



BD Tetrathionate Broth Base BD Iodine Solution (for Tetrathionate Broth Base)

USO PREVISTO

BD Tetrathionate Broth Base (base di brodo tetrathionato), integrato con **BD Iodine Solution** (soluzione iodata), è un terreno selettivo di arricchimento per *Salmonella* spp. da feci umane e vari alimenti. Il terreno completo è anche denominato brodo TT.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Salmonella spp. possono causare vari tipi di infezioni, da leggere gastroenteriti auto-limitanti a febbri tifoidee che possono rivelarsi letali.¹ Il disturbo più comune causato da *Salmonella* è la gastroenterite auto-limitante con febbre (meno di due giorni) e diarrea (meno di 7 giorni).¹ Mueller ha dimostrato l'efficacia del brodo di tetrathionato per l'arricchimento dei bacilli tifoidei e paratifoidei e l'inibizione degli organismi coliformi.² Utilizzando il brodo di Mueller modificato, Kauffmann è riuscito ad aumentare il numero di isolati positivi.^{3,4} Il brodo di tetrathionato è stato usato negli studi per le aziende avicole e in uno studio collaborativo per lo screening rapido della *Salmonella* negli alimenti.⁵⁻⁷ Il brodo di tetrathionato viene normalmente utilizzato per i test su *Salmonella* e nel trattamento delle colture fecali per isolare i batteri.⁸⁻¹⁵

La base di brodo tetrathionato, integrata con iodio/soluzione iodata, viene usata come arricchimento selettivo per la coltura di *Salmonella* spp. presenti in numero ridotto e in competizione con la flora intestinale. Tali specie, quindi, potrebbero non essere individuate alla piastratura primaria del campione su terreni solidi differenziali selettivi.

BD Tetrathionate Broth Base contiene peptone proteosico che fornisce azoto, carbonio, vitamine e aminoacidi. La selettività si ottiene combinando tiosolfato di sodio e tetrathionato, che sopprime gli organismi commensali dell'intestino.¹⁶ (Il tetrathionato si forma nel terreno con l'aggiunta di iodio e ioduro di potassio contenuti in **BD Iodine Solution**.) Sul terreno proliferano gli organismi che contengono l'enzima tetrathionato reductasi.¹⁷ I sali biliari sono agenti selettivi che sopprimono i batteri coliformi e inibiscono gli organismi Gram-positivi. Il carbonato di calcio neutralizza e assorbe i metaboliti tossici e mantiene stabile il pH.

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Tetrathionate Broth Base		BD Iodine Solution	
Peptone proteosico Bacto	5,0 g	Iodio	300,0 g
Sali biliari Bacto	1,0	Ioduro di potassio	250,0
Tiosolfato di sodio	30,0	Aspetto: color ruggine	
Carbonato di calcio	10,0		
pH 8,4 ± 0,2			
Aspetto: da quasi incolore a lievemente giallastro, con evidente precipitato bianco			
Aspetto dopo l'aggiunta di soluzione iodata: precipitato brunastro, intenso			

*Compensate e/o corrette per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD. Solo per uso professionale.

Non usare fiale o flaconi che presentino tracce di contaminazione microbica, alterazioni cromatiche, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento. Per completare **BD Tetrathionate Broth Base**, attenersi alle procedure descritte nella sezione **Preparazione dei reagenti**.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

Avvertenza - BD Iodine Solution (per base di brodo tetrathionato) - Componenti pericolosi sull'etichetta: iodio



Pericoloso

Classificazione dei rischi:

20/21 Nocivo per inalazione e a contatto con la pelle.

Condizioni di sicurezza:

9 Conservare il recipiente in luogo ben ventilato.

23 Non respirare i fumi/vapori.

25 Evitare il contatto con gli occhi.

36/37 Indossare guanti e indumenti protettivi idonei.



Pericoloso per l'ambiente

Classificazione dei rischi:

50 Altamente tossico per gli organismi acquatici.

Condizioni di sicurezza:

57 Utilizzare un contenitore adatto per non contaminare l'ambiente.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le fiale con **BD Tetrathionate Broth Base** al buio a 5 – 25 °C fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le fiale possono essere inoculate sino alla data di scadenza e incubate per i tempi consigliati. Le fiale prelevate dalle confezioni già aperte possono essere usate fino alla data di scadenza. Le fiale aperte devono essere utilizzate immediatamente.

Conservare **BD Iodine Solution** al buio, a 15 – 22 °C; non tenere in frigorifero. Chiudere bene il flacone. I flaconi prelevati dalle confezioni già aperte possono essere usati fino alla data di scadenza. I flaconi aperti possono essere usati ripetutamente fino alla data di scadenza se sono chiusi e conservati correttamente dopo ogni uso.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Prima dell'uso, completare **BD Tetrathionate Broth Base** aggiungendo **BD Iodine Solution** (per ulteriori informazioni, v. **PROCEDURA – Preparazione dei reagenti**). Inoculare le fiale con 10 – 100 UFC di ceppi di *Salmonella* per fiala. Utilizzare 10⁴ – 10⁵ UFC per i ceppi rimanenti. Incubare a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h. Dopo l'incubazione, trasferire 10 – 20 µL di subcoltura su piastre di **BD MacConkey II Agar** per 18 – 24 h a 35 ± 2 °C e registrare la crescita.

Ceppi	Crescita	Crescita nelle subcolture su BD MacConkey II Agar
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Da buona a eccellente	Da buona a eccellente
<i>Salmonella Abony</i> DSM 4224	Da buona a eccellente	Da buona a eccellente
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Da scarsa a buona	Parzialmente inibita
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Scarsa o assente	Inibizione da parziale a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Scarsa o assente	Inibizione da parziale a completa

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Tetrathionate Broth Base, 12 mL, fornito in fiale da 30 mL con tappo a vite.

