

## MOTILITY MEDIUM

### Terreno di coltura in polvere

#### 1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno semisolido per il test di motilità.

#### 2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA \*

##### FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA \*

Digerito pancreatico di caseina	20,0 g
Digerito enzimatico di carne	6,1 g
Agar	3,5 g

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

#### 3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Fin dagli albori della microbiologia, la motilità dei batteri è stata utilizzata come mezzo di differenziazione e classificazione.<sup>1</sup> All'inizio, la motilità veniva rilevata mediante osservazione microscopica, successivamente, alla fine del 1800, con terreni di coltura contenenti agar, gelatina e infusi vari. Nel 1935, Tittsler e Sandholzer<sup>2</sup> svilupparono un agar semisolido per determinare la motilità osservando la diffusione della crescita oltre la linea di inoculazione.

La motilità nei batteri si sviluppa attraverso una varietà di meccanismi, ma i più comuni coinvolgono i flagelli che sono presenti principalmente nei bacilli, ma ci sono alcuni cocci flagellati, quindi la motilità è un mezzo molto importante per l'identificazione nella famiglia delle Enterobacteriaceae<sup>1</sup>.

Il terreno per la motilità è preparato secondo la formula descritta dalla norma ISO 11290 ed è raccomandato nella procedura di conferma di *Listeria* spp, compresa *Listeria monocytogenes*.<sup>3,4</sup>

Il terreno contiene caseina e peptoni di carne che forniscono i fattori di crescita essenziali per la crescita microbica. Una piccola quantità di agar contribuisce a creare un terreno semisolido per il test di motilità.

#### 4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 29,6 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Riscaldare fino all'ebollizione con agitazione frequente, dispensare in provette in quantità di circa 5 mL e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

#### 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, biancastra
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpido
pH finale (20-25 °C)	7,3 ± 0,2

#### 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Motility Medium	Terreno di coltura in polvere	4017142	500 g (16.9 L)

#### 7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, ago da inoculo sterile, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, provette con tappo a vite, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

#### 8 – CAMPIONI

I campioni sono costituiti da colonie cresciute su terreni di coltura.

#### 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago da inoculo, pungere il terreno con una coltura pura ottenuta in Tryptic Soy Yeast Extract Agar (REF 402167). Incubare a 25 °C per 48 h ± 2 h.

#### 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare l'eventuale crescita intorno alla linea di taglio.

Un test di motilità positivo è indicato da una crescita diffusa verso l'esterno della linea di inoculo o dalla torbidità del terreno di coltura; un test di motilità negativo è indicato da una crescita confinata alla linea di inoculo.

Le *Listeria* spp. sono mobili e presentano un tipico schema di crescita a ombrello. Se la crescita non è sufficiente, incubare per altri cinque giorni e osservare nuovamente il punto di inoculo.

#### 11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore finale 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 elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>L. monocytogenes</i> NCTC 7973	25°/ 48 H-A	buona crescita che si diffonde oltre la linea di inoculo
<i>L. innocua</i> ATCC 33080	25°/ 48 H-A	buona crescita che si diffonde oltre la linea di inoculo
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25°/ 48 H-A	buona crescita che si diffonde oltre la linea di inoculo
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	25°/ 48 H-A	buona crescita, non mobile

A: incubazione aerobica; 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 Motility Medium disidratato viene testato per la motilità, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.





Colonie pure coltivate su Tryptic Soy Agar di 6 ceppi mobili e di 3 ceppi non mobili vengono inoculate in provette, infilzando il terreno di coltura. Ceppi mobili: *L. monocytogenes* NCTC 7973, *L. innocua* ATCC 33090, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *P. mirabilis* ATCC 25933, *S. Typhimurium* ATCC 14028; ceppi non mobili: *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. flexneri* ATCC 12022, *S. aureus* ATCC 25923. Dopo l'incubazione a 25°C per 24-48 ore, viene osservata e registrata la motilità. Tutti i ceppi presentano caratteristiche di performance conformi alle specifiche.

### 13 – LIMITE DEL METODO

- Recentemente sono state isolate alcune nuove specie di *Listeria*. La maggior parte di esse non sono mobili nel Motility Medium.<sup>3,4</sup>
- I batteri mobili ma con flagelli danneggiati possono dare risultati falsi negativi.
- La presenza di acqua in eccesso nelle provette può portare a falsi positivi.<sup>1</sup>
- Il successo di questo test dipende da un'adeguata tecnica di semina e dalla qualità dell'ago da inoculo. Si raccomanda di utilizzare un ago da inoculo diritto. Se non è disponibile, si consiglia di utilizzare un ago da inoculo monouso.<sup>1</sup>
- È necessario inoculare il terreno di coltura facendo attenzione a rimuovere l'ago lungo la stessa linea di puntura.
- Non prelevare gli inoculi da liquidi o brodi in sospensione.
- Le colonie isolate sulle piastre devono essere identificate con test adeguati.

### 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.
- 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.
- 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](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 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).

### 16 - BIBLIOGRAFIA

- Shields P, Cathcart L. Motility Test Medium Protocol. 01 November 2011. American Society for Microbiology © 2016
- Tittsler RP, Sandholzer LA. The use of semi-solid agar for the detection of bacterial motility. J Bacteriol 1936; 31:575–580.
- ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method.
- ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 2: Enumeration method.

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	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 2	Aggiornamento del layout e dei contenuti	03/2023

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

