

## PEPTONE - TRYPTONE WATER

Terreno in polvere, pronto all'uso in provetta  
e flacone per il test dell'indolo

### FORMULA (g/L)

|               |    |
|---------------|----|
| Tryptone      | 10 |
| Sodio cloruro | 5  |

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sciogliere 15 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda se necessario riscaldando leggermente. Distribuire in provetta ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti.

pH finale 7.3 ± 0.2.

### DESCRIZIONE

Peptone-Tryptone Water, dato l'elevato contenuto in triptofano del triptone, è particolarmente adatto come substrato per la determinazione della produzione di indolo.

Il terreno Peptone-Tryptone Water corrisponde, nella formulazione, al substrato colturale Tryptone Water descritto in ISO 7251 per la determinazione di *E.coli* con metodo MPN. La capacità di metabolizzare il triptofano con formazione di indolo è caratteristica distintiva di alcune specie batteriche; il test è perciò utile ai fini dell'identificazione e classificazione dei microrganismi. Il tempo e la temperatura di incubazione variano a seconda della specie batterica in esame; la presenza di indolo può essere rivelata con il reattivo di Kovacs (REF 19171000).

### IMPIEGO

Per la determinazione di *Escherichia coli*, ISO 7251 descrive la seguente tecnica:

1 -Seminare 3 provette contenenti 10 ml di terreno Lauryl Pepto Bios Broth (REF 401580) a doppia concentrazione 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 a Lauryl Pepto Bios Broth (REF 401580) 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 del campione (a partire da 1:10 o 1/:00 a seconda dei casi) seminare tre provette di terreno a concentrazione semplice, con 1 ml di ciascuna diluizione.

4 -Incubare le provette a singola e doppia concentrazione in termostato a 35 o 37 ± 1 °C per 24 ± 2 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48 ± 2 ore.

5 -A partire da tutte le provette di terreno a concentrazione singola e doppia che mostrino produzione di gas, trapiantare un'ansata di crescita in nuove provette di EC Broth (REF 401425) a concentrazione semplice ed incubare a 45 °C per 24 ± 2 ore oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas, per 48 ± 2 ore

6 -A partire da tutte le provette di EC Broth che mostrino produzione di gas trapiantare un'ansata di crescita in provette di Tryptone-Peptone Water ed incubare a 45 °C per 48 ± 2 ore.

7 -Su queste ultime provette eseguire il test dell'indolo aggiungendo 0.5 ml di reattivo Kovac's (REF 19171000)

8 -Per ogni diluizione, contare il numero di provette indolo positive ed esprimere i risultati facendo uso delle apposite tabelle MPN.

Peptone-Tryptone Water è indicato nel test di conferma dei coliformi fecali negli alimenti. Trasferire un'ansata di crescita microbica dai tubi positivi di Mac Conkey Broth in provette di Peptone-Tryptone Water e di Brilliant Green Bile Broth 2% e incubare a 44 °C; eseguire il test dell'indolo sulla crescita di 24 ore in Peptone-Tryptone Water e osservare lo sviluppo di gas in Brilliant Green Bile Broth 2% dopo 24 ore e 48 ore. Le colture che a 44 °C sono indolo positive e producono gas sono da considerarsi coliformi di origine fecale.

Per l'esecuzione del test dell'indolo su colture pure operare come segue:

Inoculare una provetta di Peptone Tryptone Water usando un inoculo leggero ed incubare a 35/37°C per 18-24 ore con il tappo della provetta allentato.

Aggiungere 0,5 ml di reattivo di Kovacs ( REF 19171000) ed agitare.

Lasciar riposare le provette per 5-10 minuti.

Esaminare per la formazione di un anello rosso-porpora sulla superficie del brodo (test dell'indolo positivo).

### CONTROLLO DI QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE (37°C-24h)

Controllo indolo positivo

*E.coli* ATCC 25922

Controllo indolo negativo

*K.pneumoniae* ATCC 23357

### 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 di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Conservare il terreno preparato in fialone o in provetta in laboratorio per un massimo di 3 mesi a 2-8°C

**Terreni pronti all'uso in provetta e fialone:** conservare a 2-8°C nella loro confezione, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

### 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 questo terreno deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

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 o i fialoni dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

### BIBLIOGRAFIA

- Mackenzie, E.F.W., Taylor, E.W. & Gilbert. W.E. (1948) J. Gen. Microbiol., 2, 19
- Cowan & Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd edition, revised by S.T. Cowan, Cambridge University Press (1974).
- Edwards, P.R & Ewing, W.H. (1972) - Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Minneapolis: Burgess Publishing Company.
- ICMSF (1978) - Microorganisms in Foods: their Significance and Methods of Enumeration, 2nd ed.
- ISO 7251:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* -- Most probable number technique

### CONFEZIONI

**4018912 Peptone-Tryptone Water,** 500 g (33.3 L)

**551891 Peptone-Tryptone Water,** 20x9 mL provette pronte all'uso

**5118912 Peptone-Tryptone Water,** 6 fialoni da 100 mL pronti all'uso