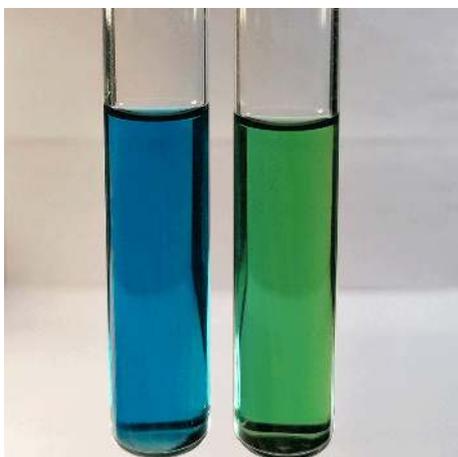


ISTRUZIONI PER L'USO

MALONATE BROTH

Terreno di coltura in polvere


 Malonate Broth
 da sinistra: *E.aerogenes* malonato +, *E.coli*, malonato -

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Diagnostico *in vitro*. Per la differenziazione di *Enterobacter* da *Escherichia* sulla base dell'utilizzo del malonato

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

Ammonio solfato	2,000 g
Potassio fosfato	1,000 g
Sodio cloruro	2,000 g
Sodio malonato	3,000 g
Blu di bromotimolo	0,025 g
Glucosio	0,250 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

 Il test del malonato è stato introdotto da Leifson (1933)¹ per distinguere *Escherichia coli* da '*Klebsiella aerogenes*', e con questi organismi ha trovato una perfetta correlazione con il test VP.

Un organismo che può utilizzare contemporaneamente il sodio malonato come fonte di carbonio e l'ammonio solfato come fonte di azoto produce un'alcalinità dovuta alla formazione di sodio idrossido. Questo si traduce in una reazione alcalina che, in un terreno contenente malonato, fa virare l'indicatore (blu di bromotimolo) dal suo colore verde originale al blu chiaro o blu di Prussia. Gli organismi che non possono utilizzare il malonato e l'ammonio solfato non producono alcun cambiamento di colore del terreno.

 Malonate Broth è preparato secondo una modificazione della formulazione originale proposta da Leifson e non include estratto di lievito come nella versione modificata di Ewing.²
4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 8,3 g in 1000 mL di acqua purificata fredda, riscaldare per dissolvere, distribuire in provette e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Tutta la vetreria deve essere pulita chimicamente e priva di alcali.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, grigio verde
Aspetto del terreno in provetta o flacone	limpido, verde
pH (20-25°C)	6,7 ± 0,1

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Malonate Broth	Terreno di coltura in polvere	4016852	500 g (60,2 L)

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse da microbiologia, autoclave, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colture.

8 - CAMPIONI

Il campione consiste in colture batteriche isolate da campioni clinici o altri materiali, purificate su Tryptic Soy Agar o agar sangue o altro mezzo adatto

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

 Inoculare leggermente il terreno con un'ansata di una coltura pura.
 Incubare in aerobiosi a 35-37°C per 24-48 ore. Osservare la crescita alla fine di ogni periodo.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

 Esaminare le provette per il cambiamento di colore.
 Test positivo: reazione alcalina, colore da azzurro a blu di Prussia in tutto il terreno.
 Test negativo: nessun cambiamento di colore del terreno.

 I generi batterici in cui la maggior parte delle specie produce una reazione alcalina positiva sono: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*.
 I generi batterici in cui la maggior parte delle specie produce una reazione negativa includono: *Escherichia*, *Serratia*, *Salmonella*, *Morganella*, *Shigella*, *Proteus*, *Edwardsiella*, *Providencia*, *Yersinia*.




Consultare i riferimenti bibliografici per le reazioni attese in specie microbiche specifiche.^{3,4}

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, 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.

Ceppo positivo al malonato: *E.aerogenes* ATCC 13048

Ceppo negativo al malonato: *E.coli* ATCC 25923

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di terreno in polvere Malonate Broth REF 401685 vengono testati per la reazione specifica, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

I campioni vengono inoculati con ceppi positivi e negativi al malonato, coltivati per 18-24 ore su Tryptic Soy Agar. Dopo 24 e 48 ore di incubazione a 35-37°C, vengono osservati e registrati i cambiamenti di colore del terreno in provetta.

I seguenti ceppi positivi al malonato fanno virare il terreno al blu: *K.pneumoniae* ATCC 23357, *E.aerogenes* ATCC 13048, *S.arizonae* ATCC 13314, *C.muytensis* ATCC 51329, *E. cloacae* ATCC 13047. I seguenti ceppi negativi al malonato mantengono inalterato il colore verde del terreno: *E.coli* ATCC 25922, *S.Typhimurium* ATCC 14028, *S.marcescens* ATCC 8100, *P.rettgeri* ATCC 39944, *C.sakazakii* ATCC 29544.

13 - LIMITI DEL METODO

- Alcuni organismi malonato negativi producono solo una leggera alcalinità che rende i risultati difficili da interpretare. In caso di dubbio, confrontare con una provetta non inocolata. Qualsiasi traccia di colore blu denota un test positivo alla fine delle 48 ore di incubazione. Un'interpretazione finale del test negativo dovrebbe essere fatta dopo incubazione per 48 ore.⁵
- E. coli* e *Klebsiella/Enterobacter* non richiedono estratto di lievito e glucosio; tuttavia, per la differenziazione *Salmonella* spp. da *S.arizonae* si raccomanda di aggiungere al terreno, prima della autoclavatura 1 g/L di estratto di lievito e 0,25 g/L di glucosio.⁵
- Anche se le colonie microbiche sono differenziate sulla base del test del malonato, le colture devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, 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 in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda 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.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inocolato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- 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.

15 - 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 (provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

- Leifson E. The Fermentation of Sodium Malonate as a Means of Differentiating Aerobacter and Escherichia. J Bacteriol. 1933 Sep; 26(3): 329-330.
- Ewing WH, Davis BR, Reavis RW. Phenylalanine and Malonate Media and Their Use in Enteric Bacteriology. Public Health Lab. 1957; 15: 153-167.
- Buchan BW et al Escherichia, Shigella and Salmonella. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
- Forsythe SJ et al Klebsiella and selected Enterobacteriales. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.





5. 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 Numero di lotto	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	04/2022
Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

