

LETHEEN BROTH AOAC

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido per la determinazione del coefficiente fenolico di materiali tensioattivi cationici.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Estratto di carne	5,0 g
Peptone	10,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Lecitina	0,7 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Quisno, Gibby e Foter¹ scoprono che l'aggiunta di lecitina e polisorbato 80 a un terreno liquido portava alla neutralizzazione di alte concentrazioni di sali di ammonio quaternario. Questo nuovo terreno fu chiamato "letheen broth", espressione del nome contratto dei componenti principali: lecitina e tween. Il terreno è stato originariamente sviluppato come brodo di subcoltura per la neutralizzazione dei sali quaternari di ammonio. Il Lethéen Broth AOAC è utilizzato per determinare il coefficiente di fenolo dei materiali cationici tensioattivi² secondo le procedure AOAC.³ È consigliato anche per il recupero dei batteri dalle soluzioni contenenti residui di sanificanti provenienti da utensili e attrezzature alimentari.

Il coefficiente di fenolo è la misura del potere disinfettante di una sostanza, determinato dividendo la cifra che indica il grado di diluizione del disinfettante che uccide un microorganismo in un determinato tempo per quella che indica il grado di diluizione del fenolo che uccide il microorganismo in condizioni simili.

Il Lethéen Broth contiene estratto di manzo e peptone di carne che forniscono azoto, carbonio, minerali e aminoacidi per la crescita microbica. Il cloruro di sodio è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico. La lecitina e il polisorbato 80 neutralizzano i composti ammoniacali quaternari, i fenoli, l'esaclorofene e la formalina.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 20,7 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. aggiungere 5 g di polisorbato 80 (Tween® 80 REF 42120502), riscaldare fino all'ebollizione agitando frequentemente per sciogliere completamente la polvere. Distribuire e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpido
pH finale (20-25 °C)	7,0 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Lethéen Broth AOAC	Terreno di coltura in polvere	4015912	500 g (24,2L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse, tamponi e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, Tween® 80 (REF 42120502), terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Disinfettanti e prodotti contenenti disinfettanti. Fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili e operare in conformità alle buone pratiche di laboratorio per la raccolta, la conservazione e il trasporto dei campioni al laboratorio.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI, LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Consultare l'edizione corrente dei testi appropriati^{3,4} per le procedure raccomandate di preparazione del campione, inoculazione, analisi e interpretazione dei risultati.

10 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono rilasciati alla 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>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita

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

11 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Lethéen Broth AOAC disidratato e integrato con 5 g/L di polisorbato 80 (Test Batch: TB), viene testato per verificare la produttività e le proprietà neutralizzanti di una base di ammonio quaternario, confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato e con un terreno di coltura generico senza proprietà neutralizzanti (Tryptic Soy Broth).

Le caratteristiche di cui sopra sono state testate con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923.



Dopo incubazione a 37°C per 24 ore, si ottiene una buona crescita degli organismi testati con Letheen Broth AOAC integrato con base di ammonio quaternario, mentre la crescita è totalmente o parzialmente inibita con Tryptic Soy Broth integrato nello stesso modo.

12 – LIMITE DEL METODO

L'efficacia della neutralizzazione dei conservanti con questo terreno dipende dal tipo e dalla concentrazione del/i conservante/i.

13 - 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
- 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.

14 – 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 MacFaddin, il terreno prodotto in laboratorio può essere conservato a 2-8°C per 4 settimane.²

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Quisno R, Gibby IW, Foter MJ. A neutralizing medium for evaluating the germicidal potency of the quaternary ammonium salts. Am J Pharm Sci Support Public Health 1946; 118:320-323
2. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985
3. AOAC International. Official Methods of Analysis 21st Edition; 2019.
4. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. Standard Operating Procedure for AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants. Online Revision 01-17-20.

®Tween è un marchio di ICI Americas Inc.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 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	02/2023

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