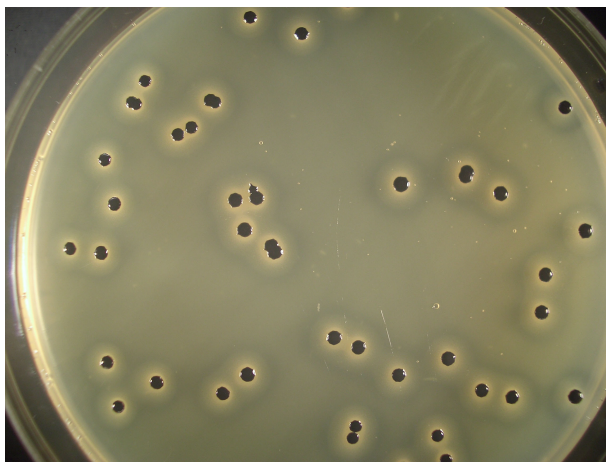


BAIRD PARKER AGAR BASE

Terreno in polvere per l'isolamento ed il conteggio degli stafilococchi coagulasi positivi



Baird Parker Egg Yolk Tellurite Agar: colonie di *S.aureus* dopo incubazione a 37°C per 48 ore. Doppia zona attorno alle colonie, opaca all'interno, trasparente all'esterno

FORMULA TIPICA (g/L)

Triptone	10
Estratto di carne	5
Estratto di lievito	1
Sodio piruvato	10
Glicina	12
Litio cloruro	5
Agar	15

PREPARAZIONE

Baird Parker Egg Yolk Tellurite Agar: sospendere 58 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare in bagnomaria termoregolato a circa 50 °C ed aggiungere, con le cautele dell'asepsi, 50 mL di Egg Yolk Tellurite Emulsion 20% (REF 423701) oppure 50 mL di Egg Yolk Tellurite Emulsion 50% (REF42111602) preriscaldata a 50 °C. Mescolare accuratamente e versare in piastre sterili: il terreno deve apparire uniformemente opaco. Fare asciugare le piastre per un'ora in termostato a 50 °C ed utilizzare entro 24 ore dalla preparazione.

Baird Parker RPF Agar: sospendere 58 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire in flaconi in ragione di 90 mL per flacone ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare in bagnomaria termoregolato a circa 50 °C ed aggiungere, con le cautele dell'asepsi, il contenuto di un flacone di RPF Supplement II (REF 423102) ricostituito secondo le istruzioni con 10 mL di acqua distillata sterile. Mescolare accuratamente e versare in piastre sterili: il terreno appare lievemente opalescente. Utilizzare entro 24 ore dalla preparazione.

pH finale 7.2 ± 0.2.

DESCRIZIONE

Baird Parker Agar è un terreno selettivo e diagnostico raccomandato da ISO 6888 e dal FDA, per l'isolamento degli stafilococchi coagulasi positivi dagli alimenti. Litio cloruro e potassio tellurito sono inibenti per la flora contaminante, glicina e sodio piruvato facilitano lo sviluppo degli stafilococchi; la riduzione del tellurito a tellurio (nero) e la chiarificazione del giallo d'uovo permettono l'identificazione presuntiva delle colonie su Baird Parker Egg Yolk Tellurite Agar; la formazione di un alone opaco su Baird Parker RPF Agar consente l'identificazione definitiva degli stafilococchi coagulasi positivi.

Sul terreno possono coltivare anche alcuni ceppi di streptococchi, micrococchi, corinebatteri ed enterobatteri ma non sviluppano reazioni tipiche; coltivano anche alcuni lieviti, funghi e bacilli facilmente distinguibili per la morfologia e il colore grigio delle colonie. Smith e Baird-Parker e le norme internazionali consigliano di aggiungere al terreno, prima o dopo l'autoclavatura, sulfamezzatina 50 µg/mL quando si debbano sottoporre ad analisi materiali presumibilmente contaminati con protei.

IMPIEGO

ISO 6888-1 raccomanda la seguente procedura con il terreno Baird Parker Egg Yolk Tellurite Agar :

1. Preparare la sospensione madre del campione le diluizioni successive con Maximum Recovery Diluent (REF 401691).
2. Con una pipetta sterile, trasferire 0,1 mL dell'aliquota di prova, se il campione è liquido, oppure 0.1 mL della sospensione madre in caso di altri prodotti., sulla superficie del terreno Baird Parker Egg Yolk Tellurite Agar in piastra. Ripetere le operazioni con le diluizioni successive, se necessario. I limiti della conta possono essere innalzati di un fattore 10, seminando 1 mL del campione di prova o della diluizione madre su una piastra da 140 mm oppure suddividendo l'aliquota su 3 piastre da 90 mm.
3. Distribuire l'inoculo su tutta la superficie del terreno e lasciar asciugare le piastre a temperatura ambiente per 15 minuti.
4. Incubare a 37°C ed eseguire una prima lettura dopo 24 ore. Segnare sul fondo delle piastre le colonie tipiche presenti. Eseguire una seconda lettura dopo ulteriori 24 ore di incubazione, segnare le ulteriori colonie tipiche comparse ed eseguire il conteggio complessivo. Considerare preferenzialmente, per la conta, le piastre a due diluizioni successive che contengano al massimo 150 colonie tipiche e/o atipiche. Le colonie tipiche di *S.aureus* sono nere o grigio-nere, lucenti, convesse, di diametro 1-1,5 mm dopo 24 ore e di 1,5-2,5 mm dopo 48 ore, circondate da un alone di chiarificazione dell'uovo che può però apparire parzialmente opaco. Dopo 48 ore le colonie di *S.aureus* presentano sempre un doppio alone, uno interno opaco ed uno esterno trasparente. Occorre tuttavia considerare che *S.aureus* può coltivare con colonie atipiche, simili alle precedenti, ma senza alone. Tali colonie devono essere considerate sospette e contate a parte. Le colonie sospette atipiche si formano frequentemente da ceppi di *S.aureus* presenti in prodotti lattiero caseari, gamberi e frattaglie, sono rare invece per altri campioni alimentari.
5. Selezionare almeno 5 colonie tipiche se vi sono solo colonie tipiche, oppure anche 5 colonie atipiche, se presenti, e con esse preparare delle brodoculture di 24 ore in BHI Broth. Con tali crescite eseguire il test della coagulasi come conferma (Coagulase Plasma EDTA REF 429937).

