

# Pseudomonas-Cetrimid-Agar

Art.-Nr. CM0579

Zur selektiven Isolierung und Identifizierung von *Pseudomonas aeruginosa*



Abb.: 3 verschiedene Stämme von *P. aeruginosa* auf Pseudomonas-Cetrimid-Agar

- **Standardisiert**

Pseudomonas-Cetrimid-Agar entspricht der Zusammensetzung nach United States Pharmacopoeia (USP) XXVI<sup>1</sup> und Europäischer Pharmacopoeia (EP) IV<sup>2</sup>.

- **Selektiv**

Cetrimid als selektiver Nährbodenzusatz unterdrückt wirksam das Wachstum von Begleitflora.

- **Leichtere Identifizierung**

Verstärkte Bildung von gefärbten und fluoreszierenden, eisenbindenden Chelatoren vereinfacht die Identifizierung von *P. aeruginosa*.

- **Grundlagen**

Das amerikanische und europäische Arzneibuch schreiben die Einhaltung gewisser Grenzwerte für die aerobe Gesamtkeimzahl in pharmazeutischen Rohmaterialien und Endprodukten fest. Neben diesen Grenzwerten ist der Nachweis der Abwesenheit folgender Mikroorganismen gefordert: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. und *Escherichia coli*.

Zur Untersuchung auf Abwesenheit bestimmter Mikroorganismen wird die Probe zuerst in einem geeigneten Verdünnungsmedium, wie z. B. Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung (CM0129) gelöst oder suspendiert. Zur Wiederbelebung subletal geschädigter Zellen sollte bei  $36 \pm 1$  °C für 2-5 Stunden inkubiert werden. Im Falle von antimikrobiellen Inhaltsstoffen im Untersuchungsmaterial sollten diese durch Zusatz von neutralisierenden Agentien ausgeschaltet werden. Dies kann z. B. durch den Zusatz von 0,1 – 1% Polysorbat und/oder Lecithin zur Wiederbelebungslösung erreicht werden. Der genaue Gehalt an neutralisierenden Agentien für jedes Untersuchungsmaterial muß in Vorversuchen mit geeigneten Kontrollstämmen ermittelt werden.

Nach Inkubation werden bewachsene Lösungen auf die entsprechenden Selektivmedien ausgestrichen und verdächtige Kolonien durch weitere Tests bestätigt.

# Pseudomonas-Cetrimid-Agar

## Art.-Nr. CM0579

### Verwendungszweck

Der Nährboden stellt eine Modifikation des Mediums nach Brown und Lowbury<sup>3</sup> dar. Pseudomonas-Cetrimid Agar wird in United States Pharmacopoeia (USP) XXVI<sup>1</sup> und Europäischer Pharmacopoeia (EP) IV<sup>2</sup> empfohlen. In den A.O.A.C.-Richtlinien wird der Nährboden zur Isolierung von *P. aeruginosa* aus Kosmetika<sup>4</sup>, bzw. in den Methoden zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Oberflächen<sup>5</sup>, aufgeführt.

### Zusammenfassung

Der Zusatz von Cetrimid zum Nährboden gewährleistet hohe Selektivität. Magnesiumchlorid und Kaliumsulfat verstärken die Bildung von Pyoverdin und Pyocyanin durch *P. aeruginosa*.

### Testprinzip

Cetrimid ist eine quarternäre Ammoniumverbindung mit bakterizider Wirkung gegen eine Vielzahl grampositiver und einiger gramnegativer Organismen.

*P. aeruginosa* bildet wasserlösliche Eisenchelatoren, darunter das gelb-grün oder gelb-braun fluoreszierende Pyoverdin. Wenn sich das Pyoverdin mit dem blauen Pyocyanin mischt, entsteht die charakteristische, intensiv grüne Färbung von *P. aeruginosa*. Der Zusatz von Magnesiumchlorid und Kaliumsulfat verstärkt die Bildung dieser Eisenchelatoren.

### Typische Zusammensetzung

Gelatine-Pepton	(g/l)
	20,0
Magnesiumchlorid	1,4
Kaliumsulfat	10,0
Cetrimid	0,3
Agar	13,6

pH 7,2 ± 0,2

### Zubereitung

45,3 g Pseudomonas-Cetrimid-Agar (CM0579) in 1 l Aqua dest. suspendieren und 10 ml Glycerin zugeben. Gut vermischen und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Ansatz auf 50 °C abkühlen und in sterile Petrischalen gießen.

### Durchführung

Wie in den zitierten Standardmethoden jeweils beschrieben. In der Regel werden Platten direkt aus der nichtselektiven Anreicherung im Ausstrich- oder Spatelverfahren beimpft. Platten bei 36 ± 1 °C bis zu 48 Stunden inkubieren.

Kolonien von *P. aeruginosa* sind gelb-grün oder gelb-braun gefärbt und fluoreszieren unter UV-Licht. Eine präsumtive Identifizierung nach morphologischen Kriterien sollte durch weitere Tests wie Oxidase oder ähnlichem bestätigt werden.

### Beschaffenheit

Pseudomonas-Cetrimid-Agar (CM0579) ist ein strohfarbenes, feinfließendes Pulver.

### Vorsichtsmaßnahmen

*In vitro*-Diagnosticum.

Den Nährboden nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Bei Verklumpungen, Verfärbungen oder anderen sichtbaren Verfallsanzeichen sollte das Produkt ebenfalls nicht eingesetzt werden.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden: fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–30 °C.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Produkte bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

### Qualitätskontrolle

#### Positivkontrolle:

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853  
(Oxoid Culti-Loop Art.-Nr.: C7650L)

#### Negativkontrolle:

*Escherichia coli* ATCC 25922  
(Oxoid Culti-Loop Art.-Nr.: C7050L)

### Literatur

1. United States Pharmacopoeia 2002. Microbial Limit Tests, United States Pharmacopoeia, 26<sup>th</sup> Ed. United States Pharmacopial Convention, Rockville, M.D.
2. European Pharmacopoeia 2002. Microbial Examination of Non-Sterile Products, (Tests for Specified Microorganisms). European Pharmacopoeia 4<sup>th</sup> Ed.
3. Brown V. I. and Lowbury R. J. L. (1965) Use of an improved Cetrimide Agar Medium and other Culture Methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Pathol. 18; 752-756.
4. Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological Analytical Manual, 8<sup>th</sup> Ed. AOAC International, Gaithersburg, M.D.
5. Official Methods of Analysis of AOAC. International 17<sup>th</sup> Edition, Rev.1, 2002.

Oxoid GmbH

Postfach 10 07 53 • D-46467 Wesel - Am Lippeglacis 4-8 • 46483 Wesel  
Telefon Service-Center (0281)152-233 • Fax (0281)152-214