



# STAA AGAR BASE

## STAA SELECTIVE SUPPLEMENT

Terreno di coltura in polvere e supplemento selettivo

### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio di *Brochothrix* spp. nei campioni alimentari, in particolare carne e prodotti a base di carne.

### 2 - COMPOSIZIONE\*

#### STAA AGAR BASE

##### FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA

Peptone	20,00 g
Estratto di lievito	2,00 g
Potassio fosfato bibasico	1,00 g
Magnesio solfato	0,49 g <sup>^</sup>
Cicloeximide	0,05 g
Agar	11,50 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g

#### STAA SELECTIVE SUPPLEMENT

##### CONTENUTO DEL FLACONE PER 500ML DI TERRENO

Streptomicina solfato	250 mg
Tallio acetato	25 mg

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

<sup>^</sup> corrispondenti a 1 g di magnesio solfato eptaidrato

### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il genere *Brochothrix* comprende 2 specie, *B. thermosphacta* e *B. campestris*.<sup>1</sup> *B. thermosphacta* è un organismo Gram-positivo, a forma di bastoncino, non mobile, non sporigeno, anaerobico facoltativo e psicrotrofico frequentemente coinvolto nel deterioramento di carne o prodotti a base di carne confezionati sottovuoto.<sup>2</sup> *B. campestris* è stato finora identificato solo in campioni prelevati dal suolo e dall'erba.<sup>1</sup> Streptomycin Thallous Acetate Actidione (STAA) Agar si basa sulla formulazione descritta da Gardner<sup>2</sup> per il conteggio di *Brochothrix* spp. negli alimenti, in particolare carne e prodotti a base di carne.

Il terreno completo viene preparato con il terreno di base addizionato di glicerolo e del supplemento selettivo costituito da streptomicina e acetato di tallio.

Il peptone fornisce azoto e minerali per la crescita microbica; l'estratto di lievito è una fonte di vitamine del complesso B per la stimolazione della crescita. Il potassio fosfato viene utilizzato come agente tampone per controllare il pH nel terreno mentre il solfato di magnesio migliora la crescita microbica. La streptomicina solfato impedisce la crescita di alcuni batteri Gram-positivi e della maggior parte dei Gram-negativi, ma non ha alcun effetto sullo sviluppo di *Brochothrix* spp. L'acetato di tallio inibisce la maggior parte dei lieviti così come molti batteri aerobi e anaerobi facoltativi. La Cycloheximide è inclusa come agente antimicotico.

### 4 - PREPARAZIONE

Sospendere 17,5 g in 500 mL di acqua purificata fredda e aggiungere 7,5 g di glicerolo (REF 421015). Portare ad ebollizione agitando frequentemente per sciogliere completamente il terreno e sterilizzare in autoclave a 115°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C e aggiungere il contenuto di una fiala di STAA Selective Supplement (REF 4240052), ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile. Mescolare bene e versare in piastre di Petri sterili.

ATTENZIONE: il terreno in polvere STAA Agar Base contiene cicloeximide. Maneggiare con cura, evitando il contatto con la pelle e gli occhi. Il supplemento selettivo contiene acetato di tallio. Non inalare, evitare il contatto con la pelle e gli occhi. Maneggiare il prodotto indossando guanti e utilizzando dispositivi di protezione per gli occhi. Leggere le schede di sicurezza dei materiali.

### 5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

#### STAA Agar Base ISO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione e in piastra	viola, limpido
pH (20-25°C)	7,0 ± 0,1

#### STAA Selective Supplement

Aspetto del supplemento liofilizzato	pastiglia bianca, bassa e compatta
Aspetto della soluzione	incolore, limpido

### 6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
STAA Agar Base	Terreno di coltura in polvere	4020792	500 g (14,5 L)
STAA Selective Supplement	Supplemento liofilizzato	4240052	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

### 7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, piastre Petri sterili, glicerolo (REF 421015), terreni di coltura e reagenti ausiliari per l'identificazione completa delle colonie.

