

**PSEUDOMONAS AGAR F**

Piastre pronte all'uso



Pseudomonas Agar F: sulla sinistra *P.aeruginosa*,
sulla destra *B.cepacia*

DESTINAZIONE D'USO

Terreno B di King per il test di produzione della fluoresceina per la differenziazione di *Pseudomonas aeruginosa*.

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)*

Triptone	10,00 g
Peptone	10,00 g
Potassio fosfato bibasico	1,50 g
Magnesio solfato	1,50 g
Agar	15,00 g
Glicerolo	10,00 g

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

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Pseudomonas Agar F, noto anche come King's Medium B o Flo Agar, è una modificazione della formula descritta da King, Ward e Raney, è conforme alla formulazione inclusa in ISO 16266 ed è utilizzato per il test di produzione della fluoresceina per la differenziazione di *P.aeruginosa*.

P.aeruginosa è un batterio gram negativo ampiamente distribuito nelle acque superficiali, reflue e marine, nel suolo, sulla vegetazione e in generale, in tutti gli ambienti umidi; inoltre, è in grado di crescere in acqua distillata, di sopravvivere nei disinfettanti, nei cosmetici e di contaminare gli alimenti. *P. aeruginosa* è considerato un patogeno opportunisto soprattutto nei pazienti immunocompromessi e si caratterizza per essere multi-resistente agli antibiotici, rappresentando quindi un rischio per la salute in ambienti ospedalieri dove può provocare infezioni delle vie urinarie, delle ustioni e delle ferite, ulcere corneali e cheratiti, setticemie, gastroenteriti nei neonati, ascessi, broncopolmoniti e meningiti.

P. aeruginosa si caratterizza per la produzione di pigmenti: piocianina, prodotta solo da *P. aeruginosa*, solubile in acqua, di colore verde-blu, piorubina, insolubile in acqua, di colore rossastro-marrone e fluoresceina o piovverdina, solubile in acqua, di colore dal giallo-verde al giallo-bruno e fluorescente all'ultravioletto.

P.fluorescens e *P.putida*, di norma producono fluoresceina e non producono piocianina, le altre specie del genere *Pseudomonas* non producono né fluoresceina né piocianina

Pseudomonas Agar F, grazie alla presenza del potassio fosfato, stimola la produzione di fluoresceina ed inibisce la produzione di piocianina; la miscela al 50% di peptoni di carne e caseina contribuisce alla produzione ottimale di fluoresceina, attivata dalla presenza dei cationi Mg del magnesio cloruro; il glicerolo, addizionato al terreno di base, è una fonte di carbonio per la crescita e per la produzione del pigmento.

La produzione di fluoresceina è evidenziata dalla presenza di una colorazione giallo-verde della crescita batterica e del terreno circostante, fluorescente all'esame sotto lampada di Wood.

Pseudomonas Agar F, abbinato a Pseudomonas Agar P è indicato per la differenziazione di *P.aeruginosa* dalle altre specie del genere *Pseudomonas*, isolate da campioni clinici o da altri materiali.

La norma ISO 16266, per le prove di conferma delle colonie di *P.aeruginosa* isolate dalle acque su terreno selettivo, raccomanda il test della produzione di fluoresceina su Pseudomonas Agar F (+), congiuntamente al test dell'ossidasi (+) ed alla prova della capacità di produrre ammoniaca in Acetamide Broth (+).

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in piastra	biancastro, leggermente opalescente
pH (20-25°C)	7,2 ± 0,2

MATERIALI FORNITI

Terreno di coltura Pseudomonas Agar F in piastre pronte all'uso.

CAMPIONI

Il campione è costituito da colture pure di batteri isolati da campioni clinici o altri materiali, sui quali, con la colorazione Gram sia stata valutata la compatibilità con *Pseudomonas* sp.

PROCEDURA DELL'ANALISI

Inoculare il terreno in piastra con una singola colonia prelevata dal terreno d'isolamento primario, seminando con una linea d'inoculo su piastra.

Incubare le piastre in aerobiosi a 36 ± 2°C fino a 5 giorni, esaminando le colture giornalmente.



LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare le crescite sotto lampada di Wood: riportare il test positivo per la produzione di fluoresceina quando si osserva la presenza di fluorescenza giallo-verde a carico della crescita batterica e del terreno attorno ad essa. L'identificazione completa dei microrganismi coltivati sul terreno deve essere effettuata con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa, dopo purificazione delle colonie con subcoltura su terreno appropriato.

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. E' comunque responsabilità 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. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO		INCUBAZIONE/ T°/ t/ ATM	RISULTATI ATTESI
<i>P.aeruginosa</i> ATCC	14207	37°C / 24H / A	crescita giallo-verde, fluorescente sotto lampada di Wood
<i>B.cepacia</i> ATCC	25415	37°C / 24H / A	crescita incolore

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

LIMITI DEL METODO

- Occasionalmente si ritrovano ceppi di *Pseudomonas* che producono piccole quantità di piocianina che, normalmente, dovrebbe essere inibita sul terreno: in questo caso il colore delle crescite tende più al verde.
- La presenza di colonie incolori non esclude completamente la presenza di *P.aeruginosa*.
- Pseudomonas Agar F* non deve utilizzato come terreno di isolamento di *Pseudomonas* da campioni clinici e da altri materiali, ma come terreno differenziale.
- Il terreno qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene peptoni di origine animale. Scaricare da sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- Il terreno in piastra qui descritto deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire i rifiuti in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare le piastre con l'imballaggio deteriorato. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, colore alterato)
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

BIBLIOGRAFIA

- ISO 16266:2006 - Water quality — Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* — Method by membrane filtration
- Istituto Superiore di Sanità. Metodi analitici per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi microbiologici. A cura di Lucia Bonadonna e Massimo Ottaviani 2007, iv, 204 p. Rapporti ISTISAN 07/5
- King, B.S., Ward, M.K.W. & Roney, D.E. (1954) - J. Lab. Clin. Med. **44**, 301.
- MacFaddin, Jean F. (1985). Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Pseudomonas Agar F	Piastre pronte all'uso	541961	2 x 10 piastre ø 90 mm. confezionate in film plastico / scatola di cartone

