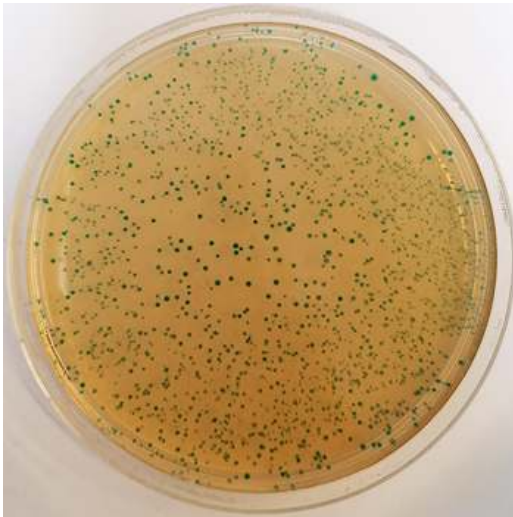


**ChromArt**

CHROMOGENIC LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS AGAR (CLAA)

Terreno di coltura in polvere

*L. acidophilus* su CLAA**1-DESTINAZIONE D'USO**Terreno cromogeno per il conteggio e la differenziazione di *Lactobacillus acidophilus* nello yogurt e nel latte acido.**2-COMPOSIZIONE****FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)***

Triptone	10.00 g
Estratto di Lievito	5.00 g
Potassio diidrogeno fosfato	6.000 g
Di-ammonio citrato	2.000 g
Sodio acetato	15.00 g
Magnesio solfato anidro	0.281 g
Solfato ferroso	0.034 g
Manganese solfato anidro	0.011 g
Glucosio	20.00 g
Polisorbato 80	1.00 g
Agar	12.00 g
X-Glu [^]	0.02 g

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

[^] 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucopyranoside**3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

I prodotti lattiero-caseari correlati allo yogurt vengono sempre più utilizzati come vettori di batteri probiotici per i loro potenziali benefici per la salute. Per raggiungere il livello raccomandato di $\geq 10^6$ cellule vitali/g di un prodotto, è fondamentale la valutazione della vitalità dei batteri probiotici nelle preparazioni di mercato.¹

Chromogenic Lactobacillus Acidophilus Agar (CLAA) è un terreno selettivo e cromogeno per l'enumerazione e la differenziazione di *L. acidophilus* nei prodotti lattiero-caseari correlati allo yogurt come yogurt e latte acido.²

Il terreno CLAA contiene triptone ed estratto di lievito come fonti di azoto, carbonio e vitamine, necessari per la crescita microbica. Il glucosio fornisce carbonio ed è fonte di energia. Il polisorbato 80 agisce come tensioattivo e fornisce gli acidi grassi necessari per il metabolismo dei lattobacilli. Il di-ammonio citrato ed il sodio acetato inibiscono la crescita di streptococchi, muffe ed altra flora microbica orale e limitano lo sciamare di *Proteus*. Il potassio diidrogeno fosfato è il sistema tampone del terreno. Il Magnesio solfato, il solfato ferroso e il Manganese solfato sono fonti di ioni inorganici per la crescita ottimale dei lattobacilli. Il principio di rilevamento si basa sulla visualizzazione specifica dell'attività della β -D-glucosidasi di *L. acidophilus* tramite una reazione cromogena del 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucopyranoside (X-Glu) che viene scisso con la formazione di colonie blu-verdi.²

4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 71,3 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a circa 47-50°C e trasferire in piastre di Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO IN PIASTRA

Aspetto della polvere

fine granulometria omogenea, beige

Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra

terreno limpido, di colore giallo

pH finale a 25 °C

5,8 \pm 0,2**6 - MATERIALI FORNITI**

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Chromogenic Lactobacillus Acidophilus Agar (CLAA)	Terreno di coltura in polvere	4015682	500 g (7 L)
		4015684	5 kg (70 L)

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

I campioni sono costituiti da prodotti lattiero-caseari correlati allo yogurt come yogurt e latte acido. Fare riferimento agli standard internazionali applicabili per la raccolta e la preparazione dei campioni.³ Il terreno non è destinato all'esame microbiologico di campioni clinici.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Preparare la sospensione del campione e ulteriori diluizioni decimali con Maximum Recovery Diluent o un altro diluente adatto. Trasferire per mezzo di una pipetta sterile 0,1 ml del campione se liquido o 0,1 mL della sospensione iniziale nel caso di altri prodotti, in due piastre contenenti il terreno CLAA. Se necessario, ripetere la procedura per le ulteriori diluizioni decimali. Distribuire con attenzione l'inoculo il più





rapidamente possibile sulla superficie della piastra di agar e lasciare assorbire il campione. Capovolgere le piastre e incubare in anaerobiosi a 35-37 ° C per 72 h ± 3 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie. Le colonie caratteristiche di *L.acidophilus* sono blu-verdi (β -glucosidasi positive). I lattobacilli β -glucosidasi negativi, come *L.casei* e *L. delbrueckii* subs *bulgaricus*, crescono con colonie bianche. Contare le colonie tipiche sulle piastre aventi tra 10 e 300 colonie.

11 - CONTROLLO QUALITA' 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 responsabilità 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 / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>L.acidophilus</i> ATCC 314	35-37° / 70-74 H / AN	buona crescita - colonie blu-verdi
<i>L. delbrueckii</i> subs <i>bulgaricus</i> DSM 20081	35-37° / 70-74 H / AN	buona crescita – colonie bianche
<i>L.casei</i> ATCC 393	35-37° / 70-74 H / AN	buona crescita – colonie bianche

AN: incubazione in anaerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection; DSM: German Collection of Microorganisms and Cell Cultures

12 – LIMITI DEL METODO

- Su CLAA possono crescere alcuni ceppi di enterococchi, pediococchi e *Leuconostoc*.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è 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 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.
- 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.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento conservare a + 2°C / + 8°C al riparo dalla luce diretta in un luogo asciutto. Se correttamente conservato, può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire la confezione in luoghi umidi. Chiudere bene dopo ogni utilizzo. Eliminare il prodotto se il contenitore e / o il tappo sono stati danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (variazioni di colore, indurimenti, grossi grumi).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Ashraf F., Shah NP. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt--a review. Int J Food Microbiol. 2011 Oct 3;149(3):194-208.
2. Kneifel W, Pacher B. An X-Glu based agar medium for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt-related milk products. International Dairy Journal 1993; 3:277
3. ISO 20128:2006 [IDF 192:2006]. Milk products -Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium - Colony-count technique at 37 °C.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	Fabbricante	Proteggere dall'umidità	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Proteggere dalla luce	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 0	Prima edizione	05/2020

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

