

LAURYL PEPTO BIOS BROTH

(Lauryl Sulphate Broth-Lauryl Tryptose Broth)

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo per il rilevamento e il conteggio di *Escherichia coli*, coliformi e coliformi fecali in materiali di importanza sanitaria.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Digerito enzimatico di tessuti vegetali e animali	20,00 g
Lattosio	5,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Sodio lauril solfato	0,10 g
Potassio fosfato bibasico	2,75 g
Potassio fosfato monobasico	2,75 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il Lauryl Pepto Bios Broth, noto anche come Lauryl Sulfate Broth o Lauryl Tryptose Broth o Lauryl Sulfate Tryptose Broth, viene preparato secondo la formulazione ideata da Mollan e Ourby.¹

Questo terreno è raccomandato da ISO 7251² per il rilevamento e il conteggio di *E. coli* negli alimenti, da ISO 4831³ per il rilevamento di coliformi negli alimenti, da FDA-BAM⁴ per il test MPN per coliformi, coliformi fecali ed *E. coli* negli alimenti, in bottiglia acqua, acqua di mare e molluschi, mediante APHA⁵⁻⁷ per la rilevazione di coliformi in acqua, latticini e altri alimenti.

Il brodo è specificamente progettato per consentire una rapida moltiplicazione e un'abbondante produzione di gas da un piccolo inoculo di organismi target.⁸

I fattori di crescita essenziali sono forniti dal digerito enzimatico di tessuti vegetali e animali che è una fonte di azoto, carbonio, amminoacidi e minerali; il lattosio è un carboidrato fermentabile. I fosfati sono usati come agenti tampone per controllare il pH nel terreno e il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. L'agente tensioattivo sodio lauril solfato agisce come agente selettivo nel limitare la crescita di batteri diversi dai coliformi.⁸

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 35,6 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Dispensare porzioni da 10 mL in provette da 16x160 mm contenenti provette Durham capovolte e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Nel caso di doppia concentrazione sospendere 71,2 g in 1000 mL di acqua depurata fredda e dispensare 10 mL in provette da 20x200 mm. I tubi Durham non devono contenere bolle d'aria dopo la sterilizzazione.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto della soluzione	incoloro, limpida
pH finale (20-25 °C)	6,8 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Lauryl Pepto Bios Broth	Terreno di coltura in polvere	4015802	500 g (14 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Prodotti destinati al consumo umano e all'alimentazione degli animali e campioni ambientali nel settore della produzione e manipolazione degli alimenti.^{2,3} Alimenti, acqua in bottiglia, acqua di mare e molluschi.⁴ Acqua, latticini e altri alimenti.⁵⁻⁷ Per la raccolta, conservazione, trasporto e preparazione del campione, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Test per il rilevamento e il conteggio di presunti *E. coli*.²

- Inoculare le provette di Lauryl Pepto Bios Broth a concentrazione singola e doppia.
- Per il conteggio, seguire lo schema MPN con 3 provette a concentrazione singola e 3 provette a concentrazione doppia inoculate con la sospensione del campione e le relative diluizioni decimali. Per il metodo di rilevamento, inoculare una provetta con terreno a concentrazione singola o una provetta con terreno a concentrazione doppia con la sospensione iniziale, a seconda del limite richiesto.
- Incubare a 37 °C ± 1 per 24 h ± 2 h. Se, in questa fase, non si osserva né produzione di gas né opacità che impedisce l'osservazione della produzione di gas, incubare fino a 48 h ± 2 h
- Da ciascuna delle provette incubate con Lauryl Pepto Bios Broth a concentrazione singola e doppia che mostra opacità, torbidità o qualsiasi gas visibile, inoculare con un'ansa di campionamento una provetta di EC Broth (REF 401425).
- Incubare le provette di EC Broth a 44 °C ± 1 °C per 24 h ± 2 h. Se in questa fase non è presente gas visibile nell'EC Broth, prolungare l'incubazione fino a un totale di 48 h ± 2 h.
- Per il test di conferma di *E. coli* procedere come segue:
- Dopo l'incubazione, se si osserva gas visibile, inoculare una provetta di Peptone (Tryptone) Water (REF 401891), preriscaldata a 44 °C, utilizzando un'ansa di campionamento.
- Incubare per 48 h ± 2 h a 44 °C.





