



Cetrimide Agar

Selective medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa*
in various types of material, according to USP/EP/JP.

DESCRIPTION

Cetrimide Agar is a selective medium used for the isolation and identification of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and nonclinical specimens.

This medium complies with the recommendations of the harmonized method in the United States Pharmacopoeia (USP), European Pharmacopoeia (EP) and Japanese Pharmacopoeia (JP) for use in the examination of non-sterile products for specific microorganisms.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Gelatin	20.0
Magnesium Chloride	1.4
Dipotassium Sulfate	10.0
Cetrimide	0.3
Agar	13.6
Glycerol	10.0 ml
Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of gelatin provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Magnesium chloride and potassium sulfate enhance the production of water-soluble pigments, pyoverdin (fluorescein) and pyocyanin, which combine to yield the bright green color characteristic of *P. aeruginosa*. Cetrimide (cetyltrimethylammonium bromide) is the selective agent with bactericidal activity against a broad range of Gram-positive organisms and some Gram-negative bacteria. Agar is the solidifying agent. Glycerol is a source of carbon.

PREPARATION

- | | |
|--------------------------|---|
| <u>Medium in bottles</u> | Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes. |
|--------------------------|---|

TEST PROCEDURE

Inoculate the plates by streak/spread method directly from the specimen or subculture after recovery on a suitable medium such as Tryptic Soy Broth (ref. 24444) or Tryptic Soy Broth + 1% Tween 80 (ref. 24128) if the presence of antimicrobials in the material to be examined is suspected. Incubate the plates aerobically at 30-35°C for 18-72 hours.

INTERPRETING RESULTS

Pseudomonas aeruginosa cultivates with yellow-green to blue-green colonies which fluoresce under UV light. Pigment production along with a positive oxidase reaction (ref. 88029) typically identify *P. aeruginosa*. However, some strains of *P. aeruginosa*, particularly the mucoid ones, may not produce pyocyanin, as well as displaying a slow oxidase reaction and may therefore require further tests to confirm identification.

APPEARANCE

Slightly opalescent, light amber, with precipitate.

STORAGE

Store at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Medium in bottles: 2 years.

Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU.

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU.

Incubation conditions: 18-24 h at 30-35°C.

QC Table.

Microorganism		Specification
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Good growth, yellow-green to blue-green colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 10145	Good growth, yellow-green to blue-green colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Good growth, yellow-green to blue-green colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Inhibition
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inhibition

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use and must be used by properly trained operators only.

DISPOSAL OF WASTE

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

BIBLIOGRAPHY

1. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of *Pseudomonas* species and other Non- Glucose Fermenters. Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE.Bacteriology – Identification, ID 17. Issue no: 3, issue date: 13.04.15.
2. European Pharmacopoeia 6.5 (2009) 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008) Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
5. Brown, V.I. and E.J. Lowbury (1965) Use of an improved cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 18:752-6.
6. Lowbury, E. J. L., and A. G. Collins (1955) The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 8:47.

PRESENTATION	Contents	Ref.
Cetrimide Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates
Cetrimide Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates
Cetrimide Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles
Cetrimide Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro Diagnostic Medical Device</i>	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





Cetrimide Agar

Terreno selettivo per la ricerca di *Pseudomonas aeruginosa*
in varie tipologie di materiali, secondo USP/EP/JP.

DESCRIZIONE

Cetrimide Agar è un terreno selettivo utilizzato per l'isolamento e l'identificazione di *Pseudomonas aeruginosa* da campioni clinici e non clinici.

Questo terreno è conforme alle raccomandazioni del metodo armonizzato delle Farmacope Americana (USP) Europea (EP) e Giapponese (JP) per l'uso nell'esame di prodotti non sterili per microrganismi specifici.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Pancreatico di Gelatina	20.0
Magnesio Cloruro	1.4
Dipotassio Solfato	10.0
Cetrimide	0.3
Agar	13.6
Glicerolo	10.0 ml
pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di gelatina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Magnesio cloruro e potassio sulfato stimolano la produzione dei pigmenti solubili in acqua, pioverdina (fluoresceina) e piocianina, che combinano per formare il colore verde brillante caratteristico di *P. aeruginosa*. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il glucosio è il carboidrato fermentabile. Il cetrimide (bromuro di cetiltrimetilammonio) è l'agente selettivo con attività battericida contro un'ampia gamma di microrganismi Gram positivi ed alcuni batteri Gram negativi. L'agar è l'agente solidificante. Il glicerolo è una fonte di carbonio.

PREPARAZIONE

- | | |
|---------------------------|---|
| <u>Terreno in flaconi</u> | Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi. |
|---------------------------|---|

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare le piastre per spatalamento o per striscio, direttamente con il campione o con il brodo di coltura ottenuto utilizzando un terreno adatto per il recupero dei microrganismi come ad esempio Tryptic Soy Broth (ref. 24444); se si sospetta la presenza di antimicrobici nel materiale da esaminare è opportuno utilizzare un terreno contenente agenti neutralizzanti come Tryptic Soy Broth + 1% Tween 80 (ref. 24128). Incubare le piastre in atmosfera aerobica a 30-35°C per 18-72 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Pseudomonas aeruginosa coltiva con colonie da giallo-verde a blu-verde che fluorescono sotto luce UV. La produzione di pigmento insieme alla reazione positiva dell'ossidasi (ref. 88029) identificano tipicamente *P. aeruginosa*. Comunque, alcuni ceppi di *P. aeruginosa*, soprattutto quelli mucoidi, possono non produrre piocianina ed esibire una reazione di ossidasi lenta e richiedere pertanto ulteriori test per confermare l'identificazione.

ASPETTO

Ambra chiaro, leggermente opalescente, con precipitati.

CONSERVAZIONE

Conservare a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno in flaconi: 2 anni.
Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC.

Condizioni di incubazione: 18-24 ore a 30-35°C.

Tabella CQ.

Microrganismo		Specifiche
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Crescita buona, colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 10145	Crescita buona, colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Crescita buona, colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Inibizione
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inibizione

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of *Pseudomonas* species and other Non- Glucose Fermenters. Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE.Bacteriology – Identification, ID 17. Issue no: 3, issue date: 13.04.15.
2. European Pharmacopoeia 6.5 (2009) 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008) Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
5. Brown, V.I. and E.J. Lowbury (1965) Use of an improved cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 18:752-6.
6. Lowbury, E. J. L., and A. G. Collins (1955) The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 8:47.

PRESENTAZIONE	Contenuto	Ref.
Cetrimide Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre
Cetrimide Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre
Cetrimide Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml
Cetrimide Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Codice del lotto	IVD	<i>In vitro Diagnostic Medical Device</i>		Fabbricante		Utilizzare entro		Fragile, maneggiare con cura
REF	Numero di catalogo		Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> saggi		Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

