

CEPPI MICROBICI: ORIGINE, USO E CONSERVAZIONE

I **microrganismi standardizzati** trovano ampio utilizzo nei laboratori microbiologici e di controllo qualità in tutti i settori. Le molteplici applicazioni includono ad esempio i test di fertilità e selettività sui terreni di coltura, la verifica dell'attività di sostanze battericide o batteriostatiche, il Microbial Limit Test su prodotti farmaceutici, la verifica dell'efficienza dei filtri e il controllo dei sistemi di identificazione batterica.

Le **normative internazionali** danno indicazioni precise, specificando i ceppi da utilizzare, e i metodi per la crescita e la propagazione. Un esempio è dato dalla **Farmacopea Europea**, armonizzata a quella Americana, che indica un elenco di terreni di coltura per i controlli di sterilità e per le analisi microbiologiche di prodotto, suggerendone i ceppi per la verifica di fertilità/selettività:

- *Aspergillus niger* ATCC 16404
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Clostridium sporogenes* ATCC 11437 o ATCC 19404
- *Escherichia coli* ATCC 8739
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 o *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony NCTC 6017
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Anche un'altra norma di ampio respiro, la **ISO 11133:2014**, trattando la preparazione dei terreni di coltura per microbiologia, specifica tutta una serie di ceppi necessari alla verifica delle performance dei terreni stessi.

Le collezioni di microrganismi

Innanzitutto occorre ricordare che esiste il catalogo **WDCM** (World Data Centre for Microorganisms) che raccoglie i ceppi di molte collezioni, contrassegnandoli in modo da facilitare l'accesso ai microrganismi di riferimento elencati nella pubblicazione "Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology" (ISO TC 34 SC 9 Joint Working Group 5, Working Party on Culture Media of the International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH-WPCM). In sostanza, ai ceppi è assegnato un numero WDCM che si aggiunge, fungendo da collegamento trasversale, ai codici identificativi che ogni ceppo ha nelle varie collezioni di riferimento.

Per quanto riguarda le collezioni, la sigla **ATCC®** identifica i ceppi conservati e rilasciati dalla American Type Culture Collection. Si tratta della collezione di fatto più conosciuta e da essa derivano i ceppi ATCC® Licensed Derivative*.

Altre collezioni molto note sono la **DSMZ** (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen), la **NCTC** (National Collection of Type Cultures, a Culture Collection of Public Health England), la **BCCM** (Belgian co-ordinated collections of microorganisms) ma ve ne sono molte ancora distribuite in molte nazioni.

Microrganismi pronti all'uso o ceppoteche?

I laboratori hanno la possibilità di scegliere se fare uso di:

- **ceppoteche interne**, generate da colture pure e mantenute in modo appropriato per il successivo utilizzo di routine, oppure
- **ceppi microbici pronti per l'uso**, liofilizzati, standardizzati e certificati, con la possibilità ulteriore di essere titolati, cioè di avere una popolazione quantificata.

In generale, indipendentemente dal tipo di ceppo scelto, occorre valutare alcuni fattori, quali l'origine del ceppo, la conservazione e il numero di passaggi dalla coltura di riferimento.

Origine del ceppo

La tracciabilità deve essere garantita da produttori e distributori; quelli in possesso della licenza ATCC® possono fornire ceppi microbici riportanti l'emblema "ATCC Licensed Derivative®" a garanzia di origine e filiera distributiva controllata.

L'utilizzo di ceppi provenienti da collezioni riconosciute tutela maggiormente riguardo le caratteristiche qualitative del ceppo (es. purezza, performance) e la sua tracciabilità. Un altro vantaggio di questi ceppi è che sono liofilizzati e pronti all'uso, oltre al fatto che possono anche essere già titolati, il che evita l'applicazione di laboriose tecniche di subcoltura e conta.

Generalmente, i microrganismi sono forniti con un certificato che riporta nel dettaglio i requisiti del ceppo e i risultati dei test di identificazione, e possono essere accompagnati dalle metodiche raccomandate per rivitalizzazione e crescita. I microrganismi liofilizzati possono esserlo in forma di pallina (pellet) oppure dispersa in ampolla di vetro.



Conservazione

I ceppi microbici liofilizzati vanno di solito conservati a 2-8°C, o comunque secondo le indicazioni del produttore. Le classiche subcolture su becco di clarino si possono conservare solo per 1-2 settimane a 2-8°C mentre, per una maggiore durata, è possibile conservare ceppoteche costituite da microrganismi sospesi in liquido crio-preservante. Queste ceppoteche vanno mantenute a basse temperature: sotto i -70°C o in azoto liquido (un anno o più) oppure a -20°C per periodi più brevi.

Per rendere ancora più semplice e standardizzato il mantenimento di ceppoteche e la successiva produzione di subcolture, si possono utilizzare dei sistemi costituiti da perline ceramiche immerse in un crio-preservante. I microrganismi adesi alle perline si conservano a basse temperature e sono pronti all'occorrenza.



Numero di passaggi

Un "passaggio" è rappresentato dal trasferimento del microrganismo da una coltura vitale ad un terreno fresco per la crescita. Ogni subcoltura costituisce un passaggio.

La produzione di colture stock a partire dalla coltura pura ATCC® rappresenta il primo passaggio.

La semplice reidratazione di un ceppo liofilizzato o lo scongelamento di una coltura mantenuta in congelatore non rappresentano un passaggio, mentre lo diventa quando il microrganismo viene riseminato in terreno fresco.

