

# Pseudomonas aeruginosa. Detección y enumeración por filtración de membrana. UNE EN ISO 16266-2008.

Confirmada en 2021.

## Procedimiento

### Filtración e incubación

Filtrar los volúmenes de la muestra de agua a través de un filtro de membrana de éster de celulosa de 45 µm (ver ISO 8199) y colocar la membrana sobre una placa con agar CN

**CM0559B** Pseudomonas Agar base (ISO) (500 g) +  
**SR0102E** Pseudomonas CN Selective Supplement (ISO) (10 viales)  
**PO5076A** Agar Cetrimida (20 placas)

Incubar a 36°C ± 2°C durante 44 ± 4 h

Examinar el crecimiento en las membranas tras 22 ± 2 h y 44 ± 4 h

#### Bajo luz natural

Contar todas las colonias con color azul / verde (piocianina), como *Pseudomonas aeruginosa*.

Contar todas las colonias rojo / marrón como presuntivas *Pseudomonas aeruginosa*.

#### Confirmación

Subcultivo en Nutrient Agar  
**CM00003B** Nutrient Agar 500 g  
**PO5025A** Nutrient Agar 20 placas  
 Incubar a 36°C ± 2°C durante 22 ± 2 h

Reacción de la oxidasa (+):  
**MB0266B** Oxidase Detection Strips  
 ISO 100 tiras

Caldo Acetamida.  
**40101012** Acetamide Broth ISO (500 g)  
**24154** Caldo Acetamida 20 x 5 ml  
**80284** Reactivo de Nessler (5 ml)  
 Incubar a 36°C ± 2°C hasta 5 días

Medio King's B.  
**4019612** Pseudomonas Agar F (King's B modificado) (500 g)  
**31203** King's B Medium 20 x 5 ml  
 Incubar a 36°C ± 2°C durante 22 ± 2 h

#### Bajo luz U.V

Contar todas las colonias fluorescentes no productoras de piocianina como presuntivas *Pseudomonas aeruginosa*.

#### Confirmación

Subcultivo en Nutrient Agar  
**CM00003B** Nutrient Agar 500 g  
**PO5025A** Nutrient Agar 20 placas  
 Incubar a 36°C ± 2°C durante 22 ± 2 h

Caldo Acetamida.  
**40101012** Acetamide Broth ISO (500 g)  
**24154** Caldo Acetamida 20 x 5 ml  
**80284** Reactivo de Nessler (5 ml)  
 Incubar a 36°C ± 2°C hasta 5 días



**Recuento:** Contar todas las colonias que producen piocianina, o que sean oxidasa (+), fluorescentes bajo luz U.V. y productoras de amoníaco en Caldo Acetamida.

## SISTEMAS AVANZADOS DE ANALISIS S.L.

Camino de Renedo 13. 47155 Santovenia de Pisuerga. Valladolid.

Tno: 983 355003 - Móvil: 670 779766

C.I.F.: B47700026

[www.analisisavanzados.com](http://www.analisisavanzados.com)