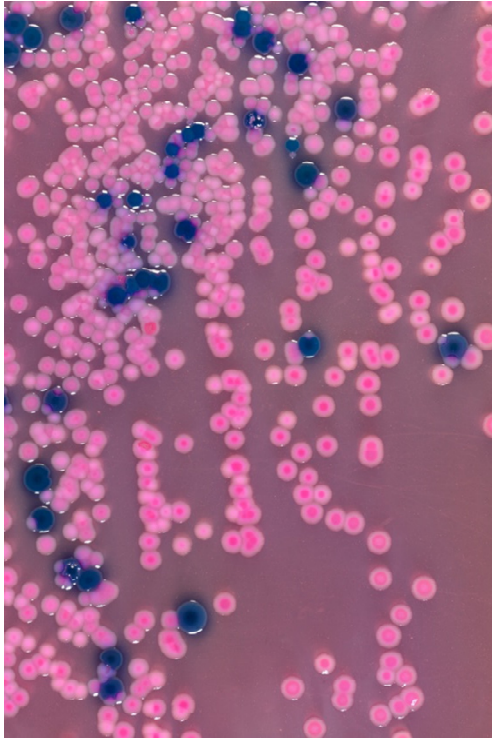




## CHROMOGENIC YERSINIA AGAR BASE CHROMOGENIC YERSINIA SUPPLEMENT

Terreno cromogeno in polvere e supplemento selettivo per la determinazione di *Yersinia enterocolitica* nei campioni della filiera alimentare



*Yersinia enterocolitica*: colonie rosso-viola;  
*Serratia marcescens*: colonie blu.

### DESTINAZIONE D'USO

Terreno cromogeno di base e supplemento selettivo per determinare la presenza/assenza della specie patogena *Yersinia enterocolitica* nei campioni di alimenti destinati al consumo umano ed animale e nei campioni raccolti nelle aree destinate alla produzione ed alla conservazione degli alimenti.

### PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno Chromogenic Yersinia Agar è una modifica del terreno Cefsulodin Irgasan Novobiocin (CIN) Agar, sviluppato per differenziare con una reazione cromogena le colonie di alcuni enterobatteri da quelle di *Yersinia enterocolitica*, aumentando così la specificità del metodo.

Quale agente differenziale il terreno contiene cellobiosio: i batteri in grado di fermentarlo inducono un'acidificazione del terreno con precipitazione del sodio desossicolato ed assorbimento del rosso neutro. *Y. enterocolitica* coltiva quindi con colonie rosso-viola ed il caratteristico aspetto ad "occhio di bue"

Il terreno contiene inoltre il cromogeno 5-bromo 4-cloro 3-indolil  $\beta$ -D glucopiranoside (X-Glupy) ed un induttore della beta glucosidasi. Le colonie dei ceppi  $\beta$ -glucosidasi positivi idrolizzano il composto cromogeno con la formazione di un cromoforo verde-blu. Con colonie verde-blu coltivano: *C.freundii*, *P.rettgeri*, *S.marcescens*, *K.oxytoca*, I batteri Gram positivi e parte di quelli Gram negativi sono inibiti dagli agenti selettivi presenti nel terreno di base (sodio desossicolato, cristallo violetto, irgasan) e dagli antibiotici del supplemento selettivo.

### FORMULA TIPICA DEL TERRENO IN POLVERE (g/L)

Chromogenic Yersinia Agar Base (REF 408050)	
Peptoni .....	22,0
Fattori di crescita.....	2,0
Sodio cloruro.....	5,0
Sodio desossicolato.....	0,5
Cellobiosio.....	20,0
Irgasan.....	0,004
Rosso neutro.....	0,03
Violetto cristallo.....	0,001
X-Glupy.....	0,2
Metil $\beta$ - D-glucopiranoside.....	0,15
Agar.....	12,0

### FORMULA DEL SUPPLEMENTO SELETTIVO (g/flacone)

Chromogenic Yersinia Supplement (REF 4240095)	
Miscela di antimicrobici.....	0,0875

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sciogliere 30,9 g di terreno in polvere Chromogenic Yersinia Agar Base (REF 408050) in 500 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50 °C ed aggiungere il contenuto di un flacone di Chromogenic Yersinia Supplement (REF 4240095) sciolto in 5 ml di acqua purificata sterile usando le precauzioni dell'asepsi. Mescolare bene e distribuire in piastra.



