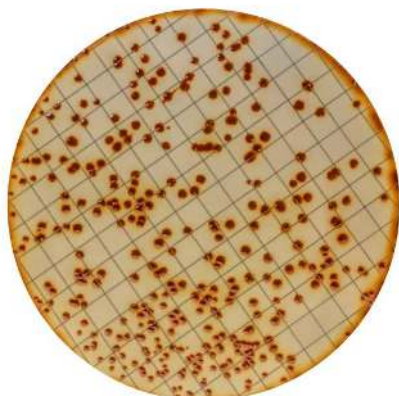




## CLARK AGAR

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso in piastre



Clark Agar: *Pseudomonas aeruginosa*

### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno di coltura per l'isolamento e l'enumerazione dei batteri eterotrofi ferroprecipitanti

### 2 - COMPOSIZIONE

**TERRENO IN POLVERE: FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA\***

Ammonio solfato	0,5 g
Sodio nitrato	0,5 g
Magnesio solfato 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
Potassio fosfato bibasico	0,5 g
Ferro ammonio citrato (III)	10,0 g
Agar	15,0 g

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

### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La biocorrosione è un fenomeno che viene solitamente attribuito a determinate specie batteriche, come ad esempio i ferrobatteri e i batteri solfato riducenti. Tuttavia, ogni batterio capace di produrre polimeri extracellulari acidi può adsorbire gli idrossidi di ferro caricati positivamente, se posti in condizioni neutre o leggermente acide<sup>1</sup>. Il Clark Agar, formulato in accordo al metodo UNICHIM MU1038/2:2002, è indicato per l'isolamento di questo tipo di batteri in acque di rete e in campioni di sedimento delle tubature. La composizione sintetica del Clark Agar fornisce tutte le sostanze necessarie per la crescita batterica, mentre l'alta concentrazione di ferro ammonio citrato (III) è l'indicatore per la reazione di ferroprecipitazione.

### 4 - PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 27 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C e dispensare in piastre Petri sterili.

### 5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea e scorrevole, marrone
Aspetto del terreno in piastra	Color mattone, limpido
pH (20-25°C)	7,2 ± 0,2

### 6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Clark Agar	Terreno di coltura in polvere	4013152	500 g (18,5 L)
		4013154	5 kg (185 L)
Clark Agar	Piastre pronte all'uso	491315	3 x 10 piastre, ø 55 mm

### 7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Bagnomaria, anse tamponi pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, piastre di Petri, beute, membrane filtranti, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

### 8 - CAMPIONI

Acqua di rete, sedimenti prelevati dalle tubazioni. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, attenersi alle regole della buona pratica di laboratorio. Consultare gli standard di riferimento per i metodi di campionamento e le procedure di trattamento dei campioni<sup>2</sup>.

### 9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Filtrare 100mL di campione attraverso una membrana sterile (dimensione dei pori 0,45 µm). Posizionare il filtro a membrana sulla superficie del terreno e assicurarsi che non vi sia aria intrappolata sotto. In caso di campioni costituiti da sedimenti, pesare e annotare il peso esatto degli stessi e sospendere in un volume appropriato di acqua sterile. Lasciare a temperatura ambiente per 10 minuti e spatolare 0,1mL della sospensione in Clark Agar oppure seminare mediante ansata. Incubare le piastre a 22 ± 1°C per 7-10 giorni.

### 10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita microbica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie. Considerare le colonie che presentano un colore rosso mattone come batteri ferroprecipitanti. Le colonie isolate possono essere sottoposte a test di identificazione biochimica. In caso di campione liquido, esprimere il risultato in UFC/100mL. Per i campioni costituiti da sedimenti esprimere il risultato come UFC/g, considerando anche la quantità d'acqua utilizzata per la sospensione del campione, oppure annotare il risultato qualitativo<sup>3</sup>.

### 11 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utilizzatore finale può eseguire il 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>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	22°C / 7 giorni/ A	Buona crescita, colonie color ruggine
<i>S. marcescens</i> ATCC 8100	22°C / 7 giorni/ A	Buona crescita, colonie color ruggine
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	22°C / 7 giorni/ A	Buona crescita, colonie color ruggine



*B. subtilis* ATCC 6633 22°C / 7 giorni/ A Buona crescita, colonie color ruggine

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

### 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di Clark Agar disidratato e pronto all'uso in piastra (Test Batch – TB) vengono testati per le caratteristiche prestazionali, comparando i risultati con un lotto precedentemente approvato (Reference Batch – RB).

La produttività viene testata mediante un test quantitativo con i ceppi target *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. marcescens* ATCC 8100, *E. aerogenes* ATCC 13048 e *B. subtilis* ATCC 6633; le membrane filtranti sul terreno vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione di colonie e le piastre incubate a 22°C per 7 giorni. Le colonie vengono enumerate sul Test Batch (TB) e su Reference Batch (RB) e viene calcolato il rapporto di produttività ( $Pr = CFU_{TB}/CFU_{RB}$ ). Se  $Pr \geq 0,7$  e se la morfologia e il colore delle colonie sono tipici, i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

### 13 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura in polvere e le piastre pronte all'uso sono destinati al controllo microbiologico e sono per uso professionale; devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno di coltura in polvere è classificato come pericoloso. Prima dell'uso, consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le buone pratiche di fabbricazione nel processo di preparazione delle piastre.
- Ciascuna piastra di questo terreno di coltura è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerarsi un "prodotto sterile" in quanto non soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti delle specifiche definite riportate sul Certificato di Controllo Qualità.
- Trattare tutti i campioni di laboratorio come potenzialmente infettivi.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminazioni con il terreno in polvere, i supplementi o 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 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.

### 14 – 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).

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

Conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni. Eliminare se vi sono segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, disidratazione, restringimenti o screpolature del terreno, colore atipico, eccesso di condensa).

### 15 - BIBLIOGRAFIA

- Fontani N., Pedroni M. *Biologia Ambientale* n°6/1994-Batteri implicati nei fenomeni di corrosione; 1994
- ISO 5667-5:2006 Water quality – Sampling – Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems.
- UNICHIM MU1038/2:2002, Acque destinate al consumo umano-ricerca dei batteri coinvolti nei fenomeni corrosive (analisi colturale) 2002: 11

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 0	Prima edizione	06/2024

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