

BRILLIANT GREEN BILE BROTH 2%

Terreno in polvere e pronto all'uso in provetta per la determinazione dei coliformi e dei coliformi fecali negli alimenti, acque ed altri materiali

FORMULA TIPICA (g/L)

Bile di bue	20.0000
Lattosio	10.0000
Peptone di caseina	10.0000
Verde brillante	0.0133

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 40 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda, riscaldare fino a soluzione, mescolare bene distribuire in tubi Durham ed autoclavare a 121°C per 15 minuti.

pH finale 7.2 +/- 0.2

DESCRIZIONE

Brilliant Green Bile Broth 2% è un terreno selettivo per la determinazione dei coliformi e dei coliformi fecali con metodo MPN. E' indicato da ISO 4831 e 4832 per il test di conferma dei coliformi.

È raccomandato da APHA come terreno per la conferma dei coliformi fecali a 44.5°C. Brilliant Green Bile Broth 2% è raccomandato dal DPR n. 470 del 8.6.82 per la ricerca, con metodo MPN, dei coliformi fecali nelle acque di balneazione a 44°C e dall'O.M. 11/10/78 per la prova presuntiva di ricerca dei coliformi nel latte, prodotti a base di uova, gelati e preparati per gelati.

La presenza del verde brillante sopprime la crescita dei batteri anaerobi lattosio-fermentanti (*Clostridium perfringens*) non ottenendosi falsi positivi; il verde brillante ed i sali biliari inibiscono la crescita dei microrganismi Gram-positivi.

IMPIEGO

La norma ISO 4831 raccomanda la seguente tecnica per la determinazione dei coliformi con metodo MPN:

1. Seminare 3 provette con 10 mL di terreno selettivo appropriato a doppia concentrazione e con 10 mL del campione da esaminare, se è liquido o 10 mL della sospensione madre se solido.
2. Seminare 3 provette con 10 mL di terreno selettivo appropriato a concentrazione semplice con 1 mL del campione da esaminare, se è liquido o 1 mL della sospensione madre se solido.
3. Per ciascuna delle diluizioni seguenti (a partire da 1/10 o 1/100 a seconda dei casi) seminare 3 provette di terreno a concentrazione semplice con 1 mL di ciascuna diluizione.
4. Incubare le provette a doppia concentrazione in termostato a 30°C o 37°C (+/- 1°) per 24 +/- 2 ore.
5. Incubare le provette di terreno a concentrazione semplice in termostato a 30°C o 37°C (+/- 1°) per 24 +/- 2 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48 +/- 2 ore.
6. A partire da ciascuna provetta di terreno a concentrazione doppia, trapiantare un'ansata di brodocoltura in provette di BGBB 2% a concentrazione semplice ed incubare a 30°C o 37°C (+/- 1°) per 24 +/- 2 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48 +/- 2 ore.
7. Operare nello stesso modo per le provette a concentrazione semplice trapiantando solo nel caso si osservi formazione di gas o intorbidimento, dal momento che si osserva uno di questi fenomeni.
8. Per ogni diluizione, contare il numero di provette dove si nota formazione di gas.

Esprimere i risultati facendo uso delle apposite tabelle MPN.

Per eseguire il test di conferma dei coliformi in accordo alla Norma ISO 4832 operare come segue:

1. Inoculare cinque colonie con morfologia simile e dubbia provenienti da VRBL in provette di Brilliant Green Bile Broth 2% ed incubare a 30° o 37°C per 24 h.
2. Considerare come coliformi le colonie inoculate nelle provette che mostrano sviluppo di gas.

Per eseguire il test di conferma dei coliformi fecali a 44°C operare come segue:

3. Trasferire un'ansata di crescita dai tubi positivi di Mac Conkey Broth in provette di Brilliant Green Bile Broth 2% e di Peptone Water ed incubare a 44 +/- 1°C.
4. Osservare lo sviluppo di gas nelle provette di Brilliant Green Bile Broth 2% dopo 24 e 48 ore di incubazione ed eseguire il test dell'indolo sulla crescita di 24 ore in Peptone Water.
5. Le colture che producono gas e sono indolo positive sono da considerarsi coliformi di origine fecale.

Il terreno Brilliant Green Bile Broth 2% è disponibile con il composto fluorogenico MUG per la determinazione di *E. coli* (REF 401266).

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività

E.coli ATCC 25922: crescita con produzione di gas*C.freundii* ATCC 43864: crescita con produzione di gas

Controllo selettività

E.faecalis ATCC 19433: parzialmente inibito

Incubazione 37°C per 24 ore

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è 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.)

Terreno pronto all'uso in provetta: conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: contiene bile bovina purificata ed essiccata (oxgall). Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

Terreno pronto all'uso in provetta : contiene bile bovina purificata ed essiccata (oxgall) alla concentrazione finale del 2%. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

I prodotti qui descritti devono essere usati solo in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Mackenzie, E.F.W., Taylor. E.W. and Gilbert W.E. (1948) - J. Gen. Microbiol. 2, 197.
- ICMSF (1978) - Microorganisms in Foods: their Significance and Methods of Enumeration, 2 nd ed.
- Ordinanza Ministeriale 11/10/78: Esame microbiologico del latte, dei prodotti a base d'uova, gelati e preparati per gelati.
- Decreto Presidente della Repubblica 08/06/82: Esame microbiologico delle acque di balneazione.
- APHA (1985) - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th edition.
- ISO 4831:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms -- Most probable number technique
- ISO 4832:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coliforms -- Colony-count technique

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4012652	Brilliant Green Bile Broth 2%,	500 g (12,5 L)
4012654	Brilliant Green Bile Broth 2%,	5 Kg (125 L)

Provette pronte per l'uso

551265	Brilliant Green Bile Broth 2%,	20x10mL provette 18x145 mm, con tubo Durham.
---------------	---------------------------------------	---