



BBL Phenol Red Broth Base, 8 mL
BBL Phenol Red Broth with Dextrose and Durham Tube
BBL Phenol Red Broth with Xylose and Durham Tube
L007486 • Rev. 11 • Gennaio 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Il terreno **BBL Phenol Red Broth Base** (brodo base rosso fenolo), allorché supplementato con un carboidrato appropriato, è usato per determinare le attività di fermentazione dei microrganismi.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Inoculare le provette con la crescita di 18 – 24 h di **Trypticase Soy Agar** con colture su piastra di sangue di montone al 5%, usando un'ansa calibrata da 0,01 mL.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
2. Esaminare le provette dopo 18 – 24 e 42 – 48 h per verificare la crescita e le reazioni. La produzione di gas è definita come presenza di gas nella provetta di Durham capovolta, evidenziata dalla generazione di effervescenza allorché la provetta è delicatamente agitata.
3. Risultati attesi: vedere la Figura 1.

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.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $7,4 \pm 0,2$.
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.

Figura 1: Risultati attesi	Phenol Red Broth Base	Destrosio	Xilosio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	---	Acido, Gas	Acido, Gas
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495*	Alcalino	---	---
<i>Morganella morganii</i> ATCC 8019	---	---	Alcalino
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Alcalino	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	---	Alcalino	---
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028**	---	---	Acido, Gas
<i>Salmonella paratyphi</i> ATCC 9150***	---	---	Alcalino
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 9199	---	Acido	---
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Alcalino	---	---

* *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*

** *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* sierotipo Typhimurium

*** *S. choleraesuis* subsp. *choleraesuis* seirotipo Paratyphi A

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

I terreni Phenol Red Broth Base (brodo base rosso fenolo) e Phenol Red Broth (brodo rosso fenolo) con carboidrati sono usati per determinare le reazioni di fermentazione nella differenziazione dei microrganismi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La capacità di un microrganismo di fermentare un carboidrato specifico incorporato in terreno base, con conseguente produzione di acido od acido e gas, è stata usata per caratterizzare specie o gruppi batterici specifici, facilitare sia la differenziazione tra generi che quella in specie.^{1,2}

Nel 1950, Vera raccomandò l'uso di digerito pancreatico di caseina nei terreni per test fermentazione,³ ritenendo che il peptone di caseina potesse essere usato con l'indicatore di pH rosso fenolo nei test di fermentazione con grado elevato di accuratezza.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

BBL Phenol Red Broth Base è un terreno completo senza carboidrati aggiunti, che viene usato come controllo negativo per studi di fermentazione o come base per l'aggiunta di carboidrati mediante addizione in asepsi di dischi di carboidrati **BBL Taxo**. Il digerito pancreatico di caseina fornisce le sostanze nutritive e ha un basso contenuto di carboidrati fermentabili.³ L'indicatore di pH, rosso fenolo, è utilizzato per rilevare la produzione di acido.

I terreni Phenol Red Broth, preparati con una concentrazione finale di carboidrati allo 0,5%, sono utili per la determinazione delle reazioni di fermentazione. La maggior parte dei prodotti finali della fermentazione dei carboidrati è costituita da acidi organici che in presenza di rosso fenolo fanno virare il terreno dal rosso al giallo.¹ Il gas eventualmente prodotto durante la reazione di fermentazione viene raccolto nella provetta di Durham capovolta.

La provetta di controllo non deve evidenziare alcun viraggio. In caso di viraggio, i risultati non possono essere correttamente interpretati perché l'acido è stato prodotto senza fermentazione.

VII REAGENTI

BBL Phenol Red Broth Base

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	10,0	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Rosso fenolo	0,018	g

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

Il terreno **BBL Phenol Red Broth** con carboidrati contiene i suddetti ingredienti con 5,0 g per litro del carboidrato 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

Fin dal 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 la durata raccomandata. Portare il terreno a temperatura ambiente prima di inocularlo.

