



DOUBLE MODIFIED LYSINE IRON AGAR (DMLIA) DMLIA NOVOBIOCIN SUPPLEMENT

Terreno di base in polvere, supplemento selettivo e terreno in piastra pronto all'uso



Salmonella derby su piastra di DMLIA

DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base in polvere, supplemento selettivo e piastre pronte all'uso per l'isolamento di *Salmonella* spp. dagli alimenti.

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

Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA)

	TERRENO IN POLVERE	TERRENO IN PIASTRA
Peptone	5 g	5 g
Estratto di lievito	3 g	3 g
Glucosio	1 g	1 g
L-Lisina HCl	10 g	10 g
Ferro ammonio citrato	0,8 g	0,8 g
Sodio tiosolfato	6,8 g	6,8 g
Sali biliari n° 3	1,5 g	1,5 g
Lattosio	10 g	10 g
Saccarosio	10 g	10 g
Porpora di bromo cresolo	0,02 g	0,02 g
Agar	15 g	15 g
Novobiocina	-	0,015 g
Acqua purificata	-	1000 mL

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

CONTENUTO DEL FLACONE

DMLIA Novobiocin Supplement

Novobiocina 7,5 mg

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA), preparato aggiungendo al terreno di base novobiocina 15 mg/L, corrisponde alla formulazione del terreno selettivo e differenziale descritto da Rappold e Bolderdijk nel 1979 ed indicato da USDA per l'isolamento dei ceppi H₂S positivi e negativi di *Salmonella* in una larga varietà di prodotti alimentari.

Il terreno di base è costituito essenzialmente da Lysine Iron Agar addizionato di sali biliari, lattosio, saccarosio e da quantità aggiuntive di sodio tiosolfato e ferro ammonio citrato.

Il peptone e l'estratto di lievito sono fonti di azoto, carbonio, minerali e vitamine per la crescita batterica, il glucosio, il lattosio ed il saccarosio sono carboidrati fermentabili; i sali biliari e la novobiocina sono gli agenti selettivi del terreno; il porpora di bromo cresolo è un indicatore di pH, di colore giallo a pH inferiore a 5,2 e di colore porpora a pH superiore a 6,8; il ferro ammonio citrato ed il sodio tiosolfato costituiscono il sistema indicatore per la formazione e la rilevazione di idrogeno solforato; la lisina è decarbossilata con una reazione alcalina. *Salmonella* decarbossila la lisina e, non essendo lattosio/saccarosio positiva, induce una reazione alcalina nel terreno con lo sviluppo di colonie con diverse tonalità di porpora (colonie color malva); la formazione di idrogeno solforato è indicata dalla formazione di colonie con centro nero.

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 31,56 g in 500 mL di acqua purificata sterile. Riscaldare fino ad ebollizione per ottenere il completo scioglimento del terreno. NON AUTOCLAVARE. Raffreddare a 45-50°C ed addizionare, con le precauzioni dell'asepsi il contenuto di un flacone di DMLIA Novobiocin Supplement (REF 4240029) ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile. Mescolare bene e distribuire in piastra in ragione di 15-20 mL. Conservare le piastre per un massimo di 3 settimane a 2-8 °C

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, verde
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra pH (20-25°C)	terreno leggermente opalescente di colore viola 6,7 ± 0,2

CARATTERISTICHE DEL SUPPLEMENTO SELETTIVO

Aspetto del liofilizzato	pastiglia bassa, leggermente friabile, bianca
Aspetto della soluzione	limpida, incolore



MATERIALI FORNITI

Terreno di coltura in polvere Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA) e supplemento selettivo DMLIA Novobiocin Supplement o piastre pronte all'uso Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA).

MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

CAMPIONI

Per la raccolta e la preparazione dei campioni alimentari fare riferimento al documento USDA del 2019.³

PROCEDURA DELL'ANALISI

Trasferire un'ansata di crescita dai brodi di arricchimento selettivo strisciando su quattro quadranti di una piastra di Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA), per avere colonie isolate.

Incubare a 35 ± 2 °C per 18-24 ore.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

Considerare come tipiche per *Salmonella* le colonie di colore malva con o senza centro nero.

L'identificazione completa 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 dei prodotti qui descritti 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>Salmonella</i> sp. H ₂ S positiva	35°C / 24h / A	buona crescita, colonie color malva con centro nero
<i>Salmonella</i> sp. H ₂ S negativa	35°C / 24h / A	buona crescita, colonie color malva
<i>E.coli</i> ATCC 25922	35°C / 24h / A	crescita parzialmente o totalmente inibita
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	35°C / 24h / A	crescita inibita

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

LIMITI DEL METODO

Sono state descritte varianti di *Salmonella* lattosio positive con un tasso di incidenza inferiore al 1%.^{4,5} Queste salmonelle potrebbero assumere una colorazione giallastra sul terreno DMLIA.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I terreni in polvere devono essere manipolati con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza del terreno in polvere e del supplemento selettivo.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo 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.
- I prodotti qui descritti sono destinati ai controlli microbiologici dei campioni, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Non utilizzare le piastre con l'imballaggio deteriorato. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, colore alterato).
- Smaltire il terreno ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.



CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a +10°C / +30°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).

Supplemento selettivo: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C.

Piastre pronte: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C. La data di scadenza si applica ai prodotti nella loro confezione originale e conservati come indicato.

BIBLIOGRAFIA

1. Rappold H, Bolderdijk R. Modified lysine iron agar for isolation of Salmonella from food. Appl Environ Microbiol 1979; 38(1):162-3.
2. USDA Laboratory Guidebook, Notice of Change: Media and Reagents. Chapter MLG Appendix 1.09, 12/29/2017.
3. USDA Laboratory Guidebook, Notice of Change: Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges. Chapter MLG 4.0, 1/02/2019.
4. Ewing W H. Edwards and Ewing's identification of the Enterobacteriaceae. 4th ed. New York, N.Y: Elsevier Science Publishing Co., Inc.; 1986. Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reactions; pp. 47-72.
5. Patrick L. McDonough, Sang J. Shin, Donald H. Lein. Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting Salmonella enterica Serotype Typhimurium in Cattle in the Northeastern United States. J Clin Microbiol 2000; 38(3): 1221-1226.

CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA)	Terreno in polvere	4013252 4013254	500 g (7,9 L) 5 kg (79 L)
DMLIA Novobiocin Supplement	Supplemento liofilizzato	4240029	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno
Double Modified Lysine Iron Agar (DMLIA)	Piastre pronte all'uso (Ø90mm)	541325	20 piastre confezionate in film plastico / scatola di cartone



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