

## PROTOTHECA ISOLATION MEDIUM (PIM): per l'isolamento di *Prototheca* spp

REF	CONFEZIONE
20946	20 piastre 90 mm
6904	Disidratato 500 gr* agar base

### PRINCIPIO

*Prototheca* spp è un'alga unicellulare incolore priva di cloroplasti e può essere causa di gravi mastiti nelle bovine da latte. Ne esistono cinque diverse specie: *P. moriformis*, *P. stagnora*, *P. ulmea*, *P. wickerhamii* e *P. zopfii*. Queste ultime due sono responsabili di infezioni negli animali e nell'uomo. Sono microrganismi molto diffusi negli allevamenti di bovine da latte, in particolare in presenza di cattiva igiene ambientale associata ad elevati tassi di umidità (acque stagnanti e correnti, acque per il lavaggio del tank, impianti di mungitura ma anche lettieri rinnovate raramente). Le mastiti da *Prototheca* evolvono in forme croniche, associate ad un innalzamento imponente della conta cellulare nel latte e ad un calo della produzione. Si tratta di mastiti non trattabili con i principi attivi attualmente presenti sul mercato. Per questa ragione spesso, in caso di infezione da *Prototheca*, l'allevatore tende ad eliminare l'animale affetto da mastite. Data la gravità delle infezioni e la scarsa possibilità di recupero degli animali, essenziale risulta la prevenzione delle infezioni attraverso una corretta igiene dell'allevamento.

L'isolamento in coltura di *Prototheca* spp. è difficoltoso a causa della rapidità di crescita dei batteri contaminanti il campione pertanto i tradizionali terreni di coltura, risultano essere scarsamente efficaci per la ricerca del microrganismo. Il mezzo colturale d'elezione per la crescita di *Prototheca* spp. è il PIM nel quale sono presenti il magnesio solfato, il potassio idrogeno fosfato, l'ammonio cloruro, il glucosio e la tiamina idrocloruro, componenti essenziali per la crescita. Inoltre la combinazione di 5-fluorocitosina (5-FC) e potassio idrogeno ftalato inibisce la crescita di funghi, batteri e altre alghe contaminanti. Per ottenere una maggiore selettività nei confronti dei batteri si aggiunge il Cloramfenicolo.

Le condizioni di incubazione per la crescita di *Prototheca* spp. sono: 30°C per 72 ore.

Esistono anche alcuni ceppi a lenta crescita che preferiscono una temperatura di 25°C e un prolungamento del tempo di incubazione fino a 7 gg.

### FORMULA

Sono riportati i costituenti del terreno (espressi in grammi) su litro di acqua deionizzata

Potassio idrogeno ftalato	10.00
Sodio idrossido*	0.90
Magnesio solfato	0.10
Potassio idrogeno fosfato	0.20
Ammonio cloruro	0.30
Glucosio	10.00
Tiamina HCl*	0.001
Cloramfenicolo	0.100
Agar	20.00
5-fluorocitosina (5-FC)*	0.25

pH 5+/-0.2

## PREPARAZIONE

Sospendere 20,3 gr di terreno in un litro di acqua deionizzata e aggiungere 1 fiala di PIM Supplement (fiala a) (codice 6550 a) , miscelare bene e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 48°C e aggiungere 1 fiala di PIM Supplement (fiala B) (codice 6550 b). Miscelare bene e dispensare in Piastre Petri sterili.

## CONSERVAZIONE

Conservare il prodotto pronto a 4-8°C, al riparo dalla luce.

Il terreno pronto ha validità 180 gg.

Conservare il flacone del disidratato ben chiuso in luogo fresco e secco.

## PROCEDURA

- Portare il prodotto alla temperatura necessaria per la semina
- Inoculare il campione sul terreno
- Incubare a 30°C per 72 ore

## CONTROLLO DI QUALITA'

Microrganismi	Crescita
<i>Prototheca spp</i>	Buona
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Nulla

## BIBLIOGRAFIA

Applied Microbiology Oct 1973, p. 648-649. American Society for Microbiology. Selective medium for the isolation of *Prototheca*. R. Scott Pore