



## Cetrimide Agar

Medium for isolation and differentiation of *Pseudomonas aeruginosa*.

### INTENDED PURPOSE

Selective medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in various types of material, according to USP/EP/JP. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

### DESCRIPTION

Cetrimide Agar is a selective medium for the isolation and identification of *Pseudomonas aeruginosa* from samples of various origins, such as clinical specimens and pharmaceutical products. Bacterial detection on this medium is based on an enhanced production of a number of water-soluble iron chelators, including pyocyanin and pyoverdin.

Its formula complies with the performance requirements in the harmonized chapters of the European, United States, and Japanese Pharmacopoeias.

### TYPICAL FORMULA\*

	(g/litre)
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	

\*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

### 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, pyoverdine (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

#### Dehydrated medium

Suspend 46.7 g of the powder in 990 ml of distilled or deionized water. Add 10 ml of Glycerol Supplement. Mix well. Heat to boil until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

#### Medium in bottles

Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (losing 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.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Autoclave, water bath, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

### SPECIMENS

Clinical specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection.

Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

## TEST PROCEDURE

Ensure there is no visible moisture on the plates before use.

### For use in medical microbiology

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture to obtain well-isolated colonies.

Incubate aerobically at  $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$  for 18-72 h.

**Note:** Incubation time and temperature vary according to the type of specimen and the microorganisms being tested for. The user is responsible for choosing the appropriate parameters for the intended use, in accordance with current standards.

### For use in industrial bacteriology:

Following the harmonized USP/EP/JP method for microbiological examination of non-sterile products, inoculate the sample in Tryptic Soy Broth, then subculture on a Cetrimide Agar plate and incubate at  $30-35^\circ\text{C}$  for 18-72 hours.

For more details, consult appropriate guidance.

## 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 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.

## STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at  $10-30^\circ\text{C}$ , in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at  $10-25^\circ\text{C}$  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

Dehydrated medium: 4 years.

Medium in bottles: 2 years.

Ready-to-use plates: 6 months.

## QUALITY CONTROL

**Appearance of Glycerol Supplement:** Dense colorless substance of oily appearance.

**Appearance of Dehydrated Medium:** Free-flowing, homogeneous, light-beige.

**Appearance of Prepared Medium:** Slightly opalescent, light amber with precipitate.

### Expected Cultural Response:

Control strain		Inoculum	Incubation	Criteria	Specification
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026 (ATCC® 9027; NCTC 12924)	50-100 CFU	18-72 h / $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$	Good growth ( $P_R \geq 0.5$ )	Yellow green to blue-green colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024 (ATCC® 10145; NCTC 10332)				Yellow green to blue-green colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025 (ATCC® 27853; NCTC 12903)				Yellow green to blue-green colonies
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012 (ATCC® 8739; NCTC 12923)	$10^4-10^6$ CFU	72 h / $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$	Inhibition	---
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)			Inhibition	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00193 (ATCC® 6538; NCTC 10788)			Inhibition	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)			Inhibition	---

A productivity ratio ( $P_R$ ) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Cetrimide Agar was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

## LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Growth depends on the requirements of each individual microorganism. It is therefore possible that certain strains which have specific requirements (substrate, temperature, incubation conditions, etc.) may not develop. Occasionally some enteric organisms (e.g. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*) will exhibit a slight yellowing of the medium; however, this coloration is easily distinguished from fluorescein production because this yellowing does not fluoresce.

Additional testing such as biochemical tests and serological procedures should be performed to confirm the findings and a diagnosis of *P. aeruginosa*.

Cetrimide Agar is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results.

## WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

## DISPOSAL OF WASTE

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

## BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

## TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

**See ordering info on the next page.** There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit [liofilchem.com](http://liofilchem.com)

Product	Format	Packaging	Ref.
Cetrimide Agar	Plate 90 mm	20 plates	10033
	Bottle	6 x 100 ml	402270
		6 x 200 ml	412270
	Dehydrated media	100 g	620041
		500 g	610041
5 kg		6100415	
Glycerol Supplement	Bottle	4 x 50 ml	80021

### Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2024-06-07	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (\*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (\*) or its local representative and the National Competent Authority.

\*Please login to <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID and password required) and click on Complaint.

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)



## Cetrimide Agar

Terreno selettivo per l'isolamento e la differenziazione di *Pseudomonas aeruginosa*

### USO PREVISTO

Terreno selettivo per la ricerca di *Pseudomonas aeruginosa* in varie tipologie di materiali, in accordo a USP/EP/JP. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

### DESCRIZIONE

Cetrimide Agar è un terreno selettivo per l'isolamento e l'identificazione di *Pseudomonas aeruginosa* da campioni di varia origine, come campioni clinici e prodotti farmaceutici. Il rilevamento dei batteri su questo terreno è basato su una maggiore produzione di numerosi chelanti del ferro idrosolubili, tra cui piocianina e pioverdina.

Questo terreno è conforme alle esigenze di performance dei capitoli armonizzati delle farmacopee europea, americana e giapponese.

