

MODIFIED SCHOLTENS' BROTH (MSB)

Terreni di coltura in polvere ed in flacone pronto all'uso

1- DESTINAZIONE D'USO

Per la coltura e arricchimento dei ceppi ospite, nelle metodiche descritte dalla ISO 10705-2.

2-FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA*

TERRENO IN POLVERE E PRONTO ALL'USO

Peptone	10,00 g
Estratto di lievito	3,00 g
Estratto di carne	12,00 g
Cloruro di sodio	3,00 g
Sodio carbonato	0,75 g
Magnesio cloruro (6H ₂ O)	0,60 g

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

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Modified Scholtens Broth è preparato in accordo alla formulazione proposta dalla norma ISO 10705-2¹ per l'enumerazione dei colifagi somatici nelle acque. I colifagi somatici sono virus che appartengono alla grande famiglia dei batteriofagi: questi sono in grado di infettare selettivamente i batteri al fine di potersi replicare, immettendo il proprio DNA all'interno della cellula batterica. In seguito, il virus inizia a moltiplicarsi all'interno del batterio provocandone la lisi, che sarà visibile nel terreno di coltura (placca). I colifagi somatici sono indicatori di inquinamento fecale nelle acque, grazie alla capacità di attaccare specificatamente la specie *Escherichia coli*.

Modified Scholtens' Broth è il terreno utilizzato per la coltivazione e l'arricchimento dei ceppi target per i colifagi somatici.

Il peptone, l'estratto di lievito e l'estratto di carne forniscono i nutrienti necessari per *Escherichia coli* (ospite), il sodio cloruro, magnesio cloruro e calcio cloruro sono bilanciati per mantenere l'equilibrio osmotico senza interferire nella propagazione dei fagi.

4A-PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 29,35 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Scaldare sotto agitazione per sciogliere completamente il terreno, distribuire in flaconi o provette di adeguata capacità e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

4B-PREPARAZIONE DEL TERRENO PRONTO ALL'USO IN FLACONE

Il terreno è pronto all'uso

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, gialla
Aspetto del terreno pronto	Limpido, paglierino
pH (20-25°C)	7,2 ± 0,5

6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Modified Scholtens' Broth (MSB)	Terreno di coltura in polvere	4017472	500 g (17 L)
		4017474	5 kg (170 L)
Modified Scholtens' Broth (MSB)	Flacone pronto all'uso	5117472	6 x 100mL
		5117473	6 x 200mL

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, piastre Petri sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8-CAMPIONI

Modified Scholtens' Broth non deve essere utilizzato per l'inoculo diretto dei campioni di acqua da analizzare, ma per il trattamento del ceppo ospite. Attenersi alle buone regole di pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard internazionali applicabili.

9-PROCEDURA DI ARRICCHIMENTO

Procedura standard per l'allestimento delle colture host

- Riscaldare un vial di coltura madre, preparata come descritto nella normativa ISO 10705-2², fino al raggiungimento della temperatura ambiente e seminare in piastre di Mac Conkey Agar (REF. 541670), o un altro terreno equivalente basato sulla fermentazione del lattosio, in modo da ottenere colonie ben isolate. Incubare a 36 ± 2°C per 20 ± 4 ore.
- Versare 50 ± 5 mL di Modified Scholtens' Broth in una beuta sterile e portare a temperatura ambiente (la crescita del ceppo ospite sarà più veloce se il brodo viene riscaldato a 37°C).
- Selezionare da 3 a 5 colonie lattosio positive dalla piastra seminata e inocularle nel MSB. Incubare a 36 ± 2°C per 5 ± 1 ore.
- Misurare la carica batterica seguendo i metodi descritti dalla norma³.
- Aggiungere 10mL di glicerolo sterile, agitare bene e dispensare circa 1,2 mL di coltura in provette di plastica.
- Conservare le provette in congelatore (- 70 ± 10°C). Le colture hanno una validità di un anno. Utilizzare le colture dei ceppi ospite come descritto dalla normativa ISO 10705-2.

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La crescita microbica del Modified Scholtens' Broth è evidenziata dallo sviluppo di torbidità.





11-CONTROLLO QUALITA'

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.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 700078 (WG5)	37 ± 2 °C / 18-24H / A	Buona crescita
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13706	37 ± 2 °C / 18-24H / A	Buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrate di American Type Culture Collection

12-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Modified Scholtens' Broth (TS) disidratato e in flacone viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato (RS).

La produttività viene testata mediante il metodo di diluizione fino all'estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali di organismi in provette, incubando a 35-37°C per 18-24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita nel lotto di riferimento Gr_{RS} e nel lotto da testare Gr_{TS}. La produttività è testata con i seguenti ceppi: *Escherichia coli* ATCC 700078 (WG5) ed *Escherichia coli* ATCC 13706.

13-LIMITI DEL METODO

- Modified Scholtens' Broth è un terreno non selettivo.
- La coltura del ceppo ospite deve essere utilizzata previa preparazione. La carica batterica presente nella coltura di lavoro deve essere misurata prima dell'utilizzo, con l'ausilio di uno spettrofotometro o seguendo la procedura alternativa descritta nella norma di riferimento³.
- Le provette delle colture ospite, una volta scongelate, vanno utilizzate nel corso della giornata lavorativa, per evitare che avvenga un aumento di carica.

14-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è destinato ai 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 disidratati devono essere maneggiati con una protezione adeguata. Prima dell'uso, consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- 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.
- Fare attenzione quando si aprono i flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- 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 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 VALIDITÀ

Terreno disidratato

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'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, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utente è responsabile dei processi di produzione e controllo qualità dei terreni preparati e della convalida della loro durata, in base al tipo e alle condizioni di conservazione (temperatura e imballaggio). Secondo la norma ISO 10705-2, il Modified Scholtens' Broth dopo sterilizzazione in autoclave può essere conservato in contenitori chiusi a +2°C /+8°C per un massimo di 6 mesi.

Flacone pronto all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C /+8°C al riparo della luce. In queste condizioni i flaconi sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. I flaconi estratti dal confezionamento secondario possono essere utilizzati sino alla data di scadenza. I flaconi aperti devono essere utilizzati immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare i flaconi con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro validità.

16- BIBLIOGRAFIA

1. ISO 10705-2 , Water quality – Detection and Enumeration of bacteriophages, Part 2: enumeration of somatic coliphages
2. ISO 10705-2 , Water quality – Detection and Enumeration of bacteriophages, Part 2: enumeration of somatic coliphages. 5-6
3. ISO 10705-2 , Water quality – Detection and Enumeration of bacteriophages, Part 2: enumeration of somatic coliphages. 6-7





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	 Monouso
 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 0	Prima pubblicazione	05/2024

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

