



Acetamide Broth

Liquid medium for detection of *P. aeruginosa* in water samples, according to ISO 16266.

DESCRIPTION

Acetamide Broth is a liquid medium used for confirmation of *Pseudomonas aeruginosa* with the membrane filtration technique.

This medium complies with ISO 16266 for examination of water with low background flora such as waters intended for human consumption or pool waters.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Potassium Di-hydrogenphosphate	1.0
Magnesium Sulfate, anhydrous	0.2
Acetamide	2.0
Sodium Chloride	0.2
Sodium Molybdate	0.005
Iron Sulfate, heptahydrate	0.0005
Final pH 7.0 ± 0.5 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Potassium phosphate is the buffering agent. Magnesium sulfate, sodium molybdate and iron sulfate are inorganic salts essential for organisms growth. Acetamide is the sole source of carbon in the medium. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Acetamide is deaminated by gram-negative non-fermenting bacteria to produce ammonia.

PREPARATION

Dehydrated medium Suspend 3.4 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Dispense into tubes or other final containers. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

TEST PROCEDURE

Filter volumes of diluted or undiluted water sample through 0.45 µm sterile membranes. Place each membrane on a plate of Pseudomonas CN Agar (ref. 163592) and incubate at 36 ± 2°C for 40-48 hours. Count all colonies that produce blue/green (pyocyanin) color as confirmed *P. aeruginosa*.

Acetamide Broth is used for confirming fluorescent non-pyocyanin producing colonies and reddish brown pigmented colonies:

- Transfer all colonies to Nutrient Agar (ref. 10044) and incubate at 36 ± 2°C for 20-24 h;
- Inoculate a tube of Acetamide Broth with the subculture and incubate at 36 ± 2°C for 20-24 h;
- Add 1-2 drops of Nessler's Reagent (ref. 80283) and examine for production of ammonia.

INTERPRETING RESULTS

The formation of a yellow to brick red color indicates ammonia production. A negative reaction shows no color change.

Other confirmatory tests, i.e. Oxidase Test (ref. 88029, 88003 or 88004) and King's B Medium (ref. 11072), may be required.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, white to light beige.

Prepared medium: Colourless, limpid solution.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store tubes at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.

Medium in tubes: 1 year.

QUALITY CONTROL

Tubes are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: ≤ 100 CFU.

Incubation conditions: aerobically at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 20-24 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth	Acetamide Test
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Good	Positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 10145	Good	Positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Good	Positive
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Good	Negative

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE









Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

- EN ISO 16266: 2008. Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Method by membrane filtration (ISO 16266:2006).

PRESENTATION	Category	Packaging	Ref.
Acetamide Broth	Tubes - Bottles	20 x 5 ml tubes	24154
Acetamide Broth	Tubes - Bottles	100 x 5 ml tubes	26154
Acetamide Broth	Dehydrated media	500 g of powder	610392
Acetamide Broth	Dehydrated media	100 g of powder	620392

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com



Acetamide Broth

Terreno liquido per la ricerca di *P. aeruginosa*
in campioni d'acqua, secondo ISO 16266.

DESCRIZIONE

Acetamide Broth è un terreno liquido utilizzato per la conferma di *Pseudomonas aeruginosa* con la tecnica della filtrazione su membrana.

Questo terreno è conforme con la ISO 16266 per l'analisi delle acque caratterizzate da un basso livello di flora microbica come le acque destinate al consumo umano o quelle provenienti da piscine.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Monopotassio Fosfato	1.0
Magnesio Solfato, anidro	0.2
Acetamide	2.0
Sodio Cloruro	0.2
Sodio Molibdato	0.005
Ferro Solfato, eptaidrato	0.0005
pH Finale 7.0 ± 0.5 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il potassio fosfato è l'agente tampone. Magnesio solfato, sodio molibdato e ferro solfato sono sali inorganici essential for organisms growth. L'acetamide è l'unica fonte di carbonio nel terreno. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. L'acetamide viene deaminata dai batteri gram-negativi non fermentanti per produrre ammoniaca.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato Sospendere 3.4 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Dispensare in provette o altri contenitori finali. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

PROCEDURA DEL TEST

Filtrare i campioni d'acqua diluiti o non diluiti attraverso membrane sterili con pori di 0.45 µm di diametro. Posizionare ciascuna membrana su una piastra di *Pseudomonas* CN Agar (ref. 163592) ed incubare a 36 ± 2°C per 40-48 ore. Contare tutte le colonie che producono un pigmento blu/verde (piocianina) come *P. aeruginosa*. Utilizzare Acetamide Broth per confermare le colonie fluorescenti che non producono piocianina e le colonie di colore rossastro marrone:

- Trasferire tutte le colonie su Nutrient Agar (ref. 10044) ed incubare a 36 ± 2°C per 20-24 ore;
- Inoculare una provetta di acetamide Broth con la coltura pura ed incubare a 36 ± 2°C per 20-24 ore;
- Aggiungere 1-2 gocce di Nessler's Reagent (ref. 80283) ed osservare la produzione di ammoniaca.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo sviluppo di un colore da giallo a rosso mattone indica la produzione di ammoniaca. Nessun cambiamento di colore equivale ad una reazione negativa.

Possono essere necessari ulteriori test di conferma, ovvero Oxidase Test (ref. 88029, 88003 or 88004) e King's B Medium (ref. 11072).

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, da bianco a beige chiaro.
Terreno preparato: soluzione limpida, incolore.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare le provette a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.
Terreno in provette: 1 anno.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le provette vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: ≤ 100 UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 20-24 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Test Acetamide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Buona	Positivo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 10145	Buona	Positivo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Buona	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Buona	Negativo

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI









Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

- EN ISO 16266: 2008. Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Method by membrane filtration (ISO 16266:2006).

PRESENTAZIONE	Categoria	Confezionamento	Ref.
Acetamide Broth	Provette - Flaconi	Provette 20 x 5 ml	24154
Acetamide Broth	Provette - Flaconi	Provette 100 x 5 ml	26154
Acetamide Broth	Terreni disidratati	500 g di polvere	610392
Acetamide Broth	Terreni disidratati	100 g di polvere	620392

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net