



Produkt-Datenblatt

PSEUDOMONAS-SELEKTIVAGAR (CN-AGAR) (BASIS)

Zur Bestimmung und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa*
aus Wasserproben durch die Membranfiltrationsmethode
Nach DIN EN ISO 11133; EN ISO 16266:2008 (ersetzt EN ISO 12780:2002)
CP67

Zusammensetzung in g/l:

Pepton aus Gelatine	16,0
Caseinhydrolysat	10,0
Kaliumsulfat, wasserfrei.....	10,0
Magnesiumchlorid, wasserfrei	1,4
Cetrimid	0,2
Nalidixinsäure	0,015
Agar.....	13,0
pH-Wert	7,1±0,2

HERSTELLUNG (nach EN ISO 16266 / 12780)

50,6 g des Mediums werden in 990 ml destilliertem Wasser suspendiert. Zum Lösen unter Rühren erhitzen. 10 ml Glycerin zugeben (Art. Nr. 7530.1) und für 15 Minuten im Autoklaven bei 118 °C sterilisieren. Das Medium ist nach dem Autoklavieren leicht opak. In Petrischalen gießen, so dass eine etwa 5 mm dicke Agarschicht entsteht und erstarrten lassen. Beim Gießen darauf achten, dass das Medium immer gut gemischt bleibt. Das flüssige Agarmedium nicht länger als 4 Stunden aufbewahren und nicht mehrfach verflüssigen. Nicht überhitzen! Denaturiertes Cetrimid kann das Bakterienwachstum inhibieren. Die Petrischalen müssen bei 4-6 °C aufbewahrt und innerhalb von 20 Tagen verbraucht werden.

EINSATZGEBIET

Pseudomonas-Selektivagar (CN-Agar) wird vorgegeben von den Europäischen ISO Norm 16266:2008 (ersetzt 12780:2002) zur Untersuchung von Wasserproben auf die Anwesenheit von *Pseudomonas aeruginosa* auf Membranfilterplatten. Die Wasserproben werden durch sterile Membranfilter (Zelluloseester, 0,45 µm, Art. Nr. CY49.1) filtriert und die Filter auf Pseudomonas-Selektivagar inkubiert. Nach Bebrütung werden die Kolonien auf Pigmentbildung analysiert. Eine blaugrüne Farbe zeigt die Anwesenheit von Pyocyanin und damit die Art *P. aeruginosa* an. Alle fluoreszierenden oder rötlich-braunen Kolonien werden auf Nähragar (Best.-Nr. CP66.1) subkultiviert. Fluoreszierende Kolonien werden mit Hilfe von Acetamid Nährlösung (Best. Nr. CP61.1) und Neßler's Reagenz (Best.-Nr. 8132.1) auf die Ammoniakproduktion getestet um die Art *P. aeruginosa* zu bestätigen. Rötlich-braune Kolonien werden auf Oxidaseaktivität untersucht. Oxidase positive Kolonien werden auf King's B Medium (Best.-Nr. CP64) auf Fluoreszenz und mit Acetamid Nährlösung (Best. Nr. CP61.1) und Neßler's Reagenz auf Ammoniakbildung untersucht um *P. aeruginosa* zu identifizieren. Cetrimid ist in der Formulierung des Mediums als Selektivagenz enthalten, Nalidixinsäure unterdrückt Arten wie *Klebsiella*, *Proteus* und *Providencia*. Kaliumsulfat und Magnesiumchlorid stellen die Kationen bereit, die zur Aktivierung der Pyocyaninproduktion benötigt werden. Bei *P. aeruginosa* handelt es sich um ein Gram-negatives Bakterium der Familie *Pseudomonadaceae*, einen opportunistischen Krankheitserreger, der auch in Wasser mit niedrigem Nährstoffgehalt vorkommt. *P. aeruginosa* findet sich ebenfalls auf der Oberfläche von Pflanzen, ist aber vor allem als humanpathogener Mikroorganismus bekannt, der Entzündungen auf der Haut, im Urinaltrakt, in Gastrointestinalsystem, in den Atmungswegen und an Knochen und Gelenken hervorruft. Die Europäische ISO Norm 12780:2002 gibt den regelmäßigen Nachweis von *P. aeruginosa* in jedem abgepackten Trinkwasser sowie gelegentliche Untersuchungen von jedem Wasser für den menschlichen Gebrauch vor. Der Nähragar kann auch zur Darstellung von *P. fluorescens* verwendet werden. Zur Differenzierung von *P. aeruginosa* und *P. fluorescens* verwendet man die unterschiedlichen Temperaturopoptima¹:

Organismus	Wachstum			Empfohlene Inkubations-temp. zur Differenzierung	Inoculation von
	bei 4 °C	Optimum	bei 42 °C		
<i>P. aeruginosa</i>	null	35-37 °C	gut	42 °C	warmem Medium
<i>P. fluorescens</i>	gut	25-30 °C	null	4 °C	kühlem Medium

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 36 ± 2 °C für 40-48 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gut
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gehemmt
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Gehemmt

¹Naglitsch, F (1996) *Pseudomonas aeruginosa*: In: Schulze, E (Hrsg.): Hygienisch-mikrobiologische Wasseruntersuchungen, Jena, 65-71.

