



m-FAECAL COLIFORM BROTH (m-FC BROTH)

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

m-Faecal Coliform Broth è utilizzato con acido rosolico per la coltivazione e il conteggio dei coliformi fecali mediante la tecnica della filtrazione su membrana.

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Triptosio	10,0 g
Peptocomplex	5,0 g
Estratto di lievito	3,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Lattosio	12,5 g
Sali biliari N° 3	1,5 g
Blu anilina	0,1 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I coliformi fecali (termotolleranti) si trovano nel tratto gastrointestinale e nelle feci degli animali a sangue caldo e possono essere differenziati dai coliformi provenienti da fonti ambientali per la loro capacità di crescere a 44,5 °C.

Il m-Faecal Coliform Broth è preparato secondo la formulazione riportata da Geldrich et al. nel 1965¹ per il conteggio dei coliformi fecali utilizzando la tecnica della filtrazione su membrana senza arricchimento preliminare. I terreni per coliformi fecali sono raccomandati da molte autorità internazionali per il conteggio dei coliformi fecali con la tecnica della filtrazione su membrana.²⁻⁴ I coliformi fecali (o batteri coliformi termotolleranti) sono spesso utilizzati come indicatori dell'inquinamento fecale, sebbene siano indicatori meno specifici della contaminazione fecale rispetto all'*Escherichia coli*, in quanto possono talvolta provenire da fonti non fecali, soprattutto nei climi tropicali.⁵ Il triptosio e il peptocomplex forniscono azoto e minerali per la crescita microbica, l'estratto di lievito è una fonte di complesso di vitamine B per la stimolazione della crescita, il lattosio è un carboidrato fermentabile e una fonte di carbonio ed energia, il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. I sali biliari N° 3 e il blu di anilina inibiscono la crescita dei batteri Gram-positivi. L'elevata temperatura di incubazione rende il terreno più selettivo. Il blu di anilina e l'acido rosolico costituiscono il sistema indicatore del terreno.

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 37 g in 1000 mL di acqua depurata fredda. Aggiungere 10 mL di una soluzione all'1% di acido rosolico (REF 4211901) in NaOH 0,2 N, riscaldare fino all'ebollizione agitando frequentemente e continuare a bollire per 1 minuto. Non sterilizzare in autoclave. Raffreddare e utilizzare per assorbire i tamponi assorbenti sterili adatti.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, grigia
Aspetto del terreno in soluzione e in provetta	giro-viola, limpido
pH finale (20-25 °C)	7.4 ± 0.1

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
m-Faecal Coliform Broth (m-FC Broth)	Terreno in polvere	4014862	500 g (13.5 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature da laboratorio come richiesto, beute, piastre di Petri sterili, tamponi assorbenti, filtri a membrana, sacchetti di plastica, acido rosolico (REF 4211901), terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Campioni di acqua. 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

- Filtrare un volume adeguato di acqua sulla membrana in base al numero di coliformi fecali previsto. Se la densità batterica del campione non è nota, filtrare diversi volumi o diluizioni per ottenere una piastra contabile (20-60 UFC/piastra).
- Posizionare, con le precauzioni dell'asepsi, un tampone assorbente sterile in ogni piastra di coltura e pipettare almeno 2 mL di brodo. Rimuovere con cura l'eccesso di liquido dalla piastra di coltura.
- Stendere il filtro a membrana utilizzato per raccogliere il campione di acqua sulla superficie del tampone, in modo da evitare la formazione di bolle d'aria tra il filtro e il tampone.
- Entro 30 minuti riporre le piastre in sacchetti di plastica e incubare, per immersione, a bagnomaria a 44,5 ± 0,2°C per 24 ± 2 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare ogni caratteristica morfologica e cromatica specifica delle colonie. Contare e registrare le colonie con varie tonalità di blu come coliformi fecali.

Le colonie di coliformi non fecali sono grigie, crema o rosa.



11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono messi in 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	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	44,5°/ 24 H-A	Crescita con colonie blu
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	44,5°/ 24 H-A	inibito

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di m-Faecal Coliform Broth (TB) viene valutato per la produttività e la selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

La produttività viene testata con un metodo quantitativo con i ceppi target *E. coli* ATCC 25922 ed *E. coli* ATCC 8739: i filtri adagiati sui tamponi vengono inoculati con diluizioni decimali di una sospensione di colonie in soluzione salina e incubati a 44°C per 24 ore. Le colonie vengono contate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr: UFC_{TB}/UFC_{RB}). Se Pr è ≥ 0,7 e se la morfologia e il colore delle colonie sono tipici (colonie blu), i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

La selettività e la specificità sono valutate con il metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con gocce di opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione di 0,5 McFarland dei seguenti ceppi non target: *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 19433, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 8090, *S. Typhimurium* ATCC 14024. La crescita dei ceppi Gram-positivi è totalmente inibita, mentre la crescita di *K. pneumoniae* e *C. freundii* è parzialmente inibita, la crescita di *S. Typhimurium* non è inibita e il ceppo cresce con colonie rosa.

13 – LIMITI DEL METODO

- Poiché la temperatura di incubazione è critica, si raccomanda la coltura su Membrane Filtranti sommerse e impermeabilizzate o l'uso di un incubatore che sia in grado di mantenere la temperatura a 44,5°C ± 0,2°C in tutta la camera per un periodo di 24 ore.²
- Esistono limitazioni all'interpretazione dei risultati dei coliformi termotolleranti provenienti da acque termali e da campioni di effluenti di cartiere, in quanto la *Klebsiella* termotollerante è predominante e non è indicativa di una fonte fognaria. Circa il 60%-80% di tutte le *Klebsiella* provenienti da feci e campioni clinici sono positive al test dei coliformi termotolleranti e sono *K. pneumoniae*.²

14 – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato 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 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 norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- 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 la Scheda di Sicurezza del prodotto 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. 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

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, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).




16 - BIBLIOGRAFIA

1. Geldreich EE, Clark HF, Huff CB, Best LC. Faecal coliform organisms medium for membrane filtration technique. J Am Water Works Assoc 1965; 57:208.
2. APHA Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2017
3. AOAC Official methods of analysis, 18th ed., AOAC International. Gaithersburg, Md. 2007
4. U.S. Environmental Protection Agency. Manual for the certification of laboratories analysing drinking water. EPA-814B-92-002. Office of Ground Water and Technical Support Division, USEPA, Cincinnati, Ohio.
5. Cisneros BJ, in Treatise on Water Science, 4.06.4.1.5 Biological indicators, 2011.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT 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 contenuto e del Layout	01/2023

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

