

Kohn's No.1 Medium

DM138-1

Usò previsto

Terreno composito per la differenziazione delle Enterobacterales (da utilizzare in associazione con Kohn's No.2 Medium DM138-2).

Contenuto

Cfr. etichetta della confezione.

Composizione*	Concentrazione nel terreno:
Miscela di peptoni	15,0g/litro
Estratto di carne	2,0g/litro
Estratto di lievito	2,0g/litro
Destrosio	1,0g/litro
Mannitolo	10,0g/litro
Rosso fenolo	0,05g/litro
Agar	16,0g/litro
pH finale: 7,2 ± 0,2	

Conservazione e validità

Tutti i contenitori terreni di coltura disidratati dovrebbero essere tenuti ben chiusi e conservati in un luogo asciutto a 10 a 25°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

Precauzioni

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Rispettare le precauzioni di sicurezza ed impiegare tecniche aseptiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto (disponibile a richiesta o sul sito web MAST®).

Materiali richiesti ma non forniti

Attrezzature e prodotti per analisi microbiologiche di base, per esempio: anse, supplementi selettivi MAST®, tamponi, inceneritori, termostati, ecc.. Inoltre: reagenti per indagini sierologiche e biochimiche, e supplementi (per es.: sangue).

Procedimento

1. Consultare l'etichetta della confezione per le quantità e i volumi richiesti. Preparare il Kohn's No.1 Medium (DM138-1D) MAST® sospendendo la polvere in acqua distillata o deionizzata. Per le confezioni in busta, sospendere l'intero contenuto della busta nel volume indicato sull'etichetta della confezione.
2. Sterilizzare in autoclave a 115°C (10 p.s.i.) per 15 minuti.
3. Raffreddare a 60°C.
4. Aggiungere 25ml di Urea Solution (DM228S) 40% p/v per litro di terreno.
5. Mescolare con cura e lasciare solidificare a "becco di clarino", con un fondo di circa 2 a 3cm.

6. Utilizzando un'ansa ad ago, inoculare per infissione il becco di clarino, in profondità, con una coltura pura o con singole colonie prelevate da terreni solidi selettivi.
7. Ritrarre l'ago e strisciare la superficie del piano inclinato.
8. Per le prove dell'indolo e della produzione di H₂S, sono necessarie strisce di carta impregnate.
9. Le strisce di carta per indolo e H₂S possono essere sospese nel collo della provetta. Incubare le colture a "becco di clarino" per 18 a 24 ore a 35 a 37°C.

Interpretazione dei risultati

La produzione di acido, in aerobiosi sulla superficie e in condizioni anaerobiche sul fondo della provetta, è indicata dal viraggio dell'indicatore rosso fenolo, da giallo a pH 6,8 a rosso ciliegia a pH 8,4. La fermentazione del solo destrosio è indicata da un fondo giallo con o senza gas, e dalla coltura sul becco di clarino rossa. Se questa è gialla, ciò indica la fermentazione del mannitolo, mentre i microrganismi ureasi positivi generano una reazione alcalina, che impartisce un colore rosso ciliegia all'intero terreno. La produzione di H₂S induce l'annerimento della parte inferiore della striscia di acetato di piombo e la produzione di indolo causa il viraggio del colore della striscia dell'indolo da giallo a rosso.

Controllo qualità

Verificare se sono presenti segni di deterioramento. Il controllo di qualità deve essere eseguito impiegando almeno un microrganismo che mostri una reazione positiva ed almeno un microrganismo che mostri una reazione negativa. Non utilizzare il prodotto se le reazioni con i microrganismi di controllo non sono corrette. Di seguito sono elencati alcuni ceppi per il controllo di qualità che possono essere facilmente reperiti in commercio.

Microrganismo	Fermentazione del		Ureas i	H ₂ S	Indolo
	Destrosio	Mannitolo			
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	Acido + gas	Acido	-	±	-
<i>Shigella sonnei</i> ATCC® 25931	Acido	Acido	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 29906	(-)	(-)	+	±	±

(-) = reazione negativa apparente, l'attività dell'ureasi maschera la reazione di fermentazione

± = reazione variabile

Bibliografia

La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta.