

BRUCELLA MEDIUM BASE

Terreno di coltura in polvere

1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno d'uso generale per la coltura di *Brucella* spp.

2 - COMPOSIZIONE

BRUCELLA MEDIUM BASE

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

Peptone	10 g
Estratto di carne	5 g
Glucosio	10 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	15 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La brucellosi è una zoonosi diffusa, trasmessa principalmente dai ruminanti all'uomo. È una malattia di grande importanza per la salute pubblica, il benessere degli animali e l'importanza economica in tutto il mondo.¹

Brucella Medium Base può essere utilizzato per preparare il terreno a base di glucosio, siero ed antibiotici descritto da Jones e Brinley Morgan e raccomandato dall'OMS per l'isolamento selettivo di Brucella, compresi i ceppi esigenti, e Brucella abortus di tipo II, che è molto difficile da coltivare sui terreni comuni.² Brucella Medium Base può essere utilizzato per la preparazione del terreno di Farrell (FM)³ per l'isolamento di *B. abortus* da campioni contaminati mediante integrazione con siero bovino fetale 5%, polimixina B 5 mg/L, bacitracina 25 mg/L, natamicina 50 mg/L, acido nalidixico 5 mg/L, vancomicina 20 mg/L e nistatina 17,7 mg/L.

Poiché l'acido nalidixico e la bacitracina contenuti in vari terreni selettivi possono inibire la crescita di alcuni ceppi di Brucella⁴, è stato proposto un terreno con siero bovino fetale 5%, natamicina 20 mg/L, amfotericina B 4 mg/L, vancomicina 20 mg/L, nistatina 17,7 mg/L, colistina 7,5 mg/L e nitrofurantoina 10 mg/L.

Il peptone e l'estratto di carne forniscono azoto, vitamine, minerali e aminoacidi per la crescita microbica. Il glucosio è il carboidrato fermentabile che fornisce carbonio ed energia. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico, l'agar è l'agente solidificante. L'aggiunta di siero fetale di vitello aumenta le proprietà di produttività del terreno mentre l'aggiunta di antibiotici rende il terreno inibitorio per lieviti, muffe e comuni batteri Gram-positivi e Gram-negativi.

4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 45 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 50°C e aggiungere il 5% di siero di cavallo, inattivato per riscaldamento a 56°C per 30 minuti o il 5% di siero bovino fetale. Per usi specifici aggiungere la miscela antimicrobica richiesta.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	giallo, limpido
pH (20-25°C)	7,5 ± 0,2

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Brucella Medium Base	Terreno di coltura in polvere	4012752	500 g (11 L)

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8 - CAMPIONI

La Brucella viene escreta in gran numero dagli animali al momento del parto e può essere isolata da una vasta gamma di materiali inclusi muco vaginale, placenta, contenuto dello stomaco fetale e latte.¹ Brucella Medium Base può essere inoculato con una varietà di campioni per l'isolamento/coltivazione di Brucella spp. Applicare buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni.¹

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

I campioni di latte devono essere lasciati riposare per una notte a 4°C prima di essere centrifugati.

Spalmare la crema e il deposito sulla superficie di almeno tre piastre di terreno selettivo solido.

Inoculare la superficie del terreno in piastra con 10 µl della sospensione iniziale e/o campione diluito.

Strisciare l'inoculo con un'ansa o con un bastoncino di vetro sterile sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate.

Incubare le piastre in posizione capovolta a una temperatura di 35 ± 2 °C in atmosfera al 10% di CO₂ ed esaminare ogni due giorni per dieci giorni.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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





Esaminate alla luce solare indiretta, le colonie di Brucella appaiono traslucide, con una sfumatura leggermente ambrata. Le colonie batteriche possono essere provvisoriamente identificate come Brucella sulla base delle loro proprietà culturali e dell'aspetto, della colorazione di Gram e dell'agglutinazione con antisiero positivo.

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto dei prodotti qui descritti è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>B.brochispetica</i> ATCC 4617	35-37°C / 18-24H / C	buona crescita

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

12 - LIMITI DEL METODO

- Le esigenze nutrizionali dei microrganismi possono essere diverse, è quindi possibile che alcuni ceppi microbici non crescano o crescano poco.
- Per la purificazione della coltura e per eseguire test di identificazione sono necessarie subcolture su terreni solidi idonei.
- La preparazione di mezzi diagnostici selettivi con l'aggiunta di composti specifici deve essere validata dall'utilizzatore.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono destinati ai controlli microbiologici, 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.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura, supplemento o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti biologici. Smaltire il terreno di base 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 qui descritti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'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, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).












15 - BIBLIOGRAFIA

- Corbel MJ, Elberg SS, Cosivi O. Brucellosis in Humans and Animals. World Health Organization Press; Geneva: 2006.]
- Jones LM, Brinley Morgan WJ. A preliminary report on a selective medium for the culture of Brucella, including fastidious types. Bull Wld Hlth Org 1958; 19:200.
- Farrell ID. The development of a new selective medium for the isolation of Brucella abortus from contaminated sources', Research in Veterinary Science 1974; 16(3): 280-286
- Marin CM, Alabart JL, Blasco JM. Effect of antibiotics contained in two Brucella selective media', J Clin Microbiol 1966; 34(2), 426-428
- Ledwaba MB et al. Investigating selective media for optimal isolation of Brucella spp. in South Africa. Onderstepoort J Vet Res v.87(1); 2020.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF or REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	 Fragile, maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 6	Aggiornamento del contenuto e del layout	11/2019
Revisione 7	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2022

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

