

NUTRIENT BROTH AOAC

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di uso generale per la determinazione del coefficiente fenolico dei disinfettanti.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Estratto di manzo	5 g
Peptozimatic	10 g
Sodio cloruro	5 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

In letteratura sono state proposte diverse formulazioni di Nutrient Broth. La rassegna di Atlas e Parks¹ ne elenca oltre 10. Biolife include 4 formulazioni nel suo portafoglio prodotti: la formulazione classica (Nutrient Broth REF 401815) con 3 g/L di estratto di manzo e 5 g/L di peptone di carne, Nutrient Broth n°2 (REF 401812) destinato alla preparazione del Preston Broth, Nutrient Broth 13G (REF 401818) preparato con 5 g/L di peptone, 1 g/L di estratto di manzo, 2 g/L di estratto di lievito e 5 g/L di NaCl e infine Nutrient Broth AOAC (REF 401816). A seconda delle loro esigenze operative, gli utenti finali potranno scegliere la formulazione che ritengono più appropriata.

Il Nutrient Broth AOAC è un terreno di coltura equivalente raccomandato dall'AOAC come terreno di coltura per testare i disinfettanti, utilizzando i ceppi in esame *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*.^{2,3}

L'estratto di manzo e il peptozimatic forniscono nutrienti essenziali a base di azoto e carbonio, vitamine e oligoelementi per la crescita della maggior parte dei microrganismi non esigenti. Il sodio cloruro è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 20 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente, se necessario, 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)	6,8 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Broth AOAC	Terreno di coltura in polvere	4018162	500 g (25 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Culture pure di organismi in esame

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Consultare le pubblicazioni AOAC per i dettagli delle procedure operative.^{2,3}

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di microrganismi è indicata da un grado variabile di torbidità, puntini e flocculazione nel terreno di coltura. Il controllo non inoculato rimane chiaro e senza torbidità dopo l'incubazione. Le caratteristiche della crescita sono strettamente correlate al tipo o ai tipi di microrganismi coltivati.

11 – 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 6538	37°C / 24H / A	buona crescita
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	37°C / 24H / A	buona crescita
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	37°C / 24H / A	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 Nutrient Broth AOAC disidratato viene sottoposto a un test di produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. La produttività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di organismi a diluizioni decimali appropriate in provette e incubando a 37° per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra crescita nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel lotto di prova (G_{TB}). La produttività viene testata con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 19433, *B.subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 6538, *S. Typhimurium* ATCC 14028 L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1 .



13 – LIMITI DEL METODO

- Nutrient Broth AOAC non è adatto alla coltivazione di microrganismi fastidiosi e alla coltivazione di anaerobi.

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, i terreni di coltura Nutrient Broth in provette/flaconi preparati in laboratorio possono essere conservati a 2-8°C per 6 mesi.⁴

16 - BIBLIOGRAFIA

- Atlas R. Parks LC. Handbook of Microbiological Media. 2nd edition. CRC Press, 1997.
- Official Methods of Analysis AOAC International, Volume 1. Edited by Horwitz W. Published by AOAC International. USA. Chapter 6. Disinfectants Subchapter 1. Phenol coefficient methods AOAC official methods 955.1, 2000 17th edition
- US Environmental Protection Agency Standard Operating Procedure for AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants. SOP Number: MB-05-07 Date Revised: 08-18-09.
- 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	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente <n> per		 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	03/2023

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