ISO 6888-2 raccomanda la seguente procedura con il terreno Baird Parker RPF Agar :

1. Munirsi di due piastre di Petri sterili. Nel caso il prodotto da esaminare fosse liquido, per mezzo di una pipetta sterile trasferire nelle piastre, in duplicato, 1 mL di campione. Per gli altri prodotti trasferire in piastra 1 mL della sospensione madre. Trasferire in altre 2 piastre 1 mL della prima diluizione decimale. Ripetere le operazioni con le diluizioni successive, impiegando una nuova pipetta sterile per ogni nuova diluizione.
 2. Introdurre in ciascuna piastra di Petri, 10-15 mL di terreno di coltura mantenuto a 47 +/- 2°C. Mescolare con cura l'inoculo con il terreno di coltura e lasciare solidificare posizionando le piastre su una superficie orizzontale.
 3. Dopo completa solidificazione, introdurre le piastre capovolte in termostato ed incubare per 18-24 ore a 37 °C. Se necessario re-incubare per ulteriori 18 - 24 ore.
 4. Dopo incubazione, gli stafilococchi formano colonie nere o grigie o perfino bianche circondate da un alone opaco, indice dell'attività coagulasi. Contare le colonie tipiche in ogni piastra.
 5. Nel caso si scelga il metodo dell'inoculo in superficie le piastre possono essere preparate, con le cautele dell'aspetti, in precedenza, e conservate per 15 giorni a 4-8°C in sacchetti di plastica. In questo caso seminare 0,1 mL del materiale in esame e delle successive diluizioni strisciando con cura su tutta la superficie del terreno in piastra.
- Poiché il terreno di coltura contenente fibrinogeno e plasma di coniglio mette in evidenza la reazione coagulasi, non è necessario procedere a test di conferma.
- La corrispondente norma UNI consente di eseguire il conteggio anche con la tecnica della semina in superficie.

Controllo Qualità suggerito (37°C-24 h)

Controllo della produttività

S.aureus ATCC 6538: buona crescita, colonie tipiche

S.aureus ATCC 25923: buona crescita, colonie tipiche

Controllo della selettività

E.coli ATCC 25922: inibito

Controllo della specificità

S.epidermidis ATCC 12222: parzialmente inibito, colonie non tipiche

CONSERVAZIONE:

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Supplementi: conservare i supplementi (RPF II ed Egg Yolk Tellurite Emulsion) fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 24 ore a 2-8°C

Piastre pronte all'uso: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: il terreno qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene litio cloruro (classificabile come Xi irritante) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di questo terreno deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Supplementi e piastre pronte all'uso: i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%.

I preparati qui descritti devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Baird-Parker, A.C. (1962) - An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. J. Appl. Bact., 25, 12-19.
- FDA (1995) Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. Revision A, 1998. Published by AOAC International.
- UNI EN ISO 6888-1:2004 Metodo orizzontale per la conta di stafilococchi coagulasi-positivi (*Staphylococcus aureus* e altre specie)- Tecnica che utilizza il terreno agar Baird-Parker
- UNI EN ISO 6888-2:2004 Microbiologia di alimenti e mangimi per animali - Metodo orizzontale per la conta di stafilococchi coagulasi-positivi (*Staphylococcus aureus* e altre specie) - Tecnica che utilizza il terreno agar al plasma di coniglio e al fibrinogeno
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D.De Medici, L.Fenicia, L.Orefice e A.Stacchini.
- Smith, B.A. & Baird Parker, A.C. (1964) - The use of sulphamezathine for inhibiting *Proteus* spp. on Baird-Parker's isolation medium for *Staphylococcus aureus*. J. Appl. Bact., 27, 78-82.

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4011162 Baird Parker Agar Base, 500g (8,6 L)

4011164 Baird Parker Agar Base, 5 kg (86 L)

Supplementi

423700 Egg Yolk Tellurite Emulsion 20% 50 mL

423701 Egg Yolk Tellurite Emulsion 20%, 100 mL

423702 Egg Yolk Tellurite Emulsion 20%, 200 mL

423102 RPF Supplement II

4 fiale da 10 mL (ciascuna per 100 mL di terreno)

423102D RPF Supplement II

4 fiale da 20 mL (ciascuna per 200 mL di terreno)

Il terreno è disponibile anche pronto per l'uso in piastra e fiasco

541116 Baird Parker Agar (E.Y.) 20 piastre diam. 90 mm

491116 Baird Parker Agar (E.Y.) 30 piastre diam. 55 mm

543101 Baird Parker RPF Agar 20 piastre diam. 90 mm

5111162 Baird Parker Agar Base 6 x 100 mL

5131022 Baird Parker Agar+RPF suppl 4 x 90 mL+ 4 fiale RPF