

## GASSNER MEDIUM

### Terreno di coltura in polvere

#### 1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la rilevazione e l'isolamento di *Enterobacteriaceae* patogene negli alimenti e in altri materiali.

#### 2 – COMPOSIZIONE

##### FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA \*

Peptoni	14,000 g
Sodio cloruro	5,000 g
Lattosio	43,000 g
Blu anilina	0,620 g
Giallo metacromo	1,250 g
Agar	12,000 g

\* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

#### 3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Gassner Medium si basa sulla formulazione proposta da Gassner<sup>1</sup> per la rilevazione e l'isolamento di *Enterobacteriaceae* patogene negli alimenti e in altri materiali. Questo terreno è noto anche come Water-blue Metachrome-Yellow Lactose Agar.

Il peptone fornisce azoto, carbonio, minerali e amminoacidi per la crescita microbica. Il giallo metacromico inibisce la flora microbica Gram-positiva che l'accompagna. Il lattosio, ad alta concentrazione, è il carboidrato fermentabile e fonte di carbonio ed energia. Il colore del terreno è verde e quando il lattosio viene fermentato dai coliformi, si crea un ambiente acido che induce un viraggio di colore dell'indicatore di pH blu anilina da verde a blu intenso; a livelli di pH alcalino il colore giallo del giallo metacromo diventa sempre più evidente. Il cloruro di sodio è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico. L'agar è l'agente solidificante.

#### 4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 76 g in 1000 mL di acqua depurata fredda. Portare ad ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Mescolare bene e versare in piastre di Petri sterili.

#### 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, verde
Aspetto della soluzione	blu-verde, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

#### 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Gassner Medium	Terreno di coltura in polvere	4015012	500 g (6,57 L)

#### 7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, piastre Petri, beute, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

#### 8 – CAMPIONI

Generi alimentari e altri materiali di interesse sanitario. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.

#### 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Il metodo seguito dipenderà dal campione in prova.

Lasciare che le piastre raggiungano la temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Inoculare e seminare il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano. In alternativa, se il campione viene seminato direttamente da un tampone, far rotolare il tampone su una piccola area della superficie in corrispondenza del bordo; quindi strisciare da questa area inocolata.

Incubare in condizioni aerobiche a 35-37°C per 18-24 ore.

#### 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le specifiche caratteristiche morfologiche e cromatiche delle colonie

I coliformi crescono sul terreno con colonie blu circondate da un alone blu intenso.

Le *Enterobacteriaceae* non fermentanti il lattosio crescono con colonie gialle o verde pallido circondate da un alone dello stesso colore.

#### 11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di ogni prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°/ 18-24 H-A	buona crescita, colonie blu con alone blu
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	35-37°/ 18-24 H-A	buona crescita, colonie blu con alone blu
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	35-37°/ 18-24 H-A	inibito

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.





### 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Gassner Agar disidratato viene testato per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semi-quantitativa con i ceppi target lattosio-positivi *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736 e con i ceppi lattosio-negativi *S. Typhimurium* ATCC 14028, *P. mirabilis* ATCC 10005, *S. flexneri* ATCC 12022. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore i ceppi target mostrano una buona crescita con colonie tipiche: i coliformi crescono con colonie blu circondate da un alone blu, *S. Typhimurium* e *P. mirabilis* crescono con colonie gialle con alone giallo, mentre *S. flexneri* presenta colonie incolori.

La selettività viene valutata mediante metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre in superficie con opportune diluizioni decimali in fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non target: *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 19433. La crescita di *S. aureus* è parzialmente inibito mentre *E. faecalis* è totalmente inibito dopo incubazione a 37°C per 24 ore

### 13 – LIMITE DEL METODO

- Le colonie isolate sulle piastre devono essere identificate con test adeguati.

### 14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno di coltura deve essere utilizzato secondo le indicazioni descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego dei prodotti, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

### 15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

### 16 - BIBLIOGRAFIA

- Gassner G. Ein neuer Dreifarbenährboden zur Tyhus-Ruhr-Diagnose. Centralbl f Bakt I Orig 1918; 80:219-222.

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	Utilizzare entro	Fabbricante	
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente <n> per <n> test	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Proteggere dalla luce	Proteggere dall'umidità

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

