

PSEUDOMONAS AGAR BASE**CN PSEUDOMONAS SUPPLEMENT
CFC PSEUDOMONAS SUPPLEMENT
PP PSEUDOMONAS SUPPLEMENT**

Terreno di base, supplementi selettivi
e piastre pronte per l'isolamento ed il conteggio
di *Pseudomonas aeruginosa* (ISO 16266) o di *Pseudomonas* spp.(ISO 13720-ISO/TS 11059)

PSEUDOMONAS AGAR BASE - Formula Tipica (g/l)

Peptone di gelatina.....	16.0
Idrolizzato acido di caseina.....	10.0
Potassio solfato anidro.....	10.0
Magnesio cloruro anidro	1.4
Agar.....	11.5

CN PSEUDOMONAS SUPPLEMENT (contenuto della fiala x 500 ml)

Cetrimide.....	100 mg
Acido nalidissico.....	7.5 mg

CFC PSEUDOMONAS SUPPLEMENT (contenuto della fiala x 500 ml)

Cetrimide.....	5 mg
Acido fusidico.....	5 mg
Cefalosporina.....	25 mg

PP PSEUDOMONAS SUPPLEMENT (contenuto della fiala x 500 ml)

Penicillina G.....	50000 UI
Pimaricina	5 mg

PIASTRE PRONTE DA 55 E DA 90 mm (PSEUDOMONAS CN SELECTIVE AGAR)**Formula Tipica (g/l)**

Peptone di gelatina.....	16.0
Idrolizzato acido di caseina.....	10.0
Potassio solfato.....	10.0
Magnesio cloruro.....	1.4
Agar.....	14.0
Cetrimide.....	200 mg
Acido nalidissico.....	15.0 mg
Glicerolo.....	10 ml

PREPARAZIONE DEL TERRENO BASE IN POLVERE

Sospendere 24.5 g in 500 ml di acqua distillata fredda ed aggiungere 5 ml di glicerolo nel caso si prepari CN Pseudomonas Agar. Omettere il glicerolo nella preparazione dei terreni CFC e PP Agar. Scaldare fino ad ebollizione, distribuire e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Utilizzare questa base per l'aggiunta del supplemento appropriato:

Supplemento CN (norma ISO 16266)

Ricostituire il contenuto del flacone di CN Pseudomonas Supplement (REF 4240046) con 2 ml di acqua distillata sterile/etanolo (1:1), con le precauzioni dell'asepsi. Aggiungere sterilmente a 500 ml di Pseudomonas Agar Base preparato come sopra descritto. Mescolare distribuire in piastre sterili.

pH finale 7,1+/-0,2

Supplemento CFC (norma ISO 13720)

Ricostituire il contenuto della fiala di CFC Pseudomonas Supplement (REF 4240075) con 2 ml di acqua distillata sterile/etanolo (1:1), con le precauzioni dell'asepsi. Aggiungere sterilmente a 500 ml di Pseudomonas Agar Base Base preparato come sopra descritto. Mescolare distribuire in piastre sterili.

pH finale 7,2+/-0,2

Supplemento PP (norma ISO/TS 11059)

Ricostituire il contenuto della fiala di PP *Pseudomonas* Supplement (REF 4240048) con 2 ml di acqua distillata sterile, con le precauzioni dell'asepsi. Aggiungere sterilmente a 500 ml di *Pseudomonas* Agar Base Base preparato come sopra descritto. Mescolare distribuire in piastre sterili. Il supplemento ricostituito appare torbido; questa caratteristica non incide le performances del terreno completo. pH finale 7,2+/-0,2

DESCRIZIONE

Il terreno di base corrisponde alla formulazione raccomandata da ISO 13720 e ISO/TS11059, il medesimo, con aggiunta di glicerolo, corrisponde al terreno base raccomandato da ISO 16266.

