BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lesine
BBL Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

L007470 • Rev. 10 • Gennaio 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

BBL Moeller Decarboxylase Broth Base (brodo base decarbossilasi Moeller), allorché supplementato con lisina od ornitina, facilita la differenziazione di bacilli enterici mediante le reazioni della decarbossilasi.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
   a. Con l'ausilio di anse calibrate da 0,01 mL, inoculare leggermente le provette di brodo con la crescita di 18 – 24 h di colture slant in **Trypticase** Soy Agar. Includere provette di brodo base decarbossilasi Moeller senza aminoacidi come controlli di crescita per tutti i microrganismi.
   b. Coprire tutte le provette con 2,0 mL di olio minerale sterile.
   c. Incubare le provette a 35 ± 2 °C, con i tappi completamente avvitati.
2. Esaminare le provette dopo 24, 48, 72 e 96 h per verificare le reazioni.
3. Risultati attesi

	Lisina	Ornitina
**Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* ATCC 33495	+	–
**Enterobacter cloacae* ATCC 13047	–	+

Nota - + = reazione positiva (alcalina, porpora o rossa)
– = reazione negativa (acida, gialla)

Il terreno base è negativo con entrambi i microrganismi.

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

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette 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. All'interno di un lotto, è possibile osservare leggere variazioni di colore, che non alterano le performance.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di 6,0 ± 0,2.
4. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

I terreni decarbossilasi Moeller sono usati nella differenziazione biochimica di bacilli enterici gram-negativi in base alla produzione di lisina e ornitina decarbossilasi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Nel 1955, Moeller ha introdotto i terreni decarbossilasi per rilevare la produzione di lisina e ornitina decarbossilasi.[1] Questi terreni rappresentano un'utile integrazione di altri test biochimici volti a speciare e identificare *Enterobacteriaceae* e altri batteri gram-negativi.[2-4] La produzione di ornitina decarbossilasi è particolarmente utile per la differenziazione delle specie *Klebsiella* ed *Enterobacter*. *Klebsiella* spp. non sono motili e – salvo *K. ornithinolytica* – non producono ornitina decarbossilasi, mentre la maggior parte delle specie *Enterobacter* è motile e – a eccezione di *E. agglomerans* – produce normalmente questo enzima.[4]

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il terreno base decarbossilasi Moeller contiene peptone ed estratto di carne bovina allo scopo di fornire le sostanze nutritive azotate per supportare la crescita batterica. Il piridoxal è un cofattore enzimatico per la decarbossilasi aminoacidica. Il destrosio è un carboidrato fermentabile. Porpora

di bromocresolo e rosso cresolo sono indicatori di pH. Gli aminoacidi lisina e ornitina vengono aggiunti al terreno base per rilevare la produzione dell'enzima specifico per questi substrati.

Quando il terreno viene inoculato con un batterio in grado di fermentare il destrosio, vengono prodotti acidi che ne abbassano il pH determinando il viraggio dell'indicatore dal porpora al giallo. L'ambiente acido stimola anche l'attività della decarbossilasi. Se il microrganismo produce l'enzima appropriato, l'aminoacido nel terreno viene degradato, generando una corrispondente amina. La decarbossilazione della lisina produce cadaverina, mentre quella dell'ornitina genera putrescina. La produzione di queste amine aumenta il pH del terreno, determinando il viraggio dell'indicatore da giallo a porpora o violetto. Se il microrganismo non produce l'enzima appropriato, il terreno resta acido (giallo). Per maggiori informazioni, consultare la bibliografia.[5]

Ogni isolato da testare deve essere inoculato anche in una provetta di terreno base non contenente l'aminoacido. Se questa provetta diventa alcalina, il test non è valido.

Al fine di ottenere reazioni appropriate, proteggere le provette inoculate dall'aria con uno strato di olio minerale sterile. L'esposizione all'aria può dare luogo a viraggio alcalino sulla superficie del terreno, facendo apparire positivo il microrganismo decarbossilasi-negativo.

