

CETRIMIDE AGAR (base)

INDICAZIONI

Terreno selettivo per l'isolamento e il conteggio di *Pseudomonas aeruginosa* in prodotti biologici, farmaceutici e cosmetici. La sua composizione è conforme a quella specificata dalla Farmacopea Statunitense.

STORIA

La formula di questo terreno deriva dal terreno King A, che favorisce la produzione di piocianina da parte di *Pseudomonas aeruginosa*.

Nel 1951, Lowbury raccomandò l'impiego di cetrimide in un terreno selettivo per l'isolamento di *Pseudomonas*. La concentrazione di questo inibitore fu ridotta da Lowbury e Collins (1955) a causa della sua migliore purezza.

PRINCIPI

- Il cetrimide (bromuro di cetiltrimetilammonio) è un ammonio quaternario che inibisce un gran numero di batteri, tra cui le specie *Pseudomonas* diverse da *Pseudomonas aeruginosa*.
- La produzione di piocianina (un pigmento blu, non fluorescente, solubile in acqua e cloroformio) è stimolata dal cloruro di magnesio e dal solfato di potassio.
- Il terreno favorisce inoltre la produzione di pigmenti fluorescenti (pioverdine) da parte di alcuni ceppi di *Pseudomonas aeruginosa*.
- Gran parte dei ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* può essere identificata dall'odore di amminoacetofenone.

PREPARAZIONE

- Sospendere 46,7 g di terreno disidratato in 1 litro di acqua distillata o deionizzata.
- Aggiungere 10 mL di glicerolo.
- Portare lentamente a ebollizione, agitando fino a completa soluzione.
- Distribuire in provette o flaconi.
- Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

ISTRUZIONI PER L'USO

- Raffreddare e mantenere il terreno a 47°C.
- Versare in piastre Petri sterili.
- Lasciare solidificare su una superficie fredda.
- Asciugare la superficie dell'agar ponendo le piastre in termostato con i coperchi parzialmente aperti per il tempo strettamente necessario.
- Trasferire 0,1 mL del prodotto, e le sue diluizioni seriali, nelle piastre contenenti il terreno.
- Seminare l'inoculo sulla superficie con un triangolo sterile.
- Incubare a 37°C per 48 ore.

RISULTATI

Le colonie che mostrano le seguenti caratteristiche devono essere considerate come presunte positive:

- colonie circondate da una caratteristica pigmentazione blu o blu-verde che diventano fluorescenti sotto una luce ultravioletta a 254 nm;
- colonie mucose grigiastre; pigmentate o non pigmentate.

La presenza di piocianina può essere confermata mediante estrazione con cloroformio. *Pseudomonas aeruginosa* produce tipicamente sia piocianina che fluoescina.

Occasionalmente possono crescere anche ceppi di *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Alcaligenes* e *Aeromonas*, causando un leggero ingiallimento del terreno. Questo colore viene facilmente differenziato dalla produzione di fluoescina poiché il primo non è fluorescente.

Le colonie isolate devono essere sottoposte ai seguenti tre test di conferma:

- Ricerca dell'ossidasi con il reagente di Kovacs (soluzione 1% tetrametil-p-fenilenediammina idrocloruro).
- Produzione di piocianina sul terreno King A.
- Crescita a 42°C in Tryptone-Soy Broth (M046-17-K).

Un bacillo Gram-negativo che cresce su Cetrimide Agar è considerato *Pseudomonas aeruginosa* quando una colonia tipica può essere caratterizzata dai seguenti test:

- Ossidasi: positiva
- Piocianina: positiva
- Crescita a 42°C: positiva.

COMPOSIZIONE TIPICA (rettificabile per ottenere un rendimento ottimale)

Per 1 litro di terreno:

- Digerito pancreatico di gelatina..... 20,0 g
- Cetrimide 0,3 g
- Magnesio cloruro..... 1,4 g
- Potassio solfato..... 10,0 g
- Agar batteriologico..... 15,0 g

pH del terreno pronto per l'uso a 25°C: 7,2 ± 0,2.
500 g di polvere consentono la preparazione di 10,7 litri di terreno.

CONTROLLO DI QUALITA'

- Terreno disidratato: polvere di colore bianco-crema, omogenea e priva di grumi.
- Terreno preparato completo: agar biancastro, che può contenere un leggero precipitato dopo la sterilizzazione in autoclave.
- Tipica risposta della coltura dopo 24-48 ore di incubazione a 37°C:

Microorganismi			Crescita
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC®	10145	Buona-eccellente
<i>Escherichia coli</i>	ATCC®	25922	Inibita
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC®	13315	Inibita
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC®	25923	Inibita

CONSERVAZIONE/STABILITA'

- **Terreno disidratato:** 2-30°C.
La data di scadenza è indicata sull'etichetta.
- **Terreno preparato** (valore indicativo):
 - Flaconi: 6 mesi a 2-8°C.
 - Piastre: 1 mese a 2-8°C

BIBLIOGRAFIA

- Lowbury, E.J.L., and Collins, A.G., 1955. The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol., **8**: 47.
- Brown, V.I., and Lowbury, E.J.L. 1965. Use of an improved Cetrimide Agar Medium and of culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol., **18**: 752.
- Ministère de l'Agriculture (French). Commission XXX. Cosmétologie. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits cosmétiques.
- Pharmacopée européenne. 1983. Contrôle de la contamination microbienne dans les produits non obligatoirement stériles.
- Pharmacopée française (French). Janvier 1986. Contrôle de la contamination microbienne dans les produits non obligatoirement stériles. Solution et milieu de culture recommandés. VIII.10.
- United States Pharmacopeia 23. 1995. Microbial Limit Tests: 1681-1686.

PRESENTAZIONE

CETRIMIDE AGAR (Base)

Confezione	500 g (10,7 litri di terreno finale)
Codice	M049-17-K

Le informazioni e le specifiche contenute in questa scheda tecnica, datate 30.09.1999, sono suscettibili di modifica in qualsiasi momento, senza preavviso. Le informazioni trascritte sull'etichetta del prodotto sono prioritarie rispetto alle formulazioni o alle istruzioni descritte in questo documento.

