

## M 17 AGAR

Terreno solido selettivo per il conteggio di  
*Streptococcus thermophilus* nello yogurt e per la coltura  
ottimale degli streptococchi lattici e dei loro batteriofagi

## M 17 BROTH

Terreno liquido selettivo per il conteggio di  
*Streptococcus thermophilus* nello yogurt e per la coltura  
ottimale degli streptococchi lattici e dei loro batteriofagi

### M 17 AGAR: FORMULA TIPICA (g/l)

Idrolisato triptico di caseina	2.50
Peptone	2.50
Peptone di soia	5.00
Estratto di lievito	2.50
Estratto di carne	5.00
Sodio glicerofosfato	19.00
Magnesio solfato	0.25
Acido ascorbico	0.50
Lattosio	5.00
Agar	13.00

### M17 BROTH: FORMULA TIPICA (g/l)

Idrolisato triptico di caseina	2.50
Peptone	2.50
Peptone di soia	5.00
Estratto di lievito	2.50
Estratto di carne	5.00
Sodio glicerofosfato	19.00
Magnesio solfato	0.25
Acido ascorbico	0.50
Lattosio	5.00

### PREPARAZIONE

Sospendere 55.2 g di M 17 Agar o 42.2 g di M 17 Broth in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione l'agar, scaldare fino a completa soluzione il brodo, distribuire e sterilizzare a 121°C per 15 minuti.

pH finale 7.1 ± 0.1

### DESCRIZIONE

M 17 Agar viene usato per l'isolamento e l'enumerazione degli streptococchi lattici dallo yogurt, formaggio, composti base ed altri prodotti caseari. Il terreno è raccomandato da International Dairy Federation e dal Rapporto ISTISAN 96/35 per l'isolamento selettivo e la determinazione di *S. thermophilus* nello yogurt. L'alta concentrazione di sodio glicerofosfato inibisce la crescita di *L. bulgaricus* mentre l'alto potere stabilizzante permette la coltura degli streptococchi lattici. M 17 Agar è preparato in accordo alla formula descritta da Terzaghi e Sandine e da IDF. Terzaghi e Sandine raccomandano M 17 Agar anche per la dimostrazione dell'attività litica batteriofagica. Quando viene impiegato questo metodo (per i dettagli si rimanda alla bibliografia: App. Microbiol 29, 807, 1975) si aggiungono 100 ml di terreno a 10 ml di CaCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O 1.0 M.

### IMPIEGO

La determinazione di *S. thermophilus* nello yogurt può essere eseguita in accordo alla seguente procedura:

- 1 - Miscelare bene i composti del vasetto dello yogurt con una spatola sterile. Nel caso di yogurt alla frutta omogeneizzare il contenuto del vasetto per un minuto.
- 2 - Pesare 10 g del prodotto in una bottiglia appropriata da 200 ml e portare a 50 g con una soluzione di peptone autoclavata che abbia la seguente composizione:

Idrolisato triptico di caseina	0.5	g
Peptone	0.5	g
Acqua distillata	1000	ml

3 - Omogeneizzare per 1 minuto quindi portare a 100 g usando lo stesso diluente; si otterrà una diluizione di 1:10.

4 - Distribuire 9 ml di diluente in ciascuna provetta. Nella prima provetta aggiungere 1 ml della sospensione madre. Agitare per 10 secondi. Trasferire 1 ml dalla prima provetta e così via, sostituendo la pipetta per ogni diluizione.

5 - Da ciascuna provetta pipettare 1 ml della diluizione in piastre Petri sterili in duplicato.

6 - Aggiungere 14 ml di M 17 Agar raffreddato a  $48 \pm 1^\circ\text{C}$  ad ogni piastra. Mescolare e lasciar solidificare.

7 - Incubare per 48 ore a  $37^\circ\text{C}$ . In questo modo *S. thermophilus* cresce con colonie lenticolari valutabili anche dopo 18-24 ore; esse raggiungono un diametro di 1-2 mm alle 48 ore. *L. bulgaricus* è inibito o coltiva con colonie molto piccole.

8 - Contare le piastre che abbiano sviluppato più di 40 colonie ed esprimere i risultati tenendo presente il fattore di diluizione, come CFU/g.

9 - Da ogni piastra adatta per l'analisi, prelevare un numero di colonie corrispondenti alla radice quadrata del numero totale considerato. Strisciare su vetrino e proseguire con una colorazione Gram per verificare che siano cocci Gram positivi. Concludere con un test della catalasi (negativa).

Usare M 17 Broth, aggiungendo 13-15 g/l di Agar.

**I due terreni sono disponibili, su richiesta del cliente, senza lattosio, con ordine minimo di 10 confezioni da 500 g.**

#### CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività

*S. thermophilus* ATCC 14485: crescita,

Controllo selettività

*L. bulgaricus* ATCC 11842: parzialmente o completamente inibito

Incubazione a  $37^\circ\text{C}$  per 48h

#### CONSERVAZIONE

Conservare a  $10-30^\circ\text{C}$  al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni i due terreni sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperti, conservare i prodotti mantenendo il tappo dei contenitori ben chiusi. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare le piastre e le provette preparate in laboratorio per un massimo di 7 giorni a  $2-8^\circ\text{C}$

#### PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni  $\geq 1\%$ . Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di M 17 Agar e Broth deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

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

#### BIBLIOGRAFIA

- International Dairy Federation (1981) Joint IDF/1 SO/AOAC Group E 44
- Terzaghi, B.E., Sandine, W.E. (1975) App. Microbiol. **29**, 807
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D.De Medici, L.Feniccia, L.Orefice e A.Stacchini.

#### CONFEZIONI

**4017191 M 17 Agar,** 100 g (1.8 l)

**4017192 M 17 Agar,** 500 g (9 l)

**4017201 M 17 Broth,** 100 g (2.4 l)

**4017201 M 17 Broth,** 500 g (11.9 l)