



## ISTRUZIONI PER L'USO

# DECARBOXYLASE MOELLER BASE BROTH

Terreno di coltura in polvere



*Enterobacter aerogenes* - da sinistra:  
Provetta non inoculata, Moeller arginina (-), Moeller lisina (+),  
Moeller ornitina (+)

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Decarboxylase Moeller Base Broth, addizionato di aminoacidi è utile nella differenziazione delle colonie di *Enterobacteriaceae* isolate da campioni clinici e non clinici.

**2 - FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)\***

Peptone	5,000 g
Estratto di carne	5,000 g
Piridossal	0,005 g
Glucosio	0,500 g
Porpora bromocresolo	0,010 g
Rosso cresolo	0,005 g

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

**3- DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

Decarboxylase Moeller Base Broth, preparato sulla base della formulazione proposta Moeller<sup>1</sup> nel 1955, è un terreno a cui possono essere aggiunti aminoacidi, per lo studio della capacità dei batteri enterici Gram negativi di decarbossilarli con formazione di amine e con conseguente viraggio verso l'alcalinità del mezzo di coltura.<sup>2</sup> Gli aminoacidi più comunemente impiegati sono L-lisina, L-ornitina, L-arginina. Dalla decarbossilazione della lisina si produce cadaverina, dall'ornitina si produce putrescina; l'arginina è dapprima convertita in citrullina dall'enzima diidrolasi con rimozione di un gruppo NH<sub>2</sub>, la citrullina è quindi convertita in ornitina e quest'ultima è decarbossilata in putrescina.<sup>3</sup> Le amine che si formano in queste reazioni enzimatiche incrementano il pH verso l'alcalinità, messa in evidenza dalla presenza nel terreno del sistema indicatore costituito dal porpora di bromocresolo e dal rosso cresolo. Il glucosio, incluso nel terreno, è fermentato dagli enterobatteri con la formazione, nelle prime ore di incubazione, di un ambiente acido, indispensabile al pieno espletamento della attività dell'enzima decarbossilasi. Quando il terreno contenente aminoacidi è inoculato con un ceppo fermentante il glucosio e decarbossilasi positivo, vira dapprima al giallo per la produzione di acidi dalla fermentazione del glucosio quindi al porpora per la formazione di alcalinità, dovuta alla formazione di amine: il test positivo per la decarbossilasi è quindi indicato dalla formazione di una colorazione porpora, il test negativo dalla presenza di una colorazione gialla. Il piridossal è un coenzima che attiva l'enzima decarbossilasi; il peptone e l'estratto di carne forniscono azoto, carbonio ed oligoelementi necessari alla crescita batterica. Poiché i peptoni possono essere ossidati e deaminati con conseguente alcalinizzazione del terreno, è necessario, per evitare falsi positivi, creare condizioni di anaerobiosi per l'esecuzione del test, ricoprendo il terreno in provetta con olio minerale.

Insieme alle provette contenenti gli aminoacidi, inoculare anche una provetta di terreno di base senza aminoacidi: se quest'ultima vira all'alcalinità con formazione di colore porpora, il test è invalidato.<sup>2</sup>

Il terreno è indicato per la differenziazione delle colonie di *Enterobacteriaceae* isolate da campioni clinici o da altri materiali. La produzione di ornitina decarbossilasi è particolarmente utile per differenziare le specie di *Klebsiella* ed *Enterobacter*: *Klebsiella* spp. sono immobili e non producono ornitina decarbossilasi, mentre la maggior parte di *Enterobacter* spp sono mobili e di solito producono questo enzima.<sup>4</sup>

Le specie lisina decarbossilasi positive includono *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*, *S. Typhi*, *E. tarda*, *M. morgani*, *V. cholerae*, *V. parahemolyticus*, *P. shigelloides* etc; le specie che decompongono l'arginina includono *E. cloacae*, *C. sakazakii*, *V. fluvialis*, *P. shigelloides*, *S. aureus*, *E. fecalis*, *E. faecium* etc.<sup>3</sup>

**4 - METODO DI PREPARAZIONE**

Sospendere 10,5 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Aggiungere 10 g dell'aminoacido prescelto in forma L o 20 g/L della forma DL, mescolare bene e, se necessario, riscaldare per sciogliere il terreno. Prima della sterilizzazione è necessario aggiustare il pH del terreno a cui viene aggiunta ornitina poiché tende ad acidificare; a tal scopo usare NaOH 1N. Distribuire in provette ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Preparare anche provette omettendo l'aggiunta degli aminoacidi (provette di controllo).