### FORMULA TIPICA\*

	(g/litro)
Digerito Pancreatico di Gelatina	5.0
Magnesio Cloruro	1.4
Dipotassio Solfato	10.0
Cetrimide	0.3
Agar	13.6
Glicerolo	10.0
	ml
Agar	15.0

pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C

\*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

### PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di gelatina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Magnesio cloruro e potassio solfato 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

#### Terreno disidratato

Sospendere 46.7 g di polvere in 990 ml di acqua distillata o deionizzata sterile. Aggiungere 10 ml di Glycerol Supplement. Mescolare bene. Riscaldare e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti.

#### Terreno in flaconi

Sciogliere il contenuto di un flacone a bagnomaria a 100°C (con il tappo leggermente svitato) 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 evitando la formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: autoclave, bagnomaria, piastre Petri sterili, provette, anse da inculo, tamponi, incubatore, microrganismi per il controllo qualità.

## CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici dovrebbero essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta.

Dovrebbero essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.

Fare riferimento alle linee guida specifiche per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

## PROCEDURA DEL TEST

Assicurarsi che non vi sia umidità visibile sulle piastre prima dell'uso.

### Uso in microbiologia medica

Inoculare le piastre strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar o eseguire la semina da una coltura di arricchimento per ottenere colonie ben isolate.

Incubare in aerobiosi a  $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$  per 24-48 ore.

### Uso in batteriologia industriale

Seguendo il metodo armonizzato USP/EP/JP per l'esame microbiologico di prodotti non sterili, inoculare il campione nel Tryptic Soy Broth, quindi effettuare una subcoltura su una piastra Cetrimide Agar e incubare a  $30-35^\circ\text{C}$  per 18-72 ore.

Per maggiori dettagli consultare le guide appropriate.

## 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 identificano tipicamente *P. aeruginosa*.

Comunque, alcuni ceppi di *P. aeruginosa*, soprattutto quelli mucoidi, possono non produrre piocianina e potrebbero avere una reazione all'ossidasi lenta e richiedere, pertanto, ulteriori test per confermare l'identificazione.

## CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare la polvere a  $10-30^\circ\text{C}$ , in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale ben chiuso. Conservare i flaconi e le piastre preparate a  $10-25^\circ\text{C}$  al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata in etichetta o se il prodotto presenta segni di contaminazione o di deterioramento.

## VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

## CONTROLLO QUALITÀ

**Aspetto del Glycerol Supplement:** Sostanza densa inodore di aspetto oleoso.

**Aspetto del Terreno Disidratato:** Granulometria fine, omogeneo, beige-chiaro.

**Aspetto del Terreno Preparato:** Leggermente opalescente, ambra chiaro con precipitati.

### Risultati Attesi dei Test Colturali:

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026 (ATCC® 9027; NCTC 12924)	50-100 CFU	18-72 h / $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$	Crescita buona ( $P_R \geq 0.5$ )	Colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024 (ATCC® 10145; NCTC 10332)				Colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025 (ATCC® 27853; NCTC 12903)				Colonie da giallo-verde a blu-verde
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012 (ATCC® 8739; NCTC 12923)	$10^4-10^6$ CFU	72 h / $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$	Inibizione	---
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)				Inibizione

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00193 (ATCC® 6538; NCTC 10788)			Inibizione	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)			Inibizione	---

Un rapporto di produttività ( $P_R$ ) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero del 50%.

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

### CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance per Cetrimide Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi CQ sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

### LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta inadeguata del campione, da un trasporto inadeguato, da un'elaborazione inadeguata da parte del laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti prestazionali, prima dell'operazione per evitare potenziali errori.

La crescita dipende dalle esigenze di ogni singolo microorganismo. È tuttavia possibile che alcuni ceppi di *P. aeruginosa* dotati di specifiche esigenze (substrato, temperatura, atmosfera di incubazione, ecc.) non siano in grado di svilupparsi.

Occasionalmente alcuni organismi enterici (ad esempio *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*) presenteranno un leggero ingiallimento del terreno; tuttavia, questa colorazione non emette fluorescenza, dunque sarà facilmente distinguibile dalla produzione di fluoresceina.

Ulteriori test come test biochimici e procedure sierologiche dovrebbero essere eseguiti per confermare i risultati e la diagnosi di *P. aeruginosa*.

Cetrimide Agar è inteso come ausilio nella diagnosi delle malattie infettive, richiedendo ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico *in vitro* (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

### SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

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

## **BIBLIOGRAFIA**

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

## **TABELLA DEI SIMBOLI**

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

**Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.**

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (\*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (\*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

\*Si prega di effettuare il login su <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online: [liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)

## References / Riferimenti

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. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. European Pharmacopoeia 10.0 2020 2.6.12. Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests. 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specific products.
4. United States Pharmacopoeia 41 NF 33 2018 <61> Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specific products.
5. Japanese Pharmacopoeia 17th ed. 2017: 4.05 Microbial limit test I. Microbiological examination of non-sterile products: Total viable aerobic count and II. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.
6. 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.
7. 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.

## Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare



**Liofilchem® s.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

