



MOTILITY NITRATE CP 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 SCIOLGIMENTO IN ACQUA *

Idrolizzato enzimatico di caseina	5,0 g
Estratto di carne	3,0 g
Galattosio	5,0 g
Potassio nitrato	1,0 g
Di sodio fosfato	2,5 g
Agar	3,0 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Motility Nitrate CP Medium è preparato secondo la formulazione raccomandata dalla norma ISO 7937¹ e dalla FDA-BAM^{2,3} per la conferma delle colonie di *C. perfringens* isolate da alimenti e altri materiali, sulla base del test di motilità e della reazione di riduzione dei nitrati. Il Motility Nitrate CP Medium deve essere usato in combinazione con il Lactose Gelatin Medium a scopo di conferma.^{1,3}

I fattori di crescita essenziali sono forniti dal digerito enzimatico della caseina e dall'estratto di manzo, fonti di azoto, carbonio e minerali. Il galattosio è un carboidrato fermentabile e una fonte di energia. Il disodio fosfato è utilizzato come agente tampone per controllare il pH del terreno di coltura. L'agar, alla concentrazione dello 0,3%, viene utilizzato per dimostrare la motilità degli organismi. Il nitrato di potassio serve come base per valutare la riduzione del nitrato a nitrito; il galattosio e il glicerolo migliorano la consistenza della reazione. *C. perfringens* non è mobile e riduce i nitrati a nitriti.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 19,5 g in 1000 mL di acqua fredda purificata e aggiungere 5 g di glicerolo (REF 421015). Riscaldare fino all'ebollizione agitando frequentemente per sciogliere completamente la polvere. Dispensare porzioni da 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Se non viene utilizzato il giorno stesso, poco prima dell'uso, riscaldare in acqua bollente o a vapore per 15 minuti, quindi raffreddare rapidamente alla temperatura di incubazione.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

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

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Motility Nitrate CP Medium	Terreno di coltura in polvere	401726	500 g (25,6 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, beute, provette microbiologiche, glicerolo (REF 421015), apparecchiatura adeguata per la coltura anaerobica, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Colonie isolate su terreni di coltura come TSC Agar.

9 – PROCEDURA DELL’ANALISI

Per la conferma di *C. perfringens* si può seguire una delle due tecniche seguenti:

- tecnica di conferma utilizzando Nitrate Motility CP Medium (REF 401726) e Lactose Gelatin Medium (REF 401576).^{1,3}
- tecnica di conferma con Lactose Sulfite Medium (REF 401579).¹

Conferma con Nitrate Motility CP Medium

- Inoculare ogni colonia caratteristica ben isolata selezionata da TSC Agar in Nitrate Motility CP Medium.
- Incubare in condizioni anaerobiche a 37 °C per 24 ore.
- Esaminare la provetta di terreno di coltura per verificare il tipo di crescita lungo la linea di separazione.
- Verificare la presenza di nitriti aggiungendo, con una pipetta graduata, da 0,2 mL a 0,5 mL di reagente per la rilevazione dei nitriti^A a ciascuna provetta di terreno. ATTENZIONE: eseguire il test sotto cappa aspirante.

^AReagente per la rilevazione dei nitriti

Sciogliere 0,1 g di acido 5-ammino-2-naftalensolfonico in 100 mL di soluzione di acido acetico al 15%. Filtrare su carta da filtro. Conservare in un flacone marrone ben chiuso (preferibilmente con un contagocce a bulbo) a 3 °C ± 2 °C.

Soluzione di acido solfamilico: Sciogliere 0,4 g di acido solfamilico in 100 mL di soluzione di acido acetico al 15%. Filtrare su carta da filtro. Conservare in un flacone marrone ben chiuso (preferibilmente con contagocce) a 3 °C ± 2 °C.

Preparazione del reagente completo: mescolare quantità uguali delle due soluzioni poco prima dell'uso. Gettare immediatamente il reagente non utilizzato.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Gli organismi non mobili producono una crescita solo all'interno e lungo la linea dell'inoculo, mentre gli organismi mobili di solito producono una crescita diffusa nel terreno di coltura, lontano dall'inoculo.

