



EUGON BROTH

EUGON LT SUPPLEMENT

EUGON LT SUP BROTH

Terreno di base in polvere, supplemento liquido, flaconi e provette pronti all'uso

1 - DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio dei microrganismi nei cosmetici.

2 - COMPOSIZIONI - FORMULE TIPICHE *

TERRENO IN POLVERE (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)

EUGON BROTH

Triptone	15,0 g
Peptone di soia	5,0 g
Sodio cloruro	4,0 g
Glucosio	5,5 g
L-cistina	0,7 g
Sodio solfito	0,2 g

SUPPLEMENTO – CONTENUTO DEL FLACONE (100 ML)

EUGON LT SUPPLEMENT

Sodio lauret solfato	1,56 g
Lecitina d'uovo	1,00 g
Polisorbato 80	15,00 g
Acqua purificata	85,00 mL

FLACONI E PROVETTE PRONTI ALL'USO

EUGON LT SUP BROTH

Triptone	15,0 g
Peptone di soia	5,0 g
Sodio cloruro	4,0 g
Glucosio	5,5 g
Sodio lauret solfato	1,56 g
Lecitina d'uovo	1,0 g
Polisorbato 80	15,0 g
Sodio solfito	0,2 g
L-cistina	0,7 g
Acqua purificata	1000 mL

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Eugon LT SUP Broth è consigliato per la rilevazione e il conteggio di batteri mesofili aerobici, lieviti e muffe, per la neutralizzazione dei conservanti contenuti nei prodotti cosmetici e per la dispersione del campione nel terreno liquido.

Eugon LT SUP Broth è conforme ai requisiti dei seguenti Standard: ISO 16212, ISO 17516, ISO 18415, ISO 18416, ISO 21149, ISO 21150, ISO 22717 e ISO 22718.¹⁻⁸

Eugon LT SUP Broth è preparato con il terreno di base Eugon Broth addizionato con lecitina d'uovo, polisorbato 80 e sodio lauret solfato. Il triptone e il peptone di soia sono fonti di azoto, carbonio e vitamine per la crescita microbica. Il glucosio fornisce carbonio ed è fonte di energia. La lecitina e il polisorbato 80 sono inclusi come neutralizzanti degli agenti antimicrobici come derivati fenolici, aldeidi e sali di ammonio quaternario. Il sodio lauret solfato assicura una buona dispersione dei cosmetici nel terreno.

4- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

PREPARAZIONE DEL TERRENO EUGON LT SUP BROTH

Sospendere 30,4 g in 900 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione fino a completa soluzione, aggiungere il contenuto di un flacone di Eugon LT Supplement (100 mL), distribuire ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Dopo autoclavatura agitare delicatamente il terreno per miscelare le eventuali fasi che si fossero formate.

PREPARAZIONE DEL TERRENO PER USI COMUNI

Sospendere 30,4 g in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione fino a completa soluzione, distribuire ed autoclavare a 121°C per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del supplemento liquido	giallo chiaro, limpido
Aspetto del terreno in provetta/flacone	giallo, opalescente con lieve precipitato
pH (20-25°C)	7,0 ± 0,2

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Eugon Broth	Terreno di coltura in polvere	4016432	500 g (16,4 L)
Eugon LT Supplement	Supplemento liquido	421540	6 x 100 mL
Eugon LT SUP Broth	Provette pronte all'uso	551583	20 x 9 mL; provette di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite. Confezionamento in scatola di cartone.
Eugon LT SUP Broth	Flaconi pronti all'uso	5115832	6 x 90 mL; flaconi di vetro con tappo a vite. Confezionamento in scatola di cartone.

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, Autoclave, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, provette, flaconi o beute autoclavabili, terreni di coltura accessori come Tryptic Soy Agar e Sabouraud Dextrose Agar con cloramfenicolo





8- CAMPIONI

I campioni sono costituiti da prodotti cosmetici. Fare riferimento agli Standard correnti per la raccolta e la preparazione dei campioni. Il terreno non è destinato all'esame microbiologico di campioni clinici.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le provette a temperatura ambiente.

Per la rilevazione di microrganismi mediante arricchimento, preparare la sospensione iniziale del campione (generalmente 1:10) aggiungendo almeno 1 g o 1 mL del prodotto ben miscelato in esame in 9 mL di Eugon LT SUP Broth e, se necessario, preparare le diluizioni decimali della sospensione iniziale utilizzando lo stesso brodo.

