

KANAMYCIN AESCULIN AZIDE AGAR BASE KANAMYCIN SELECTIVE SUPPLEMENT

Terreno di coltura in polvere e supplemento selettivo

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base selettivo e differenziale e supplemento selettivo per l'isolamento, il conteggio e la differenziazione degli enterococchi negli alimenti.

2 – COMPOSIZIONE

KANAMYCIN AESCULIN AZIDE AGAR BASE

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO DISCIOGLIMENTO IN ACQUA *

Triptone	20,00 g
Estratto di lievito	5,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Sodio citrato	1,00 g
Esculina	1,00 g
Fe-ammonio citrato	0,50 g
Sodio azide	0,15 g
Agar	10,00 g

KANAMYCIN SELECTIVE SUPPLEMENT (CONTENUTO DELLA FIALA PER 500 ML)

Kanamicina monosolfato	10 mg
------------------------	-------

* Le formule possono essere adattate e/o integrate per soddisfare i criteri di prestazione richiesti.

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Kanamycin Aesculin Azide Agar è preparato secondo la formulazione descritta da Mossel *et al.*^{1,2} Si tratta di un terreno selettivo privo di bile per l'isolamento, il conteggio e la differenziazione degli enterococchi negli alimenti. Il terreno utilizza come componenti inibitori e selettivi sodio azide e kanamicina: la crescita della maggior parte dei microrganismi indesiderati viene soppressa. Il terreno contiene come sistema indicatore l'esculina e il ferro ferroso: gli enterococchi idrolizzano l'esculina producendo zone nere intorno alle colonie dovute alla formazione di composti fenolici di ferro nero derivati dall'aglucone.³ I fattori di crescita essenziali sono forniti dal triptone che è una fonte di azoto, carbonio e minerali mentre l'estratto di lievito fornisce vitamine, in particolare del gruppo B. Il cloruro di sodio è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico.

4 - PREPARAZIONE

Sospendere 21,3 g di terreno disidratato in 500 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50 °C e aggiungere il contenuto di una fiala di Kanamycin Selective Supplement (REF 4240055) ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile, in condizioni asettiche. Mescolare bene e versare in piastre di Petri sterili.

5 – CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Kanamycin Aesculin Azide Agar Base

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione e del terreno in piastra pH (20-25 °C)	marrone chiaro con una sfumatura blu, limpido 7,0 ± 0,2

Kanamycin Selective Supplement

Aspetto del supplemento liofilizzato	compressa di colore bianco, bassa e densa,
Aspetto del supplemento ricostituito	soluzione limpida, incolore

6 – MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Kanamycin Aesculin Azide Agar Base	Terreno in polvere	4015522	500 g (11,7 L)
Kanamycin Selective Supplement	Supplemento liofilo	4240055	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 – MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Alimenti, mangimi, campioni di filiera alimentare. Durante la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le regole della buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

1. Preparare diluizioni decimali del campione con un diluente adatto.
2. Entro 3 ore dalla preparazione del campione, distribuire 0,1 mL dell' inoculo sulle piastre.
3. Incubare a 35 °C o a 42 °C per 18-24 ore (la temperatura di incubazione più alta aumenta la selettività del terreno).

10 – LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le specifiche caratteristiche morfologiche e cromatiche delle colonie. Le colonie tipiche degli enterococchi sono rotonde, grigie, di circa 2 mm di diametro circondate da una zona marrone-nera.



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, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono elencati alcuni ceppi utili per il controllo qualità.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. faecium</i> ATCC 19434	37°C / 24 H / A	colonie grigie con alone nero
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	37°C / 24 H / A	inibito

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 per ogni lotto di Kanamycin Aesculin Azide Agar Base con l'aggiunta di Kanamycin Selective Supplement, viene testato per la produttività e la selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semi-quantitativa con i seguenti ceppi target: *E. faecalis* ATCC 19433, *E. faecium* ATCC 19434, *E. hirae* ATCC 8043, *E. gallinarum* ATCC 49573. Vengono valutate la quantità di crescita e le caratteristiche delle colonie dopo incubazione a 35-37°C per 24 ore: i ceppi target presentano una buona crescita con colonie grigie con alone nero.

La selettività è valutata con metodo Miles-Misra modificato in superficie inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 dei ceppi non target *S. lactis* ATCC 8780, *A. viridans* ATCC 10400, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633. Dopo l'incubazione la crescita dei ceppi non target viene inibita.

13 – LIMITI DEL METODO

- L'identificazione dei ceppi isolati deve essere confermata con test specifici.

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura ed il supplemento qui descritti sono destinati al controllo microbiologico e sono per uso professionale; devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno di coltura ed il supplemento devono essere utilizzati in associazione secondo le indicazioni descritte.
- I terreni disidratati ed i supplementi contenenti antibiotici devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Kanamycin Selective Supplement è classificato come pericoloso secondo la normativa vigente. 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 preparazione dei terreni pronti.
- Prestare attenzione all'apertura dell'anello metallico dei supplementi per evitare lesioni.
- Il supplemento è sterilizzato mediante filtrazione a membrana.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura in polvere, 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

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).

Supplemento selettivo

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Prima dell'uso esaminare il liofilizzato e il prodotto ricostituito per rilevare segni evidenti di deterioramento (es. contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento). Secondo Baird RM *et al.*, le piastre preparate in laboratorio possono essere conservate a +2°C / +8°C per 7 giorni.³

16- BIBLIOGRAFIA












1. Mossel DAA, Bijker PGH, Eeldering J.: Streptokokken der Lancefield-Gruppe D in Lebensmitteln und Trinkwasser - Ihre Bedeutung, Erfassung und Bekämpfung. - Arch. f. Lebensmittelhyg., 1978; 29: 121-127





- Mossel DAA, Bijker PGH, Eeldering J. VanSpreekens KA. In: Streptococci, edited by Skinner LH and Quesnel LB. SAB Symposium Series n° 7. Academic Press, London.
- Baird RM, Corry JEL, Curtis GDW. Pharmacopoeia of Culture Media for Food Microbiology. Proceedings of the 4th International Symposium on Quality Assurance and Quality Control of Microbiological Culture Media, Manchester 4-5 September, 1986. Int J Food Microbiol 1987; 5:195-196

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	 Fragile, maneggiare con cura
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 6	Aggiornamento del contenuto e del layout	02/2023

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

