

Caldo Acetamida ISO

Cat. 2017

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

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Confirmación	<i>Pseudomonas</i>

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: / ISO 16266

Principios y usos

Caldo Acetamida 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 amoniaco 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. El sulfato de magnesio, el molibdato sódico y el sulfato de hierro permite el crecimiento selectivo de *Pseudomonas* en el medio.

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.

Fórmula en g/L

Acetamida	2	Sulfato ferroso	0,0005
Sulfato magnésico	0,2	Fosfato monopotásico	1
Cloruro sódico	0,2	Molibdato sódico	0,005

Preparación

Suspender 3,4 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Distribuir en tubos en alícuotas de 5 ml, cerrar y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

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±2 °C durante 44±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±2 °C durante 22±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±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 amoniaco. Incubar a 36±2 °C for 22±2 h.
- Se cuentan como *P. aeruginosa* confirmadas las colonias que producen piocina en Agar CN, las colonias fluorescencia (+) en Agar CN y amoniaco (+) en Caldo Acetamida, y las colonias marrón rojizas en Agar CN, oxidasa (+), fluorescencia (+) en Agar King B y amoniaco (+) 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 amonio
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Buen crecimiento	Producción de amonio

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

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