

Agar Nutriente ISO

Para el aislamiento de un cultivo puro para la confirmación de *Pseudomonas aeruginosa*.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Recuento no selectivo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: ISO 16266

Principios y usos

El Agar Nutriente es un medio que se utiliza para obtener un cultivo puro para la confirmación de las presuntas colonias positivas de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas en la Base de *Pseudomonas* CN Agar (Cat. 1153).

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista para los humanos, capaz de crecer en agua con una baja concentración de nutrientes. Es por esto 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 piscinas.

La peptona y el extracto de carne proporcionan la fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos; El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B, esencial para el crecimiento bacteriano. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico y el agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	15	Extracto de carne	1
Peptona	5	Cloruro sódico	5
Extracto de levadura	2		

Preparación

Suspender 28 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y con agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta disolver por completo. Esterilizar en autoclave a 118 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C, mezclar bien y dispensar en placas.

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 amoníaco. Incubar a 36±2 °C durante 22±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	Ámbar ligeramente opalescente	7,4±0,2

Test microbiológico

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

Condiciones de inoculación: Productividad cualitativa (10³-10⁴ CFU)

Microrganismos	Especificación
Escherichia coli ATCC 25922	Buen crecimiento
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Buen crecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

UNE-EN 12780 Quality of water. Identification and enumeration of Pseudomonas aeruginosa by membrane filtration.
EN ISO 16266 Water quality -- Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa -- Method by membrane filtration