



ROGOSA BIOS BROTH

Terreno di coltura in polvere

1-DESTINAZIONE D'USO

Terreno di coltura per l'isolamento selettivo e la conta dei lattobacilli.

2- COMPOSIZIONE

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

Peptozimatic	2.00 g
Triptone	4.00 g
Estratto di lievito	9.00 g
Glucosio	10.00 g
Arabinosio	5.00 g
Saccarosio	5.00 g
Sodio acetato	15.00 g
Ammonio citrato	2.00 g
Potassio fosfato monob.	6.00 g
Magnesium sulphate	0.57 g
Manganese solfato	0.12 g
Ferro solfato	0.03 g

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

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I lattobacilli sono grandi batteri Gram-positivi anaerobi aerotolleranti o microaerofili, a forma di bastoncino, non sporigeni. I lattobacilli sono considerati membri benefici del microbiota umano in un certo numero di siti del corpo, come la cavità orale, il tratto gastrointestinale e il sistema genitale femminile, ma raramente possono agire come patogeni opportunisti sia nei bambini che negli adulti.¹

I lattobacilli sono particolarmente associati alla carie dentale avanzata dove sono considerati un colonizzatore secondario ma probabilmente svolgono un ruolo nell'esacerbare le lesioni esistenti e sono stati associati a una moltitudine di varie infezioni tra cui batteriemia, endocardite, peritonite, corioamnionite, meningite e ascessi intra-addominali.¹ L'assenza dei lattobacilli dal microbiota vaginale e l'aumento della diversità batterica sono caratteristiche della vaginosi batterica.¹

Rogosa Bios Broth è preparato secondo una modifica della formula proposta da Rogosa, Mitchell e Wiseman^{2,3} ed è destinato all'isolamento e alla conta dei lattobacilli.^{1,4,5}

Il terreno contiene due peptoni ed estratto di lievito come fonti di azoto, carbonio e vitamine, necessarie per la crescita microbica. Destrosio, arabinosio e saccarosio forniscono carbonio e sono fonti di energia. Tween 80 agisce come tensioattivo e fornisce gli acidi grassi necessari per il metabolismo dei lattobacilli. Il citrato di ammonio e l'acetato di sodio inibiscono la crescita di streptococchi, muffe e altra flora microbica orale e limitano la sciamatura di Proteus. Il fosfato di potassio diidrogeno funge da tampone. Il solfato di magnesio, il solfato ferroso e il solfato di manganese sono fonti di ioni inorganici per la crescita ottimale dei lattobacilli. L'acido acetico riduce il pH del terreno a valori acidi.

4-METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 58,7 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Aggiungere 1 mL di Tween 80 e 1,32 mL di acido acetico glaciale al 96%. Portare a ebollizione con agitazione frequente, far bollire per 2-3 minuti. Non sterilizzare in autoclave.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallastra
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	giallo, limpido
pH (20-25°C)	5.4 ± 0.2

6 - MATERIALS PROVIDED – PACKAGING

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Rogosa Bios Broth	Terreno di coltura in polvere	4019902	500 g (8,5 L)

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Bagnomaria, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute Erlenmeyer, piastre Petri, anse e tamponi sterili, generatori di atmosfera controllata e vasetti, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8-CAMPIONI

Rogosa Bios Broth può essere inoculato direttamente con una varietà di campioni. Devono essere applicate buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni. Il terreno non è adatto per l'isolamento di lattobacilli da latte.⁴

9-PROCEDURA DELL'ANALISI

Inoculare il campione direttamente nelle provette.

Incubare per 3 giorni a 35°C o per 5 giorni a 30°C.² I lattobacilli prediligono un'atmosfera microaerofila, pertanto alcuni autori consigliano un'incubazione in atmosfera addizionata di CO₂ al 5-10% o in condizioni anaerobiche.^{2,3,4}

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica (torbidità del terreno nelle provette).

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. E' 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	INCUBAZIONE: T° / t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>L.rhamnosus</i> ATCC 7469	35-37°C / 44-48 H	Buona crescita
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 44-48 H	Crescita inibita

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

12-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima della messa in vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Rogosa Bios Broth REF 401990 disidratato viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività è testata mediante tecnica di diluizione fino all'estinzione con diluizioni adeguate dei seguenti ceppi target: *L.casei* ATCC 7469, *L.sake* ATCC 15521, *L.fermentum* ATCC 9338, ceppi selvatici di *L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.mesenteroides*. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48 ore, tutti i ceppi target mostrano una buona crescita.

La selettività viene valutata inoculare le provette con opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione McFarland 0,5 degli ceppi non target *E.coli* ATCC 25922, *E.faecalis* ATCC 29212 e *C.albicans* ATCC 10231. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48 ore la crescita di ceppi non target è parzialmente inibita.

13-LIMITI DEL METODO

- In generale *Lactobacillus spp.* può essere coltivato selettivamente utilizzando terreni con un pH acido come il terreno Rogosa, sebbene alcuni ceppi più esigenti potrebbero non crescere su questi terreni.¹
- Si consiglia di inoculare, insieme a Rogosa Bios Broth, un terreno agar sangue convenzionale.¹
- Il terreno non deve essere utilizzato per il mantenimento dei lattobacilli; trasferire le colonie per ulteriori test il prima possibile.⁴
- Il sale nella formulazione rende il terreno inadatto all'isolamento di lattobacilli da latte: *L.lactis*, *L.bulgaricus* e *L.helveticus*⁴
- Altri organismi come enterococchi, pediococchi e specie di *Leuconostoc* possono crescere su questo terreno.
- 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.

14-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 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.
- 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 VALIDITA'

Conservare a +2°C / +8°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).












16 - BIBLIOGRAFIA

- Butler-Wu SM, She RC. *Actinomyces, Lactobacillus, Cutibacterium* and other non-spore-forming Gram-positive rods. In Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
- Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman RF. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli J Bact 1951; 62:132
- Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman RF. A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. J Dent Res 1951; 30(5):682
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF or REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Proteggere dall'umidità	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Lato superiore	 Proteggere dalla luce	 Fragile, maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	12/2019
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2022

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

