

BAIRD PARKER AGAR BASE

BAIRD PARKER AGAR

BAIRD PARKER AGAR + RFP

BAIRD PARKER AGAR + SULPHAMEZATINE

(ISO 6888-1)

(ISO 6888-2)

 Terreno per l'isolamento ed il conteggio di *Staphylococcus aureus* negli alimenti e per l'identificazione degli stafilococchi coagulasi-positivi.

DESCRIZIONE

Baird-Parker sviluppò questo terreno a partire dalla formulazione al tellurito e glicina di Zebrovitz e coll., migliorandone l'affidabilità nell'isolamento di *Staphylococcus aureus* dagli alimenti.

Baird-Parker aggiunse sodio piruvato quale stimolante selettivo della crescita ed emulsione concentrata di rosso d'uovo quale agente diagnostico. Questa formulazione è ora ampiamente raccomandata dalle pubblicazioni ufficiali nazionali ed internazionali per l'isolamento di *S. aureus*. Gli agenti selettivi, glicina, litio e tellurito, sono stati accuratamente bilanciati in modo da inibire la crescita della maggior parte dei batteri presenti nei cibi, senza però inibire *S. aureus*. L'emulsione di rosso d'uovo conferisce al terreno un aspetto giallo opaco. La riduzione del tellurito da parte di *S. aureus* dà luogo alla comparsa di colonie lucide di colore grigio-nero e, inoltre, l'azione proteolitica determina la formazione di aloni chiari intorno alle colonie stesse. Pertanto colonie grigio-neri circondate da aloni chiari sono indicative della presenza di *S. aureus*. Prolungando l'incubazione, molti ceppi di *S. aureus* formano aloni opachi intorno alle colonie: questo fenomeno è dovuto probabilmente all'azione di una lipasi.

Non tutti i ceppi di *S. aureus* manifestano entrambe le reazioni. Alcuni ceppi di *Staphylococcus saprophyticus* mostrano sia le zone chiare che gli aloni opachi, tuttavia un occhio esperto è in grado di distinguerli da *S. aureus* in base al tempo di incubazione che per *S. aureus* è più lungo. Impiegando lo stesso terreno, ma senza aggiunta di tuorlo d'uovo, è possibile testare le colonie tipiche di *S. aureus* per la produzione di coagulasi. In alcuni alimenti, particolarmente nel formaggio, è possibile riscontrare ceppi di *S. aureus* che presentano reazione negativa al tuorlo d'uovo. Smith e Baird-Parker hanno trovato che l'aggiunta di 50 µg sulfometazina per ml di terreno, inibisce la crescita e l'invasione di *Proteus*. Piccole quantità di *Staphylococcus aureus* possono essere determinate in campioni con *Proteus*. Baird-Parker e Davenport hanno dimostrato che il ritrovamento di stafilococchi danneggiati era maggiore su terreno Baird-Parker che su altri terreni d'isolamento saggiati. Broeke e de Waart e altri (hanno trovato il terreno Baird-Parker molto utile negli studi su alimenti sospetti per casi di enterotossicosi stafilococche: il 97,5% di 522 ceppi di *Staphylococcus aureus* saggiati, isolati da campioni di origine umana ed alimentare, si sviluppò sul terreno Baird-Parker. Uno svantaggio del Baird-Parker Medium contenente tuorlo d'uovo è rappresentato dal fatto che l'identificazione di *S. aureus* deve essere confermata mediante la reazione della coagulasi, anche perché esistono ceppi di *S. aureus* che presentano reazioni negative al tuorlo d'uovo: ne consegue che tutte le colonie sospette devono essere testate. Si è tentato di sostituire plasma di suino al tuorlo d'uovo per ottenere il test della coagulasi sulle stesse piastre dell'isolamento. Haushild è riuscito a migliorare la reazione della coagulasi aggiungendo fibrinogeno bovino e inibitore tripsina al plasma suino.

