

ENTEROBACTERIA ENRICHMENT BROTH MOSSEL EP

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la rilevazione e il conteggio dei batteri bile-tolleranti Gram negativi nei prodotti farmaceutici..

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Idrolizzato pancreatico di gelatina	10,000 g
Glucosio anidro	4,500 g *
Sali biliari	3,055 g **
Potassio fosfato monobasico	2,000 g
Sodio fosfato bibasico	6,400 g ***
Verde brillante	0,015 g

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

* Equivalenti a 5,0 g di glucosio monoidrato

** Equivalenti a 20 g di ox bile

*** Equivalenti a 8 g di fosfato bibasico anidro

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP è una modifica del brodo Brilliant Green Bile Lactose ideato da Mossel, Visser e Cornelissen¹, che a sua volta è una modifica del terreno liquido di MacConkey.

Il Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP è consigliato come terreno di arricchimento per i batteri Gram-negativi tolleranti alla bile nell'esame microbiologico dei prodotti farmaceutici. Può essere utilizzato come test di assenza o quantitativo.²

Il terreno contiene verde brillante e bile come agenti inibitori per i batteri Gram-positivi, glucosio come principale fonte di energia e idrolizzato pancreatico di gelatina che fornisce i fattori essenziali per la crescita. I fosfati sono gli agenti tampone per controllare il pH del terreno, l'inibizione della crescita nelle prime fasi dell'arricchimento e l'autosterilizzazione alla fine.³

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 26 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Mescolare accuratamente per sciogliere completamente la polvere. Dispensare porzioni da 100 mL in matracci da 250 mL (o 10 mL in provette). Riscaldare il terreno a 100°C con vapore a flusso libero per 30 minuti. Raffreddare rapidamente in acqua corrente fredda. Non sterilizzare in autoclave.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, verde
Aspetto della soluzione	verde, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP	Terreno di coltura in polvere	4014672	500 g (19 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, piastre Petri, beute, provette e flaconi, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Prodotti farmaceutici non sterili. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.²

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Preparare la sospensione del campione in Tryptic Soy Broth (REF 402155) utilizzando almeno 1 g o 1 mL di campione.

Incubare questa sospensione a 20°C - 25°C per 2-5 ore per garantire la vitalizzazione ma non la moltiplicazione dei batteri.

a- Test di assenza

Inoculare una quantità della sospensione iniziale in Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP per garantire un inoculo di 1 g di campione e incubare a 30°C - 35°C per 24-48 ore.

Trasferire su piastre di VRBG Agar EP (REF 402189) e incubare a 30°C -35°C per 18-24 ore.

b- Test quantitativo

Inoculare quantità adeguate di Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP con la sospensione iniziale e/o la diluizione del campione contenente rispettivamente 1 g, 0,1 g, 0,01 g e 0,001 g del prodotto da esaminare.

Incubare a 30°C - 35°C per 24-48 ore.

Trasferire ciascuna coltura su una piastra di VRBG Agar EP (REF 402189) e incubare a 30°C -35°C per 18-24 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La torbidità del terreno di coltura, con qualche cambiamento di colore verso il giallo-verde, costituisce una prova presuntiva della presenza di batteri Gram-negativi bile tolleranti.

Le colonie tipiche di batteri fermentanti il glucosio su VRBG Agar EP sono di colore da rosa a rosso o viola (con o senza aloni di precipitazione).

Le colonie tipiche di batteri non fermentanti il glucosio su VRBG Agar EP sono trasparenti e incolori.



Test di assenza: secondo la Farmacopea Europea, il prodotto è conforme al test se non vi è crescita di colonie su piastre di VRBG Agar EP.

Test quantitativo: fare riferimento alla Farmacopea Europea per i criteri di interpretazione del numero probabile di batteri per g o mL di prodotto.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di ogni prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 8739	30-35°/ 24 H-A	crescita
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	30-35°/ 24 H-A	crescita
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	30-35°/ 48 H-A	crescita inibita

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Enterobacteria Enrichment Broth Mossel EP disidratato viene sottoposto a test di produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata inoculando meno di 100 UFC di organismi target *E. coli* ATCC 8739 e *P. aeruginosa* ATCC 9027 per provetta e incubando a 30-35°C per 24 ore. I ceppi target mostrano una buona crescita.

La selettività è stata testata inoculando meno di 100 UFC di organismi non target *S. aureus* ATCC 6538 e incubando a 30-35°C per 48 ore. *S. aureus* è totalmente inibito.

13 – LIMITE DEL METODO

- Questo terreno di coltura è sensibile al calore, evitare il surriscaldamento.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno di coltura deve essere utilizzato secondo le indicazioni descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati 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 web 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.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza 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 dei prodotti, 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.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. 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 (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

Secondo Baird RM *et al.* il brodo in provetta preparato in laboratorio può essere conservato in contenitori con tappo a vite a +2°C / +8°C per al massimo 1 mese.³

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Mossel DAA, Visser M, Cornelissen AMR. The Examination of Foods for Enterobacteriaceae using a Test of the Type Generally Adopted for the Detection of Salmonellae. J Appl Bacteriol 1963; 26:444.
2. European Pharmacopoeia 11th Edition, 2022, Vol. 1; 2.6.13 Microbiological Examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms: 01/2021:20631
3. Baird RM, Corry JEL, Curtis GDW. Pharmacopoeia of Culture Media for Food Microbiology. Proceedings of the 4th International Symposium on Quality Assurance and Quality Control of Microbiological Culture Media, Manchester 4-5 September, 1986. Int J Food Microbiol 1987; 5:216-217.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	01/2023

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

