

## Base de Agar CN Pseudomonas ISO

Cat. 1153

Para la identificación y enumeración de Pseudomonas aeruginosa por el método de filtración a través de membrana.

### Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Recuento selectivo	Pseudomonas aeruginosa
Detección	Pseudomonas aeruginosa

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 16266

### Principios y usos

La Base de Agar CN Pseudomonas se utiliza para la identificación de Pseudomonas aeruginosa mediante la técnica de filtración a través de membrana, basada en la detección de la producción de piocianina. Es una modificación de Pseudomonas P Agar (King A Medium - Cat. 1531). Este medio es recomendado por la norma ISO 16266.

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 deben comprobarse que estén libres de Pseudomonas aeruginosa en el momento de su comercialización. Este microorganismo también se puede encontrar en el agua de piscinas.

La peptona y la caseína proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La cetrimida se agrega como un agente selectivo, y el ácido nalidíxico para suprimir los contaminantes de los medios de cetrimida, como Klebsiella, Proteus y Providencia spp. El sulfato de potasio y el cloruro de magnesio proporcionan cationes para activar la producción de piocianina y mejorar la producción de pigmentos. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

### Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	13	Cetrimida	0,2
Peptona de gelatina	16	Cloruro magnésico anhidro	1,4
Ácido nalidíxico	0,015	Hidrolizado de caseína	10
Sulfato de potasio anhidro	10		

### Preparación

Suspender 50,6 gramos de medio en un litro de agua destilada. Añadir 10 ml de glicerol. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. 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 para obtener una capa de agar de al menos 5 mm de espesor. No volver a fundir el medio.

### 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 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 amoníaco (+)

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	Ámbar, ligeramente opalescente	7,1±0,2

## Test microbiológico

De acuerdo a ISO 11133:

Condiciones de incubación: (36±2 °C / 44±4 h).

Condiciones de inoculación: Productividad cuantitativa (100±20. Min. 50 CFU), Selectividad (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU).

Medio de referencia: TSA.

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Enterococcus faecalis ATCC 19433	Inhibición total (0)	
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición total (0)	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Buen crecimiento >50%	Colonias azul verdosas con fluorescencia bajo luz UV (360 ± 20 nm)
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Buen crecimiento >50%	Colonias azul verdosas con fluorescencia bajo luz UV (360 ± 20 nm)

## Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

## Bibliografía

UNE-EN 12780: 2002, 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