Successivamente Beckers e Coll. hanno dimostrato che, sostituendo il plasma suino con quello di coniglio, si risolveva il problema delle reazioni false positive e false negative. Beckers e Coll. hanno potuto così ottenere un terreno di Baird-Parker affidabile per quanto riguarda la reazione della coagulasi creando un supplemento a base di plasma di coniglio, fibrinogeno, inibitore tripsina e tellurito. Sawhney paragonò le rese di crescita di *S. aureus* sul terreno addizionato con RFP Supplement o con Egg Yolk Supplement; poiché constatò che il tellurito contenuto nell'RFP Supplement riduceva il fattore protettivo dovuto al tuorlo d'uovo, dimostrò che era necessario ridurre la concentrazione. L'RFP Selective Supplement adotta livelli più bassi di tellurito, così come consigliato. Il Baird-Parker Medium contenente RFP Supplement ha un aspetto traslucido, su cui sono chiaramente distinguibili le zone opache della reazione di coagulasi. LE ZONE OPACHE RAPPRESENTANO LA REAZIONE DIAGNOSTICA. NON AGGIUNGERE EGG YOLK TELLURITE EMULSION.

NOTE

Indipendentemente dalle reazioni positive o negative, devono essere prese in considerazione tutte le colonie di *S. aureus* sospette ed analizzate con ulteriori test. Può capitare che colonie batteriche contaminanti che si sviluppano in prossimità di colonie coagulasi-positivo, degradino parzialmente l'alone di reazione della coagulasi.

Terreno base: Baird Parker Agar base

COMPOSIZIONE	g/L
Triptone	10,0
Estratto di carne	5,0
Estratto di lievito	1,0
Sodio piruvato	10,0
Glicina	12,0
Litio cloruro	5,0
Agar	17,0

pH finale 7.0 ± 0.2 a 25 °C

Supplemento: Egg Yolk Tellurite Emulsion (Ref. 16002)

COMPOSIZIONE

Egg Yolk Tellurite Emulsion	4x50 ml
-----------------------------	---------

Supplemento: RFP Supplement (Ref. 16035)

COMPOSIZIONE

Fibrinogeno bovino	0,375
Plasma di coniglio	2,5 ml
Inibitore della tripsina	2,5 mg
Tellurito di potassio	2,5 mg

Terreno pronto: Baird Parker Agar

COMPOSIZIONE

Baird Parker Agar base	1000 ml
Egg Yolk Tellurite Emulsion	50 ml

pH finale 7.0 ± 0.2 a 25 °C

Terreno pronto: Baird Parker Agar + RFP

COMPOSIZIONE

Baird Parker Agar base	90 ml
RFP Supplement	10 ml

pH finale 7.0 ± 0.2 a 25 °C

Terreno pronto: Baird Parker Agar + Sulphamezatine

COMPOSIZIONE

Baird Parker Agar base	1000 ml
Egg Yolk Tellurite Emulsion	50 ml
Sulphamezatine	0,05 g

pH finale 7.0 ± 0.2 a 25 °C

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Per uso diagnostico in vitro.

Osservare le precauzioni normalmente adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Terreno disidratato: **ALTAMENTE IGROSCOPICO.** Durante la manipolazione, indossare la mascherina di protezione dalla polvere. Evitare il contatto con gli occhi. Non utilizzare oltre la data di scadenza o se il prodotto presenta segni di deterioramento, un colore alterato o si è compattato.

Terreno pronto: L'uso del terreno pronto non presenta particolari rischi se non per il fatto di maneggiare materiali potenzialmente infetti dopo la semina. Dopo l'uso sterilizzare in autoclave o con ipoclorito di sodio al 10 %.

Scheda dati di sicurezza: disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali. Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

PREPARAZIONE

1. Per l'isolamento ed il conteggio di *Staphylococcus aureus* negli alimenti.

Terreno disidratato: Per riidratare il terreno, sospendere **60,0 g** di Baird-Parker Agar Base in 1 litro di acqua distillata. Portare delicatamente ad ebollizione fino a soluzione completa del terreno. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare il terreno base sterile a 50° C. Aggiungere asetticamente 50 ml di Egg Yolk Tellurite Emulsion (Ref. 16002). Mescolare con cura e versare in piastre sterili.

Terreno pronto in flacone: scaldare in bagnomaria a ± 100 °C portando il terreno ad ebollizione agitando frequentemente. Raffreddare a circa 50 °C ed aggiungere 5 ml di Egg Yolk Tellurite Emulsion (inclusa nella confezione). Mescolare con cura e versare in piastre sterili.

Conservazione dopo la preparazione in laboratorio:

Conservare le piastre per un massimo di 1 mese a 2-8°C.

