



BBL Schaedler Broth with Vitamin K₁



L007496 • Rev. 10 • Gennaio 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

BBL Schaedler Broth (brodo Schaedler **BBL**) con vitamina K₁ è un terreno universale arricchito per la coltivazione di microrganismi aerobi e anaerobi esigenti.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Riscaldare le provette in acqua bollente* e lasciare raffreddare, con i tappi avvitati, prima dell'uso.
***NOTA:** Si sconsiglia l'uso del forno a microonde.
2. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Inoculare le provette con 1,0 mL di diluizioni contenenti non oltre 1000 UFC/mL per tutti i microrganismi, eccetto *Clostridium novyi* A, le cui provette devono essere inoculate con 1,0 mL di diluizioni contenenti 1×10^5 – 1×10^6 UFC/mL. Preparare le diluizioni usando colture di 18 – 24 h di **Trypticase** Soy Broth di ceppi di *Stafilococco* e *Streptococco* e colture di 18 – 24 h di Chopped Meat Carbohydrate Broth PR II per i microrganismi restanti.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi (ceppi di *Stafilococco* e *Streptococco*) e in anaerobiosi supplementata con anidride carbonica, così come fornita dal sistema per anaerobiosi **BD GasPak** (microrganismi aerobi obbligati).
3. Esaminare le provette dopo 7 giorni per verificare la crescita.
4. Risultati attesi

**Peptostreptococcus anaerobius* Crescita
ATCC 27337

Bacteroides fragilis Crescita
ATCC 25285

**Clostridium novyi* A Crescita
ATCC 7659

**Staphylococcus aureus* Crescita
ATCC 25923

Streptococcus pneumoniae Crescita
ATCC 6305

*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. 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

Il terreno **BBL** Schaedler Broth è usato per la coltivazione di microrganismi aerobi e anaerobi esigenti.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Schaedler et al.¹ hanno sviluppato varie formulazioni di terreni per la crescita di microrganismi anaerobi esigenti quali lattobacilli, streptococchi, clostridia e *Bacteroides*. Mata et al.² hanno modificato i terreni Schaedler correggendo il contenuto di peptone, aumentando la concentrazione di cloruro di sodio, riducendo la quantità di destrosio e diminuendo il livello di estratto di lievito.³ Il brodo Schaedler ha la stessa formula di Schaedler Agar, ma è privo di agar.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Questo terreno è altamente nutritivo grazie al contenuto di peptoni, destrosio ed estratto di lievito. L'emina fornisce il fattore X necessario per numerosi microrganismi esigenti.

L'incorporazione della vitamina K₁ come additivo consente la crescita di *Prevotella melaninogenica* e ha una funzione stimolante per altre specie di *Bacteroides* e microrganismi gram-positivi non

sporigeni.^{4,5} Il tipo di microrganismo recuperato in questo terreno liquido dipende dall'ambiente di incubazione (aerobiosi, aerobiosi supplementata con anidride carbonica o anaerobiosi).

VII REAGENTI

BBL Schaedler Broth with Vitamin K₁

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	8,2	g
Digerito peptico di tessuto animale	2,5	g
Digerito papaico di farina di soia	1,0	g
Destrosio	5,8	g
Estratto di lievito	5,0	g
Cloruro di sodio	1,7	g
Fosfato dipotassico	0,8	g
L-cistina	0,4	g
Emina	0,01	g
Vitamina K ₁	0,01	g
TRIS (idrossimetil) aminometano	3,0	g

*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.

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 norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".^{6,9} 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.^{10,11} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL Schaedler Broth with Vitamin K₁

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.

Inoculare il campione direttamente nel brodo.

Il terreno liquido per l'incubazione in anaerobiosi deve essere ridotto prima dell'inoculo ponendo le provette – con i tappi non completamente avvitati – in aerobiosi (sistema per anaerobiosi **BD GasPak** o equivalente) per 18 – 24 h prima dell'uso. In alternativa, il terreno liquido può essere ridotto immediatamente prima dell'uso bollendo* le provette con i tappi non completamente avvitati e lasciandole raffreddare con i tappi ben avvitati a temperatura ambiente prima dell'inoculo.

Incubare le provette e/o i flaconi a 35 ± 2 °C nell'atmosfera appropriata (aerobiosi, anaerobiosi o con supplementazione di anidride carbonica) per un massimo di 7 giorni.

***NOTA:** Si sconsiglia l'uso del forno a microonde.

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.

X RISULTATI

La crescita nelle provette è indicata dalla presenza di torbidità rispetto al controllo non inoculato.

In caso di crescita, esaminare le colture mediante colorazione di Gram ed eseguire subcolture su terreni appropriati (es. piastra TSA II e/o agar cioccolato II, piastra LEMB Agar o MacConkey II Agar, ecc.). Qualora si sospetti la presenza di anaerobi obbligati, incubare le subcolture in anaerobiosi (sistema per anaerobiosi **BD GasPak EZ**).

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.¹⁰⁻¹²

I terreni di coltura contengono talvolta microrganismi morti derivati dai componenti del terreno, che possono essere visibili negli strisci da terreni di coltura. Altre fonti di microrganismi morti visibili alla colorazione di Gram includono reagenti di colorazione, olio di immersione, vetrini e gli stessi campioni usati per l'inoculo. In caso di incertezza sulla validità della colorazione di Gram, reincubare la coltura per un'altra ora o due e ripetere il test prima di eseguire il referto.

XII PERFORMANCE

Stalons et al.¹³, dopo aver esaminato nove brodi, hanno classificato il brodo Schaedler come il terreno più efficiente per la crescita di batteri anaerobi obbligati, con incubazione in anaerobiosi.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

221541 **BD BBL** Schaedler Broth with Vitamin K₁, confezione da 10 provette di misura K

221542 **BD BBL** Schaedler Broth with Vitamin K₁, scatola da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
5. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. 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.
13. Stalons, D.R., C. Thornsberry, and V.R. Dowell, Jr. 1974. Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 27:1098-1164.

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