



BILE AESCULIN AZIDE AGAR ISO FORMULATION

Terreno di coltura in polvere



Colonie di *E. faecalis* coltivate sulla membrana filtrante su Slantetz Bartley Agar, trasferita su BEEA-ISO ed incubata per 2 ore (colonie viste dall'alto e dal fondo della piastra da 55 mm).

DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo e differenziale per il test di conferma degli enterococchi in accordo a ISO 7899-2

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIOGNIMENTO IN ACQUA)*

Triptone	17,00 g
Peptone	3,00 g
Estratto di lievito	5,00 g
Bile di bue	10,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Esculina	1,00 g
Ferro Ammonio Citrato	0,5 g
Sodio azide	0,15 g
Agar	13,00 g

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

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Bile Aesculin Azide Agar ISO Formulation è un terreno selettivo e differenziale, preparato in accordo alla formulazione descritta dalla norma ISO 7899-2 per la prova di conferma degli enterococchi intestinali isolati dalle acque. Rispetto alla formulazione classica di Isenberg, il terreno ISO contiene una quantità inferiore di sodio azide e non contiene sodio citrato. La norma ISO 7899 descrive un metodo per l'isolamento e la enumerazione degli enterococchi intestinali, appartenenti soprattutto alle specie *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* e *E. hirae*. In aggiunta, altre specie riferibili al genere *Enterococcus* ed alcune specie riconducibili al genere *Streptococcus* (cioè *S. bovis* e *S. equinus*) possono essere occasionalmente evidenziate. Queste specie di *Streptococcus* non sopravvivono a lungo in acqua ed è verosimile che non sia possibile effettuare una valutazione quantitativa. Ai fini dell'esame delle acque, gli enterococchi possono essere considerati come degli indicatori di inquinamento fecale. Tuttavia si dovrebbe notare che alcuni enterococchi ritrovabili nelle acque possono anche occasionalmente derivare da habitat diversi. Il metodo descritto dalla norma ISO 7899-2 prevede enumerazione degli enterococchi intestinali con le membrane filtranti su terreno Slantetz Bartley Agar, seguita dalla conferma su Bile Aesculin Azide Agar ISO Formulation. Il triptone, il peptone e l'estratto di lievito forniscono azoto, carbonio, vitamine, aminoacidi ed elementi in tracce per la crescita microbica; l'azide sodica ed i sali biliari sono agenti selettivi che limitano, rispettivamente, la crescita dei batteri gram negativi e dei batteri gram positivi diversi dagli streptococchi fecali; l'esculina è idrolizzata dagli enterococchi intestinali a glucosio ed esculetina (6-7diidrossicumarina); l'esculetina reagisce con i sali di ferro presenti nel terreno conferendogli una colorazione marrone-nera. Per una più completa descrizione delle caratteristiche del gruppo streptococchi fecali/enterococchi intestinali si rimanda alla scheda tecnica del terreno Azide Maltose Agar KF (401107)

PREPARAZIONE

Sospendere 54,7 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 in modo da ottenere uno strato tra 3 mm e 5 mm. Le piastre così predisposte possono essere conservate a 5 °C ± 3 °C fino a 2 settimane.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra	tannino con riflessi azzurri, limpido.
pH (20-25°C)	7,1 ± 0,1

MATERIALI FORNITI

Terreno di coltura in polvere Bile Aesculin Azide Agar ISO Formulation.

MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

CAMPIONI

Il metodo d'analisi qui riportato, tratto dalla norma ISO 7899-2 è adatto all'esame delle acque potabili, di quelle provenienti dalle piscine e di altre acque pulite o disinfettate. Tuttavia il metodo può essere applicato a tutti i tipi di acque con l'eccezione di quelle che presentino un'elevata quantità di materia sospesa o considerevoli cariche di microrganismi interferenti. L'applicazione del metodo appare particolarmente appropriata per l'analisi di grandi quantità di acqua contenente cariche ridotte di enterococchi intestinali.

Riferirsi alla norma citata ed ad altre norme applicabili per i dettagli operativi del campionamento.



PROCEDURA DELL'ANALISI

- Filtrare un volume adeguato di campione attraverso una membrana. Posizionare la membrana su una piastra di Slanetz Bartey Agar e incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 44 ± 4 ore. Dopo l'incubazione, considerare come tipiche tutte le colonie che mostrino nella zona centrale o in tutto il loro sviluppo una colorazione rossa, marrone o rosa.
- Nel caso si osservino colonie tipiche, trasferire la membrana sulla superficie di una piastra di Bile Esculin Azide Agar ISO Formulation e incubare a $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ per 2 ore.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie. Contare come enterococchi intestinali tutte le colonie con un alone da bruno a nero che in precedenza su Slanetz Bartley Agar avevano dato crescite rosse-marroni o rosa. L'identificazione completa a livello di specie dei microrganismi coltivati sul terreno deve essere effettuata con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa, dopo purificazione delle colonie con subcoltura su terreno appropriato.

CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. E' comunque responsabilità 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.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	44°C/24H/A	buona crescita, colonie con alone nero
<i>E. faecium</i> ATCC 27270	44°C/24H/A	buona crescita, colonie con alone nero

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrate di American Type Culture Collection

LIMITI DEL METODO

Una distribuzione non uniforme di colonie batteriche o la presenza di elevate cariche microbiche possono interferire con la differenziazione delle colonie positive, a causa della diffusione del colore alle colonie adiacenti.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Prima dell'uso consultare la Scheda di Sicurezza del prodotto. I terreni in polvere devono essere manipolati con una adeguata protezione delle vie respiratorie.
- Il prodotto qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* sugli animali e quelli durante il processo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto qui descritto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare). Scaricare da sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Il terreno qui descritto è destinato all'esame microbiologico delle acque, 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.
- Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici 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.

CONSERVAZIONE

Conservare a $+10^\circ\text{C}$ / $+30^\circ\text{C}$ al riparo della luce e dall'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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento).

BIBLIOGRAFIA

- Isenberg, Goldberg and Sampson. 1970. Appl. Microbiol. 20:433.
- UNI EN ISO 7899-2- Ricerca ed enumerazione di enterococchi intestinali. Metodo di filtrazione su membrana. Dicembre 2003

CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Bile Aesculin Azide Agar ISO Formulation	Terreno di coltura in polvere	4010182	500 g (9 L)



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.