Incubare la sospensione iniziale e le diluizioni decimali a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ per un minimo di 20 ore e osservare la presenza di crescita. Utilizzando un'ansa sterile, strisciare un'aliquota di Eugon LT SUP Broth sulla superficie di una piastra Petri con il terreno specifico per l'organismo target.

Per il conteggio dei microrganismi diluire il campione in Eugon LT SUP Broth, generalmente di 1:10 ed eseguire, se necessario, le successive diluizioni. Entro 45 minuti, eseguire una subcoltura sull'agar destinato al conteggio dei microrganismi target (Tryptic Soy Agar REF 542150 o Sabouraud Dextrose Chloramphenicol Agar REF 542006).

L'utente è responsabile della scelta del terreno appropriato per il rilevamento e il conteggio dei microrganismi, della temperatura e del tempo di incubazione in base all'uso previsto e alla norma ISO applicata.¹⁻⁸

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione la crescita microbica si evidenzia con la presenza di torbidità nel brodo. Per l'interpretazione dei risultati ottenuti sui terreni di isolamento fare riferimento alle istruzioni per l'uso dei terreni specifici.

11- CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

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, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio.

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di provette e flaconi pronti all'uso di Eugon LT SUP Broth e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Eugon Broth REF 401643, addizionato degli appropriati supplementi) vengono testati per la produttività e per le proprietà neutralizzanti.

La produttività del terreno è valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi target nelle provette, incubando a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}$ per 20 ± 1 h e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita, nel Lotto di Riferimento (Cr_{LR}) e nel lotto in esame (Cr_{LE}). La produttività è valutata con i seguenti ceppi target: *B.subtilis* ATCC 6633, *C.albicans* ATCC 10231, *A.brasiliensis* ATCC 16404, *S.aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *E.coli* ATCC 8739. L'indice di produttività ($Cr_{LR}-Cr_{LE}$) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1 .

La produttività viene anche testata inoculando 10-50 UFC/mL di *P.aeruginosa* ATCC 9027 e *S.aureus* ATCC 6538 in provette e incubando a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}$ per 20 ± 1 h. Dopo trapianto su piastre di TSA e incubazione, il conteggio delle colonie deve essere > 50.000 UFC/mL.

Le proprietà neutralizzanti sono testate secondo la norma ISO 21149 inoculando Eugon LT SUP Broth con cetrimonio cloruro 0,05 mg/mL con *P.aeruginosa* ATCC 9027 e *S.aureus* ATCC 6538.

13 - LIMITI DEL METODO

A causa dell'ampia varietà di campioni esaminabili, è responsabilità dell'utilizzatore convalidare Eugon LT SUP Broth per la sua specifica applicazione. Anche le proprietà neutralizzanti degli antimicrobici presenti nel campione devono essere verificate e convalidate.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in polvere e pronto all'uso ed il supplemento qui descritti sono da impiegare per i controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno in polvere e pronto all'uso ed il supplemento qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali 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 d'uso specifiche per i prodotti 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.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola provetta ed il singolo flacone del prodotto qui descritto sono monouso. Non suddividere il prodotto in altri contenitori.
- Fare attenzione quando si aprono le provette ed i flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Le provette ed i flaconi pronti all'uso ed il supplemento qui descritti sono soggetti a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Sterilizzare le provette ed i flaconi dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette ed i flaconi non utilizzate e le provette ed i flaconi seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti 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 in polvere

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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

Supplemento liquido

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).

Flaconi e provette pronte all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-25°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni i prodotti qui descritti sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare le provette ed i flaconi oltre la data di scadenza. Dopo l'apertura della scatola, le provette ed i flaconi possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Le provette ed i flaconi aperti devono essere utilizzati immediatamente. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare le provette ed i flaconi se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 17516 - Cosmetics - Microbiology - Microbiological limits.
2. ISO 18415 - Cosmetics - Microbiology - Detection of specified and non-specified microorganisms.
3. ISO 21149 - Cosmetics - Microbiology - Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria.
4. ISO 21150 - Cosmetics - Microbiology - Detection of Escherichia coli.
5. ISO 22717 - Cosmetics - Microbiology - Detection of Pseudomonas aeruginosa.
6. ISO 22718 - Cosmetics - Microbiology - Detection of Staphylococcus aureus
7. ISO 18416 - Cosmetics - Microbiology - Detection of Candida albicans.
8. ISO 16212 - Cosmetics - Microbiology - Enumeration of yeast and mould.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Non riutilizzare	 Imballaggio riciclabile  Lato superiore
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Utilizzare entro	 Fragile maneggiare con cura	 Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 1	Modifiche del contenuto e del layout	07/2021

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

