



Rev I del 06/02/2013

**VERDE BRILLANTE BILE BRODO 2% ISO 4831 e 5541 e 4832 Qud ISSN 0390-6329 1983 : per la ricerca dei Coliformi in acque e alimenti**

REF	CONFEZIONE
1153	10 provette vetro
20170	10 provette vetro 2 X
1253	4 flaconi 100 ml
6224	Disidratato 500 gr

**PRINCIPIO**

Il peptone di gelatina apporta i nutrimenti necessari, il lattosio è il carboidrato fermentabile mentre la bile ossidata ed il verde brillante inibiscono la crescita dei batteri Gram + e di buona parte dei Gram – ad eccezione dei Coliformi. Inoltre interrompono la crescita dei batteri anaerobi lattosio fermentanti come il *C. perfringens* che potrebbe dare dei falsi positivi a 44 °C. La formazione di gas è considerata un test positivo per i Coliformi.

**FORMULA**

*Sono riportati i costituenti del terreno (espressi in grammi) su litro di acqua deionizzata*

Bile ossidata	20,00
Peptone di gelatina	10,00
Lattosio	10,00
Verde Brillante	0,0133

pH finale : 7,2 +/- 0,2 a 25 °C

**PREPARAZIONE**

Sospendere 40 gr in un litro di acqua deionizzata, miscelare bene e bollire per un minuto. NON AUTOCLAVARE.

**CONSERVAZIONE**

Conservare il prodotto pronto a 8-25 °C, al riparo della luce.

Il terreno pronto ha validità 270 gg.

Conservare il flacone del disidratato ben chiuso in luogo fresco e secco.

**PROCEDURA**

Secondo norma UNI ISO 4831 METODO MPN

- Inoculare 3 provette con 10 ml di terreno 2x con 10 ml del campione da testare, se è liquido, altrimenti 10 ml della sospensione madre se è solido.
- Inoculare 3 provette con 10 ml di terreno a concentrazione semplice (1x) con un ml del campione da testare, se è liquido, altrimenti 1 ml della sospensione madre se è solido.
- Per ciascuna delle diluizioni seguenti (a partire da 10<sup>-1</sup> o 10<sup>-2</sup> a seconda dei casi) seminare 3 provette di terreno a concentrazione semplice con 1 ml di ciascuna diluizione.
- Incubare le provette a doppia concentrazione in termostato a 30 °C per 24 ore.
- Incubare le provette di terreno a concentrazione semplice in termostato a 30 °C per 24 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48°C +/- 2 ore.
- Da ciascuna provetta 2x inoculare un'ansata in provette a concentrazione semplice ed incubare a 30 °C per 24 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48 +/- 2 ore.
- Ripetere lo stesso procedimento per provette a concentrazione semplice trapiantando solo nel caso si osservi formazione di gas o intorbidimento, dal momento che si osserva uno di questi fenomeni.
  
- Per ogni diluizione, contare il numero di provette dove c'è presenza di gas.
- Esprimere i risultati facendo uso delle apposite tabelle MPN.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

Tempo di incubazione 24 ore

Microrganismi	Crescita a 37°C	Crescita a 44°C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Buona (gas +)	Buona (gas +)
<i>E.aerogenes</i> ATCC 13048	Buona (gas +)	Nulla
<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028	Buona (gas-)	Nulla

## BIBLIOGRAFIA

Standard methods for the Examination of Water and Sewage, 9<sup>th</sup>. Edition 195.1946. Standard methods for the Examination of Dairy Products, 9<sup>th</sup> Edition 152.1948

ISO 4832:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coliforms -- Colony-count technique