

PURPLE GLUCOSE AGAR

Terreno di coltura in polvere e terreno pronto all'uso

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la conferma di *Pseudomonas* spp.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

| | |
|----------------------------------|---------|
| Idrolisato enzimatico di caseina | 10,0 g |
| Estratto di lievito | 1,5 g |
| Glucosio | 10,0 g |
| Sodio cloruro | 5,0 g |
| Bromocresolo porpora | 0,015 g |
| Agar | 12,2 g |

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Purple Glucose Agar è un terreno raccomandato dalla ISO 11059¹ per il test di conferma di *Pseudomonas* spp. dopo isolamento su terreno selettivo.

Il digerito enzimatico di caseina e l'estratto di lievito forniscono azoto, vitamine, minerali e aminoacidi per la crescita microbica. Il glucosio è il carboidrato fermentabile e una fonte di carbonio ed energia. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Il porpora di bromocresolo è un indicatore di pH. Dopo l'incubazione, i microrganismi che fermentano il glucosio mostrano una colorazione gialla in tutto il contenuto della provetta.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 38,7 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione con agitazione frequente, distribuire in quantità di 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Lasciare le provette in posizione verticale. Il terreno può essere conservato fino a una settimana a 2-8°C. Per rimuovere l'ossigeno, appena prima dell'uso, riscaldare il terreno in acqua bollente o vapore per 15 minuti, quindi raffreddare rapidamente fino alla temperatura di incubazione.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

| | |
|-------------------------|------------------------------------|
| Aspetto della polvere | Fine granulometria omogenea, viola |
| Aspetto della soluzione | viola, limpida |
| pH finale (20-25 °C) | 7,0 ± 0,2 |

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

| Prodotto | Tipo | REF | Confezione |
|---------------------|-------------------------------|---------|--------------|
| Purple Glucose Agar | Terreno di coltura in polvere | 4019702 | 500 g (13 L) |
| Purple Glucose Agar | Provette pronte all'uso | 551970 | 20 x 10 mL |

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, provette sterili, beute, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Il campione è costituito da colture batteriche isolate da prodotti lattiero-caseari o altri materiali, purificate su Nutrient Agar o altro terreno idoneo.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Ottenere colonie isolate pure mediante subcoltura dal terreno di isolamento alle piastre di Nutrient Agar. Inoculare, per mezzo di un ago, le colonie dal terreno Nutrient Agar in provette contenenti Purple Glucose Agar. Incubare a 25 °C ± 1 °C per 24 h ± 3 h senza chiudere ermeticamente le provette.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Se si sviluppa una colorazione gialla nell'intero contenuto della provetta, la reazione è considerata positiva: presenza di fermentazione del glucosio.

Considerare il test negativo (assenza di fermentazione del glucosio) quando si può osservare la crescita ma non si sviluppa alcun colore giallo in tutto il contenuto della provetta.

Considerare le colonie che mostrano una reazione ossidasica positiva e l'assenza di fermentazione del glucosio come colonie di *Pseudomonas*.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore finale eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità 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.³

| | | |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| CEPPI DI CONTROLLO | INCUBAZIONE T° / T - ATM | RISULTATI ATTESI |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27053 | 25°C/ 24h/A | crescita, nessun cambio di colore |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 25°C/ 24h/A | crescita, cambio di colore al giallo |

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



12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Purple Glucose Agar disidratato e pronto per l'uso viene testato per specifiche caratteristiche prestazionali confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. Il terreno in provetta viene inoculato con colture pure di *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. fluorescens* ATCC 13525, *E. coli* ATCC 25922 e *S. Typhimurium* ATCC 14028. Le provette vengono incubate con tappi allentati a 25 °C per 24 ore in aerobiosi. Si osservano e si registrano i cambiamenti di colore dei terreni in provetta: *Pseudomonas* spp cresce senza viraggio al giallo del terreno, mentre *E. coli* che fermenta il glucosio e *S. Typhimurium* crescono con viraggio del terreno al giallo in tutto il contenuto della provetta.

13 – LIMITE DEL METODO

- Alcuni ceppi di *Pseudomonas* possono sviluppare una colorazione gialla sulla superficie dell'agar a causa dell'ossidazione del glucosio.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico e sono per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno disidratato deve essere maneggiato 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 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 produzione dei supporti preparati.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Le provette 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.
- 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 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'utente è responsabile dei processi di produzione e controllo qualità dei terreni preparati in autonomia e della convalida della loro durata, in base al tipo e alle condizioni di conservazione applicate (temperatura e imballaggio). Secondo la norma ISO 21528:2004², le provette preparate in laboratorio possono essere conservate a +2°C +8°C per un massimo di una settimana. Per rimuovere l'ossigeno, appena prima dell'uso, riscaldare il terreno in acqua bollente o vapore per 15 minuti, quindi raffreddare rapidamente fino alla temperatura di incubazione.¹

16 - REFERENCES

- ISO/TS 11059: 2009. Milk and milk products -Method for the enumeration of *Pseudomonas* spp.
- ISO 21528-1: 2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -- Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

| Versione | Descrizione delle modifiche | Date |
|-------------|--|---------|
| Revisione 4 | Aggiornamento del contenuto e del Layout | 03/2023 |

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