**5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO**

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, biancastra
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	violetto, limpido o leggermente opalescente.
pH (20-25°C)	6,0 ± 0,2 (dopo l'aggiunta dell'aminoacido)

**6 - MATERIALI FORNITI**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Decarboxylase Moeller Base Broth	Terreno di coltura in polvere	4013662	500 g (47,6 L)

**7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI**

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti ( L-Lisina, L-ornitina, L-arginina, olio minerale o paraffina liquida).





## 8 - CAMPIONI

Il campione è costituito da colture di batteri isolati da campioni clinici o altri materiali, purificate su appropriato terreno (es. Tryptic Soy Agar o agar sangue).

## 9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago da batteriologia, caricato con la colonia in esame, inoculare il terreno nelle provette con la serie di aminoacidi prescelti per il test; inoculare anche una provetta priva di aminoacidi e seminata con il ceppo in esame.

A tutte le provette inoculate, con e senza aminoacidi, aggiungere in superficie 2 mL di olio minerale sterile (circa 1 cm).

Incubare, con i tappi chiusi, a 35-37°C fino a 4 giorni con osservazioni giornaliere.

## 10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo 18-24 h, 48 h, 72 h e 96 h di incubazione, osservare la presenza di crescita (torbidità) ed il viraggio del colore del terreno.

Reazione positiva: il terreno vira inizialmente al giallo a causa della fermentazione del glucosio ed in seguito, vira al porpora per la formazione di amine.

Reazione negativa: il terreno si presenta torbido di colore giallo (fermentazione del glucosio)

Provetta di controllo senza aminoacidi: il terreno si presenta di colore giallo (fermentazione del glucosio); nel caso questa provetta mostrasse una colorazione porpora il test è invalidato.

Nella tabella che segue sono riassunte i modelli reattivi su terreno di Moeller addizionato di aminoacidi.

Microrganismo	Lisina	Ornitina	Arginina
<i>Escherichia coli</i>	+	var	var
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-
<i>Salmonella typhi</i>	+	-	var
<i>Citrobacter freundii</i>	-	var	var
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	var	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-

+ : test positivo (reazione alcalina, colore porpora); - : test negativo (colore giallo); var. reazione variabile

## 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, alle regole dell'accreditamento 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	RISULTATI ATTESI		
		ARGININA	LISINA	ORNITINA
<i>P. vulgaris</i> ATCC 9484	35-37° / 44-48H /A	- (giallo)	- (giallo)	- (giallo)
<i>S. Enteritidis</i> ATCC 13076	35-37° / 44-48H /A	+ (porpora)	+ (porpora)	+ (porpora)

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

## 12- CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Decarboxylase Moeller Base Broth, addizionato con L-lisina, L-ornitina e L-arginina viene testato per valutare le caratteristiche prestazionali specifiche, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. Colture pure, incubate per 18-24 ore su Tryptic Soy Agar, dei seguenti ceppi vengono inoculate direttamente nelle provette coperte di paraffina liquida: *P. vulgaris* ATCC 9484, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. flexneri* ATCC 12022, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. marcescens* ATCC 8100. Le provette vengono incubate con i tappi chiusi a 35-37°C per 44-48 ore. vengono osservati e registrati i cambiamenti di colore del terreno: per tutti i ceppi e tutti gli aminoacidi, le reazioni di decarbossilazione sono conformi alle specifiche.

