



SIM AGAR ISO

Terreno in polvere e pronto all'uso in provetta

1 - DESTINAZIONE D'USO

Terreno semisolido per il test di conferma di *Clostridium perfringens* secondo la norma ISO 15213-2.

2 - FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA) *

| | |
|--------------------------------|--------|
| Digerito enzimatico di soia | 20,0 g |
| Peptone | 6,0 g |
| Ferro ammonio solfato (anidro) | 0,2 g |
| Sodio tiosolfato | 0,2 g |
| Agar | 3,6 g |

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

SIM Agar ISO è preparato secondo la formulazione descritta nella norma ISO 15213-2, per il test di conferma delle colonie di *C. perfringens*, isolate da campioni della catena alimentare.¹

Rispetto al terreno classico per la differenziazione delle *Enterobacteriaceae*² (SIM Bios Medium REF 402036), la formulazione descritta dalla norma ISO 15213-2² contiene peptone di soia anziché peptone di caseina e ferro ammonio solfato anziché ferro ammonio citrato.

I peptoni forniscono carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita batterica. Il ferro ammonio solfato è un indicatore della formazione di idrogeno solforato. I ceppi H₂S positivi producono tiosolfato reductasi che causa il rilascio di una molecola di solfuro dal tiosolfato di sodio presente nel terreno di coltura; questa molecola di solfuro si accoppia con uno ione idrogeno per formare H₂S gassoso che reagisce con il ferro ammonio solfato, formando solfuro ferroso, dando luogo a un precipitato nero.

Il peptone è ricco di triptofano, che viene idrolizzato dalla triptofanasi per produrre tre possibili prodotti finali: indolo, piruvato e ammoniaca. La produzione di indolo è rilevata dal reagente di Kovacs, che reagisce con l'indolo per produrre un composto di colore rosso.

L'individuazione della mobilità batterica è favorita dalla bassa concentrazione di agar: nel mezzo semisolido, i batteri mobili "sciamano" e danno luogo a una crescita diffusa a partire dalla linea dell'inoculo, facilmente riconoscibile.

4 - PREPARAZIONE

Sospendere 30 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione per dissolvere completamente il terreno. Distribuire in ragione di 10 mL per provetta e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Lasciare raffreddare in posizione verticale.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

| | |
|---|---|
| Aspetto della polvere | fine granulometria omogenea, giallo chiaro. |
| Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta | giallo chiaro, limpido o leggermente opalescente. |
| pH (20-25°C) | 7,3 ± 0,2 |

6 - MATERIALI FORNITI - CONFEZIONE

| Prodotto | Tipo | Cat. N° | Confezione |
|--------------|-------------------------------|---------|--|
| SIM Agar ISO | Terreno di coltura in polvere | 4020372 | 500 g (16,6 L) |
| | Terreno pronto in provetta | 552037 | 20 provette in vetro da 10 mL, 17x125 mm, fondo piatto, tappo a vite in alluminio. Confezione: scatola di cartone |

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette, flaconi o beute autoclavabili, aghi da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti (Kovacs Reagent, REF 19171000).

8 - CAMPIONI

Il campione è costituito da colonie pure di batteri isolati da campioni alimentari. Il terreno non è indicato per la semina diretta dei campioni.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Seminare per infissione le provette di SIM Agar con le colonie cresciute su TSC Agar e sub-coltivate in anaerobiosi su piastre di agar sangue o altre piastre di terreno nutritivo.

Incubare le provette in anaerobiosi con i tappi allentati per 22 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione le provette vengono lette per la produzione di H₂S, per la mobilità e la produzione di indolo.

Determinare la mobilità e la produzione di idrogeno solforato prima dell'aggiunta del reagente per la determinazione della produzione di indolo.

Produzione di H₂S: annerimento lungo la linea dell'inoculo o annerimento esteso del terreno; test negativo: nessun annerimento.

Mobilità positiva: crescita diffusa al di fuori della linea dell'inoculo; motilità negativa: crescita confinata alla linea dell'inoculo.

Produzione di indolo: aggiungere 3-4 gocce di reattivo di Kovacs; test positivo: formazione di un anello di colore rosso; test negativo: l'anello del reattivo rimane di colore giallo.

C. perfringens è positivo per la produzione di idrogeno solforato e negativo per la produzione di indolo e la mobilità.





11 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del terreno qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

| CEPPI DI CONTROLLO | INCUBAZIONE T° / T / ATM | H ₂ S | MOBILITÀ | INDOLO |
|----------------------------------|--------------------------|------------------|----------|--------|
| <i>C. perfringens</i> ATCC 13124 | 36-38°C / 20-24H / AN | + | - | - |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 36-38°C / 20-24H / AN | - | + | + |

AN: incubazione in anaerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di SIM Agar ISO, disidratato e pronto all'uso in provetta, viene testato per verificarne le caratteristiche, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le colonie pure dei ceppi di prova coltivate su piastre di agar sangue vengono inoculate per infissione del terreno di coltura: *E. coli* ATCC 25922, *C. perfringens* ATCC 13124, *C. perfringens* ATCC 12916, *C. perfringens* NCTC 13170. Dopo incubazione a 37°C per 20-24 ore in anaerobiosi, sono osservate e registrate la mobilità, la produzione di H₂S e di indolo. Tutti i ceppi presentano caratteristiche di performance conformi alle specifiche.

13 - LIMITI DEL METODO

- Non seminare il terreno con colture da terreni liquidi.
- È necessario inoculare per infissione il terreno prestando attenzione a rimuovere l'ago lungo la stessa linea usata per l'inoculo.
- L'annerimento del terreno è favorito dalla mobilità batterica.²
- Microrganismi mobili ma con flagelli danneggiati possono dare falsi negativi.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono destinati al controllo microbiologico, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda 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 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.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- Ogni singola provetta è monouso.
- Le provette pronte all'uso di SIM Agar ISO sono soggette a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Sterilizzare tutti i rifiuti biologici. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza dei prodotti 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 del prodotto, 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. Questo vale anche in relazione a eventuali diritti di terzi. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE

Terreno in polvere

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. 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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

Terreno pronto all'uso in provetta

Conservare le provette nella confezione originale a +2/+8°C al riparo dalla luce diretta. Se conservate correttamente, le provette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Non utilizzare le provette oltre tale data. Prima dell'uso, controllare l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare provette con segni di deterioramento (ad es. contaminazione microbica, colore atipico).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. ISO 15213-2:2023. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Clostridium spp. Part 2: Enumeration of sulfite-reducing Clostridium spp. by colony-count technique.
2. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

| | | | | | |
|--|--|---|---|--|---|
|  REF or REF Numero di catalogo |  LOT Numero di lotto |  Fabbricante |  Utilizzare entro |  Proteggere dall'umidità |  Fragile, maneggiare con cura |
|  Limiti di temperatura |  Contenuto sufficiente per <n> saggi |  Consultare le Istruzioni per l'Uso |  Lato superiore |  Proteggere dalla luce |  Monouso |

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

| Versione | Descrizione delle modifiche | Data |
|-------------|-----------------------------|---------|
| Revisione 0 | Prima emissione | 03/2024 |

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

