

## VOGEL JOHNSON AGAR

Terreno di coltura in polvere



*S.aureus* su  
Vogel Johnson Agar

### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo per l'isolamento e la differenziazione di *Staphylococcus aureus*.

### 2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA (PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA)\*

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| Triptone                  | 10,000 |
| Estratto di lievito       | 5,000  |
| Mannitolo                 | 10,000 |
| Potassio fosfato bibasico | 5,000  |
| Litio cloruro             | 5,000  |
| Glicina                   | 10,000 |
| Rosso fenolo              | 0,025  |
| Agar                      | 16,000 |

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

### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Vogel Johnson Agar è preparato sulla base della formulazione descritta da Vogel e Johnson<sup>1</sup> nel 1960 come modificazione del terreno Tellurite Glycine Agar di Zebovitz, Evans e Niven<sup>2</sup> del 1955. Rispetto a quest'ultimo terreno, nel Vogel Johnson Agar vi è un contenuto maggiore di mannitolo e la presenza del rosso fenolo come indicatore di pH.

Vogel Johnson Agar è un terreno selettivo per l'isolamento e la differenziazione di *S.aureus*. Il suo uso è stato descritto per campioni clinici<sup>3</sup>, per l'esame dei cosmetici<sup>4,5</sup>, dei prodotti farmaceutici<sup>6</sup>, delle acque delle piscine<sup>7</sup>, del latte<sup>8</sup> e, addizionato di oxacillina per l'isolamento degli stafilococchi meticillino resistenti, da campioni clinici<sup>9</sup>.

Il triptone e l'estratto di lievito forniscono azoto, carbonio, minerali e vitamine per la crescita microbica; il potassio fosfato agisce da sistema tampone. Il mannitolo è inserito nel terreno come carboidrato fermentabile: *S.aureus* fermenta il mannitolo producendo una acidificazione del terreno attorno alle colonie evidenziata dal viraggio al giallo del rosso fenolo. Gli agenti selettivi del terreno (glicina, litio cloruro e potassio tellurito), inibiscono la maggior parte dei microrganismi delle vie aeree superiori, soprattutto nelle prime 24 ore di incubazione,<sup>3</sup> fatta eccezione per gli stafilococchi. Il potassio tellurito inoltre, quando viene ridotto dagli stafilococchi a tellurio, forma un precipitato nero all'interno delle colonie.

### 4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 61 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C ed aggiungere, con le cautele dell'asepsi, 20 mL di una soluzione sterile all'1% di tellurito di potassio (cat. n. 42211501). Per ottenere un substrato meno selettivo aggiungere ad 1 litro di terreno 10 mL di potassio tellurito 1%. Il terreno completo di tellurito non può essere riscaldato.

### 5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

|  |                                       |
|--|---------------------------------------|
| Aspetto della polvere                          | fine granulometria omogenea, beige    |
| Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra | rosso-arancio, lievemente opalescente |
| pH (20-25°C)                                   | 7,2 ± 0,2                             |

### 6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

| Prodotto                  | Tipo                          | REF     | Confezione    |
|---------------------------|-------------------------------|---------|---------------|
| Vogel Johnson Agar Medium | Terreno di coltura in polvere | 4021922 | 500 g (8,2 L) |

### 7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori per identificazione delle colonie. Potassium Tellurite 1% Solution (REF 42211501)

### 8 - CAMPIONI

Possono essere utilizzati campioni alimentari, farmaceutici e cosmetici. Fare riferimento alle norme ed agli Standard internazionali applicabili.

### 9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Inoculare con 0,1-1 mL di campione sospeso e diluito in acqua peptonata e distribuire su tutta la superficie della piastra. Incubare in aerobiosi a 35-37°C ed osservare dopo 24 e 48 ore. Consultare le norme e gli Standards applicabili per i dettagli delle procedure operative

### 10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

*S. aureus* coltiva con larghe colonie nere circondate da un alone giallo.

*S. epidermidis* mostra una scarsa crescita con colonie nere, senza viraggio dell'indicatore o con il viraggio al rosso più intenso.