## 13 - LIMITI DEL METODO

- I batteri che non fermentano il glucosio e posseggono l'enzima decarbossilasi o idrolasi, in condizioni anaerobiche quando il terreno è ricoperto di olio minerale, decarbossilano l'amminoacido. Poiché il glucosio non è fermentato, il terreno non ingiallisce durante l'incubazione ma, a causa della decarbossilazione, vira verso il viola intenso.<sup>3</sup> Il colore può essere verificato confrontandolo con una provetta non inoculata. Alcuni ceppi di non fermentanti possono dare una reazione ritardata ed un viraggio assente o molto lieve del terreno e, per questo motivo il terreno di Moeller non è considerato sempre soddisfacente per i ceppi non fermentanti il glucosio.<sup>2,5</sup>
- Il test di decarbossilazione della lisina non misura la quantità di enzima intracellulare ma lo rilevano solo quando esso è sufficiente per provocare una variazione di pH del terreno. Il cambiamento delle condizioni di crescita (concentrazioni di glucosio, lisina e aminoacidi diversi dalla lisina) può influenzare notevolmente l'attività dell'enzima lisina decarbossilasi nei coliformi.<sup>6</sup>
- Con le provette tenute in posizione verticale durante l'incubazione, si possono osservare due strati di colore diverso; agitare la provetta per una corretta lettura del risultato.<sup>2</sup>
- A volte vi possono essere problemi di interpretazione del risultato positivo a causa della formazione di un indistinto colore giallastro-porpora. In questi casi confrontare il colore della provetta inoculata con quello della provetta di controllo non inoculata. Una qualsiasi traccia di colorazione porpora, dopo almeno 24 ore di incubazione deve essere interpretata come test positivo.<sup>2</sup>
- In alcuni casi, dopo una incubazione particolarmente prolungata, può apparire un colore indistinto o addirittura una decolorazione del terreno. Questo fenomeno può essere dovuto alla denaturazione del sistema indicatore; l'aggiunta alla provetta di bromo cresolo porpora potrà confermarlo.<sup>2</sup> Questa decolorazione capita frequentemente in presenza di *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris*.<sup>1</sup>
- Salmonella* Gallinarum da reazioni ritardate della decarbossilazione dell'ornitina che richiedono 5-6 giorni di incubazione e sono dovute alla scarsa permeabilità batterica all'amminoacido.<sup>2</sup>
- Molti ceppi di *Escherichia coli*, incluso quelli che fermentano l'adonitolo danno reazioni ritardate della decarbossilazione dell'ornitina.<sup>2</sup>





- Il test di decarbossilazione degli aminoacidi è una delle numerose prove necessarie all'identificazione delle *Enterobacteriaceae*. I risultati dei test di decarbossilazione devono essere interpretati insieme ad altri test per una corretta identificazione dei ceppi in esame. È consigliabile quindi una completa identificazione dei ceppi in esame con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposti al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura 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 di altri test diagnostici.

**14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE**

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda 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.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto 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 del prodotto, 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**

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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

**BIBLIOGRAFIA**

- Moeller V. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1955;36(2):158-72.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Rao S. Amino acid metabolism tests. [www.microrao.com](http://www.microrao.com)
- Farmer In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1999
- Barrow, G.I., Feltham R.K.A. Bacterial characters and characterization. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
- Piluscki RW, Clayton NW, Cabelli VJ, Cohen PS. Limitations of the Moeller Lysine and Ornithine Decarboxylase Tests. *App Environ Microbiol*. 1979; 37(2): 254-260.

**401366 DECARBOSSILASE MOELLER BASE BROTH**

SDS

Regolamento (UE) 2020/878

**Contiene:** ACIDO CITRICO**Classificazione:** nessuna**Etichettatura:** nessuna**Indicazioni di pericolo:** **EUH 210** Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b>	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Proteggere dalla luce	Proteggere dall'umidità	

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	06/2020
Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023
Revisione 6	Inserimento della sezione relativa alla SDS	05/2025

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