Pseudomonas Agar Base deve essere impiegato come base a cui aggiungere gli specifici supplementi selettivi per l'isolamento e l'enumerazione di *P.aeruginosa* nelle acque (ISO 16266), di *Pseudomonas* spp. nelle carni (ISO 13720) e di *Pseudomonas* spp nel latte e derivati (ISO/TS 11059)

IMPIEGO**Acque**

Filtrare su una membrana da 0,45 µm un volume appropriato di acqua in accordo al grado di contaminazione atteso. Trasferire la membrana sul terreno in piastra preparato con il supplemento CN *Pseudomonas* Supplement. Incubare a 36°C ± 2°C per 24-48 ore. Contare le colonie che appaiono colonie verde/blu. Confermare l'identificazione presuntiva di *P.aeruginosa* con il test dell'ossidasi, un'incubazione a 42°C per 24 ore in un brodo contenente acetamide (Acetamide Broth REF 5510101) e su *Pseudomonas* Agar F (REF 401961).

Carni

Trasferire sulla superficie di una piastra di terreno preparato con CFC *Pseudomonas* Supplement 0,1 ml della sospensione iniziale del campione. Ripetere l'operazione per le diluizioni successive del campione. Se si effettua un'unica diluizione è consigliabile utilizzare 2 piastre, lavorando in doppio. Distribuire omogeneamente l'inoculo sulla superficie dell'agar per mezzo di una spatola sterile ad L (17SP/1000). Incubare a 25°C per 40-48 ore. Contare le colonie nelle piastre con meno di 150 colonie e confermare la presenza di *Pseudomonas* spp con il test dell'ossidasi e la fermentazione del glucosio su Purple Glucose Agar (REF 401970) o su O/F Hugh Leifson base (REF 401836) addizionato di glucosio.

Latte e derivati

Trasferire sulla superficie di una piastra di terreno preparato con PP *Pseudomonas* Supplement 0,1 ml della sospensione iniziale del campione. Ripetere l'operazione per le diluizioni successive del campione. Se si effettua un'unica diluizione è consigliabile utilizzare 2 piastre, lavorando in doppio. Distribuire omogeneamente l'inoculo sulla superficie dell'agar per mezzo di una spatola sterile ad L (REF 17SP/1000). Incubare a 25°C per 40-48 ore. Contare le colonie nelle piastre che presentano meno di 150 colonie e confermare la presenza di *Pseudomonas* spp con il test dell'ossidasi e la fermentazione del glucosio su Purple Glucose Agar (REF 401970).

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE**PSEUDOMONAS AGAR BASE + CN SUPPLEMENT**

Controllo produttività:

P.aeruginosa ATCC 10145: crescita colonie verde-blu

Controllo selettività:

E.coli ATCC 25922: inibito

E.faecalis ATCC 29212: inibito

Incubazione: 36°C -44 ore

PSEUDOMONAS AGAR BASE + CFC SUPPLEMENT O PP SUPPLEMENT

Controllo produttività:

P.fluorescens ATCC 13525: crescita colonie verde-blu

Controllo selettività:

E.coli ATCC 25922: inibito

Incubazione: 25°C - 46 ore

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperta la confezione, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di

deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 1 mese a 2-8°C.

Supplementi selettivi: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

Piastre pronte: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: il preparato qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene magnesio cloruro (Xi irritante) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di *Pseudomonas Agar Base*, deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

CN Supplement: il preparato qui descritto è classificato come T (tossico) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'uso.

CFC Supplement: il preparato qui descritto è classificato come Xn (nocivo) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'uso.

PP Supplement: il preparato qui descritto è classificato come Xn (nocivo) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'uso.

Piastre pronte: il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

I prodotti qui descritti devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima dell'eliminazione come rifiuto

BIBLIOGRAFIA

ISO 16266:2006 Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* by membrane filtration.

ISO 13720:2010 Meat and meat products — Enumeration of presumptive *Pseudomonas* spp

ISO/TS 11059:2009 Milk and milk products — Method for the enumeration of *Pseudomonas* spp.

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4019602

Pseudomonas Agar Base

500 g (10 l)

Supplementi

4240046

CN Pseudomonas Supplement

10 fiale, ciascuna per 500 ml

4240075

CFC Pseudomonas Supplement

10 fiale, ciascuna per 500 ml

4240048

PP Pseudomonas Supplement

10 fiale, ciascuna per 500 ml

421015

Glycerol

100 ml

Terreno pronto in piastra

491960

Pseudomonas CN Selective Agar

30 piastre diam 55/60 mm

541960

Pseudomonas CN Selective Agar

20 piastre diam 90 mm