9. Aggiungere 0,5 mL di Kovacs' Reagent (REF 19171000) alle provette incubate, mescolare bene ed esaminare dopo 1 min. Un colore rosso nella fase alcolica indica la presenza di indolo.

Test per il rilevamento e il conteggio dei presunti coliformi.³

1. Inoculare le provette di Lauryl Pepto Bios Broth a concentrazione singola e doppia.
2. Per il conteggio, seguire lo schema MPN con 3 provette a concentrazione singola e 3 provette a concentrazione doppia inoculate con la sospensione del campione e le relative diluizioni decimali. Per il metodo di rilevamento, inoculare una provetta con terreno a concentrazione singola o una provetta con terreno a concentrazione doppia con la sospensione iniziale, a seconda del limite richiesto.
3. Incubare la provetta di terreno a doppia concentrazione a 30 °C o 37 °C (come concordato) per 24 h ± 2 h.
4. Incubare la provetta di terreno a concentrazione singola a 30 °C o 37 °C (come concordato) per 24 h ± 2 h oppure, se né la formazione di gas né l'opacità lo impediscono, si osserva formazione di gas in questa fase, continuare l'incubazione per altre 24 h ± 2 h.
5. Da ciascuna delle provette incubate con Lauryl Pepto Bios Broth a concentrazione singola e doppia, inoculare con un'ansa una provetta di Brilliant Green Bile Broth 2% (REF 401265) e incubare a 30 °C ± 1 °C o 37 °C ± 1 °C per 24 h ± 2 h oppure, se non si osserva formazione di gas, prolungare l'incubazione fino a un totale di 48 h ± 2 h.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lauryl Pepto Bios Broth diventa torbido quando i batteri crescono; la formazione di gas può essere osservata mentre la produzione di bolle che si accumulano nei tubi di Durham.

Considerare positiva per *E. coli* la crescita nel Lauryl Pepto Bios Broth che ha dato origine a gas visibile nella provetta di EC Broth e alla produzione di indolo.²

Considerare come coliformi la crescita in Lauryl Pepto Bios Broth che mostra la formazione di gas nella provetta di Brilliant Green Bile Broth.³

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37°C/24-48 H/A	crescita con produzione di gas
<i>C. freundii</i> ATCC 43864	37°C/24-48 H/A	crescita con produzione di gas
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	37°C/24-48 H/A	crescita parzialmente inibita

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Lauryl Pepto Bios Broth disidratato, viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

La produttività viene testata mediante il metodo della diluizione fino all'estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali degli organismi target nelle provette, incubando a 37°C e 30°C per 24 e 48 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita e la produzione di gas nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel lotto da testare (G_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi bersaglio: *E. coli* ATCC 25925, *E. coli* ATCC 8739, *C. freundii* ATCC 43864, *K. pneumoniae* ATCC 27736. L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1 e ci deve essere produzione di gas.

La specificità è testata con diluizioni appropriate del ceppo non target *S. Typhimurium* ATCC 14028. Dopo l'incubazione, il ceppo mostra una buona crescita senza produzione di gas.

La selettività è testata con opportune diluizioni del ceppo non target *E. faecalis* ATCC 19433. Dopo l'incubazione, la crescita del ceppo non target è parzialmente inibita.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; 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 adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede 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 Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza 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 dei prodotti, 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 VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. 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 (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).











L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

Secondo Baird RM *et al.*, il Lauryl Pepto Bios Broth preparato in laboratorio può essere conservato in frigorifero fino a 1 mese in contenitori con tappo a vite.⁸

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Mallmann WL, Darby CW. Uses of a Lauryl Sulfate Tryptose Broth for the Detection of Coliform Organisms. Am J Public Health Nations Health.1941 Feb;31(2):127-34.
2. ISO 7251:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive Escherichia coli — Most probable number technique,
3. ISO 4831:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms — Most probable number technique
4. FDA-BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria. Content current as of:10/09/2020
5. APHA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd ed. 2017.
6. APHA Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th Ed., 2015.
7. APHA Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products, 17th Ed., 2004.
8. Baird RM, Corry JEL, Curtis GDW. Pharmacopoeia of Culture Media for Food Microbiology. Proceedings of the 4th International Symposium on Quality Assurance and Quality Control of Microbiological Culture Media, Manchester 4-5 September, 1986. Int J Food Microbiol 1987; 195-196.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o	 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura		 Contenuto sufficiente per <n> test		 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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

