

SELENITE CYSTINE BROTH

Terreno di coltura in polvere e terreno pronto all'uso

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido di arricchimento selettivo utilizzato nelle procedure per la rilevazione di *Salmonella* spp. in campioni alimentari e di acque.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

Triptone	5,00 g
Lattosio	4,00 g
Sodio fosfato bibasico	10,00 g
Sodio selenito acido (NaHSeO ₃)	4,00 g
L-cistina	0,01 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Selenite Cystine Broth si basa sui primi lavori di Klett¹ e Guth² che dimostrarono gli effetti inibitori selettivi del selenito e lo utilizzarono per la coltura di organismi tifoidei. Vent'anni dopo, Leifson³ utilizzò queste informazioni per studiare a fondo l'attività del selenito, per formulare il brodo liquido di selenito e per promuoverne l'ampio uso come terreno di arricchimento per l'isolamento di *Salmonella* spp.

Selenite Cystine Broth si basa su una modifica apportata nel 1953 da North e Bartram⁴ alla formula originale di Leifson, che differisce solo per l'aggiunta di L-cistina, ritenuta in grado di favorire la crescita della *Salmonella* riducendone la tossicità⁵.

Selenite Cystine Broth è raccomandato dai metodi FDA-BAM⁶ e AOAC⁷ per l'arricchimento selettivo della gomma di guar e degli alimenti sospettati di essere contaminati da *Salmonella* Typhi. È incluso come arricchimento selettivo nell'allegato D⁸⁻⁹ della norma ISO 6579-1 e nella norma ISO 19250¹⁰ per la rilevazione di *Salmonella* Typhi e Paratyphi.

Il triptone fornisce carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita batterica. Il selenito acido di sodio (sinonimi: idrogeno selenito di sodio, biselenito di sodio), a pH neutro, è inibitorio per i coliformi e alcune altre specie microbiche, come gli streptococchi fecali e altri batteri Gram-positivi, ma non per la maggior parte delle *Salmonella* spp, tra cui *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi. Si ritiene che, in parte, la tossicità del selenito per i microrganismi possa essere attribuita all'incorporazione nelle proteine degli analoghi del selenio degli aminoacidi contenenti zolfo¹¹. Il tampone fosfato riduce la tossicità del selenito e tende a minimizzare gli effetti alcalinizzanti indotti dalla riduzione del selenito di sodio; tali effetti alcalinizzanti diminuirebbero notevolmente le proprietà selettive del terreno. Anche gli acidi prodotti dai microrganismi a partire dal lattosio contribuiscono a neutralizzare le reazioni alcaline del terreno. La L-cistina favorisce la crescita di *Salmonella* riducendo ancora una volta la tossicità del terreno di coltura.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 23 g in 1000 mL di acqua fredda purificata, riscaldare per sciogliere completamente e distribuire in provette o flaconi. Non surriscaldare o sterilizzare in autoclave.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto della soluzione	giallo molto chiaro, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,0 ± 0,1

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Product	Type	REF	Pack
Selenite Cystine Broth	Terreno in polvere	4020262	500 g (21,7 L)
		4020264	5 kg (217L)
Selenite Cystine Broth	Provette pronte all'uso	552026	20 x 10 MI
		552026A	20 x 9 mL
Selenite Cystine Broth	Flaconi pronti all'uso	5120262	6 x 100 mL
		512026A2	6 x 90 mL

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio come richiesto, beute, provette sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Campioni di alimenti, mangimi, prodotti della catena alimentare e acqua. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, attenersi alle regole di buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard internazionali applicabili.⁵⁻¹⁰

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

L'identificazione di *Salmonella* negli alimenti richiede quattro fasi successive: pre-arricchimento in terreno liquido non selettivo, arricchimento in due terreni liquidi selettivi, semina su piastra e riconoscimento, conferma.

Pre-arricchimento

Gli organismi di *Salmonella* negli alimenti e nelle acque sono spesso presenti in numero ridotto e possono essere gravemente compromessi. Attraverso il pre-arricchimento, le cellule di *Salmonella* crescono fino a raggiungere un livello rilevabile. I metodi statunitensi⁵⁻⁷ suggeriscono diversi terreni di pre-arricchimento a seconda del campione da analizzare, mentre le norme ISO⁸⁻¹⁰ raccomandano un unico terreno (Buffered Peptone Water).

Arricchimento selettivo

Metodo FDA-BAM⁶ per la gomma di guar e gli alimenti sospettati di essere contaminati da serovar Typhi:

- Trasferire 1 mL di brodo di pre-arricchimento in 10 mL di Selenite Cystine Broth e un altro 1 mL in 10 mL di Tetrathionate Broth.
- Incubare 24 ± 2 ore a 35°C.

Metodo ISO 6579-1 per il rilevamento di *Salmonella* Typhi e Paratyphi^{8,9}:





10 mL di Selenite Cystine Broth vengono inoculati con 1 mL della coltura di pre-arricchimento (oltre all'inoculo di RVS broth o MSRV agar e MKTTn broth) e incubati tra 34 °C e 38 °C per 24 h e 48 h.

Semina su piastra

Metodi USA^{6,7}: agitare le provette di coltura di arricchimento e strisciare 10 µL su Bismuth Sulphite Agar, Hektoen Enteric Agar e XLD Agar e incubare a 35°C per 22-26 ore.

ISO 6578 (Allegato D)^{8,9}: inoculare con un'ansa da 10 µl la superficie di una piastra XLD in modo da ottenere colonie ben isolate. Procedere allo stesso modo con Bismuth Sulphite Agar.

Incubare le piastre di entrambi i terreni tra 34 °C e 38 °C ed esaminarle dopo 24 ore e, se necessario, dopo 48 ore.

Conferma

Eseguire i test di conferma delle colonie ottenute sui terreni di coltura secondo il metodo di analisi in uso.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la crescita degli organismi in Selenite Cystine Broth è indicata dalla torbidità e spesso da un cambiamento di colore del terreno di coltura verso il rosa-arancio-rosso.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto sono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utilizzatore finale può 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 elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.⁹

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
S. Typhimurium ATCC 14028 + <i>E. coli</i> ATCC 25922 + <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	34-38 °C / 24 h ± 3 h / A	>10 colonie caratteristiche su XLD agar o altro terreno a scelta
<i>E. coli</i> ATCC 25922 <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	34-38 °C / 24 h ± 3 h / A 34-38 °C / 24 h ± 3 h / A	Inibizione parziale, ≤100 colonie su TSA Inibizione parziale, <10 colonie su TSA

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 Selenite Cystine Broth disidratato e pronto all'uso viene sottoposto a test di produttività e selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni decimali appropriate di organismi target in provette, incubando a 37°C per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra crescita nel lotto di riferimento ($G_{r_{RB}}$) e nel lotto di prova ($G_{r_{TB}}$). La produttività viene testata con i seguenti ceppi target: S. Typhimurium ATCC 14028 e S. Enteritidis ATCC 13076. L'indice di produttività $G_{r_{RB}}-G_{r_{TB}}$ per ogni ceppo di prova deve essere ≤ 1 .

La produttività e la selettività sono testate anche con miscele di diluizioni appropriate di ceppi target e non target: S. Typhimurium ATCC 14028 + *E. coli* ATCC 25922 + *P. aeruginosa* ATCC 27853. Dopo l'incubazione delle provette inoculate a 37°C per 24 ore e la subcoltura su Brilliant Green Agar modificato, i ceppi target mostrano una crescita predominante sui terreni di coltura con più di 10 colonie caratteristiche. Inoltre, la selettività viene valutata inoculando circa 10.000 UFC/provetta di organismi non target con il metodo delle diluizioni ad estinzione, incubando a 37°C per 24 ore e subcoltivando su piastre di Tryptic Soy Agar. La selettività è stata testata con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922 e *E. faecalis* ATCC 29212. Le UFC di *E. coli* devono essere ≤ 100 sulle piastre subcoltivate di Tryptic Soy Agar; le UFC di *E. faecalis* devono essere inferiori a 10 sulle piastre subcoltivate di Tryptic Soy Agar.

13 – LIMITI DEL METODO

- Dopo un lungo periodo di conservazione del terreno di coltura disidratato, il colore del brodo preparato potrebbe cambiare in rosso/rossastro. Le prestazioni microbiologiche, tuttavia, non vengono compromesse. Scartare le provette se la selenite si ossida e forma grandi quantità di precipitato rosso.¹²
- Il brodo di selenite è tossico per *Salmonella Cholerae-suis* e per *Salmonella Abortus-ovis*.¹³
- Le colonie di *Salmonella* presunta devono essere sottoposte a subcoltura e la loro identità deve essere confermata mediante test biochimici e sierologici appropriati.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico e sono 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
- Il terreno disidratato deve essere maneggiato con adeguate protezioni. Selenite Cystine Broth è classificato come pericoloso secondo la normativa vigente. 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 produzione dei supporti preparati.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Le provette ed i flaconi sono soggette a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Ogni provetta e flacone di questo terreno di coltura è monouso.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'ambiente 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.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Terreno di coltura in polvere

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'utente è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei terreni di coltura preparati e della convalida della loro durata di conservazione, in base al tipo e alle condizioni di conservazione applicate (temperatura e imballaggio). Secondo la norma ISO 6579, le provette preparate in laboratorio possono essere conservate a +2°C +8°C al buio fino a quando non si forma un precipitato rosso.⁹

Flaconi pronti 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 usati 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).

Provette pronto all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni le provette sono valide fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Le provette estratte dal confezionamento secondario possono essere utilizzate sino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere usate immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare le provette con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

16 - REFERENCES

- Klett A. Zeitsch für Hyg und Infekt 1900; 33:137-160.
- Guth F. Zbl Bakt I Orig 1916; 77:487-496.
- Leifson E. New selenite selective enrichment medium for isolation of typhoid and paratyphoid (salmonella) bacilli. A. J Hyg 1936; 24:423
- North WR, Bartram MT. The efficiency of selenite broth of different compositions in the isolation of Salmonella. App Microbiol 1953; 1:130-134.
- American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th ed. 2015. APHA, Washington, DC.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: Salmonella. Rev March 2022.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 19th ed. 2012. AOAC, Arlington, VA
- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of Salmonella spp.
- 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 MSR/V and SC.
- ISO 19250:2010 Water quality — Detection of Salmonella spp.
- Weiss KF, Ayres JC, Kraft AA. Inhibitory action of selenite on Escherichia coli, Proteus vulgaris, and Salmonella Thompson. J Bacteriol 1995; 90:857
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Smith HW. The evaluation of culture media for the isolation of salmonellae from faeces. J. Hyg 1952; 50:21-36.

402025 SELENITE CYSTINE BROTH

Regolamento (EU) 2020/878

Classificazione

Tossicità acuta, categoria 4

Tossicità acuta, categoria 4

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta, categoria 2

Pericoloso per l'ambiente acquatico, tossicità cronica, categoria 2

H302 Nocivo se ingerito.

H332 Nocivo se inalato

H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o esposizione ripetuta.

H411 Tossico per la vita acquatica, con effetti di lunga durata..

Etichettatura

Pittogrammi di pericolo:



Parole di segnalazione:

Indicazioni di pericolo:

H302+H332

H373

H411

Consigli di prudenza:

Avvertenza

Nocivo se ingerito o inalato.

Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.





P273	Evitare la dispersione nell'ambiente.
P391	Raccogliere le fuoriuscite.
P261	Evitare di respirare polveri / fumi / gas / nebbie / vapori / spruzzi.
P312	Chiamare un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . . in caso di
P264	Lavare . . . accuratamente dopo la manipolazione.

Contiene: Selenito acido di sodio (sinonimi: idrogeno selenito di sodio, biselenito di sodio).

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	04/2023

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