2. Per l'identificazione degli stafilococchi coagulasi-positivi

Terreno disidratato: Per riidratare il terreno, sospendere **5,40 g** di Baird-Parker Agar Base in 90 ml di acqua distillata. Portare delicatamente ad ebollizione sino a completa dissoluzione del terreno. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 48 °C.

Aggiungere asepticamente il contenuto di un flacone di RPF Selective Supplement (Ref. 16035) (ricostituito con 10 ml di acqua distillata). Mescolare con cura.

Conservazione dopo la preparazione in laboratorio:

Conservare le piastre per un massimo di 1 mese a 2-8°C.

CONSERVAZIONE E STABILITA'

Terreno disidratato:	10-30 °C
Terreno pronto:	
Flaconi (terreno base):	10-25 °C
Flaconi (completo di supplemento):	2-8 °C
Piastre:	2-8 °C
Piastre da contatto:	2-8 °C

In queste condizioni i prodotti mantengono la loro validità fino alla data di scadenza riportata in etichetta.

TECNICA

1. Baird-Parker Medium con Egg Yolk Tellurite Emulsion

- Lasciare asciugare la superficie del terreno in piastra per alcuni minuti prima dell'uso.
- Porre sulle piastre aliquote di 0,1 ml di alimento in esame diluito in Peptone Water (e distribuirle con una spatola di vetro finché il liquido si sia asciugato. Su piastre più grandi (24 cm) si possono inoculare fino a 0.5 ml.
- Incubare le piastre capovolte a 35 °C per 24 ore, quindi osservare se sono presenti colonie tipiche di *S. aureus*. Le colture negative vanno reincubate per altre 24 ore.
- Contare, sulle piastre che mostrano da 20 a 200 colonie, quelle che hanno l'aspetto di *S. aureus* e annotare il risultato espresso come numero di microrganismi per grammo di alimento.

2. Baird-Parker Medium con RPF Supplement

A. Metodo di semina in superficie

- Preparare le piastre come indicato.
- Omogeneizzare il campione di alimento mediante Stomacher o miscelatore Waring, utilizzando la quantità necessaria e diluendo opportunamente.
- Inoculare le piastre con 0,1 ml di campione preparato e con uguali volumi di diluizioni decimali.
- Incubare a 35 °C ed osservare dopo 24 ore e 48 ore di incubazione.
- Contare tutte le colonie circondate da un alone opaco di precipitazione. Non limitarsi a contare le colonie nere.
- Annotare il numero di stafilococchi coagulasi positivi per grammo di alimento.

B. Metodo di semina per inclusione

- Preparare il terreno come indicato, mantenendolo liquefatto a 48 °C
- Omogeneizzare il campione di alimento mediante Stomacher o miscelatore Waring, utilizzando la quantità necessaria e diluendo opportunamente.
- Porre nelle piastre sterili 1 ml di campione preparato e uguali volumi di diluizioni decimali.
- In ogni piastra versare asepticamente 20 ml di terreno.
- Incubare a 35 °C ed osservare le piastre dopo 24 ore e 48 ore.
- Contare tutte le colonie circondate da un alone opaco di precipitazione.
- Annotare il numero di stafilococchi coagulasi positivi per grammo di alimento.

ASPETTO DELLE COLONIE

Colonie cresciute su Baird-Parker Medium con Egg Yolk Emulsion

Staphylococcus aureus - dopo 24 ore: nere, brillanti, convesse, con diametro di 1,0- 1,5 mm, margine biancastro continuo, circondato da un alone chiaro largo 2-5 mm. Alcuni ceppi mostrano questi aloni chiari ben definiti soltanto dopo 36 ore. Si possono produrre larghi aloni opachi che si estendono all'interno del terreno chiarificato, ma soltanto dopo 48 ore o più. Gli stafilococchi coagulasi-negativi crescono occasionalmente ma raramente producono la chiarificazione. *Staphylococcus epidermidis* - cresce occasionalmente senza colorazione nera brillante; raramente presenta chiarificazione. *Staphylococcus saprophyticus* può produrre la chiarificazione, ma le colonie sono più irregolari di quelle di *Staphylococcus aureus*. Ampie zone opache si estendono dentro il terreno chiarificato dopo 24 ore. *Micrococchi* -crescono occasionalmente; minuti, con sfumature variabili dal marrone al nero, senza chiarificazione. *Lieviti* crescono occasionalmente; di colore bianco senza chiarificazione. *Bacillus* compaiono occasionalmente e rendono talvolta il terreno chiaro dopo 48 ore, ma presentano colonie di color bruno-scuro opaco. *Escherichia coli* cresce occasionalmente con colonie grandi di colore bruno-nero, *Proteus* cresce occasionalmente, producendo colonie bruno-nere, senza chiarificazione.

