



BBL Selenite-F Broth



L007497 • Rev. 12 • ottobre 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

I INTRODUZIONE

BBL Selenite-F Broth (brodo **BBL** selenite F) è un terreno di arricchimento per l'isolamento di *Salmonella* e di alcune specie di *Shigella*.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
 - a. Usando pipette sterili da 1,0 mL, inoculare le provette con 1,0 mL di colture di 18 – 24 h di *Salmonella* Typhimurium e *Shigella sonnei* in **Trypticase** Soy Broth diluite per contenere 10^2 – 10^3 UFC/mL.
 - b. In ciascuna delle provette inoculate come sopra, dispensare 1,0 mL di una coltura TSB di 18–24 h di *Escherichia coli* diluita per contenere 10^2 – 10^3 UFC/mL. Includere una provetta non inoculata di Selenite-F Broth nella subcoltura e durante l'incubazione come controllo della crescita.
 - c. Vortexare accuratamente tutte le provette.
2. Incubare tutte le provette, con i tappi non completamente avvitati, a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica per 18–24 h. Dopo l'incubazione, vortexare le provette e strisciare le piastre MacConkey II Agar con un'ansata di ciascuna provetta.
3. Incubare le piastre MacConkey II Agar a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica per 18–24 h. Esaminare le piastre MacConkey II Agar per verificare l'entità della crescita dei microrganismi lattosio-positivi (colonie rosa) e lattosio-negativi (colonie incolori).
4. Risultati attesi

Microrganismi di controllo CLSI (ceppi ATCC)

Isolamento su Agar MacConkey II

* <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sierotipo Typhimurium (14028)	Crescita moderata – rilevante di colonie incolori
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Crescita moderata – rilevante di colonie incolori
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inibizione parziale – completa (colonie rosa)

NOTA: Il controllo della crescita non evidenzia alcuna crescita su MacConkey II Agar.

*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 $7,0 \pm 0,2$.
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.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

BBL Selenite-F Broth è un terreno di arricchimento per l'isolamento di *Salmonella* da feci, urina, acqua, alimenti e altri materiali di rilevanza sanitaria.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il brodo Selenite-F Broth è stato concepito da Leifson,¹ che ha dimostrato che la selenite, grazie alla capacità di inibire coliformi e altre specie microbiche – quali gli streptococchi fecali, presenti in campioni fecali – è utile nella rilevazione di specie di *Salmonella*. Leifson ha riscontrato che i ceppi inibiti sono destinati a evidenziarsi ugualmente, ma che se le subcolture sono allestite da brodo di arricchimento dopo 8 – 12 h di incubazione, l'isolamento di *Salmonella* è possibile senza impedire la crescita di numerosi componenti della flora intestinale.

I terreni di arricchimento sono impiegati routinariamente per la rilevazione in campioni fecali di patogeni, in quanto questi ultimi di norma rappresentano soltanto una piccola percentuale della flora intestinale. L'uso del brodo Selenite-F Broth e del terreno correlato, Selenite Cystine Broth, è raccomandato nel recupero di salmonella con subcolture eseguite dopo 12 – 18 h di incubazione. Per la rilevazione di *Shigella*, un buon terreno di arricchimento è il GN Broth.² Il terreno Campylobacter Thioglycollate Medium con 5 antibiotici è raccomandato per i campioni sospettati di contenere *Campylobacter jejuni* quando si prevede la presenza di quantità limitate di microrganismi a causa di ritardi nel trasporto al laboratorio o del superamento della fase acuta della malattia.³

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il peptone caseina fornisce i composti essenziali a base di azoto e carbonio. Il lattosio nel terreno serve a mantenere un pH uniforme. Allorché la selenite viene ridotta dalla crescita dei batteri, si verifica una produzione di alcali con conseguente aumento di pH che a sua volta diminuisce la tossicità della selenite determinando un eccesso di crescita di batteri estranei. L'acido prodotto dalla fermentazione del lattosio serve a mantenere un pH neutro o leggermente ridotto. La funzione del fosfato è duplice: serve infatti a mantenere un pH stabile e a ridurre la tossicità della selenite, aumentando così la capacità del terreno. La selenite di sodio inibisce numerose specie di batteri gram-positivi e gram-negativi, inclusi enterococchi e coliformi.

VII REAGENTI

BBL Selenite-F Broth

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	5,0	g
Lattosio	4,0	g
Selenite di sodio	4,0	g
Fosfato di sodio	10,0	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".⁴⁻⁷ 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.^{8,9} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL Selenite-F 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.

Per feci e altri materiali solidi, sospendere 1 o 2 g di campione nel brodo (circa 10 – 15% per volume) ed emulsionare con un ago da inoculo, se necessario.

Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C per 24 h. Eseguire le subcolture dopo 12 – 18 h di incubazione, se possibile. La crescita dei coliformi tende a superare quella dei patogeni in caso di incubazione superiore a 24 h.

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.

Per determinare fotometricamente il pH dei terreni in provetta, usare un singolo elettrodo di dimensioni sufficientemente ridotte da permetterne l'inserimento nelle provette. Posizionare la punta dell'elettrodo al di sotto della superficie del brodo.

X RISULTATI

Dopo l'incubazione, deve registrarsi un aumento della quantità di patogeni che il terreno è destinato a selezionare e arricchire. Eseguire la subcoltura su terreni selettivi e differenziali appropriati (es. MacConkey Agar, Hektoen Enteric Agar, XLD Agar, XLT4 Agar e **CHROMagar Salmonella**) per isolare i patogeni per l'identificazione.

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. 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.⁸⁻¹⁰

XII PERFORMANCE

In uno studio condotto da Kelly et al.,¹¹ 8.717 campioni di feci sono stati inviati in laboratorio e sottoposti a coltura. I campioni sono stati inoculati direttamente su XLD Agar e nel brodo di arricchimento Selenite. Dopo 12 – 18 h, il brodo Selenite è stato messo in subcoltura in XLD Agar. Ceppi di *Salmonella enterica* sono stati identificati in 312 (3,6%) campioni fecali, 197 dei quali (63%) da casi precedentemente diagnosticati e 115 (37%) da casi di nuova identificazione. Dei 115 nuovi isolati di *S. enterica*, 68 sono stati recuperati sia dalla piastra primaria XLD che dal brodo Selenite, sebbene soltanto 47 (41%) siano cresciuti dopo l'arricchimento con Selenite.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

221020 BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, confezione da 10 provette di misura K

221021 BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, scatola da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. 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.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. 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.
6. 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.
7. 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.

8. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. 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.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

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