



MEAT LIVER SR AGAR

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per l'enumerazione di spore di batteri anaerobi solfito-riduttori.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Peptone di carne e fegato	30,0 g
Glucosio	1,0 g
Sodio solfito	0,5 g
Ferric ammonio citrato	0,5 g
Amido	1,0 g
Agar	8,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

L'attività di solfito reductasi è una proprietà comune tra i clostridi, tuttavia alcune specie come *Clostridium butyricum*, *Clostridium saccharobutyricum*, *Clostridium septicum*, *Clostridium tertium*, sono particolarmente sensibili al solfito.¹ Per questo motivo la maggior parte dei terreni di coltura, compreso Meat Liver SR Agar, non contiene più di 0,5 g/L di solfito.

Il peptone di fegato di carne fornisce un ricco apporto di sostanze nutritive per la crescita microbica, in particolare quella dei batteri anaerobi. Il glucosio è una fonte di carbonio ed energia. L'amido favorisce la germinazione delle spore. La riduzione del solfito di sodio e la precipitazione del solfuro risultante coinvolge il citrato ferrico di ammonio che produce solfuro di ferro.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 41 g in 1000 mL di acqua depurata fredda. Riscaldare fino all'ebollizione con agitazione frequente e dispensare porzioni da 20 mL in provette 20x200 mm. Sterilizzare in autoclave a 115°C per 20 minuti. Raffreddare e mantenere il terreno allo stato fuso a 44-47 °C.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, gialla
Aspetto della soluzione	giallo scuro, con flocculi
pH finale (20-25 °C)	7,4 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Meat Liver SR Agar	Terreno di coltura in polvere	4016892	500 g (12,2 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

8 – CAMPIONI

Acqua, alimenti, campioni ambientali. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

1. Riscaldare il campione per 10 minuti a 80 ± 2 °C per distruggere le cellule vegetative e attivare le spore.
2. Inoculare le provette contenenti 20 mL di terreno raffreddato a 44-47°C, con 1 mL di campione e/o con 1 mL delle sue diluizioni decimali.
3. Omogeneizzare accuratamente per inversione, evitando di incorporare aria.
4. Raffreddare in un bagno di acqua ghiacciata.
5. Incubare a 37°C per un massimo di 48 ore.

In alternativa, l'inoculazione può essere effettuata con il metodo dell'inclusione o per diffusione superficiale. Le piastre inoculate devono essere incubate in atmosfera anaerobica.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare le provette per verificare la crescita e l'annerimento del terreno di coltura (precipitato di solfuro di ferro).

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotti vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utente 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.

CEPPI DI CONTROLLO
C. perfringens ATCC 13124

INCUBAZIONE T°/ T - ATM
37°C/ 18-24 H / AN

RISULTATI ATTESI
crescita con presenza di precipitato nero

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 Meat Liver SR Agar disidratato viene sottoposto a test di produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando il terreno di coltura in provetta con diluizioni decimali appropriate di organismi target, incubando a 37°C per 24 ore in atmosfera anaerobica e registrando la diluizione più alta che mostra crescita e annerimento nel lotto di riferimento ($G_{R(B)}$) e nel lotto di prova ($G_{T(B)}$). La produttività viene testata con i seguenti ceppi target: *C. perfringens*



ATCC 13124, *C. sporogenes* ATCC 3584, *C. difficile* ATCC 9689, *B. fragilis* ATCC 25285. L'indice di produttività $Gr_{RB}-Gr_{TB}$ per ciascun ceppo in esame deve essere ≤ 1 . *C. perfringens* e *C. sporogenes* presentano il tipico annerimento del terreno.

13 – LIMITE DEL METODO

L'identificazione dei ceppi isolati deve essere confermata da test adeguati.

14 - 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.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a $+10^{\circ}\text{C}$ / $+30^{\circ}\text{C}$ 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).

16 - BIBLIOGRAFIA

- Mead GC. Principles involved in the detection and enumeration of clostridia in foods. *Int J Food Microbiol* 1992; 17:113

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF 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 4	Aggiornamento del layout e dei contenuti	03/2023

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

