

Milieu gélosé N (Cétrimide) Cétrimide milieu gélosé (VII)

356-4805

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche des *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits pharmaceutiques.

REFERENCE(S)

• **Pharmacopée Européenne 6.0** - Méthodes biologiques - **2.6.13**. Contrôle microbiologique des produits non stériles (Recherche de microorganismes spécifiés)

• **USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007)** : Microbial Limit Tests (61) - Microbiological Tests

• **NF ISO 22717 – Cosmétiques – Microbiologie** – Détection de *Pseudomonas aeruginosa*

PRINCIPE

La production de Pyocyanine des *Pseudomonas aeruginosa* est favorisée par la présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium. Le milieu est rendu inhibiteur par la présence de cétrimide.

PRESENTATION

Déshydraté (sans glycérol)

500 g

code 356-4805

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais, sec et à l'abri de la lumière
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Hydrolysate pancréatique de gélatine	20 g
Sulfate dipotassique	10 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Cétrimide	0,3 g
Agar	13,6 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25 °C) final = 7,2 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

• TSB

Prêt à l'emploi
100 ml x 10 flacons (code 355-4967)
10 ml x 25 tubes (code 355-3454)

Déshydraté
500 g (code 356-4144)

• Eau distillée

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 100 ml avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751) ou øse bouclée
- Bain-marie avec une précision de ±1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ±1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 45,3 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Ajouter 10 ml de glycérol. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter doucement à ébullition jusqu'à complète dissolution. Répartir en tubes ou en flacons, puis stériliser à l'autoclave à 121°C (± 1°C) pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 45,3 g/l
500 grammes de poudre permettent de réaliser 11 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Ensemencer 100 ml de gélose TSB avec 10 ml d'échantillon ou avec la quantité correspondant à 1 g ou 1 ml de produit.

Homogénéiser et incubé à 36°C (\pm 1°C) pendant 18 à 48 heures. Effectuer des subcultures sur milieu cétrimide et incubé à 36°C (\pm 1°C) pendant 18 à 72 heures.

(Pharmacopée Européenne – Addendum 2001 - 2.6.13.)

NB : Pour l'examen des dispositifs ransdermiques, filtrer 50 ml de préparation comme décrit dans la méthode générale 2.6.12. sur une membrane stérile et transférer la membrane dans 100 ml de milieu TSB. Incuber à 36°C (\pm 1°C) pendant 18 à 48 heures, puis étaler sur milieu gélosé cétrimide. (Pharmacopée Européenne - Addendum 2001 - 2.6.13.).

LECTURE ET INTERPRETATION

Le produit satisfait à l'essai s'il n'est pas constaté de croissance microbienne. S'il apparaît des colonies à bâtonnets gramnégatifs, ensemen- cer le milieu liquide TSB. avec une partie des colonies morphologiquement différentes isolées et incubé à 42°C (\pm 1°C) pendant 18 à 24 heures. Le produit satisfait à l'essai s'il ne se produit pas de croissance à 42°C (\pm 1°C) (Pharmacopée Européenne - Addendum 2001 - 2.6.13.).

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mises en oeuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Cétrimide/Produits
pharmaceutiques/*Pseudomonas*
aeruginosa/Recherche/Pyocyanine/Milieu