Colonie cresciute su Baird-Parker Medium con RPF Supplement

Essendo minore la concentrazione di tellurite, possono non formarsi colonie nere. Le colonie di *S. aureus* possono essere bianche, grigie o nere, circondate da un alone opaco di precipitazione della fibrina e cioè di reazione di coagulasi. *S. epidermidis* non presenta reazione alla coagulasi dopo 24 ore, però può produrre degli aloni dopo 40 ore. La maggior parte delle colture di *S. aureus* possono già essere contate dopo 24 ore di incubazione.

CONTROLLO DI QUALITA'

Terreno disidratato: polvere di colore bianco-crema, omogenea e priva di grumi.

Terreno pronto (completo, con tuorlo d'uovo + tellurite di potassio): agar di colore giallastro opaco.

Tipica risposta della coltura con tuorlo d'uovo + tellurite di potassio dopo 48 ore di incubazione a 37°C

MICROORGANISMI	CRESCITA/COLORE/ALONI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Buona-eccellente/Nero /Presenti
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228	Inibita
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inibita

Tipica risposta della coltura con RPF Supplement (Ref. 16035) dopo 18-24 ore di incubazione a 37°C

MICROORGANISMI	CRESCITA/COLONIA/COAGULASI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Buona/Nero /Positiva
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228	Buona/Nera/Negativa
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inibita

BIBLIOGRAFIA

- Baird-Parker, A.C. (1962) - An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. J. Appl. Bact., 25, 12-19.
- European Pharmacopoeia, 5.6
- U.S. Pharmacopoeia 24, NF 19 (2000)
- ISO 6888-1: 2004; ISO 6888-2: 2004; Rapporto Istisan 96/35

NOTE

Le informazioni e le specifiche contenute in questa scheda tecnica, sono suscettibili di modifica in qualsiasi momento, senza preavviso. Le informazioni trascritte sull'etichetta del prodotto sono prioritarie rispetto alle formulazioni o alle istruzioni descritte in questo documento.

PRESENTAZIONE

Terreno base	Cont.	REF.
BAIRD PARKER AGAR BASE	100 g (1.6/lt)	11015
	500 g (8.3/lt)	10015
	6 Flaconi x 90 ml	63100

Supplementi

EGGY YOLK TELLURITE EMULSION	4 x 50 ml	16002
Un flacone di supplemento Ref. 16002 serve per preparare 1 litro di terreno selettivo. Per ogni confezione da 500 g di Baird Parker Agar Base è richiesto l'impiego di 2 confezioni di Ref 16002.		
RPF Supplement	10 Flaconi	16035
Un flacone di supplemento Ref. 16035 serve per preparare 100 ml di terreno selettivo. Per ogni confezione da 500 g di Baird Parker Agar Base Ref. 10015 è richiesto l'impiego di 8 confezioni di Ref 16035.		
Sulphamezatine Selective Supplement	1 Flacone	16198
Un flacone di supplemento Ref. 16035 serve per preparare 100ml di terreno selettivo		

Terreno pronto

BAIRD PARKER AGAR	3 Flaconi x 90 ml	63300
	(+ 3 Flac. Suppl. x 5 ml)	
	6 Flaconi x 90 ml	63200
	(+ 6 Flac. Suppl. x 5 ml)	
	2x10 Piastre (Ø 60 mm)	0321005/20
	2x10 Piastre (Ø 90 mm)	0204768/20
	5x4 Piastre da Contatto (Ø 65 mm)	31026

BAIRD PARKER AGAR + RPF

	6 Flaconi x 90 ml	63301
	(+ 6 Flac. Suppl. x 10 ml)	
	2x10 Piastre (Ø 90 mm)	0210705/20

BAIRD PARKER AGAR + Sulphamezatine

	2x10 Piastre (Ø 90 mm)	0221009/20
--	-------------------------------	-------------------

SIMBOLOGIA

	Consultare istruzioni per l'uso		Rischio biologico
	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)		
	Limiti temperatura di conservazione		Data limite utilizzo
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Fabbricante