

APT AGAR

Per la coltivazione e l'enumerazione dei lattobacilli eterofermentanti

APT BROTH

Per la coltivazione e l'enumerazione dei lattobacilli eterofermentanti

FORMULE TIPICHE (g/l)

APT Agar

Triptone	12.50
Estratto di lievito	7.50
Glucosio	10.00
Sodio citrato	5.00
Sodio cloruro	5.00
Potassio fosfato bibasico	5.00
Manganese cloruro	0.14
Magnesio solfato	0.80
Ferro solfato	0.04
Sorbitan monoleato	0.20
Agar	15.00
Tiamina HCl	0.10 mg

APT Broth

Triptone	12.50
Estratto di lievito	7.50
Glucosio	10.00
Sodio citrato	5.00
Sodio cloruro	5.00
Potassio fosfato bibasico	5.00
Manganese cloruro	0.14
Magnesio solfato	0.80
Ferro solfato	0.04
Sorbitan monoleato	0.20
Thiamine HCl	0.10 mg

PREPARAZIONE

Sospendere 61.2 g di APT Agar o 46.2 g di APT Broth in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti, facendo attenzione a non superare il tempo e la temperatura di sterilizzazione.

pH finale 6.7 ± 0.2

DESCRIZIONE

Il processo di inverdimento dei prodotti cotti di salumeria è attribuito all'azione dell' H_2O_2 , prodotta da batteri lattici in presenza di O_2 .

La produzione di H_2O_2 è governata dallo stabilirsi di un equilibrio biochimico, a sua volta influenzato da alcune condizioni descritte nel lavoro di d'Aubert citato in letteratura ed è attribuibile sia ai lattobacilli eterofermentanti obbligati, sia a lattobacilli omofermentanti e facoltativamente eterofermentanti, a condizione che vi sia la presenza dei seguenti fattori: presenza di glucosio, presenza di ossigeno, esistenza di uno dei tre gruppi di deidrogenasi lattiche.

APT Agar e Broth sono stati studiati da Evans e Niven e sviluppati da Shipp, per la coltivazione dei lattobacilli eterofermentanti che producono l'inverdimento della carne conservata e dei salumi e che sono in grado di elaborare H_2O_2 durante la crescita in condizioni aerobiche.

Sono anche utilizzati per il mantenimento e la preparazione dell'inoculum del ceppo *Lactobacillus viridescens* ATCC 12706, titolatore nel dosaggio microbiologico della tiamina secondo il metodo di Deibel e coll. APHA consiglia l'uso di APT agar per la ricerca dei lattobacilli negli alimenti.

IMPIEGO

La tecnica suggerita è quella standard del conteggio in piastra, i dettagli variano a seconda del materiale in esame.

<u>Materiale da esaminare</u>	<u>Liquido per diluizioni</u>	<u>Incubazione</u>
crauti	acqua distillata	32 °C per 3 gg.
succhi di frutta	acqua distillata	32 °C per 5 gg.
carne conservata salata	tampone fosfato	21 °C per 3 gg.

Per la determinazione dei ceppi produttori di acqua ossigenata, preparare APT Agar + MnO_2 : sospendere 20 g di MnO_2 in 200 ml di APT Broth, distribuire in aliquote da 10 ml ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti; a 100 ml di APT Agar aggiungere 10 ml di sospensione di MnO_2 . Preparare le piastre inserendo 15 ml di APT Agar senza MnO_2 , lasciar solidificare quindi aggiungere sulla superficie 10 ml di APT Agar + MnO_2 .

Seminare il campione e le sue diluizioni decimali per striscio in superficie. Per la scelta del diluente e le modalità di incubazione fare riferimento alla tabella.

I lattobacilli che producono acqua ossigenata coltivano con colonie circondate da un alone trasparente.

Poiché i terreni non sono selettivi e permettono la crescita anche di contaminanti banali, la diagnosi presuntiva di lattobacilli va confermata con esami microscopici e biochimici.

APHA consiglia inoltre una prova di inquinamento artificiale per confermare la diagnosi di inverdimento batterico delle carni conservate. Trapiantare alcune colonie dalle piastre di APT Agar in tubi di APT Broth ed incubare a 32°C per 24 ore. Allestire una camera sterile umida (piastra Petri con carta da filtro imbevuta di acqua distillata sterile) ed introdurre con le cautele dell'asepsi una fetta del materiale in esame; inoculare la superficie con una ansata di brodocoltura in APT Broth: incubare a 32°C per 24 ore ed osservare se la superficie della carne è inverdita.

Se ciò si verifica e se un controllo non inoculato rimane inalterato, la diagnosi è confermata.

La presenza di inverdimento dovuta ad eccesso di nitriti va distinta dall'inverdimento batterico ricercando qualitativamente o quantitativamente i nitriti con i reattivi standard (si veda la voce Indole Nitrate Broth).

N.B. Tampone fosfato per diluizioni:

soluzione madre: sciogliere 34 g di potassio fosfato monobasico in 500 ml di acqua distillata, aggiustare il pH a 7.2 con sodio idrato soluzione 1 N e portare a volume di un litro con acqua distillata; soluzione d'uso: portare a volume di un litro con acqua distillata 1.25 ml di soluzione madre, distribuire ed autoclavare a 121°C per 20 minuti.

Reattivi dei nitriti: confronta Indole Nitrate Broth.

Controllo di qualità suggerito (APT Agar + MnO₂ : 30°C-5 giorni)

Controllo della produttività

L. viridescens ATCC 12706: crescita, colonie con alone trasparente

L. brevis ATCC 14869: crescita, colonie con alone trasparente

L. sakei ATCC 215521: crescita, colonie senza alone trasparente

L. mesenteroides DSM 20241: crescita, colonie senza alone trasparente

P. damnosus ATCC 29358: crescita, colonie senza alone trasparente

CONSERVAZIONE

Conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni APT Agar e APT Broth sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni

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 ≥1%. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di APT Agar e APT Broth deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e 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* dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- APHA (1966) - Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd. edition.
- D'Aubert S. (1963) Ann. Microbiol., 8, 189
- Deibel, R.H., Evans, J.B. & Niven, C.P. Jr. (1957) - J. Bact., 74, 818-821.
- Niven, C.F. Jr. & Evans, J.B. (1957) - J. Bact., 73, 758-759.
- Niven, C.F. Jr. Castellani, A.G. & Allanson V. (1969) - J. Bact., 58, 633-641.
- Shipp, H.L. (1964) Technical Circular n° 266. British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead.

CONFEZIONI

401085 APT Agar,	100 g (1.6 l) - 500 g (8.1 l)
401090 APT Broth,	100 g (2.1 l) - 500 g (10.8 l)