

C. BOTULINUM AGAR BASE

C. BOTULINUM ANTIMICROBIC SUPPLEMENT

Terreno di base e supplemento selettivo per l'isolamento di *C. botulinum*.

FORMULE TIPICHE

C. BOTULINUM AGAR BASE (g/l)

Idrolizzato pancreatico di caseina	40
Estratto di lievito	5
Glucosio	2
Sodio fosfato bibasico	5
Sodio cloruro	2
Magnesio solfato	0.01
Agar	20

C. BOTULINUM ANTIMICROBIC SUPPLEMENT (mg/fiala)

D-cicloserina	125
Trimetoprim	2
Sulfametoxazolo	38

PREPARAZIONE

Sospendere 37 g in 450 ml di acqua distillata fredda portare ad ebollizione sotto agitazione. Autoclavare a 121°C per 15 minuti, raffreddare a 45-50°C ed aggiungere con le cautele dell'asepsi, 50 ml di Egg Yolk Emulsion (cod. n° 42111601). Ricostituire il contenuto di una fiala di C. Botulinum Antimicrobic Supplement (cod. n° 4240066) con 2.5 ml di acqua distillata sterile e 2.5 ml di acetone ed aggiungere al terreno di base. Mescolare e distribuire in piastre sterili.
pH finale: 7.4 ± 0.2

DESCRIZIONE

Clostridium botulinum è un bacillo Gram positivo, sporigeno, anaerobio stretto. Produce 7 neurotossine immunologicamente differenti, denominate A, B, C1, D, E, F, e G. I tipi C1 e D producono in modo inconsistente una tossina minore, denominata C2, che non è una neurotossina. La malattia indicata con il termine botulismo può essere causata da:

- ingestione di tossina preformata nell'alimento nel quale si è sviluppato il germe (intossicazione)
- ingestione della tossina e di batteri/spore presenti nell'alimento che, dopo impianto nell'intestino, producono tossine (tossinfezione)
- ingestione di batteri/spore che in situ producono tossine (tossinfezione botulinica).

Il primo meccanismo è quello conosciuto da più tempo ma vi sono evidenze anche per il secondo ed il terzo tipo di meccanismo, con frequenze non ancora provate. *C. botulinum* è presente nella terra e nei sedimenti marini, a partire da questi siti può contaminare gli alimenti. Il tipo E abbonda nei sedimenti marini ed è spesso associato al consumo di pesce. Il tipo B predominante in Europa ed in America del Nord, il tipo A sulla costa est degli USA, i tipi C e D predominano in Africa e nel nord dell'Europa. La storia del botulismo e la sua epidemiologia sono essenzialmente legate alle abitudini alimentari ed ai procedimenti impiegati per la produzione degli alimenti. *C. botulinum* può essere isolato e contato impiegando il terreno C. Botulinum Agar Base addizionato di emulsione d'uovo e del supplemento selettivo con cicloserina, trimetoprim e sulfametossazolo. Il terreno è preparato secondo la formulazione di Dezfulian e coll. ed è anche noto come terreno TGY.

IMPIEGO

Seminare l'omogeneizzato alimentare e le sue diluizioni successive sulla superficie del terreno. Incubare in condizioni di anaerobiosi a 35-37°C per 48 ore. *C. botulinum* dà luogo a colonie contornate da un precipitato un poco iridescente quando si osservi con luce obliqua, che corrisponde ad una lipasi. I principali caratteri di identificazione sono riassunti nella tabella che segue:

A B C D E

Glucosio	+	+	+	+	+
Maltosio	+	+	+	+	+
Lattosio	-	-	-	+/-	-
Saccarosio	-	-	-	+/-	+
Salicina	+	-	-	-	+/-

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.).

Supplemento selettivo: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

Conservare il terreno di base preparato in laboratorio in flaconi, senza aggiunti di supplementi, per un massimo di 1 mese a 2-8°C. Usare in giornata le piastre complete di supplemento, preparate in laboratorio.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni • 1%.

Supplemento selettivo: il preparato qui descritto contiene trimetoprim ed è classificato come Xi (irritante) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

I prodotti qui descritti sono per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

BIBLIOGRAFIA

• Dezfulian, M; McCroskey, L.M., Hatheway, C.L., Dowell, V.R. (1981) J.Clin. Microbiol., 13: 526

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4013061 C. Botulinum Agar Base, 100 g (1,35 l)

4013062 C. Botulinum Agar Base, 500 g (6,7 l)

Supplemento

4240066 C. Botulinum Anti. Supplement, 10 fiale liofile, ciascuna per 500 ml di terreno