

Pseudomonas CN Agar Base ISO

LC1153

Pro identifikaci a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa* pomocí membránové filtrace

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Detekce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Odvětví aplikace: Kvalita vody

Předpisy: ISO 11133 / ISO 16266

Principy a použití

Pseudomonas CN Agar Base se používá k identifikaci *Pseudomonas aeruginosa* technikou membránové filtrace na základě detekce produkce pyocyaninu. Jedná se o modifikaci Pseudomonas P Agar (King A Medium - LC1531). Toto médium je doporučeno normou 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.

Pepton a kasein poskytují dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Cetrimid se přidává jako selektivní činidlo a kyselina nalidixová k potlačení kontaminantů cetrimidových médií, jako jsou *Klebsiella*, *Proteus* a *Providencia* spp. Síran draselný a chlorid hořečnatý poskytují kationty k aktivaci produkce pyocyaninu a zvýšení produkce pigmentu. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo.

Složení v g/l

Bakteriologický agar	13	Cetrimid	0,2
Želatinový pepton	16	Bezvodý chlorid hořečnatý	1,4
Kyselina nalidixová	0,015	Hydrolyzát kaseinu	10
Bezvodý síran draselný	10		

Typické složení v g/l * Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

Příprava

Suspendujte 50,6 g média v jednom litru destilované vody. Přidejte 10 ml glycerolu. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 118 °C po dobu 15 minut. Ochlaďte na 45-50 °C, dobře promíchejte a dávkujte do destiček, abyste získali vrstvu agaru o tloušťce nejméně 5 mm. Médium znovu nerozpouštějte.

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 ± 2 °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 ± 2 °C po dobu 22 ± 2 h.
- Proveďte oxidázový test na červenohnědé kolonie.
- Kolonie s oxidázou (+) proklepněte na médium King B (LC1532) a zkontrolujte produkci fluorescence.
- Inkubujte při teplotě 36 ± 2 °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 ± 2 °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	Jantarový lehce opalizující	7,1±0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Inkubační podmínky: (36±2 °C / 22±2 h)

Podmínky očkování: Kvantitativní produktivita (100±20.Min.50 CFU), selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Referenční média: TSA (LC1068).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Celková inhibice (0)	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Celková inhibice (0)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Dobry růst >50 %	Modrozelené kolonie s fluorescencí v UV světle (360± 20 nm).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Dobry růst >50 %	Modrozelené kolonie s fluorescencí v UV světle (360± 20 nm).

Skladovní

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

UNE-EN 12780: 2002, Kvalita vody. Identifikace a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa* pomocí membránové filtrace.

ČSN EN ISO 16266 Jakost vod - Detekce a stanovení počtu *Pseudomonas aeruginosa* - Metoda membránové filtrace.