

## BROMOCRESOL PURPLE GLUCOSE AGAR (DEXTROSE TRYPTONE AGAR) Terreno di coltura in polvere

### 1- DESTINAZIONE D'USO

Per il conteggio delle spore dei bacilli mesofili e termofili.

### 2 - COMPOSIZIONE

#### FORMULA TIPICA PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA\*

Triptone	10,00 g
Glucosio	5,00 g
Amido solubile	2,00 g
Porpora di bromocresolo	0,04 g
Agar	15,00 g

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

### 3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Dextrose Tryptone Agar è stato originariamente ideato da Williams<sup>1</sup> durante gli studi sulla coltivazione e il conteggio dei batteri termofili. Negli anni '30, la National Canners Association ha descritto l'uso di Dextrose Tryptone Agar per isolare i microrganismi "flat sour" dai prodotti alimentari. Il deterioramento del cibo in scatola, denominato deterioramento "flat-sour", è causato dalla crescita di anaerobi facoltativi quali *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus thermoacidurans*. Il deterioramento microbico del cibo in scatola è causato da tre motivi: 1) Sopravvivenza di spore di batteri termofili; 2) Crescita di batteri termofili sopravvissuti a causa di raffreddamento o trattamento termico o temperatura di conservazione inadeguati; 3) Ricontaminazione di microrganismi per danneggiamento delle lattine.

Nel deterioramento flat-sour, i cibi diventano acidi a causa della produzione di acido dai carboidrati, senza rigonfiamento del contenitore. Bromocresol Purple Glucose Agar (Dextrose Tryptone Agar) può essere utilizzato per isolare *Bacillus coagulans* e altri microbi mesofili o termofili responsabili del deterioramento degli alimenti.

Il triptone fornisce azoto e minerali per la crescita microbica; il glucosio è un carboidrato fermentabile ed una fonte di carbonio ed energia per la crescita microbica; l'amido solubile è un agente protettivo e favorisce la germinazione delle spore; Il porpora di bromocresolo funge da indicatore acido-base che conferisce un colore giallo ai batteri che fermentano il glucosio, mentre i batteri che non fermentano il glucosio sviluppano colonie blu.

### 4-PREPARAZIONE

Sospendere 32 g di polvere in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare a ebollizione mescolando frequentemente. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Lasciare raffreddare a 47-50°C e versare in piastre Petri sterili

### 5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, grigio-viola.
Aspetto del terreno in piastra	viola, limpido.
pH (20-25°C)	7,0 ± 0,2

### 6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Bromocresol Purple Glucose Agar (Dextrose Tryptone Agar)	Terreno di coltura in polvere	4012732	500 g (15,6 L)

### 7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura di laboratorio secondo necessità, matracci, capsule di Petri sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

### 8-CAMPIONI

Fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili per la raccolta di campioni alimentari. Operare secondo le buone pratiche di laboratorio per la raccolta dei campioni, la conservazione e il trasporto al laboratorio.

### 9-PROCEDURA DELL'ANALISI

Le istruzioni riportate di seguito sono incluse solo come linee guida per l'uso del terreno e variano a seconda dell'origine del campione e dell'esatto scopo del test. Per dettagli più precisi si rimanda alla bibliografia citata.<sup>2-6</sup>

1. Inattivare le cellule vegetative riscaldando il campione.
2. Inoculare le piastre con 1 mL del campione o delle sue diluizioni decimali e versare 15 mL di terreno in piastre Petri
3. Coprire e miscelare l'inoculo con il terreno.
4. Incubare a 30°C per 5 giorni per enumerare le spore di *Bacillus*.
5. Incubare a 55°C per 5 giorni per enumerare le spore termofile di *Bacillus*. Versare alcune gocce di olio di paraffina sterile nel coperchio della piastra per sigillarlo.

### 10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie. Contare il numero totale di colonie, il numero totale di colonie che producono acido (alone giallo) e il numero totale di colonie che non producono acido (alone blu).



**11-CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE**

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE/ T°/ t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>B.stearothermophilus</i> ATCC 10149	55°C /72H/A	buona crescita, colonie gialle
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	35-37°C/18-24 H/A	buona crescita, colonie gialle

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

**12-CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Bromocresol Purple Glucose Agar (Test Batch:TB) viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato (RB).

La produttività è testata mediante un test quantitativo con i ceppi target *B.stearothermophilus* ATCC 10149, *B.subtilis* ATCC 6633, *B.cereus* ATCC 11778. Le piastre sono inoculate per inclusione con diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione di colonie e incubate a 55°C (*B.stearothermophilus*) o 35-37°C per 72 ore (*B.stearothermophilus*) o 18-24 ore. Le colonie vengono enumerate su entrambi i lotti e viene calcolato il rapporto di produttività (Pr:  $UFC_{TB}/UFC_{RB}$ ). Se Pr è  $\geq 0,7$  e se la morfologia ed il colore delle colonie sono tipiche (colonie gialle) i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

**13-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE**

- Il terreno qui descritto è destinato ai 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.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- 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](http://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.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti 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 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](http://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.

**14 – 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 produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (provette/flaconi) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

**15- BIBLIOGRAFIA**

- Williams OB. Tryptone medium for the detection of flat-sour spores. Food Res 1936; 1: 217-221.
- National Canners Association (1993) Bacterial Standards for Sugar.
- National Canners Association (1968) Laboratory Manual for Food Canners and Processors. Vol.1. p13.
- National Canners Association (1954) A Laboratory Manual for the Canning Industry' 1st ed., National Canners Association, Washington.
- Salfinger Y, Tortorello ML (2015) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th Ed American Public Health Association, Washington, D.C.
- Wehr HM, Frank JH (2004), Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products, 17th Ed., APHA Inc., Washington, D.C.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

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

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	06/2022

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

