

## NUTRIENT GELATIN

Terreno di coltura in polvere

### 1-DESTINAZIONE D'USO

Per la differenziazione dei microrganismi sulla base della produzione di gelatinasi e per la conta su piastra a 20°C.

### 2- COMPOSIZIONE

#### FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)\*

Beef extract	3 g
Peptone	5 g
Gelatin	120 g

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

### 3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La gelatina è stata utilizzata per la prima volta per ottenere un terreno solido nel 1881 da Robert Koch. La sua digestione da parte dei batteri e la temperatura di fusione a 37°C ne limitarono l'uso e presto si aprì la strada all'agar, che ha qualità di gran lunga superiori.<sup>1</sup> Il terreno Nutrient Gelatin viene preparato secondo la formula utilizzata in passato per l'esame di acqua, liquami e altri materiali di importanza sanitaria.<sup>2</sup> Questo terreno è utilizzato principalmente per determinare la capacità di un organismo di produrre enzimi proteolitici (gelatinasi) per liquefare la gelatina, un metodo standard negli studi tassonomici e per la conta microbica dell'acqua su piastra a 20°C.<sup>3</sup> Il peptone e l'estratto di manzo forniscono azoto e minerali sufficienti per la crescita di organismi non esigenti. La gelatina è il substrato per la determinazione della gelatinasi.

### 4-METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 128 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda, lasciare per 10 minuti poi portare a bollore per sciogliersi completamente. Distribuire e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

### 5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, gialla
Aspetto del terreno in soluzione	da limpido a leggermente opalescente, può avere un leggero precipitato.
pH (20-25°C)	6,8 ± 0,2

### 6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Nutrient Gelatin	Terreno di coltura in polvere	4018202	500 g (3,9 L)

### 7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute Erlenmeyer, piastre Petri, provette, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

### 8-CAMPIONI

Test della gelatinasi: il campione è costituito da colture pure di batteri. Conteggio piastre: acqua, liquami e altri materiali di importanza sanitaria.

### 9-PROCEDURA DELL'ANALISI

#### Test di liquefazione<sup>3</sup>

Inoculare una provetta di Nutrient Gelatin solidificata a 4 gradi centigradi con una goccia di una sospensione microbica pesante infiggendo al centro del terreno fino a pochi mm dal fondo della provetta. Preparare anche una provetta di controllo non inocolata. Incubare le provette a 35 ± 2°C °C per 24-48 ore e fino a 14 giorni. Alla fine di ogni periodo di 24 ore, mettere tutte le provette in frigorifero o in un bagno di ghiaccio per un periodo di tempo sufficiente (circa 2 ore) ad osservare se si è verificata la digestione della gelatina (liquefazione). Effettuare il trasferimento dall'incubatrice al frigorifero senza agitare le provette.

Capovolgere le provette per testare la solidificazione; testare la reazione non appena il tubo di controllo si è indurito.

Se i microrganismi in esame contengono enzimi proteolitici che idrolizzano la gelatina, il terreno rimane liquido.

#### Conta microbica standard dell'acqua su piastra<sup>4</sup>

Diluire il campione con acqua sterile e trasferire 0,5 o 1 mL delle diluizioni in ciascuna piastra Petri sterile lavorando con almeno un duplicato. Raffreddare il terreno Nutrient Gelatin a circa 42 °C e aggiungerne sterilmente 10 mL in ogni piastra. Mescolare il terreno con l'inoculo, solidificare il prima possibile e mettere immediatamente in un'incubatrice a 19-21 °C. Incubare per 48 ore e contare almeno due piastre contenenti tra 30 e 300 colonie.

### 10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

#### Test di liquefazione positivo

Campione testato: mezzo liquefatto / Provetta di controllo: il terreno rimane solido

#### Test di liquefazione negativo

Campione testato: il terreno rimane solido

Reincubare per un ulteriore periodo

Provetta di controllo: il terreno rimane solido

### 11-CONTROLLO QUALITÀ

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 responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità del terreno di base.



**CEPPI DI CONTROLLO**  
*S.marcescens* ATCC 8100  
*E.coli* ATCC 25922

**INCUBAZIONE: T°/ t/ATM**  
 20 ± 1°C / 44-48 H / A  
 20 ± 1°C / 44-48 H / A

**RISULTATI ATTESI**  
 crescita, gelatinase positivo  
 crescita, gelatinase negativo

A: Aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 12-LIMITI DEL METODO

- La gelatina è solida se incubata a 20°C o meno e liquida a una temperatura di 35°C o superiore.
- Il terreno Nutrient Gelatin non è raccomandato per la determinazione della liquefazione della gelatina da parte di specie esigenti e anaerobi obbligati.
- La crescita e la liquefazione spesso si verificano solo nello strato superficiale del tubo. Per evitare falsi negativi, maneggiare con cura le provette quando sono calde, in modo che la gelatina liquefatta rimanga sulla superficie della provetta e non si mescoli con gli strati inferiori.<sup>3</sup>
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa.

### 13-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è 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](http://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 inoculato 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](http://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 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.

### 14-CONSERVAZIONE E VALIDITA'










Conservare a +10°C / +30°C al riparo della luce e dall'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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento).

L'utilizzatore è responsabile dei processi di produzione e controllo qualità dei terreni preparati e della validazione della durata di conservazione dei prodotti finiti, in base al tipo (provette/bottiglie) e al metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

### 15 - BIBLIOGRAFIA

- Nabajit Das, Naveen Tripathi, Srijoni Basu, Chandra Bose, Susmit Maitra, and Sukant Khurana. Progress in the development of gelling agents for improved culturability of microorganisms. *Front Microbiol.* 2015; 6: 698.
- American Public Health Association. 1960. Standard methods for the examination of water and sewage, 9th ed. American Public Health Association, New York, N.Y.
- MacFaddin, Jean F. (1985). *Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria.* Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- American Public Health Association. 1946. *Standard Methods for the Examination of Water and Sewage*, 5th ed. American Public Health Association, New York, N.Y.

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 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 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	11/2019
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2022

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