### CARATTERISTICHE CHIMICO FISICHE

Aspetto del terreno in polvere: fine granulometria omogenea di colore grigiastro.

Aspetto del terreno in piastra: rosso-viola leggermente opalescente

pH del terreno completo:  $7,4 \pm 0,2$

### CAMPIONI

Campioni di alimenti destinati al consumo umano ed animale e campioni raccolti nelle aree destinate alla produzione ed alla conservazione degli alimenti. Applicare le regole riportate negli Standard Internazionali per la raccolta, la conservazione e la preparazione dei campioni.

### METODO D'IMPIEGO

Preparare la sospensione del campione con Yersinia PSB Broth (REF 4022702) per ottenere una diluizione 1:10 (es: 25 g di campione +225 ml di terreno liquido).

Il metodo ISO 10273 prevede la semina diretta della sospensione campione su piastre di CIN Agar e su piastra di un terreno cromogeno o la semina del campione previo arricchimento.

### SEMINA DIRETTA

Divedere 2 aliquote da 1 ml di sospensione in Yersinia PSB Broth in 2-4 piastre di CIN Agar (REF 4013022) ed in 2-4 piastre di Chromogenic Yersinia Agar; distribuire bene l'inoculo sulla superficie delle piastre, capovolgerle ed incubare a 30 °C per 24 h  $\pm$  2 h.

### SEMINA DOPO ARRICCHIMENTO

Trasferire 10 mL della sospensione del campione in 90 mL di Yersinia ITC Broth (REF 4022652).

Incubare la sospensione iniziale in PSB Broth e la diluizione in ITC Broth a 25°C per 44 h  $\pm$  4 h.

Usando pipette sterili trasferire 0,5 mL dell'arricchimento in PSB Broth in 4,5 mL di soluzione KOH (0,5 g in 100 mL di soluzione fisiologica) preparata il giorno prima e mescolare. Dopo 20 s  $\pm$  5 s dall'aggiunta, seminare per mezzo di un'ansa su piastra di CIN Agar e di Chromogenic Yersinia Agar.

Ripetere l'operazione anche per l'arricchimento in ITC Broth.

Incubare le piastre di CIN Agar e di Chromogenic Yersinia Agar a 30 °C per 24 h  $\pm$  2 h.

Ripetere la semina su piastre di CIN Agar e di Chromogenic Yersinia Agar anche con aliquote dei brodi di arricchimento PSB ed ITC non trattate con KOH.

### LETTURA DEI RISULTATI

Dopo 24 ore di incubazione a 30°C *Yersinia enterocolitica* coltiva su Chromogenic Yersinia Agar con colonie rosso-viola, circondate da un bordo trasparente. Il diametro delle colonie varia da ceppo a ceppo ma rimane costante per ceppi del medesimo sierotipo.

*K.oxytoca*, *C.freundii*, *P.rettgeri*, *S.marcescens* possono coltivare sul terreno con colonie blu o verde blu. *Aeromonas hydrophila* può coltivare con colonie rosa. I batteri Gram positivi sono totalmente inibiti.

Sulle colonie tipiche eseguire i test di conferma in accordo alla norma ISO 10273.

### CONTROLLO QUALITÀ

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il 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.

<i>Y.enterocolitica</i>	ATCC 23715	buona crescita colonie rosso viola
<i>Y.enterocolitica</i>	ATCC 9610	buona crescita colonie rosso viola
<i>S.marcescens</i>	ATCC 8100	buona crescita colonie blu
<i>S.aureus</i>	ATCC 25923	totalmente inibito
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	totalmente inibito

Incubazione a 30°C per 24 ore

### CONSERVAZIONE

Conservare il terreno in polvere a 2-8°C al riparo della luce. Conservare il supplemento selettivo a 2-8°C. In queste condizioni il prodotto sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento del terreno polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.).

### PRECAUZIONI

Consultare le schede di sicurezza del terreno in polvere e del supplemento selettivo prima del loro uso.



# Biolife

## Scheda Tecnica

N°408050 Rev 0 2018/01/29 pag. 3/3

### BIBLIOGRAFIA

- ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*.

### PRODOTTI

Denominazione	Tipo	Cat. N°	Confezione
Chromogenic Yersinia Agar Base	Terreno in polvere	4080502	500 g (8 L)
Chromogenic Yersinia Supplement	Supplemento selettivo	4240095	10 flaconi, ciascuno per 500 ml di terreno di base



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