

Pseudomonas CN Agar

Selective medium for detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*, according to ISO 16266.

TYPICAL FORMULA* (Per Litre of Purified Water)

Gelatin Peptone	16.0 g
Casein Hydrolysate	10.0 g
Potassium Sulfate	10.0 g
Magnesium Chloride	1.4 g
Agar	15.0 g
Glycerol	10.0 ml
Cetrimide	0.2 g
Nalidixic Acid	0.015 g
Final pH 7.1 ± 0.2	

*Formula may be adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

DESCRIPTION

Pseudomonas CN Agar is a selective medium recommended by ISO 16266 for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* in water, based on pyocyanin production. This medium can also be used for testing food and environmental samples.

PRINCIPLE

Gelatin peptone and casein hydrolysate provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals. Potassium sulfate and magnesium chloride stimulate pyocyanin production. Agar is the solidifying agent. Glycerol is a carbon and energy source. Cetrimide (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) is a quaternary ammonium compound that inhibits a wide variety of organisms. Nalidixic acid is effective against both Gram-positive and Gram-negative bacteria other than *Pseudomonas aeruginosa*.

TECHNIQUE

Following ISO 16266, filter volumes of diluted or undiluted water sample through 0.45 µm sterile membranes and then transfer the filter to the agar surface.

Alternatively, inoculate the plates by streak/spread method to obtain well isolated colonies.

Incubate plates at 36 ± 2°C for 40-48 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

Examine the membranes for growth and fluorescence under UV light after 20-24 h and 40-48 h.

- Count all colonies that produce the green-blue pigment as confirmed *Pseudomonas aeruginosa*.
- Count all non-pyocyanin producing colonies that fluoresce as presumptive *Pseudomonas aeruginosa*. Confirm by using Acetamide Broth (ref. 24144).
- Count all other reddish-brown non-pigmented colonies that do not fluoresce as presumptive *Pseudomonas aeruginosa*. Confirm by using the oxidase test (ref. 88029, 88003 or 88004), Acetamide Broth and King's B Medium (ref. 11072).

STORAGE

10-25°C away from light, until the expiry date on the label. Eliminate if signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.

REFERENCES

- EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- UNI EN ISO 16266:2006. Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration.
- Goto S. and S. Enomoto (1970) Nalidixic acid cetrimide agar. A new selective plating medium for the selective isolation of *P. aeruginosa*. Jpn. J. Microbiol. 14:65.
- Brown V.L. and E.J.L. Lowbury (1965) Use of an improved Cetrimide Agar Medium and of culture methods for *P. aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 18:752.
- King E.O., M.K. Ward and D.E. Raney (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. 44, 301.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Pseudomonas CN Agar

STORAGE

10-25°C

pH OF THE MEDIUM

7.1 ± 0.2

USE

Pseudomonas CN Agar is a selective medium used for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* in water (ISO 16266), food and environmental samples

SHELF LIFE

6 months

QUALITY CONTROL

Appearance of Medium: Amber, slightly opalescent

Expected Cultural Response:

Control strains		Incubation	Criteria	Specification
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	40-48 h/ 36 ± 2°C	Good growth ($P_R \geq 0.5$)	Blue-green colonies with fluorescence under UV light (360 ± 20 nm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026			
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087		Inhibited	---
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013			

A productivity ratio (P_R) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PACKAGING

Ref. 11034 90 mm Plate 20 (2 x 10) plates

TABLE OF SYMBOLS

LOT	Batch code	 Do not reuse	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF	Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult instructions for use	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

Pseudomonas CN Agar

Terreno selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Pseudomonas aeruginosa*, in accordo alla ISO 16266.

FORMULA TIPICA* (Per Litro di Acqua Purificata)

Peptone di Gelatina	16.0 g
Idrolizzato di Caseina	10.0 g
Potassio Solfato	10.0 g
Magnesio Cloruro	1.4 g
Agar	15.0 g
Glicerolo	10.0 ml
Cetrimide	0.2 g
Acido Nalidixico	0.015 g
pH Finale 7.1 ± 0.2	

*La formula può essere modificata e/o integrata secondo necessità per soddisfare le specifiche prestazionali.

