



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

BBL SIM (Sulfide Indole Motility) Medium (terreno SIM – Solfuro Indolo Motilità) è usato per determinare produzione di solfuro, formazione di indolo e motilità dei microrganismi enterici.

II PROCEDURA DEL TEST

- Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - Svitare parzialmente i tappi, bollire e raffreddare prima dell'uso.
 - Inoculare le provette facendo penetrare un ago diritto al centro del terreno, sino a circa la metà della sua profondità, usando diluizioni 10^{-1} di colture di 18 – 24 h in **Trypticase Soy Broth**.
 - Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
- Esaminare le provette dopo 18 – 24 e 42 – 48 h per verificare crescita, motilità e solfuro.
- Dopo 48 h, eseguire il test per la produzione di indolo. Dispensare 0,2 mL di reagente di Kovacs all'interno delle provette. Osservare se si sviluppa una colorazione rosa – rossa (reazione positiva).
- Risultati attesi

	H ₂ S	Indolo	Motilità
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	–	+	+
* <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sierotipo Typhimurium ATCC 13311	+	–	+
* <i>Shigella sonnei</i> ATCC 9290	–	–	–

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

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

- Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
- Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
- 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 SIM Medium** è usato per differenziare i bacilli enterici in base alla produzione di solfuro, alla formazione di indolo e alla motilità.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Produzione di acido solfidrico, formazione di indolo e motilità sono caratteristiche distintive che facilitano l'identificazione delle *Enterobacteriaceae*, soprattutto di *Salmonella* e *Shigella*. Il terreno SIM è pertanto utile nel processo di identificazione dei patogeni enterici.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Gli ingredienti del terreno SIM consentono di determinare le tre attività che permettono la differenziazione dei batteri enterici. Il tiosolfato di sodio e il solfato ferroso di ammonio sono indicatori della formazione di acido solfidrico. Il solfato ferroso di ammonio reagisce con il gas H₂S formando solfuro ferroso, un precipitato nero.¹ Il peptone di caseina è ricco di triptofano, che viene attaccato da alcuni microrganismi con conseguente produzione di indolo. L'indolo si rileva aggiungendo reagenti chimici dopo una fase di incubazione. La rilevazione della motilità è possibile grazie alla natura semisolida del terreno. La diffusione della crescita oltre la linea di inoculo centrale indica che il microrganismo testato è motile.

VII REAGENTI

BBL SIM Medium

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	20,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	6,1 g
Solfato ferroso di ammonio	0,2 g
Tiosolfato di sodio	0,2 g
Agar	3,5 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.

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 – 25 °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.^{2,3} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL SIM Medium

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.

Svitare parzialmente i tappi, bollire e raffreddare prima dell'uso. Usando un inoculo leggero di una coltura pura, penetrare con un ago da inoculo sino al punto centrale della distanza dal fondo al centro della provetta. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C, per 18 – 48 h, 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 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

Dopo l'incubazione, osservare se vi è motilità (crescita diffusa oltre la linea di inoculo o torbidità in tutto il terreno) e se si è sviluppato H₂S (annerimento lungo la linea di inoculo). Per rilevare la produzione di indolo, dispensare tre – quattro gocce di reagente di Kovács² e osservare se si sviluppa una colorazione rossa (reazione positiva).

Per le attività di microrganismi specifici, consultare la documentazione appropriata.⁴⁻⁶

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.²⁻⁶

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di BBL SIM Medium.

Campioni rappresentativi del lotto vengono testati con colture in **Trypticase** Soy Agar diluite 10⁻¹ di *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Shigella sonnei* (ATCC 9290), penetrando al centro del terreno, sino a circa metà della profondità, con un ago da inoculo. Le provette vengono incubate con i tappi non completamente avvitati a 35 ± 2 °C ed esaminate dopo 18 – 24 h e 42 – 48 h per verificare crescita, motilità, formazione di indolo e produzione di solfuro. La crescita di tutti i microrganismi è moderata – intensa entro 48 h. *E. coli* ed *Salmonella* Typhimurium sono entrambi motili, come evidenziato dal pattern di crescita del microrganismo nel terreno: la crescita si sviluppa cioè a partire dalla linea centrale di inoculo e si diffonde uniformemente in tutto il terreno.

S. sonnei non è motile: la crescita è infatti evidente soltanto lungo la linea centrale di inoculo. Soltanto *Salmonella* Typhimurium è positivo per la produzione di acido solfidrico, indicata dall'annerimento del terreno. Dopo 48 h di incubazione, si dispensano 0,2 mL di reagente di Kovács in ogni provetta. Soltanto *E. coli* è positiva per la formazione di indolo, indicata dallo sviluppo di una reazione rosa – rosa scuro nel terreno nella provetta.

XIII DISPONIBILITÀ

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

221010	BD BBL SIM Medium, confezione da 10 provette di misura K
--------	--

221011	BD BBL SIM Medium, cartone da 100 provette di misura K
--------	--

XIV BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.) 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
5. 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.
6. 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.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.