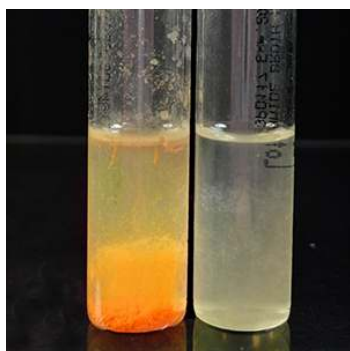


ACETAMIDE BROTH

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso



Conferma di *P.aeruginosa*: a sinistra test positivo, a destra test negativo

1 - DESTINAZIONE D'USO

Per il test di conferma di *Pseudomonas aeruginosa* secondo la norma ISO 16266.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA) *

Potassio diidrogeno fosfato	1.0 g
Sodio cloruro	0.2 g
Magnesio solfato anidro	0.2 g
Acetammide	2.0 g
Sodio molibdato	5.0 mg
Ferro solfato eptaidrato	0.5 mg

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Acetamide Broth contiene acetammide come unica fonte di carbonio per la crescita. È raccomandato dalla norma ISO 16266 per la conferma delle colonie di *Pseudomonas aeruginosa* isolate da campioni d'acqua con il metodo della filtrazione su membrana.¹

Acetamide Broth si basa sulla capacità dei batteri Gram-negativi non fermentanti di deaminare l'acetammide con produzione di ammoniaca che aumenta il pH del terreno di coltura, indicato dal cambiamento di colore del reagente di Nessler aggiunto al brodo.

Il potassio diidrogeno fosfato ha un'elevata capacità tampone, il cloruro di sodio contribuisce all'equilibrio osmotico, mentre il solfato di magnesio, il molibdato di sodio e il solfato di ferro consentono la crescita selettiva di *Pseudomonas*.

4 - PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 3,4 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Se necessario, regolare il pH a $7,0 \pm 0,5$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ con acido cloridrico o idrossido di sodio. Distribuire in aliquote da 5 mL in provette con tappo a vite e sterilizzare in autoclave a $121 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno disidratato	polvere biancastra, fine, omogenea
Aspetto del terreno in soluzione	incolore, limpido
pH finale a $20\text{-}25 \text{ }^\circ\text{C}$	$7,0 \pm 0,5$

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Acetamide Broth	Terreno in polvere	40101012	500 g (146.8 L)
Acetamide Broth	Provette pronte all'uso	5510101	20 x 5 mL

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, matracci, provette autoclavabili, anse da microbiologia, terreni di coltura e reagenti accessori.

8 - CAMPIONI

Acetamide Broth non è destinato all'isolamento primario dai campioni; viene inoculato con colonie pure isolate su terreno solido.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Trapiantare su Nutrient Agar tutte o, se non fosse possibile, il maggior numero possibile di colonie coltivate sulla membrana posizionata su terreno selettivo che richiedono la conferma. Incubare per 22 ± 2 ore a $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Controllare la purezza delle colonie ed eseguite il test dell'ossidasi su quelle che inizialmente erano di colore marrone rossastro.

Inoculare una provetta di Acetamide Broth con le colonie coltivate su Nutrient Agar ed incubare a $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ per 22 ± 2 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione, aggiungere 1 o 2 gocce di reattivo di Nessler ed esaminare le provette per verificare la produzione di ammoniaca, caratterizzata dallo sviluppo di una colorazione che varia dal giallo al rosso mattone, a seconda della concentrazione.

Contare come *P. aeruginosa* tutte le colonie che producono piocianina (pigmento blu/verde su *Pseudomonas* Agar F - King Medium B) o che sono ossidasi positive, che sviluppano fluorescenza sotto i raggi UV e che sono in grado di produrre ammoniaca dall'acetammide.¹

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T°/t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	$34\text{-}38^\circ\text{C}$ / 20-24 H/ A	crescita con viraggio di colore del reattivo di Nessler
<i>E. coli</i> ATCC 11775	$34\text{-}38^\circ\text{C}$ / 20-24 H/ A	nessuna crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection



12- CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Acetamide Broth disidratato e pronto all'uso viene testato per le caratteristiche di crescita specifiche, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Il terreno viene testato con ceppi target inoculati in coltura pura: *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC 10299, *P. aeruginosa* ATCC 14207. Dopo l'incubazione a 37°C per 24 ore, tutti i ceppi target mostrano una buona crescita nel terreno liquido ed il reattivo di Nessler aggiunto alle provette diventa di colore rosso-arancio.

Il terreno viene testato con ceppi non-target inoculati in coltura pura: *P. putida* ATCC 49128 ed *E. coli* ATCC 11775. Entrambi i ceppi sviluppano un test negativo con il reattivo di Nessler.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono da impiegare per controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno disidratato Acetamide Broth è classificato come pericoloso perché contiene acetamide, un composto cancerogeno e irritante. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nella preparazione del terreno.
- Prestare attenzione quando si aprono le provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso.
- Il terreno pronto in provetta è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno di base non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti qui descritti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Terreno in polvere

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utente è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei terreni di coltura preparati e della convalida della loro durata di conservazione, in base al tipo e alle condizioni di conservazione applicate (temperatura ed imballaggio).

Secondo la norma ISO 16266, le provette preparate in laboratorio possono essere conservate a +2°C +8°C al buio per un massimo di 3 mesi.













Provette pronto all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni le provette sono valide fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le provette estratte dal confezionamento secondario possono essere utilizzate sino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere usate immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare le provette con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 16266:2006 Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF or REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	 Fragile, maneggiare con cura
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	 Monouso

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	01/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