### 8 - CAMPIONI

Prodotti destinati al consumo umano e all'alimentazione animale, in particolare carne e prodotti a base di carne, campioni ambientali nel settore della produzione e manipolazione di alimenti e mangimi e campioni della fase di produzione primaria. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.





### 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

1. Trasferire, mediante una pipetta sterile, 0,1 mL del campione in esame se il prodotto è liquido, o della sospensione iniziale nel caso di altri prodotti, nella piastra di STAA Agar.
2. Ripetere la procedura utilizzando ulteriori diluizioni decimali, se necessario.
3. Distribuire l'inoculo il più rapidamente possibile sulla superficie della piastra di agar senza toccare i lati della piastra con lo spargitore. Lasciare le piastre con i coperchi per circa 15 minuti a temperatura ambiente affinché il liquido venga assorbito dall'agar.
4. Capovolgere le piastre preparate e incubare a 22°C/25°C per 48 h ± 4.

### 10 – LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie. Su STAA Agar, *Brochothrix* di solito produce colonie lucide, rotonde o circolari di diametro pari o superiore a 1 mm di colore biancastro. Contare le colonie caratteristiche su ogni piastra contenente da 10 a 150 colonie. Eseguire i test dell'ossidasi e della catalasi: *Brochothrix* è ossidasi-negativo e catalasi-positivo.

### 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 ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>B. thermosphacta</i> ATCC 11509	22-25°C/ 44-52 H / A	buona crescita
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	22-25°C/ 44-52 H / A	totalmente o parzialmente inibito
<i>L. sakei</i> ATCC 15521	22-25°C/ 44-52 H / A	totalmente o parzialmente inibito

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

### 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di STAA Agar Base disidratato, integrato con glicerolo e STAA Selective Supplement, viene testato per produttività e selettività con ceppi target e non target.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semi-quantitativa con il ceppo target *B. thermosphacta* ATCC 11509. Dopo incubazione a 22°C per 48 ore il ceppo target mostra una buona crescita con colonie tipiche.

La selettività è valutata con metodo Miles-Misra di semina in superficie modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non target: *E. faecalis* ATCC 19433, *L. sakei* ATCC 15521, *L. plantarum* ATCC 8014, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 18804. La crescita del ceppo non target è totalmente o parzialmente inibita dopo incubazione a 22°C per 48 ore.

### 13 – LIMITI DEL METODO

- I ceppi di *Pseudomonas* possono crescere su terreno STAA. Devono essere differenziati da *Brochothrix* spp. eseguendo il test dell'ossidasi.<sup>1</sup>
- Alcuni batteri dell'acido lattico possono produrre colonie caratteristiche sul terreno STAA. I batteri dell'acido lattico si differenziano da *Brochothrix* spp. eseguendo il test della catalasi.<sup>1</sup>

### 14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura ed il supplemento sono destinati esclusivamente al controllo microbiologico e all'uso professionale; devono essere utilizzati da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate in materia di rischio biologico e le tecniche asettiche.
- Il terreno di base e il supplemento devono essere utilizzati in associazione secondo le indicazioni descritte.
- I terreni in polvere e i supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. L'acetato di tallio ha un'elevata tossicità. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza dei materiali.
- 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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Prestare attenzione quando si apre l'anello metallico delle fiale per evitare lesioni.
- Il supplemento è sterilizzato mediante filtrazione su membrana.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminazioni con il terreno in polvere, il supplemento o i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno e il supplemento non utilizzato 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 la Scheda di Sicurezza del prodotto 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 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.





### 15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

#### Terreno disidratato

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. 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 (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 produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento). Secondo Baird RM *et al* e la norma ISO 13722, le piastre preparate autonomamente possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un massimo di 1 settimana.<sup>1,3</sup>

### 16 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 13722:2017. Microbiology of the food chain — Enumeration of *Brochothrix* spp. — Colony-count technique.
2. Gardner GA. A selective medium for the enumeration of *Microbacterium thermosphactum* in meat and meat products. *J Appl Bacteriol.* 1966; 29:455-60.
3. 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; 5:270-1.

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	04/2023

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

