

## GLUCOSE OF MEDIUM

### Terreno di coltura in polvere e terreno pronto all'uso



#### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno semisolido per il test di conferma di *Enterobacteriaceae*.

#### 2 - COMPOSIZIONE\*

(PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)

Digerito enzimatico di caseina	2,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Glucosio	10,00 g
Potassio fosfato bibasico	0,30 g
Blu bromotimolo	0,08 g
Agar	3,00 g

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

Glucosio OF Medium - A sinistra, una provetta inoculata con *E. coli*, a destra, una provetta non inoculata.

#### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Glucose OF Medium si basa sulla formulazione descritta da Hugh e Leifson<sup>1</sup> e soddisfa i requisiti della norma ISO 21528<sup>2,3</sup>. La fermentazione del glucosio, unitamente al test dell'ossidasi, è raccomandata dalla norma ISO 21528 per la conferma delle colonie di *Enterobacteriaceae* isolate su Violet Red Bile Glucose Agar.

Il terreno contiene glucosio come carboidrato fermentabile e blu di bromotimolo come indicatore di pH: l'elevata concentrazione di acido prodotta durante la fermentazione farà virare l'indicatore del blu di bromotimolo dal verde al giallo in presenza o in assenza di ossigeno. La persistenza, dopo l'incubazione, di una colorazione verde o la comparsa di una colorazione blu, dovuta ad una trasformazione alcalina del terreno, indica che non vi è stata degradazione del glucosio. Glucose OF Medium è un terreno semisolido: la presenza di agar alla concentrazione dello 0,3% consente la determinazione della motilità oltre al test di fermentazione e aiuta anche a prevenire la distribuzione di eventuali acidi prodotti sulla superficie del terreno, con una conseguente diluizione. Il fosfato dipotassico promuove la fermentazione dei carboidrati e agisce come tampone per il controllo del pH; il digerito enzimatico di caseina fornisce carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita microbica; il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico.

#### 4 - PREPARAZIONE

Sciogliere 20,4 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare all'ebollizione per sciogliere completamente il terreno, dispensare 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121° C per 15 minuti. Consentire alle provette di solidificare verticalmente.

Prima dell'uso, se necessario, riscaldare il terreno in acqua bollente o vapore per 15 minuti per rimuovere l'ossigeno presente e quindi raffreddare rapidamente fino alla temperatura di incubazione.

#### 5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, verde
Aspetto del terreno in provetta	verde, limpido
pH (20-25°C)	6,8 ± 0,2

#### 6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Glucose OF Medium	Terreno di coltura in polvere	4015252	500 g (24,5 L)
Glucose OF Medium	Provette pronte all'uso	551525	20 x 10 mL

#### 7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

#### 8 - CAMPIONI

Coltura pura di ceppi batterici.

#### 9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Colonie di presunte *Enterobacteriaceae* isolate su Violet Red Bile Glucose vengono subcoltivate su terreno non selettivo (Nutrient Agar) e quindi confermate mediante test dell'ossidasi e fermentazione del glucosio.

Utilizzando un'ansa da 1 µL, inserire le colonie che hanno dato un test ossidasi negativo in provette contenenti il terreno Glucose OF.

Ricoprire la superficie del terreno con minimo 1 cm di olio minerale sterile.

Incubare le provette a 37 ± 1°C per 24 h ± 2 h.

#### 10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La reazione positiva (formazione di acido) è indicata da un colore giallo in tutto il contenuto della provetta.

Reazione negativa: il terreno rimane verde o vira al blu.

Se le colonie sono ossidasi-negative e glucosio-positive, il campione è considerato positivo per *Enterobacteriaceae*.





### 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 del terreno ricoperto con olio di paraffina.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37°C x 24 h-A	crescita con viraggio al giallo
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27852	37°C x 24 h-A	crescita senza viraggio al giallo o solo nella parte alta della provetta

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 per ogni lotto di terreno Glucose OF disidratato e pronto per l'uso viene testato confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Il terreno viene testato inoculando le provette ricoperte di olio di paraffina con coltura pura di ceppi fermentanti il glucosio (*E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. Typhimurium* ATCC 14028) e ceppi non fermentanti il glucosio (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. fluorescens* ATCC 13525, *A. calcoaceticus* ATCC 19606). Dopo incubazione a 37°C per 24 ore i ceppi manifestano le seguenti reazioni:

Ceppi che fermentano il glucosio: il terreno vira al giallo.

*P. aeruginosa* e *P. fluorescens*: nessun viraggio di colore del terreno (colore giallo solo nella parte superiore della provetta).

*A. calcoaceticus*: nessun viraggio di colore del terreno.

### 13 – LIMITI DEL METODO

- La fermentazione dei carboidrati è uno dei test utilizzati per identificare le colture batteriche pure. Per una completa identificazione è necessario eseguire altri test idonei.

### 14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura e le provette pronte all'uso qui descritti 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
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. 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](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 buone pratiche di fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Le provette pronte all'uso sono soggette a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Ogni provetta di questo terreno di coltura è monouso.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'ambiente di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed 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 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](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 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

#### Provette pronto all'uso

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

#### 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 definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

Secondo la norma ISO 21528, le provette preparate in laboratorio possono essere conservate fino a 4 settimane a +2°C / +8°C.<sup>2,3</sup>

### 16 - BIBLIOGRAFIA

- Hugh R, Lefson E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 1953; 66:24-26





- ISO 21528-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 1: Detection of Enterobacteriaceae
- ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique

### 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 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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

