

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

CETRIMIDE AGAR

PHÁT HIỆN VÀ ĐỊNH LƯỢNG *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

1 MỤC ĐÍCH

Cetrimide Agar là môi trường chọn lọc để phân lập và định lượng *Pseudomonas aeruginosa* trong các mẫu sinh học có nguồn gốc động vật và trong các sản phẩm dược phẩm và mỹ phẩm. Thành phần môi trường theo Dược điển Hoa Kỳ và NF EN ISO 22717.

2 LỊCH SỬ

Công thức của môi trường này được lấy từ môi trường King A, ưu tiên sản xuất pyocyanin bởi *Pseudomonas aeruginosa*. Năm 1951, Lowbury khuyến nghị sử dụng cetrimide trong môi trường chọn lọc để phân lập *Pseudomonas*. Nồng độ của chất ức chế đã bị giảm bởi Lowbury và Collins (1955) do độ tinh khiết đã được cải thiện.

3 NGUYÊN TẮC

Cetrimide (cetyltrimethylammonium bromide) là một hợp chất amoni bậc bốn có tác dụng ức chế một số lượng lớn vi khuẩn bao gồm cả các loài *Pseudomonas* khác với *Pseudomonas aeruginosa*.

Việc sản xuất pyocyanin (sắc tố màu xanh, không huỳnh quang hòa tan trong nước và chloroform) được kích thích bởi magiê clorua và kali sunfat.

Môi trường tạo điều kiện cho việc sản xuất các sắc tố huỳnh quang (pyoverdins) bởi một số chủng *Pseudomonas aeruginosa*.

Hầu hết *Pseudomonas aeruginosa* có thể được xác định bằng mùi buri đặc trưng của aminoacetophenone.

4 THÀNH PHẦN

Các thành phần có thể được điều chỉnh để đạt được hiệu quả tối ưu .

Trong 1 lít môi trường :

- Pancreatic digest of gelatin	20,0 g
- Glycerol	10 mL
- Cetrimide	0,3 g
- Magnesium chloride	1,4 g
- Sulfate de potassium	10,0 g
- Bacteriological agar	13,6 g

pH của môi trường chuẩn bị sẵn ở 25 °C : $7,2 \pm 0,2$.

Đối với 45,3 g môi trường khan BK049

- Pancreatic digest of gelatin..... 20,0 g
- Cetrimide 0,3 g
- Magnesium chloride..... 1,4 g
- Potassium sulfate 10,0 g
- Bacteriological agar 13,6 g

Không cung cấp Glycerol

Đối với 1 lít môi trường chuẩn bị sẵn (BM184)

- Pancreatic digest of gelatin 20,0 g
- Glycerol 10 mL
- Cetrimide 0,3 g
- Magnesium chloride 1,4 g
- Potassium sulfate 10,0 g
- Bacteriological agar 13,6 g

5 CHUẨN BỊ

- Pha 45,3 g môi trường khan (BK049) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Thêm 10 mL glycerol.
- Đun từ từ đến sôi, khuấy liên tục cho đến khi tan hoàn toàn.
- Chia vào ống hoặc bình.
- Vô trùng trong nồi hấp ở 121°C trong 15 phút.
- Làm nguội và giữ môi trường ở nhiệt độ 44-47°C.
- Đổ vào đĩa petri và để đông lại trên bề mặt lạnh.

Nồng độ
45,3 g/L
+ 10 mL of glycerol

Vô trùng :
15 phút - 121 °C

Sử dụng môi trường chuẩn bị sẵn :

- Làm tan chảy môi trường (nếu đã được chuẩn bị trước) hoặc sử dụng môi trường chuẩn bị sẵn có chứa glycerol (BM184), trong khoảng thời gian tối thiểu cần thiết để đạt được tổng thể tích môi trường hóa lỏng.
- Làm nguội và duy trì môi trường ở 44-47 °C.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Làm khô đĩa trong nồi ủ với nắp để hở một phần.
- Sử dụng loop tiết trùng để cấy lên bề mặt thạch.
- Ủ ở 30-35 °C
 - 24 - 48 giờ, như quy định của NF EN ISO 22717 cho các sản phẩm mỹ phẩm.
 - 18 - 72 giờ theo Dược điển, đối với các sản phẩm dược phẩm.

Cấy :
Cấy trên bề mặt

Ủ :
18-72 giờ ở 30-35 °C

7 KẾT QUẢ

Pseudomonas aeruginosa có thể hiện diện theo các dạng sau :

- sắc tố màu vàng-xanh đặc trưng và huỳnh quang dưới ánh sáng tia cực tím ở bước sóng 254nm..
- khuẩn lạc màu xám, nhầy, có hoặc không có sắc tố.

Chú ý :

Đôi khi một số chủng *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Alcaligenes* và *Aeromonas* cũng có thể phát triển, tạo ra một màu vàng nhẹ của môi trường. Màu này dễ dàng phân biệt với sản xuất fluorescein, vì trước đây không phát huỳnh quang.

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường khan : bột màu trắng kem, đồng nhất, chảy tự do.

Môi trường pha sẵn hoàn toàn : thạch màu hơi trắng.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 48 giờ và ủ ở 32,5 °C, chất cấy $\leq 10^2$ vi sinh vật

Vi sinh vật		Tăng trưởng theo lý thuyết (P_R : Productivity Ratio)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	$P_R \geq 50 \%$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	$P_R \geq 50 \%$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	$P_R \geq 50 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	ức chế
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	ức chế

9 BẢO QUẢN

Môi trường khan : 2-30 °C.

Môi trường chuẩn bị sẵn trong lọ : 2-8 °C.

Hạn sử dụng được ghi trên bao bì.

Môi trường pha sẵn hoàn toàn trong lọ (*) : 180 ngày ở 2-8 °C.

Môi trường đồ đĩa hoàn chỉnh (*) : 30 ngày ở 2-8 °C.

(*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường khan (base) :

Chai 500 g.....BK049HA

Môi trường chuẩn bị sẵn :

10 x 100 mL.....BM18408

11 THAM KHẢO

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.

NF EN ISO 22717. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiques.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

Thông tin cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn các công thức hoặc hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần thông báo trước.

Mã tài liệu : TDS CETRIMIDE_EN v9

Ngày tạo : 01-2003

Cập nhật : 04-2016

Nguồn gốc sửa đổi : cập nhật chung.