

FERMENTATION BROTH BASE FERMENTATION BROTH RHAMNOSE FERMENTATION BROTH XYLOSE

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso

1 – DESTINAZIONE D'USO

Integrato con carboidrati, Fermentation Broth Base viene utilizzato per la determinazione delle reazioni di fermentazione dei microrganismi.

2 – COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

FERMENTATION BROTH BASE

(PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)

Peptone	10,0 g
Estratto di manzo	1,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g

FERMENTATION BROTH RHAMNOSE (PROVETTE PRONTE ALL'USO)

Peptone	10,0 g
Estratto di manzo	1,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g
L-ramnosio	5,00 g
Acqua purificata	1000 mL

FERMENTATION BROTH XYLOSE (PROVETTE PRONTE ALL'USO)

Peptone	10,0 g
Estratto di manzo	1,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g
D-xilosio	5,00 g
Acqua purificata	1000 mL

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I test di fermentazione dei carboidrati rilevano la capacità dei microrganismi di fermentare un carboidrato specifico. I modelli di fermentazione possono essere utilizzati per differenziare tra gruppi o specie batteriche.

Fermentation Broth Base è formulato come raccomandato da ISO 11290^{1,2} (Carbohydrate Utilization Broth) e da FDA-BAM³ (Purple Carbohydrate Fermentation Broth Base).

ISO 11290 raccomanda il terreno addizionato con L-ramnosio e D-xilosio nella procedura di conferma di *Listeria monocytogenes*. FDA-BAM raccomanda il terreno integrato con dulcitosio, lattosio, saccarosio nella procedura di conferma di *Salmonella*⁴ e integrato con destrosio, esculina, maltosio, ramnosio, mannitolo e xilosio nella procedura di conferma di *Listeria monocytogenes*⁵.

Il terreno di base contiene un peptone a basso contenuto di carboidrati ed estratto di manzo che sono fonti di azoto, carbonio e minerali per la crescita batterica. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Il bromocresolo viola è un indicatore di pH: quando il Fermentation Broth Base viene preparato con un carboidrato integrato, la maggior parte dei prodotti finali della sua fermentazione sono acidi organici, che producono un viraggio di colore dell'indicatore di pH dal viola al giallo; se il test è negativo, si verificherà un attacco catabolico dei peptoni con formazione di ammoniaca, alcalinizzazione del terreno e viraggio dell'indicatore a viola più scuro. Una provetta di Durham può essere inserita nella provetta per osservare la produzione di gas: se il gas viene prodotto durante la reazione di fermentazione, viene raccolto nella provetta di Durham capovolta.

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 16 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente, se necessario, per sciogliere completamente la polvere. Dispensare il terreno in provette. Sterilizzare per 15 minuti in autoclave a 121 °C.

Preparare una soluzione al 5% del carboidrato (ad esempio, 5 g di L-rhamnose o D-xilosio in 100 mL di acqua purificata).

Per ogni carboidrato, aggiungere asepticamente x mL di soluzione di carboidrato a 9x mL di Fermentation Broth Base (ad esempio, 2,7 mL di Fermentation Broth Base + 0,3 mL di soluzione di carboidrato o 4,5 mL di Fermentation Broth Base + 0,5 mL di soluzione di carboidrato).

Dispensare il terreno in le provette con provette Durham per fermentazione, se si vuole registrare la formazione di gas.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere

Fine granulometria omogenea, beige

Aspetto del terreno in flacone e in piastra

viola pallido, limpido

pH finale (20-25 °C)

6,8 ± 0,2



**6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Fermentation Broth Base	Terreno di coltura in polvere	4014882	500 g (31,2 L)
Fermentation Broth Rhamnose	Provette pronte all'uso	521488R	24 x 3 mL
Fermentation Broth Xylose	Provette pronte all'uso	521488X	24 x 3 mL

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, provette, provette Durham, terreni di coltura e reagenti ausiliari, carboidrati.

8 – CAMPIONI

Coltura pura di ceppi batterici in esame.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Utilizzando un'ansa, inoculare asetticamente ogni provetta con una coltura pura del ceppo in esame ottenuta da un agar non selettivo (es. Tryptic Soy Yeast Extract Agar REF 402166).

Agitare delicatamente la provetta per miscelare il contenuto e incubare a 37°C per 24-48 ore.

Potrebbe essere necessaria un'incubazione prolungata per essere certi di un risultato negativo.⁶

Inoculare ed incubare anche una provetta senza l'aggiunta di carboidrati (provetta di controllo).

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Le reazioni positive (formazione di acido) sono indicate dal colore giallo e si verificano per lo più entro 24-48 ore per le provette con microvolumi e fino a 5 giorni per le provette con macrovolumi.

Reazione positiva (degradazione dei carboidrati): il terreno è torbido, vira al giallo e si può osservare la formazione di bolle di gas, se sono presenti provette di Durham.

Reazione negativa: il terreno è torbido e rimane viola o vira al viola intenso.

Nessun colore giallo dovrebbe apparire nella provetta di controllo.

Dopo che è stata osservata una reazione positiva, gettare la provetta; prolungando l'incubazione si può osservare un'inversione della reazione.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche.

Tuttavia, è comunque 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 elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno addizionato con il 0.5% di ramnosio.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 13932	37°/ 24-48 H / A	il terreno vira al giallo
<i>L. ivanovii</i> ATCC 19119	37°/ 24-48 H / A	il terreno non vira al giallo

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

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Fermentation Broth Base addizionato con xilosio e ramnosio viene testato per il cambiamento di colore specifico delle provette confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Il terreno viene testato inoculando le provette con coltura pura di *L.monocytogenes* ATCC 13932, *L.monocytogenes* NCTC 7973 e *L.ivanovii* ATCC 19119. Dopo incubazione a 37°C per 24-48 ore i ceppi manifestano le seguenti reazioni:

Fermentation Broth Base + ramnosio: con *L.monocytogenes* il terreno vira al giallo, con *L.ivanovii* il terreno non vira al giallo.

Fermentation Broth Base + xilosio: con *L.monocytogenes* il terreno non vira al giallo, con *L.ivanovii* il terreno vira al giallo.

13 – LIMITE DEL METODO

- Esistono rari ceppi di *L. monocytogenes* che non fermentano il L-ramnosio.¹
- La fermentazione dei carboidrati è uno dei test utilizzati per identificare le colture batteriche pure. Per un'identificazione completa, è necessario eseguire altri test di conferma.

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- 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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Ogni provetta di questo terreno di coltura è monouso.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura in polvere ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni 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

Terreno di coltura in polvere

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).

Provette pronto all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni le provette sono valide fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le provette estratte dal confezionamento secondario possono essere utilizzate sino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere usate immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare le provette con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method
2. ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 2: Enumeration method.
3. U.S. Department of Health and Human Services, F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, M130.
4. U.S. Department of Health and Human Services, F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 5: Salmonella, March 2022.
5. U.S. Department of Health and Human Services, F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods, April 2022.
6. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

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.