### 11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

| CEPPI DI CONTROLLO              | INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM | RISULTATI ATTESI                        |
|---------------------------------|--------------------------|---|
| <i>S.aureus</i> ATCC 25923      | 35-37°C / 18-24 H / A    | crescita, colonie nere con alone giallo |
| <i>S.epidermidis</i> ATCC 12228 | 35-37°C / 18-24 H / A    | crescita, colonie nere                  |
| <i>E.coli</i> ATCC 25922        | 35-37°C / 18-24 H / A    | crescita inibita                        |

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

### 12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di terreno in polvere Vogel Johnson Agar vengono testati per la produttività la specificità e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo, con incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, con un ceppo target ATCC (*S.aureus* ATCC 25923) e con 2 ceppi di *S.aureus* isolati dagli alimenti. Dopo incubazione, le colonie di *S.aureus* appaiono nere, circondate da un'area di viraggio al giallo del terreno; sono anche valutate le cariche microbiche di questi ceppi e se esse sono comparabili nei due lotti, i risultati sono giudicati conformi alle specifiche.

La specificità del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo, con incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, con *S.epidermidis* ATCC 12228. Dopo incubazione, il ceppo coltiva scarsamente entro le 24 ore, con colonie nere, senza viraggio dell'indicatore o circondate da un'area di colore rosso più intenso.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate, con metodo Miles Misra modificato, diluizioni da 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-4</sup> di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 dei ceppi non target *E.faecalis* ATCC 19433, *E.coli* ATCC 25922 e *P.vulgaris* ATCC 9484. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi, *E.faecalis* ed *E.coli* risultano completamente inibiti alla diluizione 10<sup>-1</sup>, *P.vulgaris* risulta parzialmente inibito.

### 13 - LIMITI DEL METODO

- *Enterococcus faecalis* ed altri enterococchi possono esibire crescita sul terreno con una debole reazione di fermentazione del mannitolo; le colonie sono comunemente minuscole e sono facilmente differenziabili con la colorazione Gram e con il test della catalasi; enterococchi: cocchi in corte o lunghe catenelle, catalasi negativi, stafilococchi: cocchi a grappoli, catalasi positivi.<sup>4</sup>
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.

### 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](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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto 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 del prodotto, 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

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. 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 (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

### 16 - BIBLIOGRAFIA

1. Vogel TA, Johnson M. A modification of the Tellurite-Glycine Medium for use in the identification of *Staphylococcus aureus*. Public Health Lab. 1960; 18:131.
2. Zebovitz E, Evans JB, Niven Jr CF. Tellurite-Glycine Agar; a selective plating medium for the quantitative detection of coagulase-positive staphylococci. J Bacteriol 1955; 70:686.





3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
4. U.S. Food & Drug Administration. BAM: Bacteriological Analytical Manual, Chapter 23: Microbiological Methods for Cosmetics 10/31/2017
5. Curry, Graf and McEwen (ed.). 1993. CTFA microbiology guidelines. The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Washington, D.C.
6. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2008. The United States pharmacopeia 31/The national formulary 26, Supp. 1, 8-1-08, online. United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
7. Alico RK, Dragonjact MF. Evaluation of culture media for recovery of Staphylococcus aureus from swimming pools. App Environ Microbiol 1986; 51:699-702.
8. Halpin-Dohnalek MI, Marth EH. Growth of Staphylococcus aureus in milks and creams with various amounts of milk fat. J Food Prot 1989; 52:540-543
9. Flournoy DJ, Wongpradit S, Silberg SL. Screening media for detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from non-sterile body sites. Med Microbiol Immunol 1990; 179:25-30

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

| Versione    | Descrizione delle modifiche  | Data    |
|-------------|--|---------|
| Revisione 4 | Aggiornamento del contenuto e del layout   | 05/2020 |
| Revisione 5 | Modifiche a: "destinazione d'uso", "procedura dell'analisi", "precauzioni ed avvertenze", "conservazione e validità" | 05/2022 |

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

