



ÁGAR CETRIMIDA

USO

O Ágar Cetrimida é um meio seletivo para o isolamento e contagem de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras biológicas de origem animal e produtos farmacêuticos e cosméticos. Sua composição é a dada pela Farmacopéia Americana.

HISTÓRIA

A fórmula deste meio foi derivada do meio King A, favorecendo a produção de piocianina por *Pseudomonas aeruginosa*. Em 1951, Lowbury recomendou o uso do cetrimide em um meio seletivo para o isolamento de *Pseudomonas*. A concentração do inibidor foi reduzida por Lowbury e Collins (1955) como um resultado do aumento da pureza.

PRINCÍPIOS

- A cetrimida (brometo de cetiltrimetilamônio) é um composto quaternário de amônio que inibe um grande número de bactérias incluindo espécies de *Pseudomonas* exceto *Pseudomonas aeruginosa*.
- A produção de piocianina (um pigmento azul, não-fluorescente, solúvel em água e clorofórmio) é estimulada pelo cloreto de magnésio e sulfato de potássio.
- O meio também favorece a produção de pigmentos fluorescente (pioverdinas) por algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- A maioria das espécies de *Pseudomonas aeruginosa* podem ser identificadas pelo odor característico parecido com uva da aminoacetofenona.

PREPARAÇÃO

- Suspender 46,7 g do meio base desidratado (BK049) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
- Adicionar 10 mL de glicerina.
- Levar lentamente a ebulição, com agitação constante até dissolução completa.
- Dispensar em tubos ou frascos.
- Esterilizar em um autoclave a 121°C por 15 minutos.

NOTA:

A incompleta fusão do ágar durante a preparação poderá levar a uma significativa inconsistência na formação do gel do ágar solidificado, após esterilização e resfriamento.

INSTRUÇÕES PARA USO

- Resfriar e manter entre 44-47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis.
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Secar em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas.
- Transferir 0,1 mL do produto e suas diluições seriadas em decuplicata para placas contendo o meio.
- Espalhar o inóculo sobre a superfície com uma alça estéril.
- Incubar a 37°C por 48 horas.

RESULTADOS

A seguir, são suspeitos como positivos:

- colônias com uma pigmentação característica azul ou azul esverdeada rodeando as colônias e que tornam-se fluorescente sob a luz ultravioleta de 254 nm;
- colônias mucosas acinzentadas, pigmentadas ou não.
- A presença da piocianina pode ser confirmada por extração com clorofórmio. *Pseudomonas aeruginosa* tipicamente produz ambos piocianina e fluoresceína.
- Ocasionalmente, cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Alcaligenes* e *Aeromonas* podem crescer também, causando um ligeiro amarelamento do meio. Esta cor é facilmente diferenciada da produção de fluoresceína, uma vez que não forma fluorescência.

Colônias isoladas são submetidas aos três testes de confirmação a seguir:

- Detecção de oxidase pelo método de Kovacs (solução 1% de cloridrato de tetrametil-p-fenilenediamina).
- Produção de piocianina no meio King A.
- Crescimento a 42°C em Caldo Triptona-soja (BK046).

Um bacilo Gram-negativo crescendo em ágar Cetrimide é considerado com sendo *Pseudomonas aeruginosa* quando uma colônia típica possa ser caracterizada com os seguintes testes:

- ⊕ Oxidase: positivo
- ⊕ Piocianina: positivo
- ⊕ Crescimento a 42°C: positivo

Ocasionalmente, cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Alcaligenes* e *Aeromonas* podem crescer e provocar um ligeiro amarelamento do meio. Esta pigmentação pode ser facilmente diferenciada da produção de fluoresceína uma vez que a pigmentação deste parasita não fluoresce sob a luz UV.

COMPOSIÇÃO TÍPICA do meio base

(pode ser ajustada para se obter um melhor desempenho)

Para 1 litro de meio:

- Peptona pancreática de gelatina.....20,0 g
- Cetrimida.....0,3 g
- Cloreto de magnésio..... 1,4 g
- Sulfato de potássio..... 10,0 g
- Ágar Bacteriológico..... 15,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,2 ± 0,2.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Meio desidratado: pó branco creme, de fluxo livre e homogêneo.
- Meio completo preparado: ágar esbranquiçado, pode conter um leve precipitado após autoclavagem.
- Típica resposta da cultura após 48 horas de incubação entre 35-37°C (Farmacopéia Européia/ XP CEN ISO/TS 11133-2):

Microrganismos		Crescimento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Escherichia coli</i> + <i>Salmonella Enteritidis</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 9027 ATCC 8739 CIP 82.97 ATCC 6538	≥ 10 colônias características

- Típica resposta da cultura após 48 horas de incubação a 37°C (XP CEN ISO/TS 11133-2, método qualitativo de inoculação):

Microrganismos		Crescimento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 10145	bom, valor 2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	bom, valor 2
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	inibido, valor 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	inibido, valor 0

ESTOCAGEM / SHELF LIFE

Meio base desidratado: 2-30°C.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

Meio preparado (valor de referência*):

- Meio base em frascos: 6 meses entre 2-8°C.
- Meio completo em placas: 1 mês entre 2-8°C, ao abrigo da luz.

EMBALAGEM

Código

Meio base desidratado:

- Frasco de 500 g

BK049HA

BIBLIOGRAFIA

Lowbury, E.J.L., and Collins, A.G., 1955. The use of a new cetrinide 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 Cetrinide Agar Medium and of culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol.,18: 752.

Ministère de l'Agriculture. Commission XXX. Cosmétologie. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits cosmétiques.

United States Pharmacopeia 26. 2003. Microbial Limit Tests, 2006-2011.

Pharmacopée européenne 4.7 Contrôle microbiologique des produits non stériles (Recherche de microorganismes spécifiés). 2.6.13.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

*O valor de referência corresponde à vida de prateleira esperada quando preparados sob condições laboratoriais normais, seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como guia e sem garantia, expressa ou implícita associada com esta informação.

As informações fornecidas na embalagem procedem de formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 16/02/2009.

Elas estão sujeitas a alterações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: BK049/A/2003-01: 6.