

m-GREEN AGAR

Terreno di coltura in polvere e piastre pronte all'uso



m-Green Agar: membrana filtrante
con colonie di *Saccharomyces cerevisiae*

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio di lieviti e muffe nelle bevande, con metodo a membrana filtrante.

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIOGIMENTO IN ACQUA *

Yeast extract	9,00 g
Destrosio	50,00 g
Peptone	10,00 g
Magnesio solfato	2,10 g
Potassio fosfato	2,0 g
Diastase	0,05 g
Tiamina	0,05 g
Verde di bromocresolo	0,026 g
Agar	23,5 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

m-Green Agar è un terreno a composizione complessa utilizzato dall'industria delle bevande per il rilevamento e il conteggio di lieviti e muffe mediante il metodo di filtrazione su membrana. Si prepara aggiungendo agar alla formulazione riportata dalla ISO 10718¹ per il conteggio di lieviti e muffe, in grado sia di essere estratti che di crescere in mezzo alcolico e nei tappi di sughero.

Il peptone e l'estratto di lievito forniscono azoto e amminoacidi, vitamine e minerali per la crescita microbica. Il destrosio è una fonte di carbonio ed energia. Il fosfato di potassio tampona il terreno. Il solfato di magnesio, la tiamina e la diastasi (una miscela contenente enzimi amilolitici) forniscono ioni, minerali e sostanze nutritive importanti per la crescita micologica. La composizione include il verde di bromocresolo che facilita la visualizzazione e il conteggio delle colonie fungine che sono verdi a causa della diffusione del colorante nelle colonie. I prodotti finali acidi delle colonie si diffondono nel terreno, riducendo il pH e provocando l'ingiallimento dell'indicatore (reazione acida) intorno alle colonie. La crescita di batteri non acidofili è inibita dal pH acido del terreno.

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 96,7 g in 1000 mL di acqua purificata 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. Il riscaldamento prolungato o eccessivo ridurrà la forza del gel dell'agar.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere
Aspetto del terreno in provetta
pH finale (20-25 °C)

Fine granulometria omogenea, verdastra
verde, limpido
4,6 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
m-Green Agar	Terreno disidratato	4015272	500 g (5,1 L)
m-Green Agar	Piastre pronte all'uso	491527	3 x 10 plates ø 55 mm

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Bevande analcoliche e alcoliche. 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

Filtrare un volume appropriato di campione sulla membrana, a seconda della carica prevista di lievito e muffa.

Adagiare la membrana sulla superficie dell'agar, in modo da evitare la formazione di bolle d'aria tra il filtro e la superficie dell'agar.

Incubare a 30 °C ± 2 °C per 72 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare il numero di colonie di lieviti e muffe per piastra e calcolare la conta microbica.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore finale 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 elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.





CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763	28-32°/ 72 H-A	buona crescita, colonie verde chiaro
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	28-32°/ 72 H-A	buona crescita
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	28-32°/ 72 H-A	inibito

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di ogni lotto di m-Green Agar disidratato e pronto all'uso (Test Batch:TB) viene testato per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato e Sabouraud Dextrose Agar (SDA).

La produttività è valutata mediante test quantitativo con i seguenti ceppi: *S. cerevisiae* ATCC 9763, *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NCPF 8841, *A. brasiliensis* ATCC 16404. I filtri sulle piastre sono inoculati con diluizioni decimali in soluzione fisiologica della sospensione batterica ed incubate a 28-32°C per 72 ore. Le colonie vengono contate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr:UFC_{TB}/UFC_{SDA}). Se Pr è ≥ 0,5 e se la morfologia e il colore delle colonie sono tipici, i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra surface drop modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland di *B. subtilis* ATCC 6633. La crescita del ceppo non target viene inibita.

13 – LIMITI DEL METODO

- Evitare il surriscaldamento e la rifusione del terreno.
- Le colonie isolate sulle piastre devono essere identificate con test specifici.

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda 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 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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Ogni piastra di questo terreno di coltura è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerarsi un "prodotto sterile" in quanto non sono soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto con biocontaminazione controllata, entro i limiti delle specifiche riportate sul Certificato di Controllo di Qualità.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni 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.
- 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

Terreno di coltura in polvere

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).

Piastre pronte all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le piastre estratte dal sacchetto di plastica possono essere utilizzate entro 7 giorni. Eliminare se vi sono segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimenti o screpolature del terreno, colore atipico, eccesso di condensa).

16 - BIBLIOGRAFIA

- ISO 10718:2015 Cork stoppers – Characterization of a low-in-germs stopper, through the enumeration of colony-forming units of yeast, moulds and bacteria, capable of both being extracted and growing in alcoholic medium.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	 Fragile, maneggiare con cura
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	 Monouso

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 1	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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