Achtung H400 P273

PSEUDOMONAS-SELEKTIVAGAR (CN-AGAR) (BASIS)

500 g

CP67.1

Product Data Sheet

PSEUDOMONAS CN-AGAR (BASE)

For determination and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*
 from water samples by the membrane filtration method
 Acc. DIN EN ISO 11133; EN ISO 16266:2008 (replacing 12780:2002)
 CP67

Formulation in g/l:

Gelatin peptone	16.0
Hydrolyzed casein	10.0
Anhydrous potassium sulphate.....	10.0
Anhydrous magnesium chloride	1.4
Cetrimide	0.2
Nalidixic acid.....	0.015
Agar	13.0
Final pH	7.1±0.2

PREPARATION (acc. to EN ISO 16266 / 12780)

Suspend 50.6 g of the medium in 990 ml distilled water. Solubilise under heating with frequent agitation. Add 10 ml glycerol (Prod. No. 7530.1) and sterilise for 15 minutes at 118 °C in an autoclave. Autoclaved, liquid agar is slightly opalescence. Pour into Petri dishes (at approx. 5 mm thickness) and let cool. Be sure to keep the liquid agar well mixed during pouring. Do not keep the liquid agar for more than 4 hours, and do not fluidise repeatedly. Do not overheat! Denatured cetrimide may cause inhibition of bacterial growth. The Petri dishes have to be stored in the dark at 4-6 °C. Do not use longer than 20 days.

USES

Pseudomonas Selective Agar (CN-Agar) is prescribed by European ISO Directive 16266:2008 (replacing 12780:2002) for analysing water samples to determine the presence of *Pseudomonas aeruginosa* on membrane filter plates. The water samples are filtered through sterile membrane filters (cellulose ester, 0.45 µm, Art. No. CY49.1) and the filters are incubated on *Pseudomonas* Selective Agar. After incubation is completed the colonies are analyzed for pigment formation. A bluish green colour indicates the presence of pyocyanin and subsequently which type of *P. aeruginosa*. All fluorescent or reddish-brown colonies are subcultivated on nutrient agar (Art. No. CP66.1). Fluorescent colonies are tested for ammonia production using Acetamide Broth (Art. No. CP61.1) and Neßler's reagent (Art. No. 8132.1) to confirm the species *P. aeruginosa*. Reddish-brown colonies are tested for oxidase activity. Oxidase positive colonies are tested on King's B medium (Art. No. CP64) for fluorescence and with Acetamide Broth (Art. No. CP61.1) and Neßler's reagent for ammonia production to identify *P. aeruginosa*. Cetrimide is added to the medium formulation as selective agent, nalidixic acid suppresses contaminating species like *Klebsiella*, *Proteus* and *Providencia*. Potassium sulphate and magnesium chloride provide cations necessary for pyocyanin production. *P. aeruginosa* is a Gram negative bacteria belonging to the *Pseudomonadaceae* family, an opportunistic pathogen, which can also be found in water with low nutrient content. *P. aeruginosa* can also be detected on the surface of plants, is however primarily known as a human pathogenic micro-organism which causes inflammation to the skin, the urinary tract, the gastro-intestinal system, the respiratory tract and to bones and joints. European ISO Standard 12780:2002 prescribes regular detection of *P. aeruginosa* in all prepacked drinking water in addition to sporadic analysis of all types of water for human consumption. This nutrient agar may also be used for isolation of *P. fluorescens*. For differentiation of *P. aeruginosa* and *P. fluorescens* use the differential temperature optima as follows¹:

Organism	Growth			Recommended Incubation-temp. for differentiation	Inoculation of
	at 4 °C	Optimum	at 42 °C		
<i>P. aeruginosa</i>	null	35-37 °C	good	42 °C	warm medium
<i>P. fluorescens</i>	good	25-30 °C	null	4 °C	cool medium

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 36 ± 2 °C and observed after 40-48 hours.

Microorganisms	Growth
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Good
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibited
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibited

¹Naglitsch, F (1996) *Pseudomonas aeruginosa*: In: Schulze, E (editor): Hygienisch-mikrobiologische Wasseruntersuchungen, Jena, 65-71.

Warning H400 P273

PSEUDOMONAS CN-AGAR (BASE)

500 g

CP67.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoenperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
 Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 07/2021

