solución B:

Molibdato sódico 0,50 g

Sulfato ferroso heptahidratado 0,05 g

Agua destilada 100 mL

## Fórmula en g/L

---

Acetamida	2	Sulfato magnésico	0,2
Fosfato monopotásico	1	Cloruro sódico	0,2

---

## Preparación

---

Suspender 3,4 gramos de medio en 900 mL de agua destilada. Ajustar el pH a  $7,0 \pm 0,5$  a 25 °C. Añadir 1mL de Solución B recién preparada. Mientras se agita añadir agua hasta obtener un volumen final de 1 L. Distribuir en tubos en alícuotas de 5 mL, cerrar y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Los tubos preparados deben almacenarse en un lugar oscuro.

## Instrucciones de uso

---

De acuerdo a ISO 16266 para la detección y enumeración de *Pseudomonas aeruginosa*:

- Filtrar un determinado volumen de muestra de agua a través de una membrana de filtración y colocar la membrana sobre una placa de Base de Agar *Pseudomonas* CN (Cat. 1153).

- Incubar a una temperatura de  $36 \pm 2$  °C durante  $44 \pm 4$  h.

- Contar las colonias que presentan una pigmentación verde/azul (piocinina) como *P. aeruginosa* confirmada.

- Examinar la membrana bajo luz UV.

- Todas las colonias que sean fluorescencia (+) y colonias de color marrón rojizo deben ser confirmadas.

- Sembrar todas las colonias que deban ser confirmadas en Agar Nutriente (Cat. 1156) para obtener cultivos puros. Incubar a  $36 \pm 2$  °C durante  $22 \pm 2$  h

- Realizar ensayo de oxidasa a las colonias marrón rojizas.

- Sembrar las colonias oxidasa (+) en medio Medio King B (Cat. 1154) para comprobar la producción de fluorescencia. Incubar a  $36 \pm 2$  °C durante hasta 5 días. Normalmente 24 horas es suficiente.

- Inocular todas las colonias fluorescencia (+), tanto en Agar CN como en Medio King B, en el medio Caldo Acetamida (Cat. 1155 o Cat.2017) y añadir una o dos gotas de reactivo Nessler para comprobar la producción de amoníaco. Incubar a  $36 \pm 2$  °C for  $22 \pm 2$  h.

- Se cuentan como *P. aeruginosa* confirmadas las colonias que producen piocina en Agar CN, las colonias fluorescencia (+) en Agar CN y amoníaco (+) en Caldo Acetamida, y las colonias marrón rojizas en Agar CN, oxidasa (+), fluorescencia (+) en Agar King B y amoníaco (+) en Caldo Acetamida .

## Control de calidad

---

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Incoloro	7,0 ± 0,5

## Test microbiológico

---

Condiciones de incubación: (36±2 °C / 22±2 h)

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145	Buen crecimiento	Producción de amonio
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Buen crecimiento	Producción de amonio
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Buen crecimiento	Producción de amonio

## Almacenamiento

---

Temp. Min.:2 °C  
Temp. Max.:25 °C

## Bibliografía

---

ISO 16266 Water quality -- Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa -- Method by membrane filtration