

## GELOSE AU CETRIMIDE

### DETECTION ET DENOMBREMENT DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

#### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au cétrimide est un milieu sélectif destiné à l'isolement et au dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits biologiques d'origine animale, les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans la Pharmacopée européenne et dans la norme NF EN ISO 22717 pour le contrôle des produits cosmétiques.

#### 2 HISTORIQUE

La formule du milieu est dérivée de celle du milieu de King A qui favorise la production de pyocyanine par *Pseudomonas aeruginosa*. En 1951, Lowbury préconisa l'utilisation de cétrimide dans un milieu sélectif pour l'isolement des *Pseudomonas*. En raison de l'amélioration de la pureté de l'agent inhibiteur, sa concentration fut réduite par Lowbury et Collins en 1955.

#### 3 PRINCIPES

Le cétrimide (bromure de cétyle-triméthyl-ammonium), composé ammonium quaternaire, agit comme inhibiteur d'une grande variété de germes, y compris les espèces de *Pseudomonas* autres que *Pseudomonas aeruginosa*.

La production de pyocyanine (pigment bleu, non fluorescent, soluble dans l'eau et le chloroforme) est stimulée en présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium.

Le milieu favorise également la production de pigments fluorescents (pyoverdines) par certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

La plupart des *Pseudomonas aeruginosa* sont identifiables à leur odeur d'aminocétophénone.

#### 4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptone pancréatique de gélatine ..... 20,0 g
- Glycérol ..... 10 mL
- Cétrimide ..... 0,3 g
- Chlorure de magnésium ..... 1,4 g
- Sulfate de potassium ..... 10,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 13,6 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

##### Pour 45,3 g de base déshydratée BK049

- Peptone pancréatique de gélatine ..... 20,0 g
- Cétrimide ..... 0,3 g
- Chlorure de magnésium ..... 1,4 g
- Sulfate de potassium ..... 10,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 13,6 g

**Glycérol non fourni**

##### Pour 1 litre de prêt-à-liquéfier (BM184)

- Peptone pancréatique de gélatine ..... 20,0 g
- Glycérol ..... 10 mL
- Cétrimide ..... 0,3 g
- Chlorure de magnésium ..... 1,4 g
- Sulfate de potassium ..... 10,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 13,6 g

## 5 PREPARATION

- Mettre en suspension 45,3 g de milieu déshydraté (BK049) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajouter 10 mL de glycérol.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**  
45,3 g/L  
+ 10 mL de glycérol

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121 °C

### Utilisation du milieu prêt à liquéfier :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier, contenant le glycérol (BM184), pendant le temps minimum nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

## 6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer l'inoculum en stries à l'aide d'une anse stérile à la surface du milieu ainsi préparé.
- Incuber à 30-35 °C
  - pendant 24 heures à 48 heures, conformément à la norme NF EN ISO 22717 pour les produits cosmétiques.
  - pendant 18 à 72 heures suivant la Pharmacopée, pour les produits pharmaceutiques.

✓ **Ensemencement :**  
En surface

✓ **Incubation :**  
18 h à 72 h à 30-35 °C

## 7 LECTURE

*Pseudomonas aeruginosa* peut présenter les aspects suivants :

- pigmentation caractéristique jaune-vert et une fluorescence sous ultra-violets à 254 nm.
- colonies muqueuses, grisâtres, pigmentées ou non.

### Note :

Occasionnellement, des souches de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Alcaligenes* et *Aeromonas* peuvent cultiver en provoquant un léger jaunissement du milieu. Cette coloration se distingue aisément de la production de fluorescéine, car ce jaunissement ne fluoresce pas.

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre blanc-crème, fluide et homogène.

**Milieu préparé complet :** gélose blanchâtre.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation à 32,5 °C, inoculum  $\leq 10^2$  microorganismes

Microorganismes		Croissance théorique ( $P_R$ : Rapport de productivité)
<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	Inhibée
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée

## 9 CONSERVATION

---

**Milieu déshydraté** : 2-30 °C.

**Milieu prêt-à-liquéfier en flacons** : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

**Milieu complet préparé en flacons (\*)** : 180 jours à 2-8 °C.

**Milieu complet préparé en boîtes (\*)** : 30 jours à 2-8 °C.

(\*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

## 10 PRESENTATION

---

**Milieu déshydraté (base) :**

Flacon de 500 g ..... BK049HA

**Milieu prêt-à-liquéfier :**

Pack de 10 flacons de 100 mL ..... BM18408

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Lowbury, E.J.L., and Collins, A.G., 1955. The use of a new cetrimide 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 Cetrimide 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 spécifiés.

## 12 AUTRES INFORMATIONS

---

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : CETRIMIDE\_FR\_V6.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.