



SUGAR FREE AGAR BASE PENICILLIN G 500 IU SELECTIVE SUPPLEMENT

Terreno di coltura in polvere e supplemento selettivo

1 - DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio di microrganismi non legati al processo di produzione dei prodotti lattiero-caseari.

2 - COMPOSIZIONE*

SUGAR FREE AGAR BASE-TERRENO DISIDRATATO

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA

Peptone di gelatina	7,5 g
Triptone	7,5 g
Sodio cloruro	5,0 g
Agar	13,0 g

PENICILLIN G 500 IU SELECTIVE SUPPLEMENT

CONTENUTO DEL FLACONE PER 100ML DI TERRENO

Penicillina G sale sodico	500 U.I.
---------------------------	----------

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La microbiologia del burro e di altri prodotti lattiero-caseari riflette la microflora presente nel latte e nell'acqua, le condizioni sanitarie delle apparecchiature di processo, l'ambiente di produzione e le condizioni in cui il prodotto viene conservato. Un gran numero di microrganismi può contaminare i latticini: batteri psicofili/psicrotrofi, batteri mesofili, sporigeni, lieviti e muffe. La stima del numero di "organismi infettivi" non direttamente coinvolti nel processo produttivo, rilevata nelle varie fasi di lavorazione, è utile per risalire alla fonte della contaminazione.

Sugar Free Agar Base si basa sulla formulazione di Ritter ed Eschmann¹, è privo di carboidrati fermentabili, ha basse caratteristiche nutritive ed è principalmente utilizzato per il conteggio di microrganismi contaminanti non direttamente coinvolti nel processo di produzione di burro e latticini.²

Integrato con penicillina G, Sugar Free Agar può essere utilizzato per il conteggio di batteri aerobi Gram-negativi mesofili come *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alkaligenes*, *Aeromonas*, *Xantomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*.³

Il terreno contiene peptoni con scarso valore nutritivo che forniscono i fattori di crescita per la crescita microbica, riducendo sostanzialmente la crescita di microrganismi legati al processo produttivo, in particolare lattobacilli, favorendo così la crescita di microrganismi alteranti. Il cloruro di sodio è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico. L'agar è l'agente solidificante.

4 - PREPARAZIONE

Sugar Free Agar

Sospendere 33 g in 1000 mL di acqua purificata fredda, portare ad ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

Sugar Free Penicillin Agar

Se è necessario un Sugar Free Penicillin Agar, suddividere il terreno dopo l'ebollizione in aliquote da 100 mL e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a circa 45°C e aggiungere il contenuto di un flaconcino di Penicillin G 500 IU Selective Supplement (REF 4240050) ricostituito con 2 mL di acqua purificata sterile. Mescolare bene e versare in piastre di Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, biancastra
Aspetto del terreno in soluzione e in piastra	giallo pallido, limpido
Aspetto del supplemento liofilizzato	pastiglia bianca, bassa e compatta di colore bianco, dopo la ricostituzione soluzione incolore, limpida
pH (20-25°C)	7,6 ± 0,2

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Sugar Free Agar Base	Terreno di coltura in polvere	4020982	500 g (15,1 L)
Penicillin G 500 IU Selective Supplement	Supplemento liofilizzato	4240050	10 flaconi, ciascuno per 100 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, piastre Petri sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 - CAMPIONI

Burro e altri prodotti lattiero-caseari. 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

1. Preparare la sospensione iniziale del campione e le diluizioni decimali con l'apposito diluente.
2. Trasferire mediante pipette sterili 1 mL del campione in esame (se liquido) o 1 mL della sospensione iniziale e 1 mL di ciascuna diluizione decimale in duplicato al centro di ciascuna piastra Petri vuota.
3. Versare circa 15 mL di Sugar Free Agar Base o Sugar Free Agar Base supplementato con penicillina G, raffreddato a circa 47°C, in ogni piastra.
4. Mescolare bene l'inoculo con il terreno e lasciare solidificare la miscela.





5. Incubare alla temperatura richiesta dall'analisi per rilevare i batteri psicrofili/psicrotrofi/mesofili (ad es. 30°C per 72 ore o 48 ore a 35°C, seguite da 48 ore a 20°C).

10 – LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare il numero di colonie per piastra e calcolare la conta microbica. Non contare le colonie puntiformi.

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 ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	30°/ 24 H-A	buona crescita
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 14207	30°/ 24 H-A	buona crescita

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

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Sugar Free Agar Base disidratato integrato con Penicillin G 500 UI Selective Supplement (REF 4240050) viene testato per la produttività e la selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività è valutata mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 14207, *A. calcoaceticus* ATCC 19606. Le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione di colonie e incubate a 30 °C per 24 ore. I ceppi mostrano una buona crescita.

La selettività è testata con il metodo della semina in superficie di Miles-Misra modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione di McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non target: *S. aureus* ATCC 25923 e *E. faecalis* ATCC 19433. La crescita del ceppo non target è totalmente inibito.

13– LIMITI DEL METODO

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

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura ed il supplemento sono destinati esclusivamente al controllo microbiologico e all'uso professionale; devono essere utilizzati da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate in materia di rischio biologico e le tecniche asettiche.
- Il terreno di base e il supplemento devono essere utilizzati in associazione secondo le indicazioni descritte.
- I terreni in polvere e i supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. L'acetato di tallio ha un'elevata tossicità. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza dei materiali.
- 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.
- Prestare attenzione quando si apre l'anello metallico delle fiale per evitare lesioni.
- Il supplemento è sterilizzato mediante filtrazione su membrana.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminazioni con il terreno in polvere, il supplemento o i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno e il supplemento non utilizzato 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 la Scheda di Sicurezza del prodotto 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 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

Terreno disidratato

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).

Supplemento selettivo

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. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Prima dell'uso esaminare il liofilizzato e il prodotto ricostituito per rilevare segni evidenti di deterioramento (es. contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

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. Ritter P., Eschmann KH. 1966, Alimenta, 5 (2): 433.
2. International Dairy Federation: Methods of sampling milk and milk products. International Standard, FIL/IDF 50 B, 1985.
3. Manuel Suisse des Denrées Alimentaires. 5° edition, deuxième volume, Chap. 56. 1988.

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	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	04/2023

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

