BBL GN Broth

L007455 • Rev. 13 • Ottobre 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

I INTRODUZIONE

BBL GN (Gram Negative) Broth è un terreno selettivo di arricchimento per la coltivazione di microrganismi enterici gram-negativi.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
   a. Con l'ausilio di anse calibrate sterili da 0,01 mL, inoculare le provette con diluizioni 10^{-1} di colture di 18–24 h di **Trypticase** Soy Broth.
   b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
2. Dopo 18–24 h di incubazione, eseguire una subcoltura di tutte le provette in piastre MacConkey II Agar. Incubare le piastre in aerobiosi a 35 ± 2 °C per 18–24 h e verificare la crescita.
3. Risultati attesi

   Microrganismi di controllo CLSI (ceppi ATCC)

**Salmonella entrica* ssp. *enterica* sierotipo Typhimurium (14028)	MacConkey II Agar Crescita su subcoltura dopo 24 h.
**Shigella sonnei* (9290)	MacConkey II Agar Crescita su subcoltura dopo 24 h.
**Escherichia coli* (25922)	MacConkey II Agar Crescita su subcoltura dopo 24 h.

*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

BBL GN Broth è usato per l'arricchimento selettivo di *Salmonella* e *Shigella*.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il brodo GN (gram-negativi) è stato concepito da Hajna come terreno di arricchimento per il recupero di *Salmonella* e *Shigella* da campioni clinici.[1,2] Croft e Miller sono riusciti a isolare un maggior numero di ceppi di *Shigella* usando questo terreno anziché lo striscio diretto.[3] Taylor e Schelhart hanno dimostrato la capacità del brodo GN di migliorare l'isolamento di patogeni enterici, producendo un aumento del 53% per *Shigella* e del 36% per *Salmonella* rispetto allo striscio diretto.[4]
L'uso del brodo GN è raccomandato nell'esame microbiologico degli alimenti.[5]

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I digeriti enzimatici di caseina e tessuto animale forniscono aminoacidi e altre sostanze azotate per supportare la crescita batterica. Il mannitolo e il destrosio sono fonti di energia. Il mannitolo è fornito in una concentrazione più elevata di quella del destrosio per migliorare la crescita delle specie fermentanti il mannitolo, quali *Salmonella* e *Shigella* e limitare quella di *Proteus* e altri batteri fermentanti il destrosio. Per mantenere il pH del terreno, sono stati incorporati tamponi fosfato. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Il citrato di sodio e il desossicolato di sodio sono aggiunti per inibire i batteri gram-positivi e alcuni gram-negativi.

VII REAGENTI

BBL GN Broth

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	10,0	g
Digerito peptico di tessuto animale	10,0	g
Destrosio	1,0	g
D-mannitolo	2,0	g
Citrato di sodio	5,0	g
Desossicolato di sodio	0,5	g
Fosfato dipotassico	4,0	g
Fosfato monopotassico	1,5	g
Cloruro di sodio	5,0	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 GN Broth

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.

Inoculare il brodo non appena i campioni pervengono in laboratorio. I campioni su tampone possono essere inseriti direttamente nel brodo. In caso di campioni fecali, usare 1 g di feci o 1 mL di feci liquide per provetta. Per informazioni sul trattamento e l'inoculo di altri campioni clinici o di campioni alimentari, consultare la documentazione appropriata.[5,10-12]

Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 °C ed eseguire una subcoltura su terreni selettivi e differenziali dopo 6–8 h di incubazione e nuovamente dopo 18–24 h di incubazione.[13]

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Ciascun lotto di terreno è stato testato utilizzando organismi per il controllo di qualità appropriati, e tali test soddisfano le specifiche di prodotto e gli standard CLSI, ove opportuno. Come di consueto, i test di controllo qualità devono essere eseguiti in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o nazionali vigenti, nonché ai requisiti di certificazione e/o alle procedure standard di controllo di qualità del laboratorio specifico.

X RISULTATI

La crescita nel brodo è evidenziata dalla comparsa di torbidità rispetto al controllo non inoculato. Per isolare i patogeni per l'identificazione, eseguire una subcoltura su terreni selettivi e differenziali appropriati.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I brodi di arricchimento non devono essere usati come unico terreno di isolamento. Essi vanno usati insieme a terreni in piastra selettivi e non selettivi per aumentare le probabilità di isolamento di patogeni, soprattutto allorché presenti in quantità limitate. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.[5,10-12]

XII PERFORMANCE

In uno studio, Taylor e Schelhart hanno comparato tre brodi di arricchimento (GN, Selenite e Silliker) con tre terreni in piastra (EMB, SS e XLD) per determinare una combinazione di terreno in grado di migliorare la rilevazione di *Shigella*.[14] Nel corso di questo studio, sono stati complessivamente testati 1.405 campioni fecali, da cui si è rilevata una distribuzione di 158 isolati di *Salmonella* e 49 di *Shigella*. I brodi di arricchimento hanno fornito un aumento di due volte nell'isolamento di *Salmonella* e *Shigella* rispetto ai terreni in piastra. Tutti i brodi hanno dato performance ugualmente buone per la rilevazione di *Salmonella*, sebbene i brodi GN e di Silliker abbiano rilevato il doppio di isolati di *Shigella* rispetto al brodo Selenite.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221729	**BD BBL** GN Broth, 8 mL, confezione da 10 provette di misura K
221730	**BD BBL** GN Broth, 8 mL, cartone da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. *13*:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. *13*:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. Am. J. Clin. Pathol. *26*:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol. *48*:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, 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. Yolken (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. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. Appl. Microbiol. *16*:1383-1386.

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