

LACTOSE BROTH

Terreno di coltura in polvere e terreno pronto all'uso

1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno non selettivo per il rilevamento e il conteggio di batteri coliformi in materiali di importanza sanitaria.

2 – COMPOSIZIONE*

(PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)

Estratto di carne	3 g
Peptone di gelatina	5 g
Lattosio	5 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il Lactose Broth è stato formulato dall'American Public Health Association (APHA) per testare i latticini e l'acqua^{1,2} e non è più incluso nelle ultime edizioni. Il Lactose Broth può essere utilizzato per lo studio della fermentazione del lattosio dei batteri in generale ed è riportato da FDA-BAM e come alternativa al Lauryl Sulfate Broth nel test MPN presuntivo per coliformi totali e coliformi fecali negli alimenti³ e come terreno di pre-arricchimento per il rilevamento di Salmonella in alcuni alimenti⁴. Il terreno è indicato dal Rapporto ISTISAN 96/35 per il conteggio di *E. coli* nella pasta surgelata con la tecnica MPN.⁵ I fattori di crescita essenziali sono forniti dall'estratto di carne e dal peptone di gelatina che sono fonti di azoto, carbonio, amminoacidi e minerali. Il lattosio è il carboidrato fermentabile per i coliformi.

4 – PREPARAZIONE

Sospendere 13 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Distribuire 10 mL in provette contenenti una provetta di Durham capovolta o 225 mL in flaconi. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Nel caso di doppia concentrazione, sospendere 26 g in 1000 mL di acqua depurata fredda e dispensare 10 mL in provette da 20x200 mm. I tubi Durham non devono contenere bolle d'aria dopo la sterilizzazione.

5 – CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in provetta	giallo chiarissimo, limpido
pH (20-25°C)	6,9 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Lactose Broth	Terreno di coltura in polvere	4015752	500 g (38,5 L)
Lactose Broth	Provette pronte all'uso	551575	20 x 10 mL

7 – MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Alimenti e materiali di importanza sanitaria. 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.^{3,4}

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Coliformi e coliformi fecali (tecnica MPN).³

- Preparare la diluizione decimale del campione con l'apposito diluente.
- Utilizzando almeno 3 diluizioni consecutive, inoculare aliquote da 1 mL di ciascuna diluizione in 3 provette di Lactose Broth per un'analisi MPN a 3 provette (alcune analisi possono richiedere l'uso di 5 provette per ciascuna diluizione).
- Incubare le provette di Lactose Broth a 35°C ± 0,5°C. Esaminare le provette e registrare le reazioni a 24 ± 2 h per il gas.
- Incubare nuovamente le provette gas-negative per altre 24 h ed esaminare e registrare nuovamente le reazioni a 48 ± 3 h.
- Eseguire il test di conferma su tutti i tubi presunti positivi (gas).
- Test completo per i coliformi: da ogni provetta di Lactose Broth con produzione di gas, trasferire un'ansa di sospensione in una provetta di Brilliant Green Bile Broth (REF 401265) e incubare a 35°C ± 0,5°C. Esaminare la produzione di gas a 48 ± 3 h.
- Test completo per coliformi fecali: da ogni provetta di Lactose Broth con produzione di gas, trasferire un'ansa in una provetta di EC Broth (REF 401425) e incubare 24 ± 2 ore a 44,5°C. Esaminare la produzione di gas. Se negativo, incubare nuovamente ed esaminare nuovamente a 48 ± 2 h.

10 – LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il terreno diventa torbido quando i batteri crescono; la formazione di gas può essere osservata poiché le bolle si accumulano nei tubi di Durham.

Considerare come coliformi i batteri che, prelevati dal Lactose Broth, mostrano la formazione di gas nella provetta Durham delle provette Brilliant Green Bile Broth incubate a 35°C per 24-48 ore.

Considerare come coliformi fecali i batteri che, prelevati dal Lactose Broth, mostrano la formazione di gas nella provetta Durham delle provette EC Broth incubate a 44,5°C per 24-48 ore.

11 – CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto 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 ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPO DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35° C/24 H/A	crescita con produzione di gas
<i>C. freundii</i> ATCC 43864	35 °C/24 H/A	crescita con produzione di gas

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 per ogni lotto di Lactose Broth disidratato e pronto all'uso vengono valutati per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata mediante il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali di organismi target in provette, incubando a 35°C per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita e la produzione di gas nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto da testare (Gr_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi target: *E. coli* ATCC 8739, *C. freundii* ATCC 43869, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736. L'indice di produttività $Gr_{RB}-Gr_{TB}$ per ciascun ceppo di prova è ≤ 1 e le provette mostrano gas nei tubi di Durham. La specificità è testata con diluizioni appropriate del ceppo non target *S. Enteritidis* ATCC 13076. Dopo l'incubazione, il ceppo mostra una buona crescita senza produzione di gas.

13 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura e le provette pronte all'uso qui descritti sono destinati al controllo microbiologico e sono per uso professionale; devono essere usati 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 buone pratiche di fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Le provette pronte all'uso sono soggette a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Ogni provetta di questo terreno di coltura è monouso.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'ambiente 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.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

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).

Terreno disidratato

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 preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

Secondo MacFaddin, provette e flaconi preparati in laboratorio possono essere conservati a +2°C /+8°C per 6 mesi.⁶


15 – BIBLIOGRAFIA

- American Public Health Association. Standard methods for the examination of dairy products, 1948. 9th ed. APHA, New York, N.Y.
- American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and sewage, 9th ed. 1946. APHA, New York, N.Y.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Rev October 2020.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: Salmonella. Rev March 2022.
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D.De Medici, L.Feniccia, L.Orefice e A.Stacchini
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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

