BD Terreno BBL in provetta pronto per l'uso per la coltivazione di micobatteri

Dubos Broth, Enriched

CE

8806871JAA
2010/07

Italiano

USO PREVISTO

Il brodo Dubos arricchito, è usato per la coltivazione di colture pure di micobatteri, in particolare *Mycobacterium tuberculosis.*

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il brodo Dubos arricchito è un terreno modificato in base alla formulazione di Dubos et al.[1], che differisce da quella originaria in quanto caratterizzata da un forte sistema tampone e da un pH acido.[2]

Il valore primario del brodo Dubos è la sua capacità di fornire una crescita diffusa, priva di eccessive agglutinazioni e utilizzabile per preparare una sospensione relativamente uniforme di micobatteri da usare in studi batterici.

È usato anche come subcultura e terreno di arricchimento per la coltivazione rapida di *M. tuberculosis* e altre specie di micobatteri da campioni clinici trattati e da inoculo diretto di campioni che possono dare colture pure, es. liquidi cerebrospinale, pleurico e peritoneale.[3]

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il brodo Dubos arricchito contiene digerito enzimatico di caseina e un aminoacido, L-asparagina, come fonti nutritive. Svariati sali inorganici forniscono gli ioni necessari per il metabolismo dei micobatteri. Il polisorbato 80, un estere dell'acido oleico fornisce gli acidi grassi essenziali per la replicazione dei micobatteri. L'albumina bovina funge da agente protettivo legando gli acidi grassi liberi che possono essere tossici per i micobatteri. L'albumina è termotrattata per inattivare la lipasi, che può rilasciare acidi grassi dal polisorbato 80. I tamponi fosfato mantengono il pH del terreno.

REAGENTI

Formula

Dubos Broth, Enriched

Formula approssimata* per 900 mL di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	0,5 .g
L-asparagina	2,0 .g
Fosfato monopotassico	1,0 .g
Fosfato disodico	2,5 .g
Citrato ferrico di ammonio	0,05 g
Solfato di magnesio	0,01 g
Polisorbato 80	0,2 .g
Cloruro di calcio	0,5 .mg
Solfato di zinco	0,1 .mg
Solfato di rame	0,1 .mg
Albumina bovina	100,0 .mL

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Istruzioni per la conservazione - Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 - 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per un massimo di 8 settimane. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto - Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, precipitazione, evaporazione o altri segni di deterioramento.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Questo terreno non è adatto a essere usato direttamente con campioni clinici, salvo nei casi sopra indicati o allorché è usato come terreno di arricchimento di "backup" in aggiunta al terreno di isolamento. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione appropriata.[3-7]

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guide dell'istituto e alle "Precauzioni standard".[8-11] Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Per le manipolazioni di campioni clinici (es. preparazione di strisci acido-resistenti) che non comportano produzione di aerosol, si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 2. Tutte le procedure che comportano la generazione di aerosol devono essere eseguite sotto cappa di sicurezza biologica di Classe I o II. Per le attività di laboratorio che comportano la propagazione e manipolazione di colture di *M. tuberculosis* ed *M. bovis,* si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 3. Anche gli studi su animali richiedono procedure speciali.[10]

PROCEDURA

Materiale fornito - Dubos Broth, Enriched

Materiali necessari ma non forniti - Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

Procedura del test - Adottare tecniche asettiche.

Le procedure di test sono quelle raccomandate dai Centers for Disease Control and Prevention (CDC) per l'isolamento primario da campioni contenenti micobatteri.[4] Si raccomanda una soluzione di N-acetil-L-cisteina e idrossido di sodio (NALC-NaOH) come agente - delicato ma efficace - sia per la decontaminazione che per la digestione. Questi reagenti sono contenuti nel kit di digestione/decontaminazione dei campioni **BBL MycoPrep**. Per informazioni dettagliate sui metodi di decontaminazione e coltura, consultare la documentazione appropriata.[3-7]

I campioni con verosimile minor contaminazione da altri microrganismi (liquido cerebrospinale, liquido pleurico, tessuto bioptico, ecc.) possono essere inoculati direttamente nel terreno. Per le procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.[3-7]

Incubare le provette a 35 ± 2 °C in atmosfera arricchita di CO_2. Lasciare i tappi delle provette non completamente avvitati per almeno una settimana per permettere la circolazione di CO_2, ma avvitarli bene dopo tale periodo per evitare la disidratazione. Svitare leggermente e brevemente una volta alla settimana per reintegrare la CO_2. Per riscontrare segni di crescita di molti micobatteri, possono essere necessarie da sei a 8 settimane di incubazione.