La formazione di un colore rosso dopo l'aggiunta del reagente per la rilevazione dei nitriti conferma la riduzione del nitrato a nitrito. Se entro 15 mm non si forma alcun colore rosso, aggiungere una piccola quantità di polvere di zinco e lasciare riposare per 10 minuti. Se dopo l'aggiunta di polvere di zinco si forma un colore rosso, non è avvenuta alcuna riduzione del nitrato. I batteri che producono colonie nere in TSC Agar, non sono mobili, riducono il nitrato a nitrito, producono acido e gas dal lattosio e liquefanno la gelatina in 48 ore sono considerati





C. perfringens. Le colture che mostrano una debole reazione per il nitrito (cioè un colore rosa) devono essere eliminate, poiché *C. perfringens* dà costantemente una reazione intensa e immediata.

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'utilizzatore 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.

CEPPI DI CONTROLLO
C. perfringens ATCC 13124
C. bifermentas NCTC 506

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

RISULTATI ATTESI
 non mobile, positivo al test della riduzione dei nitrati
 negativo al test della riduzione dei nitrati

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 Motility Nitrate CP Medium disidratato viene testato per le reazioni specifiche confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Il terreno viene testato inserendo nelle provette colture pure di *C. perfringens* ATCC 13124 e *C. bifermentas* NCTC 506, *C. sporogenes* ATCC 19404 ed *E. coli* ATCC 8739. Dopo l'incubazione a 37°C per 24-48 ore, *C. perfringens* mostra una crescita che non si diffonde lungo la linea di inoculo, positiva al test di riduzione dei nitrati, *C. bifermentas* e *C. sporogenes* sono negativi al test di riduzione dei nitrati, *E. coli* è negativo al test di motilità.

13 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Questo prodotto è destinato al controllo microbiologico e all'uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato, osservando le precauzioni approvate per il rischio biologico e le tecniche asettiche.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare la Scheda di sicurezza.
- Questo terreno di coltura contiene materie prime 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 completamente che questo prodotto non contenga alcun patogeno trasmissibile. Pertanto, si raccomanda di trattare il terreno di coltura come potenzialmente infettivo e di manipolarlo osservando le consuete precauzioni specifiche: non ingerire, inalare o far entrare in contatto con pelle, occhi e mucose. Scarica la Dichiarazione TSE dal sito www.biolifeitaliana.it, che descrive le misure messe in atto da Biolife Italiana per la riduzione del rischio legato alle malattie infettive degli animali.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di produzione dei terreni preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- L'area del laboratorio deve essere controllata per evitare contaminanti come terreni di coltura o agenti micrbiici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima dello smaltimento. Smaltire il terreno di coltura non utilizzato e quello sterilizzato inoculato con campioni o ceppi micrbiici in conformità alla legislazione locale vigente.
- Non utilizzare il terreno di coltura come ingrediente attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale di produzione destinato al consumo umano e animale.
- I certificati di analisi e la scheda di sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni fornite in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida per l'uso corretto del prodotto, ma senza alcun obbligo o responsabilità. In ogni caso, per l'esame di campioni raccolti da distretti biologici umani e animali, per i campioni ambientali e per i prodotti destinati al consumo umano o animale, devono essere osservate le leggi, le normative e le procedure standard locali vigenti. Le nostre informazioni non sollevano i nostri clienti dalla responsabilità di verificare l'idoneità del nostro prodotto per lo scopo previsto.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Al ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo dalla luce diretta in un luogo asciutto. Se conservato correttamente, può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in luoghi umidi. Dopo l'uso, il contenitore deve essere ben chiuso. Scartare il prodotto se il contenitore e/o il tappo sono danneggiati, o se il contenitore non è ben chiuso, o in caso di evidente deterioramento della polvere (cambiamenti di colore, indurimento, grossi grumi).

L'utente è responsabile dei processi di produzione e di controllo della qualità dei supporti 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 7937, il terreno Motility Nitrate CP Medium completo in provette può essere conservato a 3 °C ± 2 °C per 4 settimane ma, appena prima dell'uso, deve essere riscaldato in acqua bollente o vapore per 15 minuti, quindi raffreddato rapidamente alla temperatura di incubazione.¹

15 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens -- Colony-count technique
2. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). M102: Motility-Nitrate Medium, Buffered (for *C. perfringens*).
3. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Chapter 16: Clostridium perfringens

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	Utilizzare entro	Fabbriante	
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 3	Aggiornamento del layout e dei contenuti	03/2023

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



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, 20128 Milano, Italia.

Tel. +39 02 25209.1, Fax +39 02 2576428

E-mail: mktg@biolifeitaliana.it; web: www.biolifeitaliana.it