

CHLORAMPHENICOL GLUCOSE YEAST EXTRACT AGAR

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso

1- DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo per l'isolamento e il conteggio di lieviti e muffe nel latte, prodotti caseari e altri alimenti.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA*

Estratto di lievito	5,0 g
Glucosio	20,0 g
Cloramfenicolo	0,1 g
Agar	15,0 g

* Le formule possono essere adattate e/o integrate per soddisfare i criteri di prestazione richiesti.

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Per la conta di lieviti e muffe negli alimenti, i terreni addizionati ad antibiotici hanno dimostrato risultati migliori rispetto a quelli ottenuti con terreni acidificati: sono meno inibitori delle cellule danneggiate, più efficaci nell'inibire la crescita batterica e meno suscettibili alla formazione di precipitati delle particelle alimentari a causa del loro pH più elevato¹. Il Chloramphenicol Glucose Yeast Extract Agar è raccomandato dalla ISO 6611 e dalla FIL-IDF per l'isolamento e il conteggio di lieviti e muffe nel latte e nei prodotti lattiero-caseari.² L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B, e fornisce i nutrienti fondamentali per la crescita microbica. Il glucosio è una fonte di carbonio e di energia. Il cloramfenicolo è un antibiotico termostabile ad ampio spettro, in grado di inibire un'ampia gamma di batteri Gram-negativi e Gram-positivi.

4A- INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DI COLTURA (TERRENO DISIDRATATO)

Sospendere 40,1 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione agitando frequentemente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

4B- INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO (TERRENO PRONTO IN FLACONI)

Ridisciogliere il contenuto del flacone in autoclave a $100 \pm 2^\circ\text{C}$ o in un bagnomaria a temperatura controllata (100°C). In alternativa, il flacone può essere inserito in un recipiente contenente acqua e posto su una piastra riscaldante, e portato ad ebollizione. Allentare leggermente il tappo prima del riscaldamento per permettere il cambio di pressione. Raffreddare a $47-50^\circ\text{C}$ e versare il terreno di coltura in piastre Petri sterili, in condizioni asettiche.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione e del flacone	limpido, giallo chiaro
pH (20-25°C)	$6,6 \pm 0,2$

6-MATERIALI FORNITI-CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Chloramphenicol Glucose Yeast Extract Agar	Terreno in polvere	4012892	500 g (12,5 L)
		4012894	5 kg (125 L)
Chloramphenicol Glucose Yeast Extract Agar	Terreno pronto all'uso in flaconi	5112892	6 x 100 mL

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8-CAMPIONI

Latte, prodotti caseari e altri alimenti. Fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili e operare in conformità alle buone pratiche di laboratorio per la raccolta, la conservazione e il trasporto dei campioni al laboratorio.

9-PROCEDURA DELL'ANALISI

Preparare la sospensione del campione e le ulteriori diluizioni decimali con il diluente adatto.²

Trasferire con 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 delle piastre Petri vuote.

Aggiungere a ciascuna piastra 15 mL di terreno pre-raffreddato a 45°C . Mescolare l'inoculo con l'agar fuso e lasciare solidificare.

Incubare le piastre in posizione capovolta a 25°C e contare le colonie dopo 3-5 giorni.

Per evitare la diffusione delle colonie, è necessario prendere alcune precauzioni come: 1) l'aggiunta di uno strato di terreno di coltura dopo la solidificazione o 2) l'aggiunta di una goccia di glicerolo su carta da filtro appoggiata sul coperchio della piastra.²

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie, distinguendo i lieviti dalle muffe.

Selezionare le piastre contenenti 10-150 colonie e contarle.

11-CONTROLLO QUALITA'

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 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>C. albicans</i> ATCC 10231	25°C/3 giorni /A	buona crescita, colonie tipiche
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	25°C/3 giorni /A	buona crescita, colonie tipiche
<i>P. cyclopium</i> ATCC 16025	25°C/3 giorni /A	buona crescita, colonie tipiche
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25°C/3 giorni /A	inibito
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	25°C/3 giorni /A	inibito

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

12 - VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI

Prima dell'immissione sul mercato, un campione rappresentativo di tutti i lotti del terreno in polvere e del terreno pronto all'uso Chloramphenicol Glucose Yeast Extract Agar viene sottoposto alla valutazione della produttività e della selettività, confrontando i risultati con un Lotto di Riferimento precedentemente approvato.

La produttività è testata con la tecnica quantitativa per inclusione con i seguenti ceppi target: *C. albicans* ATCC 10231, *S. cerevisiae* ATCC 9763, *A. brasiliensis* ATCC 1604, *P. cyclopium* ATCC 16025. Le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione fisiologica della sospensione batterica e incubate a 25°C per 3-5 giorni. Le colonie vengono contate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr). Se Pr è $\geq 0,7$ e se la morfologia e il colore delle colonie sono tipiche, i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

La selettività viene valutata con il metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con gocce di opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland dei ceppi non target *E. coli* ATCC 25922 e *B. subtilis* ATCC 6633. La crescita dei ceppi non target è totalmente inibita.

13-LIMITI DEL METODO

Il metodo sopra descritto non è adatto per un gran numero di lieviti termolabili nei formaggi freschi. In tal caso è preferibile il metodo di semina in superficie.²

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 disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Chloramphenicol Glucose Yeast Extract Agar è classificato come pericoloso secondo la normativa vigente. 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 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 all'apertura dei flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Quando si utilizza una piastra riscaldante e/o un bagnomaria, far bollire a sufficienza per sciogliere tutto il terreno di coltura.
- Indossare guanti di protezione dal calore durante la liquefazione del terreno in flacone. Non mettere le beute calde in un bagno di ghiaccio o in acqua fredda per accelerare il raffreddamento, poiché ciò potrebbe causare crepe nel vetro.
- Il tempo necessario per la completa liquefazione del terreno in flacone può variare notevolmente e dipende dalla temperatura effettiva del dispositivo di riscaldamento, dalla sua potenza, dalle dimensioni e dal volume della bottiglia.
- Una volta liquefatto, il terreno in flacone non può essere solidificato e disciolto una seconda volta.
- I flaconi pronti all'uso sono soggetti a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminazioni con il terreno in polvere o 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

Flaconi pronti all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni i flaconi sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. I flaconi estratti dal confezionamento secondario possono essere utilizzati sino alla data di scadenza. I flaconi aperti devono essere usati immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare i flaconi con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

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).

16-BIBLIOGRAFIA

1. Beuchat LR. Media for detecting and enumerating yeasts and mould. Int J Food Protect 1992; 17:145:58.
2. ISO 6611:2004 [IDF 94:2004] Milk and milk products — Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds — Colony-count technique at 25 degrees C.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 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	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	01/2023

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

