

BUFFERED PEPTONE WATER (CASEIN)

Terreno di coltura in polvere

1- DESTINAZIONE D'USO

Buffered Peptone Water (casein) è utilizzato come terreno di pre-arricchimento non selettivo e diluente per le procedure di rilevazione ed enumerazione di batteri e patogeni quali *Salmonella*, *Cronobacter*, *Listeria monocytogenes*, da alimenti, mangimi, acqua e altri materiali. Il terreno è conforme alle specifiche fornite ISO 6579, ISO 11290-2, ISO 22964, ISO 21528-1, ISO 6887, ISO 19250.

2 - COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA*

digerito enzimatico di caseina	10,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Disodio idrogeno fosfato anidro	3,5 g ^
Fosfato di potassio	1,5 mg

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

^ equivalente a disodio idrogeno fosfato dodecaidrato 9 g/L

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La maggior parte degli Standard Internazionali che raccomandano l'uso di Buffered Peptone Water, indicano come ingrediente di origine animale da inserire nella formula, un materiale genericamente chiamato "Peptone" e ad esempio citano il digerito enzimatico della caseina.¹⁻⁶

La norma ISO 19250 per la rilevazione della *Salmonella* nell'acqua, raccomandando l'uso di Buffered Peptone Water, menziona esplicitamente il digerito enzimatico della caseina come ingrediente di origine animale da includere nella formula.³

Buffered Peptone Water (Casein) è prodotto con un digerito enzimatico selezionato di caseina, particolarmente ricco di nutrienti e con un sistema tampone che permette un recupero ottimale dei microrganismi anche quando presenti nel campione in numero molto basso o sub-letalmente danneggiati.

Buffered Peptone Water (Casein) può essere utilizzato come:

- terreno di pre-arricchimento non selettivo per la rilevazione della *Salmonella* secondo ISO 6579,^{1,2} in campioni della catena alimentare e secondo ISO 19250 in campioni di acqua;³
- terreno di pre-arricchimento non selettivo per la rilevazione di *Cronobacter* secondo ISO 22964 in campioni della catena alimentare;⁷
- terreno di arricchimento non selettivo per la ricerca di *Enterobacteriaceae* secondo ISO 21528 in campioni della catena alimentare;⁴
- diluente per l'enumerazione di *Listeria monocytogenes* e di *Listeria* spp. secondo ISO 11290-2;⁵
- diluente per la conta dei microrganismi secondo ISO 6887.⁶

Il digerito enzimatico della caseina fornisce carbonio, azoto, vitamine e minerali per la crescita microbica, il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico, mentre i fosfati tamponano il mezzo a pH 7,0.

4-PREPARAZIONE

Sospendere 20 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Scaldare per sciogliere, distribuire in flaconi o provette di adeguata capacità e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno pronto	paglierino, limpido.
pH (20-25°C)	7,0 ± 0,2

6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Buffered Peptone Water (Casein)	Terreno di coltura in polvere	401278C2	500 g (25 L)
		401278C4	5 kg (250L)

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, anse sterili, tamponi e pipette, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute Erlenmeyer, provette, flaconi, terreni di coltura ausiliari e reagenti.

8-CAMPIONI

Acque, alimenti, mangimi per animali, campioni ambientali nell'area di produzione e manipolazione degli alimenti. Fare riferimento agli standard internazionali applicabili per la raccolta, il trasporto, la conservazione dei campioni e operare secondo le buone pratiche di laboratorio.¹⁻⁷

9-PROCEDURA DELL'ANALISI

Per i dettagli sulla preparazione e l'arricchimento del campione, fare riferimento alle norme citate in base all'uso previsto.¹⁻⁸

Pre-arricchimento per la rilevazione della *Salmonella* nelle acque, Buffered Peptone Water (Casein) viene inoculato a temperatura ambiente con un volume noto di campione o con le sue diluizioni, quindi viene incubato tra 36°C per 18 h ± 2 h. Volumi maggiori possono essere concentrati utilizzando la filtrazione su membrana e il filtro a membrana viene quindi introdotta nel Buffered Peptone Water (Casein).

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La crescita microbica in Buffered Peptone Water (Casein) è evidenziata dallo sviluppo di torbidità nel brodo.





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 facoltà 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. La scelta dei ceppi dipende dall'uso previsto. Consultare la norma adeguata.⁸

12-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima dell'immissione in commercio, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Buffered Peptone Water (Casein) (Test Batch: TB) viene valutato per la produttività e la selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato (RB).

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° per 18-24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita nel lotto di riferimento Gr_{RB} e nel lotto da testare Gr_{TB}. La produttività è testata con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 8739, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *C. sakazaki* ATCC 29544, *C. muytjensis* ATCC 51329. L'indice di produttività Gr_{RB}-Gr_{TB} per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1.

Buffered Peptone Water Casein è anche valutato per la sopravvivenza dei ceppi in esame dopo 1 ora a 20°C nel dispositivo con subcoltura ed enumerazione in Tryptic Soy Agar. Il rapporto A/C (UFC ottenuta dopo 1 ora di incubazione del terreno inoculato/UFC ottenuta immediatamente dopo l'inoculazione del terreno) deve essere compreso tra 0,7 e 1,3 per i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 8739, *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S. aureus* ATCC 25923.

13-LIMITI DEL METODO

• Buffered Peptone Water (Casein) è un terreno multiuso senza proprietà selettive. Idonei terreni selettivi liquidi e solidi devono essere inoculati con la crescita ottenuta in Buffered Peptone Water (Casein).

• Il campione può aumentare la torbidità del terreno anche se non è presente crescita batterica. È necessaria una subcoltura in terreni appropriati per verificare la crescita degli organismi.

• Dopo l'arricchimento in Buffered Peptone Water (Casein) e l'inoculazione di terreni selettivi su piastra, anche se le colonie microbiche isolate sulle piastre sono differenziate in base alle loro caratteristiche morfologiche e cromatiche, si raccomanda l'esecuzione di un test di spettrometria biochimica, immunologica, molecolare o di massa, per una completa identificazione.

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 in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. 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.

• 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 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

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'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

Secondo la norma ISO 6579-1, Il Buffered Peptone Water (Casein) autoclavato può essere conservato in contenitori chiusi a +2 / +8 °C per un massimo di sei mesi.

16- BIBLIOGRAFIA

1. ISO 6579-1:2017/AMD 1:2020 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp. - Amendment 1: Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSRV and SC
2. ISO/TS 6579-2:2012 Microbiology of food and animal feed - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 2: Enumeration by a miniaturized most probable number technique.
3. ISO 19250:2010 Water quality - Detection of Salmonella spp.
4. ISO 21528-1:2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -Part 1: Detection of Enterobacteriaceae
5. ISO 11290-2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 2: Enumeration method
6. ISO 6887-1:2017 Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions





7. ISO 22964:2017 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection of Cronobacter spp.
8. ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media
ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media

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 9	Aggiornamento del contenuto e del layout	06/2022

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