DESCRIZIONE

Pseudomonas CN Agar è un terreno selettivo raccomandato dalla ISO 16266 per l'identificazione di *Pseudomonas aeruginosa* nelle acque sulla base della produzione di piocianina. Questo terreno può essere utilizzato anche per testare campioni alimentari e ambientali.

PRINCIPIO

Idrolizzato di caseina e peptone di gelatina forniscono amminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali necessari per la crescita batterica. Magnesio cloruro e potassio solfato promuovono la formazione di piocianina, un pigmento blu-verde che diffonde nel terreno circostante le zone di crescita di *Pseudomonas aeruginosa*. L'agar è l'agente solidificante. Il glicerolo costituisce una fonte di energia e promuove la produzione di piocianina. L'acido nalidixico ed il cetrimide, agenti antimicrobici, inibiscono i microrganismi Gram-positivi e Gram-negativi ad eccezione di *Pseudomonas aeruginosa*.

TECNICA

Seguendo la ISO 16266, filtrare i volumi del campione di acqua diluito o non diluito attraverso membrane sterili da 0,45 µm e quindi trasferire il filtro sulla superficie dell'agar.

Altrimenti distribuire omogeneamente sulla superficie del terreno il campione opportunamente diluito.

Incubare le piastre a 36 ± 2°C per 40-48 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare le membrane per verificare la crescita delle colonie e la fluorescenza alla luce UV dopo 20-24 ore e 40-48 ore.

- Contare tutte le colonie che producono il pigmento verde-blu come confermate per *Pseudomonas aeruginosa*.
- Contare tutte le colonie non produttrici di piocianina che risultano fluorescenti come presuntive per *Pseudomonas aeruginosa*. Confermare utilizzando Acetamide Broth (ref. 24144).
- Contare tutte le altre colonie non pigmentate di colore bruno-rossastro che non emettono fluorescenza come presuntive per *Pseudomonas aeruginosa*. Confermare utilizzando il test dell'ossidasi (ref. 88029, 88003 or 88004), Acetamide Broth e King's B Medium (ref. 11072).

CONSERVAZIONE

Conservare a 10-25°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso professionale. Gli operatori devono essere formati and avere esperienza nei metodi di laboratorio. Si raccomanda di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita se ci sono deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.

Consultare la scheda di dati di sicurezza (SDS) per informazioni relative ai pericoli e alle pratiche di manipolazione sicura.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. UNI EN ISO 16266:2006. Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration.
3. Goto S. and S. Enomoto (1970) Nalidixic acid cetrimide agar. A new selective plating medium for the selective isolation of *P. aeruginosa*. Jpn. J. Microbiol. 14:65.
4. Brown V.L. and E.J.L. Lowbury (1965) Use of an improved Cetrimide Agar Medium and of culture methods for *P. aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 18:752.
5. King E.O., M.K. Ward and D.E. Raney (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. J. Lab. Clin. 44, 301.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

SPECIFICHE DI PRODOTTO**DENOMINAZIONE**

Pseudomonas CN Agar

CONSERVAZIONE

10-25°C

pH DEL TERRENO

7.1 ± 0.2

IMPIEGO

Pseudomonas CN Agar è un terreno selettivo per l'identificazione di *Pseudomonas aeruginosa* nelle acque (ISO 16266), alimenti e campioni ambientali

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

6 mesi

CONTROLLO DI QUALITÀ**Aspetto del Terreno:** Terreno ambra chiaro, leggermente opalescente**Risposte Colturali Attese**Inoculo: 50-100 UFC (produttività); 10⁴-10⁶ UFC (selettività)

Incubazione: 18-24 h a 44 ± 1°C, in anaerobiosi

Ceppi di controllo		Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	40-48 h/ 36 ± 2°C	Crescita buona (P _R ≥ 0.5)	Colonie blue-verdi con fluorescenza alla luce UV (360 ± 20 nm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026			
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087		Inibito	---

Un rapporto di produttività (P_R) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero de 50%

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo

CONFEZIONAMENTO

Ref. 11034 90 mm Plate 20 (2 x 10) piastre

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT	Numero di lotto	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	

**LIOFILCHEM® S.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com