



MICROBIAL CONTENT TEST AGAR (TSA+LECITHIN+TWEEN® 80)

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di uso generale per la rilevazione e il conteggio di microrganismi su aree sanitarie, contenitori e attrezzature trattate.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Digerito pancreatico di caseina	15,0 g
Peptone di soia	5,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Lecitina	0,7 g
Polisorbato 80	5,0 g
Agar	15,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

L'individuazione e il conteggio di microrganismi su superfici ambientali trattate con antisettici sono state oggetto di numerose ricerche da parte di microbiologi nel campo della sanità pubblica. Quisno *et al'* hanno riportato che la lecitina neutralizza efficacemente i composti ammoniacali quaternari e Brummer² ha combinato lecitina e polisorbato 80 per la neutralizzazione dei disinfettanti mediante la tecnica di rilevamento e conteggio degli organismi replicati (RODAC). Il Microbial Content Test Agar, preparato con Tryptic Soy Agar integrato con lecitina e polisorbato 80, è utilizzato per la rilevazione e il conteggio dei microrganismi che sopravvivono dopo il trattamento di superfici e materiali con antisettici e nelle procedure di campionamento dell'aria ambientale. Il Tryptic Soy Agar è il terreno specificato come "casein soya bean digest agar" nel metodo armonizzato EP, USP JP3 per il conteggio microbico di prodotti farmaceutici non sterili. La lecitina è incorporata per neutralizzare i composti ammoniacali quaternari e il polisorbato 80 è usato per neutralizzare i disinfettanti fenolici sostituiti.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 45,7 g in 1000 mL di acqua depurata fredda. Riscaldare fino a ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50 °C, mescolare bene e versare in piastre Petri o piastre RODAC sterili.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallo chiaro
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpido
pH finale (20-25 °C)	7,3 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Microbial Content Test Agar	Terreno di coltura in polvere	4016992	500 g (10,9 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio come richiesto, beute, piastre di Petri sterili, piastre RODAC, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Aree sanitarie, contenitori, attrezzature trattate con disinfettanti.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Le piastre RODAC riempite con Microbial Content Test Agar sono utilizzate per il metodo quantitativo per il conteggio dei microbi su superfici di lavoro piane aperte.⁴

- Appoggiare delicatamente ma con fermezza la superficie dell'agar RODAC contro l'area da campionare, esercitare una pressione verticale moderata e uniforme e riposizionare con cura il coperchio. Evitare di sfregare la piastra sul sito di campionamento per evitare di rompere l'agar.
 - Incubare le piastre esposte a 35-37°C per 48 ore e a 25°C per 7 giorni o secondo necessità.
- I metodi qualitativi che utilizzano spugne/tamponi sono utilizzati per le aree difficili da raggiungere.⁴
- Applicare il tampone (o la spugna con impugnatura) sulla superficie (o sull'apparecchiatura) da monitorare esercitando una forte pressione.
 - Quando si campionano (monitorano) superfici piane, lasciare che il tampone (o la spugna con il manico) strofini saldamente un'area di circa 24-30 cm².
 - Applicare il tampone (o la spugna) in quest'area di contatto in direzione orizzontale e verticale per circa 10 secondi.
 - Stendere il tampone direttamente sulla superficie delle piastre Microbial Content Test Agar.
 - Incubare le piastre inoculate a 35-37°C per 48 ore e a 25°C per 7 giorni o secondo necessità.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la presenza di microrganismi è indicata dalla comparsa di colonie di varia morfologia e dimensione sulla superficie del terreno. Le caratteristiche della crescita sono strettamente correlate al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati.

Contare tutte le colonie sviluppate.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del 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***S. aureus* ATCC 6538
E. coli ATCC 25922**INCUBAZIONE T°/ T - ATM**35-37°C / 18-24H / A
35-37°C / 18-24H / A**RISULTATI ATTESI**buona crescita
buona crescita

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

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Microbial Content Test Agar disidratato 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 Agar).

Le caratteristiche di cui sopra sono testate con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 6538. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore, si ottiene una buona crescita degli organismi testati con Microbial Content Test Agar non integrato e integrato con base di ammonio quaternario, mentre la crescita è totalmente o parzialmente inibita in Tryptic Soy Agar integrato nello stesso modo.

13 – LIMITE DEL METODO

- L'efficacia della neutralizzazione dei conservanti con questo terreno dipende dal tipo e dalla concentrazione dei conservanti.

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
- 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 MacFaddin, il terreno prodotto in laboratorio può essere conservato a 2-8°C per 6-8 settimane.⁵

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Quisno R, Gibby IW, Foter MJ. A neutralizing medium for evaluating the germicidal potency of the quaternary ammonium salts. *Am J Pharm* 1946; 118:320.
2. Brummer B. Influence of Possible Disinfectant Transfer on Staphylococcus aureus Plate Counts After Agar Contact Sampling. *App Environ Microbiol* 1976; 32:80-84.
3. European Pharmacopoeia 10.3, 2021.
4. Food and Drug Administration. Office of Regulatory Affairs. Office of Regulatory Science. Pharmaceutical Microbiology Manual. Document n° ORA.007. Rev 2. 25 Aug 2020.
5. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

©Tween è un marchio registrato di ICI Americas Inc.

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 4	Aggiornamento del layout e dei contenuti	03/2023

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