Controllo di qualità a cura dell'utente

1. Verificare che le provette non presentino segni di deterioramento come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Controllare le performance inoculando un campione rappresentativo di ogni terreno con colture pure di microrganismi di controllo stabili che producono reazioni note e attese. Si consigliano i ceppi di test sotto elencati.

CEPPO PER TEST	RISULTATI ATTESI
Mycobacterium fortuitum ATCC 6841	Crescita
Mycobacterium tuberculosis ATCC 25177	Crescita

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

La crescita nel brodo è evidenziata dalla comparsa di torbidità rispetto al controllo non inoculato.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I brodi di arricchimento non devono essere usati come unico terreno di isolamento. Essi vanno usati insieme a terreni in piastra selettivi e non selettivi per aumentare le probabilità di isolamento di patogeni, soprattutto allorché presenti in quantità limitate.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.[3-7]

PERFORMANCE

Data la capacità di fornire una crescita diffusa, il brodo Dubos è usato per preparare una sospensione relativamente uniforme di microbatteri da usare in studi batterici. Il brodo Dubos è stato usato per la coltura di *Mycobacterium tuberculosis* al fine di determinare l'attività enzimatica dell'alcol deidrogenasi. Dopo 7 giorni, l'attività specifica dell'enzima da cellule cresciute nel brodo Dubos è risultata di 2 - 3 volte superiore a quella delle cellule cresciute in terreno Sauton.[12]

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
295697	**BBL** Dubos Broth, Enriched, confezione da 10 provette di misura K

BIBLIOGRAFIA

1. Dubos, R.J., F. Fenner, and C.H. Pierce. 1950. Properties of a culture of BCG grown in liquid media containing Tween 80 and the filtrate of heated serum. Am. Rev. Tuberc. *61*:66.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Cernoch, P.L., Enns, R.K., Saubolle, M.A. and R.J. Wallace. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed. A.S. Weissfeld, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

6. Metchock B.G., Nolte, F.S., and R.J. Wallace. 1999. *Mycobacterium*, p. 399-437. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Master, R.N. 1992. Mycobacteriology, 3.0.1-3.16.4. *In* H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
9. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. *17*:53-80.
10. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
11. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
12. De Bruyn, J., A. Johannes, M. Weckx, and M.P. Beumer-Jochmans. 1980. Partial purification and characterization of an alcohol dehydrogenase of *Mycobacterium tuberculosis* var. *bovis* (BCG). J. of Gen. Microbiol. *124*: 359-363.

Manufacturer / Producent / Fabrikant / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Ditta produttrice / Fabrikant / Fabricante / Tillverkare

Use by / Anvendes før / Houdbaar tot / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηία λήξης / Usare entro / Brukes før / Utilizar em / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden)

REF Catalog number / Katalognummer / Catalogusnummer / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Numero di catalogo / Katalognummer / Número do catálogo / Número de catálogo / Katalognummer

EC REP Authorized Representative in the European Community / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Autorisert representant i EU / Representante autorizado na União Europeia / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik

Temperature limitation / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Temperatura limite / Temperaturbegrensning / Limitação da temperatura / Limitación de temperatura / Temperaturbegränsning

LOT Batch Code (Lot) / Batch kode (Lot) / Chargenummer (lot) / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Codice del lotto (partita) / Batch-kode (Serie) / Código do lote (Lote) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)

Consult Instructions for Use / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultare le istruzioni per l'uso / Se i bruksanvisningen / Consulte as instruções de utilização / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

EC REP Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL and MycoPrep are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
© 2010 BD.