

NUTRIENT BROTH 13 g/L

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di uso generale per la coltivazione di un'ampia varietà di microrganismi non esigenti.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Estratto di carne	1,0 g
Estratto di lievito	2,0 g
Peptone	5,0 g
Sodio cloruro	5,0 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 carne e 5 g/L di peptone di carne, Nutrient Broth n°2 (REF 401812) destinato alla preparazione del Preston Broth, Nutrient Broth AOAC (REF 401816) utilizzato per la determinazione del coefficiente fenolico dei disinfettanti e infine Nutrient Broth 13 g/L (REF 401818). A seconda delle loro esigenze operative, gli utilizzatori finali potranno scegliere la formulazione che ritengono più appropriata.

Nutrient Broth 13 g/L è un terreno di coltura per uso generale con caratteristiche di fertilità superiori a quelle di Nutrient Broth. Corrisponde nella formulazione ai preparati di Loeffler e di altri microbiologi della scuola europea. Rispetto al Nutrient Broth (401815) tipico dei microbiologi nordamericani, questo terreno liquido contiene anche estratto di lievito e presenta caratteristiche di fertilità superiori. Questo terreno può essere arricchito con altri ingredienti come sangue, siero, zuccheri, ecc. per scopi specifici.

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

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 13 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)	7,4 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Broth 13 g/L	Terreno di coltura in polvere	4018182	500 g (38,5 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Generalmente Nutrient Broth 13 g/L viene utilizzato per la subcoltura di microrganismi isolati su altri terreni di coltura e non viene utilizzato per l'inoculazione diretta dei campioni.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago o un'ansa per batteriologia inoculare il terreno liquido in una provetta o flacone con una colonia cresciuta su un altro terreno di isolamento. Incubare alla temperatura e per il tempo richiesto dalle procedure di laboratorio. Di solito, una temperatura di incubazione di 35 ± 2 °C per 18-24 è adeguata per la coltivazione di aerobi comuni e anaerobi facoltativi.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di microrganismi è indicata da un grado variabile di torbidità, puntini e flocculi 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 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	INCUBAZIONE T° / T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37°C / 24H / A	buona crescita
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	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 13 g/L 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 della 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, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. pyogenes* ATCC 12384, *S. epidermidis* ATCC 12228. L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1 .

13 – LIMITI DEL METODO

- Nutrient Broth 13 g/L non è adatto alla coltivazione di microrganismi esigenti e alla coltivazione di anaerobi.
- Per la purificazione della coltura e per l'esecuzione di test di identificazione sono necessarie subcolture su terreni solidi adeguati.

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 $+10^{\circ}\text{C} / +30^{\circ}\text{C}$ 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 $2-8^{\circ}\text{C}$ per 6 mesi.²

16 - Bibliografia

1. Atlas R. Parks LC. Handbook of Microbiological Media. 2nd edition. CRC Press, 1997
2. 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 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 contenuto e del layout	03/2023

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

