

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Tetrathionate Broth Base (brodo tetrationato base), con aggiunta di iodio-soluzione iodata, è usato come terreno di arricchimento selettivo per l'isolamento di *Salmonella* da feci, urine, alimenti e altri materiali di rilevanza sanitaria.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Prima dell'inoculo, dispensare 0,2 mL di soluzione di ioduro di potassio per 10 mL di terreno, preparato aggiungendo 6,0 g di cristalli di iodio e 5,0 g di ioduro di potassio a 20,0 mL di acqua sterile purificata.
2. Inoculare i campioni rappresentativi con 0,1 mL di una sospensione al McFarland 0,5 delle colture sottoelencate.
3. Eseguire una subcoltura in **BBL Trypticase Soy Agar** con sangue di montone al 5% all'ora 0 e dopo 18 – 24 h di incubazione a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
4. Incubare le piastre subcolturate a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h in aerobiosi ed esaminarle per verificare la crescita. Refrigerare le piastre dell'ora 0 per potere comparare la crescita con quella delle piastre subcolturate a 24 h.
5. Risultati attesi

Microrganismi	ATCC	Crescita in Trypticase Soy Agar con sangue di montone al 5% dopo subcoltura da Brodo tetrationato	
		0 ore	24 ore
* <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sierotipo Typhimurium	14028	Crescita lieve – moderata	Crescita moderata – intensa
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Crescita lieve – moderata	Crescita da assente a lieve

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Verificare che le provette non presentino segni di deterioramento come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $8,4 \pm 0,2$.
4. Incubare a 20 – 25 °C e 30 – 35 °C campioni rappresentativi non inoculati ed esaminarli dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Tetrathionate Broth Base (brodo tetrationato base), con aggiunta di iodio-soluzione iodata, è usato come terreno di arricchimento selettivo per l'isolamento di *Salmonella* da feci, urine, alimenti e altri materiali di rilevanza sanitaria.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il brodo tetrationato è stato originariamente descritto da Mueller, che scoprì la capacità del terreno di inibire selettivamente i coliformi e di permettere in tal modo la crescita virtualmente illimitata di patogeni enterici.¹ Kauffman ha modificato il terreno di Mueller, ottenendo una percentuale di isolati più elevata.^{2,3} Il terreno è ora formulato in conformità alle specifiche di American Public Health Association (APHA), AOAC International (AOAC) e Food and Drug Administration (FDA).

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I sali biliari inibiscono i microrganismi gram-positivi. Il tetrationato, che si forma nel terreno in seguito all'aggiunta della soluzione iodina-iodio, inibisce la normale flora intestinale dei campioni fecali.⁴

VII REAGENTI

Brodo tetrationato base

Formula approssimata* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	2,5 g	Carbonato di calcio.....	10,0 g
Digerito peptico di tessuto animale.....	2,5 g	Tiosolfato di sodio.....	30,0 g
Sali biliari.....	1,0 g		

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

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.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana.

Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁵⁻⁸ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di 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 i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

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

VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere ottenuti con varie tecniche. Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna appropriata al laboratorio. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.⁹⁻¹²

IX PROCEDURA

Materiale fornito: Brodo tetrathionato base

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

Procedura del test: Adottare tecniche aseptiche.

Preparare una soluzione iodina-iodio dispensando 6,0 g di cristalli di iodio e 5,0 g di ioduro di potassio sciolti in 20 mL di acqua sterile purificata.

Immediatamente prima dell'inoculo, dispensare 0,2 mL di soluzione iodina-iodio in ogni provetta. Inoculare con un tampone o un'ansata di campione oppure, laddove il volume della provetta lo consenta, dispensare le feci, un altro campione solido o liquido (circa il 10% per volume) ed emulsionare con un ago da inoculo, se necessario. Incubare le provette per 12 – 24 h a 35 ± 2 °C in aerobiosi.

Controllo di qualità a cura dell'utente Vedere "Procedure di controllo di qualità".

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. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

X RISULTATI

Per ulteriori ricerche, eseguire una subcoltura su terreni enterici in piastra selettivi e differenziali.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I brodi di arricchimento non devono essere usati come unico terreno di isolamento, ma vanno impiegati in combinazione con terreni su piastra selettivi e non selettivi per aumentare la probabilità di isolare i patogeni, specialmente quando potrebbero essere presenti in piccolo numero nei campioni. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.^{10,12,13-17}

XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Tetrathionate Broth Base. In ogni provetta, viene dispensata una soluzione di ioduro di potassio al 2%. Le provette vengono inoculate con 0,1 mL di *S. typhimurium* ATCC 14028 ed *E. coli* ATCC 25922 (microrganismi cresciuti in **Trypticase** Soy Broth per 4 h e diluiti 100 volte prima dell'inoculo) al McFarland 0,5 e quindi poste in subcoltura in **Trypticase** Soy Agar con sangue di montone al 5% all'ora 0 e dopo 18 – 24 h di incubazione a 35 ± 2 °C in aerobiosi. Le piastre vengono incubate durante la notte a 35 ± 2 °C in aerobiosi ed esaminate per verificarne la crescita. Le provette poste in subcoltura a 24 h presentano crescita lieve – intensa di *S. typhimurium*, mentre *E. coli* è parzialmente – completamente inibito.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
------------	-------------

298249	BBL Tetrathionate Broth Base, conf. da 10 provette di misura K, 10 mL
--------	---

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Mueller, L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C.R. Soc. Biol. (Paris), 89:434-437.
2. Kaufmann, F. 1930. Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten, Hygiene, Abteilung I, Originalarbeiten, 113:148-152.
3. Kaufmann, F. 1935. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabacillen. Z. Hygiene, Infektionskrankheiten, 117:26-32.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
6. 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.
7. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
8. 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.
9. Isenberg, H.D., F.D. Schoenkecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby Company, St. Louis.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 33-63. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification p. 442-458. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
14. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. The U.S. pharmacopeia 25/The national formulary 20-2002. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, Md.
15. Cunniff, P. (ed.). 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Arlington, Va.
16. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
17. Bopp, C.A., F.W. Brenner, J.G. Wells, and N.A. Strockbine. 1999. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*, p. 459-474. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



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



Benex Limited
 Pottery Road, Dun Laoghaire
 Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
 BD, BD Logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD