

MALT AGAR

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio di lieviti e muffe in campioni di cosmetici e alimenti e per la coltivazione di lieviti e muffe.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Estratto di Malto	30 g
Agar	17 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Tradizionalmente, i terreni acidificati a base di estratto di malto sono stati utilizzati per il conteggio di lieviti e muffe in diversi prodotti. Un terreno con 30 g/L di estratto di malto e agar è noto come Malt Extract Agar ed è raccomandato dall'APHA¹ per l'individuazione e il conteggio di muffe resistenti al calore negli alimenti. Lo stesso terreno, integrato con clortetraciclina HCl, è raccomandato dalla FDA-BAM² (Medium M93) per il conteggio di lieviti e muffe nei cosmetici. Il Malt Agar è incluso negli Official Methods of Analysis dell'AOAC International.³ Il terreno è utilizzato per la coltivazione e il mantenimento di colture di lieviti e muffe.

Il Malt Agar contiene estratto di malto, che fornisce fonti di carbonio, proteine e nutrienti necessari per la crescita di lieviti e muffe, e agar come agente solidificante. Il pH acido limita la crescita batterica.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 47 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Riscaldare fino a ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C, mescolare bene e versare in piastre Petri sterili. Se necessario, aggiungere 40 mg/L di clortetraciclina HCl (REF 4240024) dopo l'autoclavatura.

Per preparare gli slant, dispensare 5-6 mL di terreno bollito in provette con tappo a vite da 16 x 125 mm, chiudere leggermente e sterilizzare come sopra. Dopo la sterilizzazione in autoclave, porre le provette in posizione inclinata e lasciarle solidificare.

Quando le procedure dell'utente richiedono un terreno acidificato, sciogliere il terreno sterilizzato in acqua bollente e acidificare a pH 4,5 con acido tartarico sterile. Per preservare le proprietà solidificanti dell'agar, non riscaldare dopo l'aggiunta di acido tartarico.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto della soluzione	giallo, limpido o leggermente opalescente
pH finale (20-25 °C)	5,5 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Malt Agar	Terreno di coltura in polvere	4016452	500 g (10,6 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio come richiesto, beute, provette, piastre di Petri sterili, clortetraciclina HCl (Dermatophyte Antimicrobial Supplement REF 4240024), acido tartarico, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Alimenti, mangimi e altri campioni. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, attenersi alle norme di buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Preparare diluizioni decimali adeguate dei campioni.

Aggiungere 1 mL alle piastre Petri vuote, utilizzando due piastre per ogni diluizione. Versare in ciascuna piastra circa 15 mL di terreno sciolto e raffreddato a 44-47°C. Mescolare delicatamente, lasciando che il terreno si solidifichi.

In alternativa, inoculare direttamente le piastre di agar utilizzando la tecnica di diffusione superficiale con 0,1 o 0,2 mL di diluizioni decimali. Ribaltare le piastre e incubare a 22°C per 5-7 giorni.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare ogni specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

Contare le colonie su piastre che contengono circa 50-100 colonie. Riportare il numero di lieviti o muffe per grammo di alimento moltiplicando il numero di colonie per il fattore di diluizione.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	25°C/ 72h/A	buona crescita
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	25°C/ 72h/A	buona crescita

AN: incubazione anaerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.



12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Malt Agar disidratato viene testato per la produttività e la selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento.

La produttività viene testata con metodo ecometrico semiquantitativo con i ceppi target *S. cerevisiae* ATCC 9763, *C. albicans* ATCC 18804, *P. chrysogenum* ATCC 10106, *A. brasiliensis* ATCC 16404. Le piastre sono state inoculate mediante tecnica di diffusione superficiale con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione di colonie e incubate a 25 °C per 72 ore all'aria. I ceppi target mostrano una buona crescita con colonie tipiche.

La selettività viene valutata con il metodo Miles-Misra modificato, inoculando la superficie delle piastre con gocce di diluizioni decimali adeguate in soluzione fisiologica di una sospensione di *E. coli* ATCC 25922 da 0,5 McFarland. La crescita del ceppo non target è parzialmente inibita.

13-LIMITI DEL METODO

- Le spore delle muffe si disperdono nell'aria con grande facilità, maneggiare le piastre Petri con cura per evitare lo sviluppo di colonie satelliti che darebbero una sovrastima della popolazione nel campione.⁴
- I metodi di conteggio dei lieviti e soprattutto delle muffe sono imprecisi perché sono costituiti da una miscela di micelio e spore asessuate e sessuate. Il numero di unità formanti colonie dipende dal grado di frammentazione del micelio e dalla percentuale di spore in grado di crescere sul terreno di coltura.⁴
- Spesso si verifica una non linearità dei conteggi da piastre di diluizione, cioè le diluizioni di 10 volte dei campioni spesso non si traducono in riduzioni di 10 volte del numero di colonie recuperate sui terreni di coltura. Ciò è stato attribuito alla frammentazione dei miceli e alla rottura degli ammassi di spore durante la diluizione, oltre che all'inibizione competitiva quando un gran numero di colonie è presente sulle piastre.⁴
- Si raccomanda di eseguire test di identificazione sugli isolati, a partire da colture pure.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, 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

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).










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 MacFaddin, il terreno di coltura preparato dall'utente può essere conservato a +2°C/+8°C per 6-8 settimane, mentre il terreno in provetta a +2°C/+8°C per 6 mesi.⁵

16 - BIBLIOGRAFIA

- APHA Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington D.C. 5th Ed, 2015.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 23 Microbiological Methods for Cosmetics. Rev December 2021
- Official methods of analysis of AOAC International, 18th ed. 2007. AOAC International, Gaithersburg, Md.
- ISO 21527-1:2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 6	Aggiornamento del contenuto e del layout	03/2023

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