

## LACTOSE SULFITE 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	5,000 g
Estratto di lievito	2,500 g
Sodio cloruro	2,500 g
Lattosio	10,000 g
L-cisteina HCl	0,300 g
Di sodio bisolfito	0,750 g
Ferro (III) ammonio citrato	0,625 g

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

#### 3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Lactose Sulfite Medium è preparato secondo la formulazione raccomandata dalla norma ISO 7937<sup>1</sup> per il test di conferma di *C. perfringens* basato sulla fermentazione del lattosio e sulla riduzione dei solfiti. La reazione ottenuta in Lactose Sulfite Medium quando incubata a 46 °C è molto specifica per *C. perfringens* e alcune colonie di *Clostridium paraperfringens* e *Clostridium absonum*.<sup>1</sup>

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 cloruro di sodio è una fonte di elettroliti e mantiene l'equilibrio osmotico. Il lattosio è il carboidrato fermentabile. Il citrato ferrico-ammonico e il disolfito disodico sono indicatori della riduzione del solfito da parte di *C. perfringens* che produce l'annerimento del terreno.

#### 4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 21,7 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Dispensare un volume di 9 mL in provette con provette Durham capovolte e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

#### 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallo chiaro
Aspetto della soluzione	gialla, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,1 ± 0,2

#### 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Lactose Sulfite Medium	Terreno di coltura in polvere	4015792	500 g (23 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 per l'identificazione delle colonie.

#### 8 – CAMPIONI

Colonie isolate su terreni quali TSC Agar.

#### 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Per la conferma di *C. perfringens* negli alimenti, ISO 7937<sup>1</sup> raccomanda di scegliere una delle due tecniche seguenti:

- 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 Sulfite Medium

Dopo l'incubazione delle piastre di conteggio (TSC Agar REF 402158), inoculare ciascuna colonia tipica selezionata in Thioglycolate Medium (REF 402137) e incubare in condizioni anaerobiche a 37 °C per 18-24 ore.

Dopo l'incubazione, trasferire senza indugio 5 gocce della coltura dal Thioglycolate Medium al Lactose Sulfite Medium mediante una pipetta sterile. Incubare in aerobiosi a 46 °C per 18 h a 24 h nel bagnomaria.

#### 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare i tubi di Lactose Sulfite Medium per la produzione di gas e la presenza di un colore nero (precipitato di solfuro di ferro). I tubi di Durham pieni per più di un quarto di gas e i tubi con un precipitato nero sono considerati positivi.

In caso di dubbio, quando la provetta di Durham in un terreno annerito è piena di gas per meno di un quarto, trasferire senza indugio, utilizzando una pipetta sterile, 5 gocce della crescita precedente in Lactose Sulfite Medium in un'altra provetta di Lactose Sulfite Medium. Incubare a bagnomaria a 46 °C per 18 h a 24 h. Esaminare questo tubo come descritto sopra.

I batteri che formano colonie caratteristiche nel terreno TSC e che danno una conferma positiva con il terreno Lactose Sulfite sono considerati *C. perfringens*. In tutti gli altri casi, le provette devono essere considerate negative.

#### 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**  
 46°C / 24-48 H / A

**RISULTATI ATTESI**  
 crescita con produzione di gas, presenza di precipitato nero

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 Lactose Sulfite 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 46°C per 24 ore i ceppi mostrano una buona produzione di gas e precipitato nero.

Inoltre, il terreno è testato con *C. sporogenes* ATCC 19404. Dopo l'incubazione, il ceppo cresce con produzione di gas e senza annerimento del brodo.

**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](http://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](http://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 Sulfite Medium in provette dovrebbe essere utilizzato lo stesso giorno della preparazione.<sup>1</sup>

**15 - BIBLIOGRAFIA**

1. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* -- Colony-count technique

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

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

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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