

MAC CONKEY BROTH (PURPLE)

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido per la rilevazione di organismi coliformi in campioni alimentari e nelle acque.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Peptone	20,00 g
Lattosio	10,00 g
Sali biliari	5,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Porpora di bromocresolo	0,01 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Alfred Theodore MacConkey¹ nel 1901 ideò un terreno liquido per la coltura del "*Bacillus coli*", contenente sodio taurocolato come agente selettivo e tornasole come indicatore. Il terreno è stato successivamente modificato da MacConkey^{2,3} sostituendo il tornasole con il rosso fenolo e da Childs e Allen⁴ che hanno introdotto il meno inibitorio porpora di bromocresolo come indicatore di pH.

Mac Conkey Broth (Purple), nella sua attuale formulazione, è stato utilizzato per decenni per la determinazione presuntiva dei coliformi mediante il metodo MPN in alimenti, acqua e latticini.⁵⁻⁷

I fattori di crescita essenziali sono forniti dal peptone che è una fonte di azoto, carbonio e minerali. Il lattosio è il carboidrato fermentabile e una fonte di carbonio ed energia. Il bromocresolo porpora è l'indicatore di pH. I sali biliari inibiscono la crescita dei microrganismi Gram-positivi. Rispetto alla formula inclusa nella Farmacopea Europea, Mac Conkey Broth (Purple) contiene in più cloruro di sodio. Acidi e gas sono prodotti dalla fermentazione del lattosio: l'acidità del terreno è rilevata dall'indicatore di pH, che vira al giallo, mentre il gas è evidenziato dalla formazione di bolle che si raccolgono nei tubi di Durham.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 40 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Dispensare porzioni da 10 mL in provette contenenti provette Durham capovolte e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. I tubi Durham non devono contenere bolle d'aria dopo la sterilizzazione. Se necessario, preparare il terreno a doppia concentrazione pesando 80 g/L.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, viola
Aspetto della soluzione	viola, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,4 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Mac Conkey Broth (Purple)	Terreno di coltura in polvere	4016752	500 g (12,5 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, provette, provette di Durham, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Campioni di alimenti e acque. Durante la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le regole della buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

1. Trasferire 1 mL del campione da analizzare e delle relative diluizioni decimali nelle provette.
2. In alternativa, trasferire 10 mL del campione da analizzare nelle provette con 10 mL di terreno a doppia concentrazione.
3. Per i batteri coliformi, incubare per 24-48 ore a 30 o 37°C, a seconda del protocollo analitico.
4. Per i batteri coliformi fecali, incubare a 44,5°C per 24-48 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione la crescita microbica è evidenziata dalla torbidità del brodo. L'ingiallimento del brodo e la produzione di gas suggeriscono la presenza di *E. coli* ed eventualmente di altri batteri coliformi. L'ingiallimento da solo suggerisce la presenza di coliformi diversi da *E. coli*.

I batteri nelle provette gas-positive possono essere identificati mediante subcoltura su terreni idonei, come Levine EMB Agar (REF 401595).

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore 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 riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO

E. coli ATCC 8739
S. aureus ATCC 6538

INCUBAZIONE T°/ T - ATM

37°/ 24 H-A
37°/ 24 H-A

RISULTATI ATTESI

buona crescita con gas e viraggio al giallo
inibito



A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Mac Conkey Broth Purple disidratato viene testato per produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

La produttività viene testata mediante il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali degli organismi target nelle provette, incubando a 37°C per 24 ore e registrando la diluizione più elevata che mostra crescita/gas/colore giallo nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel Test Batch (G_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 43864, *S. Enteritidis* ATCC 13076. L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo di prova deve essere ≤ 1 .

La selettività viene testata mediante il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di opportune diluizioni decimali di organismi Gram-positivi in provette, incubando a 37°C per 24 ore e registrando la massima diluizione che mostra la crescita. La selettività è testata con i seguenti ceppi: *S. aureus* ATCC 25923 e *E. faecalis* ATCC 19433. *S. aureus* è totalmente inibito mentre *E. faecalis* è parzialmente inibito.

13 - 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.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°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).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. MacConkey A. Zentralbl Bakteriell 1901; 29:740.
2. MacConkey A. Lactose-Fermenting Bacteria in Faeces. J Hyg (Lond) 1905; Jul;5(3):333-79
3. MacConkey A. Bile Salt Media and their advantages in some Bacteriological Examinations. J Hyg (Lond) 1905; 8:322.
4. Childs E, Allen LA. Improved methods for determining the most probable number of Bacterium coli and of Streptococcus faecalis. J Hyg Camb 1953; 51:468
5. Departments of the Environment, Health, Social Security and Public Health Laboratory Service. The Bacteriological Examination of Drinking Water Supplies. Report No. 71. 1982. HMSO London.
6. World Health Organization. International Standards for Drinking Water' 2nd ed., 1963. WHO, Geneva.
7. Davis JG. 'Milk Testing' 2nd ed. Dairy Industries Ltd., London, 1959.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente <n> per	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del Layout	02/2023

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