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.^{2,4} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL Phenol Red Broth Base, 8 mL o
BBL Phenol Red Broth con destrosio e provetta di Durham o
BBL Phenol Red Broth con xilosio e provetta di Durham

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.

Se con il terreno **BBL Phenol Red Broth Base** si usano i dischi di carboidrati **Taxo**, inserire asetticamente il disco appropriato nelle provette prima dell'inoculo.

Usando un inoculo di rilevante entità, inoculare le provette di terreno con la crescita di una coltura pura di 18 – 24 h con l'ausilio di un'ansa da inoculo. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C per 18 – 48 h in aerobiosi o anaerobiosi a seconda del microrganismo valutato. Per un risultato negativo, possono essere necessari sino a 30 giorni di incubazione.

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

X RISULTATI

Durante il processo di incubazione, esaminare le provette non supplementate a intervalli regolari per verificare la crescita. Se le provette sono state supplementate con carboidrati, verificare la presenza di reazione acida (colore giallo) e gas (evidenziata dallo spostamento del liquido nelle provette di Durham). Per le reazioni tipiche prodotte da varie specie microbiche, consultare la documentazione appropriata.^{1,2,4-6}

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

L'uso di terreni Phenol Red Broth contenenti carboidrati facilita la differenziazione microbica. Ai fini dell'identificazione finale, possono essere necessari altri test biochimici nonché caratteristiche morfologiche e tipizzazione sierologica. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione appropriata.^{2,4-6}

XII PERFORMANCE

Phenol Red Broth con destrosio

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL Phenol Red Broth** con destrosio. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente con colture di *Shigella flexneri* ATCC 9199, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 ed *Escherichia coli* ATCC 25922 cresciute da 18 – 24 h in **BBL Trypticase Soy Agar** con sangue di montone al 5%. Le provette vengono incubate per 2 giorni – con i tappi non completamente avvitati – a 35 – 37 °C in aerobiosi. Con *E. coli*, si osservano reazione acida (viraggio dal rosso al giallo) e produzione di gas. Con *S. flexneri*, viene osservata soltanto una reazione acida, mentre con *P. aeruginosa*, non si osserva alcuna reazione.

Phenol Red Broth con xilosio

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Phenol Red Broth con xilosio. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente con colture di *Morganella morganii* ATCC 8019, *Salmonella choleraesuis* (ssp. *choleraesuis* sierotipo Typhimurium) ATCC 14028, *S. choleraesuis* (ssp. *choleraesuis* sierotipo Paratyphi A) ATCC 9150 ed *Escherichia coli* ATCC 25922 cresciute da 18 – 24 h su **BBL Trypticase Soy Agar** con sangue di montone al 5%. Le provette vengono incubate per 2 giorni – con i tappi non completamente avvitati – a 35 – 37 °C in aerobiosi. Con *E. coli* e *S. typhimurium*, si osservano reazione acida (viraggio dal rosso al giallo) e produzione di gas, mentre con *M. morganii* e *S. paratyphi A*, non si osserva alcuna reazione.

Phenol Red Broth Base

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Phenol Red Broth Base. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente con colture di *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, *Proteus vulgaris* ATCC 8427 e *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303 cresciute da 18 – 24 in **BBL Trypticase** Soy Agar con sangue di montone al 5%. Le provette vengono incubate per 2 giorni – con i tappi non completamente avvitati – a 35 – 37 °C in aerobiosi ed esaminate per verificare l'eventuale viraggio. Tutti i microrganismi producono una reazione alcalina (nessun viraggio).

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. N.	Descrizione
221897	BD BBL Phenol Red Broth Base, 8 mL, confezione da 10 provette di misura K
221677	BD BBL Phenol Red Broth con destrosio e provetta di Durham, confezione da 10 provette di misura K €
221705	BD BBL Phenol Red Broth con xilosio e provetta di Durham, confezione da 10 provette di misura K €

XIV BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Vera, H.D., 1950. Relation of peptones and other culture media ingredients to accuracy of fermentation tests. Am. J. Public Health, 40:1267-1272.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
6. 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..

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



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