Per la messa a punto di ceppoteche è opportuno l'uso di ceppi con un basso numero di passaggi, lo scopo è di tutelarne le caratteristiche. Tipicamente, le norme specifiche per i vari utilizzi danno indicazioni riguardo il numero di passaggi ammessi.

CEPPI MICROBICI MECCONTI (ATCC LICENSED DERIVATIVE*)

CEPPI NON TITOLATI (SWABS) - [clicca link interattivo](#)

Microrganismi liofilizzati in pellet con popolazione molto elevata anche se non quantificata.

Caratteristiche:

- due tipologie:

MicroSwabs: 3 passaggi

MicroSwabs Plus: 2 passaggi, ideale per generare ceppoteche

- facile manipolazione grazie all'innovativo sistema con tampone
- è possibile strisciare varie piastre con uno stesso tampone oppure è possibile estrarre il pellet
- conservazione a 2-8°C
- scadenza 12-24 mesi



CEPPI TITOLATI - [clicca link interattivo](#)

Microrganismi liofilizzati in pellet che, sciolti con la soluzione reidratante fornita, danno una sospensione a titolo noto.

Caratteristiche:

- tre tipologie:

MicroPellets RT: Conformi a EP/USP: 10-100 UFC/dose. 10 dosi/pellet

MicroPellets RT10: Conformi a EP/USP: 10-100 UFC/dose. 100 dosi/pellet

MicroPellets RT Plus: Popolazioni da 10² a 10⁸ per pellet

- 3 passaggi
- facile manipolazione, nessuno spreco o contaminazione
- conservazione a 2-8°C
- shelf life almeno 12 mesi



SISTEMI PER CEPPOTECA - PROTECT - [clicca link interattivo](#)

NOME PRODOTTO

Sistema Protect per conservazione microrganismi

CODICE PRODOTTO

TS80-MX, TS71-MX...

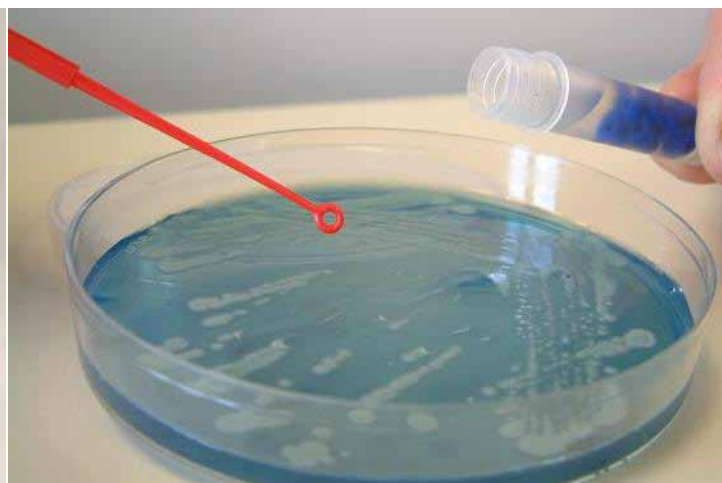
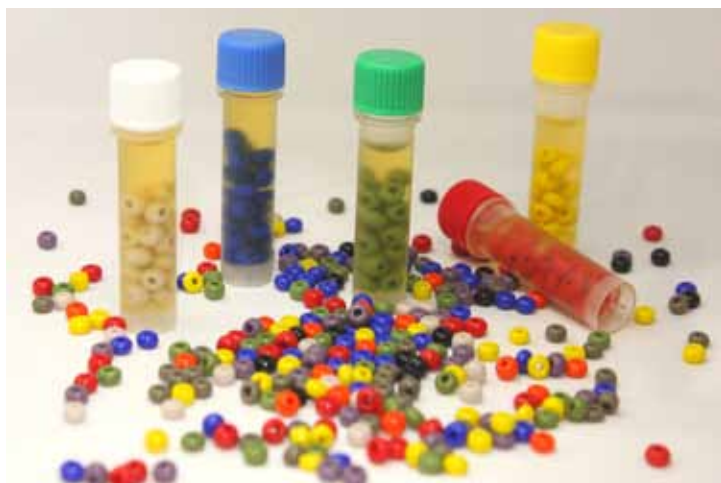
FORMATO

Perline ceramiche in brodo criopreservante

Protect semplifica il mantenimento di ceppoteche in azoto liquido o congelatore (-20, -70, -80°C) poichè i microrganismi sono concentrati sulla superficie di perline ceramiche, facilmente prelevabili e di ingombro ridotto.

Il kit consiste di provette criogeniche contenenti:

- 20-25 perline sulla cui superficie porosa aderiscono i microrganismi.
 - soluzione nutriente con glicerolo, preservante che previene il danno cellulare dovuto al freddo.
- Sono disponibili diversi kit a seconda del tipo di microrganismo da preservare.



BIBLIOGRAFIA

European Pharmacopoeia 9 edizione

ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water -- Preparation, production, storage and performance testing of culture media

www.wdcm.org

* The ATCC Licensed Derivative® emblem, the ATCC Licensed Derivative® word mark and the ATCC® catalog marks are trademarks of ATCC® used under license. Kairosafe is licensed to use these trademarks and to sell licensed products manufactured for Mecconti using ATCC® materials derived from ATCC® cultures. Look for the ATCC Licensed Derivative® emblem for products derived from ATCC® cultures.

MECCONTI

ATCC Licensed Derivative™