VII REAGENTI

BBL Moeller Decarboxylase Broth Base

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito peptico di tessuto animale	5,0	g
Estratto di carne bovina	5,0	g
Porpora di bromocresolo	0,01	g
Rosso cresolo	0,005	g
Destrosio	0,5	g
Piridossina	0,005	g

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

Il brodo decarbossilasi Moeller con lisina od ornitina è costituito da brodo base decarbossilasi Moeller con 10,0 g/L dell'aminoacido specificato.

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.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

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 i tempi di incubazione raccomandati. 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, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.[3,6] Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL Moeller Decarboxylase Broth with Lysine o
Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine

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 asettiche.

Eseguire una subcoltura dell'isolato da testare su un terreno adatto, strisciando per ottenere colonie isolate e incubare a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h.

Con l'ausilio di un ago o un'ansa da inoculo, inoculare il brodo trasferendo una o due colonie dalla superficie di una coltura fresca e mescolare per distribuire la coltura in tutto il terreno. Coprire il terreno in ogni provetta con 1 mL di olio minerale sterile.

Incubare le provette a 35 ± 2 °C, con i tappi completamente avvitati.Esaminare le provette dopo 18 – 24, 48, 72 e 96 h per verificare la crescita e le reazioni della decarbossilasi prima di refertarle come negative. Il terreno virerà inizialmente giallo, in caso di fermentazione del destrosio e quindi gradualmente al porpora, se si verifica la reazione della decarbossilasi con conseguente aumento del pH.

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 in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

Per determinare fotometricamente il pH dei terreni in provetta, usare un singolo elettrodo di dimensioni sufficientemente ridotte da permetterne l'inserimento nelle provette. Posizionare la punta dell'elettrodo al di sotto della superficie del brodo.

X RISULTATI

Comparare il colore delle provette di terreno contenenti gli aminoacidi specifici al colore delle provette di controllo contenenti il terreno base (senza aminoacido) inoculate con lo stesso isolato. Se le provette di controllo inoculate presentano una reazione alcalina, il test non è valido, perché eseguito in modo non corretto o perché i microrganismi da testare riescono a degradare il peptone in misura sufficiente a produrre una reazione alcalina in assenza di un aminoacido specifico.

In caso di reazione positiva (alcalina), il terreno vira al porpora – violetto. Una colorazione gialla indica un test negativo, ossia che il microrganismo non produce l'enzima appropriato.

Per le informazioni necessarie per l'interpretazione dei risultati, consultare la documentazione appropriata.[3-6]

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

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.[3,4,6,7]

XII PERFORMANCE

In uno studio condotto da Yabuuchi, Yamanaka e Ohyama, per sviluppare un nuovo sistema di profilo per l'identificazione di microrganismi non fermentanti con il sistema **Minitek**, i terreni decarbossilasi Moeller sono stati usati come controlli. Sono stati testati seicentoventicinque (625) ceppi di microrganismi non fermentanti. La concordanza tra il terreno decarbossilasi Moeller con lisina e il sistema **Minitek** è stata del 95,4%, mentre quella tra il terreno decarbossilasi Moeller con ornitina e il sistema **Minitek** è risultata del 90,9%.[8]

In un altro studio, Westbrook et al. hanno usato il terreno decarbossilasi Moeller con ornitina nell'ambito di uno schema di identificazione per determinare l'incidenza di *Klebsiella planticola* e *K. oxytoca* in 352 isolati stock e 84 campioni clinici freschi di *Klebsiella* spp.[9]

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221661	**BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, confezione da 10 provette di misura K
221662	**BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Lysine, scatola da 100 provette di misura K
221663	**BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, confezione da 10 provette di misura K
221664	**BD BBL** Moeller Decarboxylase Broth with Ornithine, scatola da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Moeller, V. 1955. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. *36*:158-172.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. 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. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Yabuuchi, E., K. Yamanaka, and A. Ohyama. 1981. Evaluation of 36 Minitek tests and a new approach for identification of nonfermenters. J. Clin. Microbiol. *13*:572-587.
9. Westbrook, G.L., C.M. O'Hara, S.B. Roman, and J.M. Miller. 2000. Incidence and identification of *Klebsiella planticola* in clinical isolates with emphasis on newborns. J. Clin. Microbiol. *38*:1495-1497.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD