



BBL Rapid Fermentation Medium, Base
BBL Rapid Fermentation Medium, Dextrose
BBL Rapid Fermentation Medium, Lactose
BBL Rapid Fermentation Medium, Maltose
BBL Rapid Fermentation Medium, Sucrose

L007491 • Rev. 09 • Gennaio 2011

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Rapid Fermentation Medium (terreno di fermentazione rapida BBL) è usato per la differenziazione di *Neisseria* spp. in base ai pattern di fermentazione dei carboidrati.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Inoculare le provette depositando un'ansa completa (ansa calibrata da 0,01 mL) di inoculo sotto la superficie del terreno e mescolare accuratamente. Come inoculi, usare la crescita a 18 – 24 h di piastra agar cioccolato II o di slant agar cioccolato II.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ in aerobiosi senza supplementazione con anidride carbonica.
2. Esaminare le provette a intervalli regolari dopo 4 h per verificare la produzione di acido (colore giallo). Continuare l'incubazione nel corso della notte, se necessario.
3. Risultati attesi

Produzione di acido da:

**Neisseria gonorrhoeae*Solo destrosio
ATCC 43070
**Neisseria meningitidis*.....Destrosio e maltosio
ATCC 13090
**Neisseria lactamica*Destrosio, maltosio e lattosio
ATCC 23970
**Neisseria sicca*Destrosio, maltosio e saccarosio
ATCC 29193

Il terreno base è negativo con tutti 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.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $7,3 \pm 0,2$.
4. Incubare a $20 - 25^\circ\text{C}$ e a $30 - 35^\circ\text{C}$ le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Rapid Fermentation Medium (terreno di fermentazione rapida BBL) è usato per la differenziazione rapida di ceppi di *Neisseria* spp. isolati da campioni clinici.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La presenza di *Neisseria gonorrhoeae* in siti extra-genitourinari ha reso importante differenziare questi microrganismi da altre *Neisseria* spp.^{1,2} L'isolamento di *N. meningitidis* e *N. lactamica* da siti genitourinari è un'ulteriore indicazione della necessità di differenziare queste specie.¹⁻³

La metodica classica di differenziazione di *Neisseria* spp. si basa sulla determinazione dei rispettivi pattern di utilizzo dei carboidrati. Le specie patogene di *Neisseria* sono microrganismi estremamente esigenti a livello di crescita e attività metaboliche e richiedono pertanto un terreno di coltura arricchito. Il terreno arricchito tradizionale usato per la determinazione dell'utilizzo dei carboidrati è il Cystine Trypticase Agar (CTA Medium) contenente carboidrati allo

0,5 – 1%.³ La serie per il test comprende destrosio, lattosio, maltosio e saccarosio e l'identificazione può di norma essere eseguita in 24 h.

Il terreno **BBL Rapid Fermentation Medium** è una modifica del terreno **CTA Medium** standard. La formula modificata comprende un maggiore contenuto di agar e carboidrati che, all'esposizione a un numero elevato di microrganismi, determina un viraggio acido dell'indicatore rosso fenolo. Un'identificazione può spesso essere eseguita in 4 h.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il terreno Rapid Fermentation Medium è una modifica del terreno **CTA Medium** che rileva rapidamente la produzione di acido da parte di destrosio, lattosio, maltosio e saccarosio. Sebbene numerosi riscontri in lettura citino i pattern di fermentazione di *N. gonorrhoeae*, è stato dimostrato che questa specie metabolizza il destrosio mediante meccanismi strettamente aerobi, ossia tramite una combinazione delle vie Entner-Doudoroff e pentosio fosfato. L'utilizzo del destrosio da parte di *N. gonorrhoeae*, come indicato dal viraggio acido nell'indicatore di pH nel terreno, è dovuto alla produzione di acido acetico e di piccole quantità di acido lattico.⁴ Un test negativo per i carboidrati deriva dalla deaminazione del peptone in assenza di carboidrati utilizzabili.

VII REAGENTI

Rapid Fermentation Medium, Base

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Cistina	0,5	g
Digerito pancreatico di caseina	20,0	g
Agar	3,5	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Solfito di sodio	0,5	g
Rosso fenolo	0,017	g

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

Il terreno **BBL Rapid Fermentation Medium** con destrosio, lattosio, maltosio o saccarosio contiene i suddetti ingredienti con 20 g/L del carboidrato appropriato.

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. Attendere che il terreno si porti 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.^{5,6} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

Rapid Fermentation Medium, Base o
Rapid Fermentation Medium, Dextrose o
Rapid Fermentation Medium, Lactose o
Rapid Fermentation Medium, Maltose o
Rapid Fermentation Medium, Sucrose

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.

1. Rimuovere un'ansa completa di crescita di colonia fresca dalla superficie dello slant o della piastra di agar cioccolato II. Usare un inoculo consistente al fine di ottenere una reazione rapida.
2. Depositare l'inoculo sotto la superficie del terreno e mescolare con cura.
3. Ripetere questa procedura per ogni provetta da inoculare.
4. Incubare tutte le provette a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ in aerobiosi senza anidride carbonica. Dopo 4 h, esaminare a intervalli regolari se si verificano le reazioni riportate più avanti. Continuare l'incubazione nel corso della notte, se necessario. Alcuni ceppi possono richiedere sino a 48 – 72 h 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

1. Dopo l'incubazione, comparare le reazioni prodotte dagli isolati sconosciuti a quelle prodotte dai microrganismi di controllo conosciuti. Le reazioni negative sono rosse. Una reazione positiva è indicata dal viraggio dell'indicatore rosso fenolo dal rosso al giallo. Le culture di controllo devono produrre i risultati riportati nella tabella. Se i risultati delle culture di controllo non concordano con quelli riportati nella tabella, riesaminare la procedura, controllare le culture di controllo mediante colorazione di Gram e test dell'ossidasi e ripetere il test di fermentazione, se necessario.
2. Se entro 4 h non si osservano reazioni positive per i carboidrati, è possibile incubare le provette per una notte o più a lungo allo scopo di consentire lo sviluppo di una reazione positiva.
3. Per una guida all'interpretazione delle reazioni, consultare la tabella.³

Produzione di acido da:

	Base*	Destrosio	Lattosio	Maltosio	Saccarosio
<i>N. gonorrhoeae</i>	–	+	–	–	–
<i>N. meningitidis</i>	–	+	–	+	–
<i>N. lactamica</i>	–	+	+	+	–
<i>N. sicca</i>	–	+	–	+	+

+ = Acido (giallo); – = nessuna reazione (rosso)

*La base non contiene carboidrati ed è inclusa allo scopo di indicare un errore del sistema, come per esempio un residuo di carboidrati da un terreno di isolamento primario.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Ai fini di un'identificazione completa, si raccomanda l'esecuzione di altri test. Membri dei generi *Kingella* e *Moraxella* nonché specie commensali di *Neisseria* possono talvolta essere isolati da pazienti con infezioni tradizionalmente associate a *N. gonorrhoeae*.³

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.⁵⁻⁷

XII PERFORMANCE

Rapid Fermentation Medium, Dextrose

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL** Rapid Fermentation Medium, Dextrose. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente usando la crescita di colonie fresche dalla superficie di una piastra **BBL** Chocolate II Agar con *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43070, *N. meningitidis* ATCC 13090, *N. lactamica* ATCC 23970 e *N. sicca* ATCC 29193. Le provette vengono incubate a $35 - 37^\circ\text{C}$ in aerobiosi ed esaminate dopo 4 h. Con tutti i microrganismi, viene osservata una reazione positiva (viraggio dal rosso al giallo). Per ottenere una reazione più forte, è possibile incubare le provette per una notte.

Rapid Fermentation Medium, Lactose

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL** Rapid Fermentation Medium, Lactose. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente usando la crescita di colonie fresche dalla superficie di una piastra **BBL** Chocolate II Agar con *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43070, *N. meningitidis* ATCC 13090, *N. lactamica* ATCC 23970 e *N. sicca* ATCC 29193. Le provette vengono incubate a $35 - 37^\circ\text{C}$ in aerobiosi ed esaminate dopo 4 h. Con *N. lactamica* viene osservata una reazione positiva (viraggio dal rosso al giallo), mentre con i microrganismi restanti si osserva una reazione negativa (nessun viraggio). Per ottenere una reazione più forte, è possibile incubare le provette per una notte.

Rapid Fermentation Medium, Maltose

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL** Rapid Fermentation Medium, Maltose. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente usando la crescita di colonie fresche dalla superficie di una piastra **BBL** Chocolate II Agar con *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43070, *N. meningitidis* ATCC 13090, *N. lactamica* ATCC 23970 e *N. sicca* ATCC 29193. Le provette vengono incubate a 35 – 37°C in aerobiosi ed esaminate dopo 4 h. Viene osservata una reazione positiva (viraggio dal rosso al giallo) con tutti i microrganismi a eccezione di *N. gonorrhoeae*, che è negativo per la fermentazione del maltosio (nessun viraggio). Per ottenere una reazione più forte, è possibile incubare le provette per una notte.

Rapid Fermentation Medium, Sucrose

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL** Rapid Fermentation Medium, Sucrose. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente usando la crescita di colonie fresche dalla superficie di una piastra **BBL** Chocolate II Agar con *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43070, *N. meningitidis* ATCC 13090, *N. lactamica* ATCC 23970 e *N. sicca* ATCC 29193. Le provette vengono incubate a 35 – 37°C in aerobiosi ed esaminate dopo 4 h. Con *N. sicca* viene osservata una reazione positiva (viraggio dal rosso al giallo), mentre con i microrganismi restanti si osservano reazioni negative (nessun viraggio). Per ottenere una reazione più forte, è possibile incubare le provette per una notte.

XIII DISPONIBILITÀ

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

221890	BBL Rapid Fermentation Medium, Base, confezione da 10 provette di misura K
221891	BBL Rapid Fermentation Medium, Dextrose, confezione da 10 provette di misura K
221893	BBL Rapid Fermentation Medium, Lactose, confezione da 10 provette di misura K
221894	BBL Rapid Fermentation Medium, Maltose, confezione da 10 provette di misura K
221895	BBL Rapid Fermentation Medium, Sucrose, confezione da 10 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Flynn, J., and S.A. Waitkins. 1972. A serum-free medium for testing fermentation reactions in *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Pathol. 25:525-527.
2. Morse, S.A., and L. Bartenstein. 1976. Adaptation of the Minitek system for the rapid identification of *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 38:13.
3. Knapp, J.S., and R.J. Rice. 1995. *Neisseria* and *Branhamella*, p. 324-340. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Morse, S.A., S. Stein, and J. Hines. 1974. Glucose metabolism in *Neisseria gonorrhoeae*. J. Bacteriol. 120:702-714.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
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.

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

 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, CTA Medium and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD