

MOPS-BUFFERED LISTERIA ENRICHMENT BROTH (MOPS-BLEB)

Terreno di coltura in polvere e terreno pronto all'uso



MOPS-BLEB- da sinistra: provetta non inoculata, crescita di *L. monocytogenes*

1 – DESTINAZIONE D'USO

Brodo di arricchimento secondario per la procedura di isolamento e identificazione di *Listeria monocytogenes* negli alimenti secondo USDA-FSIS.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

TERRENO IN POLVERE E PROVETTE PRONTE ALL'USO

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIOGLIMENTO IN ACQUA *

Digerito pancreatico di caseina	17,000 g
Peptone di soia	3,000 g
Estratto di lievito	6,000 g
Sodio cloruro	5,000 g
Glucosio	2,500 g
Potassio fosfato bibasico	2,500 g
MOPS acido libero	6,700 g
MOPS sale sodico	10,500 g
Acriflavina HCl	0,015 g
Acido nalidissico	0,040 g
Cicloesimide	0,050 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

MOPS Buffered Listeria Enrichment Broth (MOPS-BLEB) è preparato secondo una modifica descritta da USDA-FSIS¹ della formulazione originale di J. Lovett², con l'introduzione di un sistema tampone forte che migliora le proprietà di arricchimento. Il terreno è raccomandato dall'USDA-FSIS^{3,4} come secondo brodo di arricchimento da utilizzare per la subcoltura dell'arricchimento primario nel terreno UVM 1.

Il peptone di caseina, l'estratto di lievito e il peptone di soia forniscono nutrienti essenziali a base di azoto e carbonio e oligoelementi per la crescita microbica; il glucosio è un carboidrato che aumenta il tasso di crescita di *Listeria*; i composti MOPS e l'idrogenofosfato dipotassico agiscono come sistema tampone; il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. La selettività è garantita dalla presenza del composto antimicotico cicloesimide, dell'acido nalidissico con una marcata attività antibatterica contro i batteri Gram-negativi e dell'acriflavina, un derivato dell'acridina con proprietà batteriostatiche verso molti batteri Gram-positivi e una debole attività antimicotica.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 53,3 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Mescolare accuratamente e riscaldare per sciogliere completamente la polvere. Distribuire 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, beige
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,3 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
MOPS Buffered Listeria Enrichment Broth (MOPS-BLEB)	Terreno di coltura in polvere	401601M2	500 g (9,4 L)
		401601M4	5 kg (94 L)
MOPS Buffered Listeria Enrichment Broth (MOPS-BLEB)	Provette pronte all'uso	551601M	20 x 10 mL

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, provette e flaconi sterili, beute, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Carne rossa, pollame, pesci siluriformi e prodotti a base di uova pronti al consumo e campioni ambientali. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni alimentari, attenersi alle regole di buona pratica di laboratorio e fare riferimento al documento USDA-FSIS MLG 8.11.³

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Eseguire l'arricchimento primario aggiungendo 225 mL di *Listeria* UVM1 Enrichment Broth (REF 4015982) a 25 g o 25 mL di campione.
- Omogeneizzare per 2 minuti e incubare a 30° ± 2°C per 20-26 ore.
- Trasferire 0,1 mL di brodo UVM in 10 mL di MOPS-BLEB e incubare a 35° ± 2°C per 18-24 ore.
- Allo stesso tempo, dal brodo di arricchimento primario, versare 0,1 mL su una piastra di terreno MOX (401601 *Listeria* Oxford Agar Base + 4240039 MOX COL Selective Supplement) e incubare a 35° ± 2°C per 24-28 ore.
- Utilizzare la coltura in MOPS-BLEB per inoculare una seconda piastra di terreno MOX e incubare a 35° ± 2°C per 24-28 ore (solo procedura di coltura) o per la rilevazione molecolare di *Listeria monocytogenes*.





10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, *Listeria* spp. produce una torbidità nel brodo di arricchimento.

Dopo la subcoltura sul terreno di coltura e l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie. Seguire la procedura descritta dal metodo USDA-FSIS MLG 8.11³ per l'identificazione delle colonie.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utente finale 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.³

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	35°C / 24h / A	buona crescita
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35°C / 24h / A	inibito
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	35°C / 24h / A	parzialmente inibito

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 *Listeria* Buffered Enrichment Broth disidratato 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 35°C per 18-24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra crescita nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto di prova (Gr_{TB}). La produttività viene testata con i seguenti ceppi target: *L. monocytogenes* ATCC 13932, *L. monocytogenes* NCTC 7973, *L. innocua* ATCC 33090 e *L. gray* ATCC 25401. L'indice di produttività $Gr_{RB}-Gr_{TB}$ per ciascun ceppo in esame deve essere ≤ 1 .

La selettività viene valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni decimali appropriate di organismi non target in provette, incubando a 35°C per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra la crescita nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto di prova (Gr_{TB}) dei seguenti ceppi non target: *E. faecalis* ATCC 29212 e *E. coli* ATCC 25922. Dopo l'incubazione, *E. faecalis* mostra una crescita con meno di 100 UFC dopo la subcoltura su Tryptic Soy Agar, mentre *E. coli* è totalmente inibita.

13 – LIMITE DEL METODO

- Poiché possono crescere specie di *Listeria* diverse da *L. monocytogenes*, l'identificazione di *Listeria monocytogenes* deve essere confermata da test adeguati.

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. MOPS-BLEB 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 sono soggette a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Ogni provetta 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).

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

1. Laboratory Guidebook, Notice of Change: Media and Reagents. USDA-FSIS, Chapter MLG Appendix 1.09, 12/29/2017.
2. Lovett, J., Francis D.W. and Hunt J.M. (1987) *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. J. Food Prot. 50:188-192
3. Laboratory Guidebook, Notice of Change: Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Meat, Poultry, Ready to Eat Siluriformes (Fish) and Egg Products, and Environmental Sponges. USDA-FSIS, Chapter MLG 8.11, 1/02/2019.
4. Laboratory Guidebook, Notice of Change: Flow Chart Specific for FISI Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* - Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* (Culture Method only). USDA-FSIS, Chapter MLG 8 Appendix 1.4, 1/02/2019.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	03/2023

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

