

LACTOSE GELATIN MEDIUM

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per la conferma di colonie di *Clostridium perfringens* isolate da alimenti e altri materiali.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Idrolizzato enzimatico di caseina	15,0 g
Estratto di lievito	10,0 g
Lattosio	10,0 g
Gelatina	120,0 g
Rosso fenolo	0.05 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Lactose Gelatin Medium è preparato secondo la formulazione raccomandata da ISO 7937¹ e da FDA-BAM2,³ per la conferma di colonie di *C.perfringens* isolate da alimenti e altri materiali sulla base della fermentazione del lattosio e della liquefazione della gelatina. Lactose Gelatin Medium deve essere utilizzato in combinazione con Motility Nitrate Medium a scopo di conferma.^{1,3}

I fattori di crescita essenziali sono forniti dal digerito enzimatico della caseina che è una fonte di azoto, carbonio e minerali. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. Il lattosio è il carboidrato fermentabile: la maggior parte dei prodotti finali della sua fermentazione sono acidi organici, che producono un viraggio del rosso fenolo dal rosso al giallo; inoltre, la fermentazione del lattosio è indicata dalla presenza di bolle di gas nel terreno. La gelatina è una proteina derivata dal collagene, un componente del tessuto connettivo dei vertebrati. Organismo che produce enzimi proteolitici e gelatinasi, idrolizza la gelatina in polipeptidi e singoli amminoacidi. Nel processo, la gelatina perde la sua struttura e diventa liquida.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 155 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare delicatamente per sciogliere completamente la polvere. Dispensare porzioni da 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Se non utilizzato lo stesso giorno, conservare in frigorifero a 3 ± 2°C. Se non utilizzato entro 8 ore, appena prima dell'uso, riscaldare in acqua bollente o vapore acqueo per 15 minuti, quindi raffreddare rapidamente fino alla temperatura di incubazione.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, rosa
Aspetto della soluzione	rossa, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,5 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Lactose Gelatin Medium	Terreno di coltura in polvere	4015762	500 g (3,2 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, provette, apparecchiatura appropriata per la coltura anaerobica, terreni di coltura e reagenti ausiliari per l'identificazione delle colonie.

8 – CAMPIONI

Colonie isolate su terreni quali TSC Agar.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Per la conferma di *C. perfringens* si può seguire una delle due tecniche seguenti^{1,3}:

- tecnica di conferma utilizzando Nitrate Motility Medium (REF 401726) e Lactose Gelatin Medium (REF 4015762)
- tecnica di conferma mediante Lactose Sulfite Medium (REF 401579).

Conferma utilizzando il Lactose Gelatin Medium

- Inoculare ciascuna colonia caratteristica ben isolata selezionata da TSC Agar in Lactose Gelatin Medium appena disaerato.
- Incubare in condizioni anaerobiche a 37°C per 24 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare le provette per la presenza di gas e colore giallo (dovuto alla formazione di acido) che indica la fermentazione del lattosio.

Raffreddare le provette per 1 ora a 5°C e controllare la liquefazione della gelatina. Se il terreno si è solidificato, incubare nuovamente per altre 24 ore e controllare nuovamente la liquefazione della gelatina

I batteri che producono colonie nere in TSC Agar, non sono mobili, riducono i nitrati a nitriti, producono acido e gas dal lattosio, liquefanno la gelatina in 48 h sono identificati come *C. perfringens*. Le colture che mostrano una debole reazione per il nitrito (cioè un colore rosa) devono essere scartate, poiché *C. perfringens* dà costantemente una reazione intensa e immediata.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono rilasciati alla 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
C. perfringens ATCC 13124

INCUBAZIONE T°/ T - ATM
 37°C/ 24-48 H / AN

RISULTATI ATTESI
 crescita con produzione di gas, positivo al test della gelatinasi

AN: incubazione anaerobica; 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 Lactose Gelatin Medium disidratato, viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

Il terreno viene testato inoculando le provette con coltura pura di *C. perfringens* ATCC 13124 e *C. perfringens* NCTC 13170. Dopo incubazione a 37°C per 24-48 ore *C. perfringens* mostra una buona produzione di gas e liquefazione della gelatina.

Per valutare le reazioni negative di gas e gelatinasi, il terreno in provetta viene inoculato con *H. alvei* DSM 30163 e incubato a 37°C per 24-48 ore.

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 ISO 7937, il terreno completo Lactose Gelatin Medium in provette può essere conservato a 3 °C ± 2 °C per 3 settimane ma, appena prima dell'uso, riscaldare in acqua bollente o vapore corrente per 15 minuti, quindi raffreddare rapidamente fino a temperatura di incubazione.¹

15 - BIBLIOGRAFIA

- ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* -- Colony-count technique
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Media M75: Lactose-Gelatin Medium (for *Clostridium perfringens*).
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Chapter 16: *Clostridium perfringens*

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF	 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 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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