

Acetamidový bujón

LC1155

Selektivní bujón pro identifikaci a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa* pomocí membránové filtrace

Praktické informace

Odvětví aplikace: Kvalita vody

Předpisy: ISO 16266

Principy a použití

Acetamidový bujón obsahuje acetamid, jako jediným zdrojem uhlíku. Používá se ke confirmaci a identifikaci *Pseudomonas aeruginosa* podle normy ISO 16266. Využívá schopnosti nefermentujících gramnegativních bakterií deaminovat acetamid. Při deaminaci acetamidu vzniká amoniak, který zvyšuje pH média. Deaminaci acetamidu provádějí *P. aeruginosa*, *P. acidovorans*, skupina III (*Achromobacter xylosoxidans*) a *Alcaligenes odorans*.

Jediným zdrojem uhlíku je acetamid. Draselná sůl má vysokou pufrovací kapacitu a chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu.

Připravuje se podle normy ISO 16266.

Pseudomonas aeruginosa je oportunistický lidský patogen. Z jeho schopnosti růst ve vodě s nízkou koncentrací živin vyvstává potřeba detekovat jeho přítomnost v přírodní minerální a pramenité vodě při uvádění na trh. Výskyt je možný taktéž v bazénové vodě.

Roztok B:
Molybdenan sodný 0,50 g
Síran železnatý heptahydrát 0,05 g
Destilovaná voda 100 ml

Složení v g/l

Acetamid	2	Síran hořečnatý	0,2
Fosforečnan monodraselný	1	Chlorid sodný	0,2

Příprava

Suspendujte 3,4 g média v 900 ml destilované vody. Upravte pH na $7,0 \pm 0,5$ při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přidejte 1 ml nedávno připraveného roztoku B. Za stálého míchání přidávejte vodu, abyste získali konečný objem 1 litr. Rozdělte do zkumavek po 5 ml, uzavřete a sterilizujte v autoklávu při $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 15 minut. Připravené zkumavky se musí skladovat na tmavém místě.

Návod k použití

Podle normy ISO 16266 pro detekci a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa*:

- Přefiltrujte určitý objem vzorku vody přes filtrační membránu a umístěte membránu na destičku *Pseudomonas* CN Agar Base (LC1153).
- Inkubujte při teplotě $36 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 44 ± 4 hodin.
- Kolonie se zelenomodrým pigmentem (pyocyanin) považujte za potvrzené kolonie *P. aeruginosa*.
- Prozkoumejte membránu pod UV světlem.
- Měly by být potvrzeny všechny fluorescenční (+) a červenohnědé kolonie.
- Všechny kolonie, které by měly být potvrzeny, rozetřete na desky Nutrient Agar (LC1156), abyste získali čisté kultury.
- Inkubujte při teplotě $36 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 22 ± 2 h.
- Proveďte oxidázový test na červenohnědé kolonie.
- Kolonie s oxidázou (+) proklepněte na médium King B (LC1154) a zkontrolujte produkci fluorescence.
- Inkubujte při teplotě $36 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 5 dnů. Obvykle stačí 24 hodin.
- Naočkejte všechny fluorescenční (+) kolonie, jak na CN agaru, tak na médiu King B, do média Acetamide Broth (LC1155 nebo LC2017) a přidejte jednu nebo dvě kapky Nesslerova činidla pro kontrolu produkce amoniaku.
- Inkubujte při teplotě $36 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 22 ± 2 hodin.
- Kolonie, které produkují pyocyanin v CN agaru, kolonie fluoreskující (+) v CN agaru a amoniak (+) v acetamidovém bujónu a červenohnědé kolonie v CN agaru, oxidáza (+), fluorescence (+) v King B agaru a amoniak (+) v acetamidovém bujónu se považují za potvrzenou *P. aeruginosa*.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytku	Jemný prášek	Běžová	Bezbarvý	7,0± 0,5

Mikrobiologický test

Inkubační podmínky: (36±2 °C / 22±2

h) Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Dobry růst	Produkce amoniaku
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Dobry růst	Produkce amoniaku
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Dobry růst	Produkce amoniaku

Skladování

Teplota Min.: 2 °C
Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

ISO 16266 Kvalita vody - Detekce a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa* - Metoda membránové filtrace