Microbiologicamente controllato.

BD Iodine Solution (per base di brodo tetrathionato), 40 mL, fornito in flaconi da 50 mL con tappo a vite.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Preparazione dei reagenti

Per completare **BD Tetrathionate Broth Base**, aggiungere 2% (o 0,24 mL) di **BD Iodine Solution (per base di brodo tetrationato)** per fiala (12 mL). Terminata l'operazione, chiudere la provetta e miscelare delicatamente. Non riscaldare. Il sedimento bianco (carbonato di calcio) non si dissolve al termine dell'operazione. Inoculare il terreno completo entro 2 ore dall'aggiunta della soluzione iodata.

Tipi di campioni

Il brodo tetrationato completo viene usato come arricchimento per *Salmonella* presente in vari alimenti e campioni di feci umane (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Aggiungere 1,0 – 3,0 g di campioni solidi o 1,0 – 3,0 mL di campioni liquidi per provetta di brodo tetrationato completo. Durante la fase acuta dell'infezione, si possono utilizzare quantità inferiori di feci. Miscelare delicatamente e incubare per 12 – 24 h a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica. I campioni alimentari con numerosi contaminanti sono incubati a $43 \pm 0,2$ °C a bagnomaria. Per un'analisi esauriente sulle procedure più adatte per gli alimenti, consultare la bibliografia.⁸⁻¹² I campioni di feci devono essere strisciati direttamente (senza previo arricchimento) anche nei relativi terreni su piastra.^{1,14,15}

Risultati

Dopo l'incubazione, trasferire le subcolture a base di tetrationato sui relativi terreni selettivi differenziali, ad es. **BD XLD Agar** o **BD Hektoen Enteric Agar** e su **BD MacConkey II Agar**. Consultare la bibliografia.^{1,11-15}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Tetrathionate Broth Base, completato con **BD Iodine Solution**, è un terreno standard utilizzato per l'arricchimento di *Salmonella* spp. presente in alimenti e campioni di feci umane.^{1,8-15} Il brodo di tetrationato e terreno di Rappaport-Vassiliadis sono i terreni più adatti per i campioni alimentari con bassa conta di *Salmonella*.¹⁸

Poiché il fabbisogno nutritivo degli organismi varia, alcuni ceppi di *Salmonella* potrebbero non crescere o crescere con difficoltà su questo terreno. Le tecniche di isolamento devono sempre includere differenti brodi di arricchimento e terreni di isolamento. Consultare la bibliografia.^{1,14-15} Gli isolati ottenuti da questo terreno devono essere sottoposti a ulteriori test biochimici e/o sierologici per essere identificati con certezza.^{1,14,15}

BIBLIOGRAFIA

1. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Muller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C. R. Soc. Biol. 89:434. Paris.
3. Kauffmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbacillen. Zentralb. Bakteriol. Parasitenkde. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 113:148.
4. Kauffmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabacillen. Z. Hyg. Infektionskr. 117:26.
5. Jones, F. T., R. C. Axtell, D. V. Rives, S. E. Scheideler, F. R. Tarver, Jr., R. L. Walker, and M. J. Wineland. 1991. A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. J. Food Prot. 54:502-507.
6. Barnhart, H. M., D. W. Dressen, R. Bastien, and O. C. Pancorbo. 1991. Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. J. Food Prot. 54:488-492.
7. Eckner, K. F., W. A. Dustman, M. S. Curiale, R. S. Flowers, and B. J. Robison. 1994. Elevated-temperature, colorimetric, monoclonal, enzyme-linked immunosorbent assay for rapid screening of Salmonella in foods: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 77:374-383.
8. Andrews, W. H., G. A. June, P. S. Sherrod, T. S. Hammack, and R. M. Amaguana. 1995. Salmonella. p 5.01-5.20. In Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD.

9. Russell, S. F., J.-Y. D'Aoust, W. H. Andrews, and J. S. Bailey. 1992. Salmonella, p.371-422. In Vanderzant, C. and D. F. Splittstoesser (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Flowers, R. S., W. Andrews, C. W. Donnelly, and E. Koenig. 1993. Pathogens in milk and milk products, p. 103-212. In R. T. Marshall (ed.) Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
11. United States Pharmacopeial Convention. 1995. The United States Pharmacopeia, 23rd ed. The United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD.
12. Federal Register. 1991. Animal and plant health inspection service: chicken affected by Salmonella enteritidis, final rule. Fed. Regist. 56:3730-3743.
13. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, p. 751-754, Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
14. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, American Society for Microbiology, Washington, D. C.
15. Kist, M. et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gatermann (ed.). MIQ – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Vol 9. Urban und Fischer, München, Jena.
16. Knox, R., P. H. Gell, and M. R. Pollack. 1942. Selective media for organisms of the Salmonella group. J. Pathol. Bacteriol. 54:469-483.
17. Hinsley, A.P., and B.C. Berks. 2002. Specificity of respiratory pathways involved in the reduction of sulfur compounds by Salmonella enterica. Microbiology 148: 3631-3638.
18. Hammack, T.S., et al. 1999. Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of Salmonella spp. from foods with a low microbial load. J. Food Prot. 62: 16-21.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Tetrathionate Broth Base (terreno in flacone parzialmente completo)

N. di cat. 257103 50 flacone volume di riempimento 12 mL, in fiale da 30 mL con tappo a vite

BD Iodine Solution (for Tetrathionate Broth Base) (supplemento)

N. di cat. 257199 1 flacone volume di riempimento 40 mL, in un flacone da 50 mL con tappo a vite

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company