



MSE AGAR

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per il rilevamento e il conteggio di *Leuconostoc* in prodotti lattiero-caseari e altri materiali.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Triptone	10,0 g
Gelatina	2,5 g
Estratto di lievito	5,0 g
Saccarosio	100,0 g
Glucosio	5,0 g
Sodio citrato	1,0 g
Sodio azide	75,0 mg
Agar	13,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I *Leuconostoc* spp. sono mesofili Gram-positivi appartenenti al gruppo dei batteri lattici, di forma coccoide, caratterizzati da fermentazione eterolattica. Si trovano comunemente sulle piante, soprattutto canna da zucchero e verdure a foglia, nei prodotti caseari e nel vino. Sono utilizzati nell'industria alimentare come colture starter nella produzione di alimenti.

MSE Agar è un terreno selettivo per la rilevazione e il conteggio di *Leuconostoc* nel latte, nei prodotti lattiero-caseari, negli alimenti dolci, nel burro, nelle verdure fermentate e nelle paste acide. MSE Agar è adatto per il conteggio di *Leuconostoc* nelle colture starter.¹

L'acronimo MSE deriva dalle iniziali dei microbiologi che hanno ideato il terreno di coltura: Mayeux, Sandine ed Elliker.²

Dal saccarosio presente nel terreno, *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc dextranicum* sintetizzano polisaccaridi (destrani) e crescono con colonie mucose e gelatinose. Le specie di *Leuconostoc* che non sintetizzano destrani crescono con colonie piccole e incolori. Sodio azide inibisce i batteri Gram-negativi e i lattococchi che coesistono con i *Leuconostoc* nei prodotti caseari.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 136,5 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Riscaldare fino all'ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C e versare in piastre Petri sterili.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione	beige, limpido
pH finale (20-25 °C)	6,9 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
MSE Agar	Terreno di coltura in polvere	4017382	500 g (3,7 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Latte, prodotti lattiero-caseari, alimenti dolci, burro, verdure fermentate, paste acide, fermenti lattici. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, attenersi alle regole della buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Inoculare 0,1 mL di sospensione del campione e/o delle sue diluizioni decimali e distribuire l'inoculo sulla superficie delle piastre.
- Incubare a 21-22°C per 4 giorni in atmosfera aerobica.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie.

L. mesenteroides e *L. dextranicum* crescono con grandi colonie mucose e gelatinose.

Gli altri *Leuconostoc* spp. crescono con colonie piccole e incolori.

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. mesenteroides</i> ATCC 14935	21°/ 72 H-A	crescita con colonie grandi, mucose e gelatinose
<i>E. coli</i> ATCC 25922	21°/ 72 H-A	inibito

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.



12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di MSE Agar disidratato (TB) viene valutato per la produttività e la selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

La produttività viene testata con metodo quantitativo di semina in superficie con il ceppo target *L. mesenteroides* ATCC 14935: le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione di colonie e incubate a 21°C per 72 ore. Le colonie vengono contate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr UFC_{TB}/UFC_{RB}). Se Pr è $\geq 0,7$ e se la morfologia delle colonie è tipica (colonie gelatinose di grandi dimensioni), i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

La selettività viene valutata con il metodo di Miles-Misra modificato, inoculando le piastre in superficie con adeguate diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland di *E. coli* ATCC 25922 e *S. lactis* ATCC 11454. La crescita dei ceppi non target è inibita.

13 – LIMITE DEL METODO

- MSE Agar è un terreno moderatamente selettivo e possono crescere microrganismi diversi da *Leuconostoc*
- Dopo 4 giorni di incubazione, gli streptococchi lattici possono svilupparsi sul terreno come colonie piccole, opache, bianche o bianco-giallastre.

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 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.
- 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

Al ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo dalla luce diretta in un luogo asciutto. Se conservato correttamente, può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in luoghi umidi. Dopo l'uso, il contenitore deve essere ben chiuso. Scartare il prodotto se il contenitore e/o il tappo sono danneggiati, o se il contenitore non è ben chiuso, o in caso di evidente deterioramento della polvere (cambiamenti di colore, indurimento, grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei supporti preparati e della convalida della loro durata di conservazione, in base al tipo e alle condizioni di conservazione applicate (temperatura e imballaggio).

16 - BIBLIOGRAFIA

- FIL-IDF 149A. 1997. Levains lactiques de cultures de bactéries lactiques. Norme de composition.
- Mayeux JV, Sandine WE, Elliker PR. A selective medium for detecting *Leuconostoc* in mixed-strain starter cultures. *J Dairy Sci* 1962;45, 655.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del layout e dei contenuti	03/2023

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

