

TRYPTIC SOY BROTH MODIFIED (m-TSB)Terreno liquido per l'arricchimento di *Escherichia coli* O 157**FORMULE TIPICHE (g/L)****TRYPTIC SOY BROTH MODIFIED –TERRENO IN POLVERE**

Triptone	17.0
Peptone di soia	3.0
Sodio cloruro	5.0
Dipotassio fosfato	4.0
Glucosio	2.5
Sali biliari n° 3	1.5

TRYPTIC SOY BROTH MODIFIED –TERRENO IN FLACONE

Triptone	17.0
Peptone di soia	3.0
Sodio cloruro	5.0
Dipotassio fosfato	4.0
Glucosio	2.5
Sali biliari n° 3	1.5
Novobiocina	20 mg

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 33 in 1000 mL di acqua distillata fredda; scaldare fino a completa soluzione, distribuire in ragione di 225 mL per flacone e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50 °C. Ricostituire con le precauzioni dell'asepsi un flacone di Novobiocin Antimicrobial Supplement (4240045) con 5 mL di acqua distillata sterile. A 225 mL di brodo, aggiungere 2,25 mL di soluzione di novobiocina. (concentrazione finale: 4,5 mg/225 mL – 20 mg/L).
pH finale 7,4 ± 0.2

TERRENO PRONTO IN FLACONE

Il terreno liquido in flacone è pronto per l'uso

DESCRIZIONE

Il terreno m-TSB con novobiocina (m-TSM+N) è raccomandato da ISO 16654 per la preparazione della sospensione madre e per l'arricchimento selettivo nella procedura d'isolamento di *Escherichia coli* O 157 nei campioni alimentari.

IMPIEGO

A 225 mL di m-TSB+N preriscaldato a 41 +/- 1 °C, aggiungere 25 g di campione. Incubare a 41 +/- 1 °C per 6 e poi per ulteriori 12-18 ore. Eseguire l'immuno-concentrazione con i kit reperibili in commercio sulle colture di 6 ore e di 6 + 12/18 ore.

Inoculare 50 µl di particelle magnetiche risospese su piastra di Cefixime Tellurite Mac Cokey Sorbitol Agar (CT-SMAC), preparato con il terreno di Mac Cokey Sorbitol Agar (401669S) e con il supplemento CT (42ISEC).

Selezionare cinque colonie tipiche ed eseguire il test sierologico di conferma con il kit in agglutinazione E.coli O 157 Latex Test (17PL070/17PL071) o gli altri test biochimici di conferma indicati dalla norma ISO 16654.

Il terreno liquido può essere impiegato per la ricerca di E.coli O 157 anche in campioni di feci seguendo le procedure d'arricchimento qui descritte opportunamente adeguata per le quantità del campione a disposizione.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE (Incubazione a 41 °C per 24 ore)

Controllo della produttività: *E.coli* O157 ATCC 43894, crescita

Controllo della selettività: *S.aureus* ATCC 25923, inibito

CONSERVAZIONE

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

Utilizzare i flaconi preparati in laboratorio completi di novobiocina il giorno della preparazione.

Conservare i flaconi preparati in laboratorio senza novobiocina per un massimo di 1 mese a 2-8°C.

Supplemento liofilo: conservare i fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento

Terreno pronto in flacone: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreni in polvere: Tryptic Soy Broth Modified (m-TSB) non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari (classificabili come Xn irritanti) 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 sua manipolazione deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Supplemento Novobiocin Antimicrobic Supplement: il preparato contiene novobiocina ed è classificato Xi (irritante) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'uso.

Terreno pronto in flacone: il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

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

BIBLIOGRAFIA

• ISO 16654:2001 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of Escherichia coli O157

CONFEZIONI

Terreno in polvere

402155M2 Tryptic Soy Broth Modified (m-TSB) 500 g (15.1 L)

Supplemento selettivo

4240045 Novobiocin Antimicrobic Supplement 10 x 500 mL

Terreno pronto per l'uso (per microbiologia agro-alimentare)

512155M3 Tryptic Soy Broth Modified (m-TSB)+Novobiocin 6x225 mL (flaconi pronti)

ALTRI MATERIALI UTILI PER LA DETERMINAZIONE DI E.COLI O157

401669S Mac Conkey Sorbitol Agar 100 g (2 L) – 500 g (10 L)

42ISEC Cefixime Tellurite Supplement 10 fiale, ciascuna per 500 mL di terreno.

17PL070 E.coli O 157 Latex Test 50 test

17PL071 E.coli O 157 Latex Test 100 test