

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

BBL SF (*Streptococcus faecalis*) Broth (brodo SF **BBL**) è un terreno selettivo per la rilevazione degli streptococchi fecali.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, inoculare le provette con colture standardizzate in **Trypticase** Soy Broth, di 18 – 24 h, in modo da ottenere $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ UFC/mL.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a $45,5 \pm 0,5$ °C in aerobiosi.
 - c. Includere provette di **Trypticase** Soy Broth come controlli non selettivi per tutti i microrganismi.

2. Esaminare le provette dopo 18 – 24 e 42 – 48 h per verificare la crescita e le reazioni. È possibile che si debba attendere 48 h per ottenere i risultati attesi.

3. Risultati attesi

**Enterococcus faecalis*Crescita, reazione acida (gialla)

ATCC 29212

**Enterococcus hirae*Crescita, reazione acida (gialla)

ATCC 10541

**Streptococcus bovis*Crescita o assenza di crescita;

ATCC 33317 in caso di crescita, nessuna reazione acida.

**Streptococcus pyogenes*Crescita o assenza di crescita;

ATCC 19615 in caso di crescita, nessuna reazione acida.

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

N.B.: Questo terreno è esente dai test di controllo qualità a cura dell'utilizzatore ai sensi della norma CLSI M22-A3.

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 brodo **BBL SF** (*Streptococcus faecalis*) Broth è usato per la differenziazione di *Enterococcus* spp. dal gruppo *Streptococcus bovis* e da altri streptococchi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La formulazione del brodo SF è stata sviluppata da Hajna e Perry¹ in seguito al loro studio comparativo dei terreni – presuntivi e di conferma – per la rilevazione di coliformi e streptococchi fecali. L'uso di questo brodo è stato raccomandato per la rilevazione – nelle acque e in altri materiali – della presenza di streptococchi come indice di inquinamento. L'uso del brodo SF in batteriologia sanitaria è stato sostituito da terreni maggiormente selettivi raccomandati nei correnti compendi di metodiche di esame di acque e alimenti.²⁻⁴

Ai fini di microbiologia diagnostica, il brodo SF è utile nella differenziazione degli enterococchi dagli streptococchi. Colture pure di streptococchi vengono inoculate nel brodo SF per determinare se la coltura da esaminare è un enterococco.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il peptone di caseina e il destrosio forniscono le sostanze nutritive necessarie per la crescita degli enterococchi. La sodio azide esercita un effetto batteriostatico sui batteri gram-

negativi tramite l'azione inibitoria sugli enzimi nel sistema di trasporto degli elettroni. Il porpora di bromocresolo funge da indicatore di pH.

VII REAGENTI

BBL SF Broth

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	20,0	g
Destrosio	5,0	g
Fosfato dipotassico	4,0	g
Fosfato monopotassico	1,5	g
Sodio azide	0,5	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Porpora di bromocresolo	0,032	g

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

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

La sodio azide può reagire con il piombo o il rame delle tubature, formando azidi metalliche che sono esplosive per detonazione da contatto. Per evitare l'accumulo di azidi nelle tubature, fare scorrere abbondante acqua negli scarichi subito dopo l'eliminazione dei rifiuti.

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 aseptiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

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.^{5,6} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL SF 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 aseptiche.

Inoculare le provette di terreno con una coltura pura del microrganismo da testare.

Incubare le provette per 24 – 48 h a 45,5 ± 0,5 °C 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

Una reazione positiva è indicata da torbidità e colorazione gialla-marrone dovuta alla fermentazione del destrosio nonché dal conseguente viraggio dell'indicatore porpora di bromocresolo. Una reazione negativa è indicata dall'assenza di viraggio nel color porpora del terreno.

Streptococchi che danno reazioni positive

E. faecalis

E. faecium

E. hirae

Streptococchi che danno reazioni negative

S. bovis

S. equinus

S. mitis

S. salivarius

Specie streptococciche non gruppo D

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.⁵⁻⁷

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL SF** (*Streptococcus faecalis*) Broth. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con colture 1×10^7 – 1×10^8 UFC/mL di *Streptococcus bovis* (ATCC 33317), *S. pyogenes* (ATCC 19615), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ed *E. hirae* (ATCC 10541) insieme a controlli non selettivi in **Trypticase Soy Broth**. Le provette inoculate vengono incubate a $45,5 \pm 0,5$ °C. Le provette di controllo contenenti **Trypticase Soy Broth** vengono incubate a 35 ± 2 °C, con i tappi non completamente avvitati. Dopo 18 – 24 h e 42 – 48 h di incubazione, si esaminano tutte le provette. Gli enterococchi danno una crescita moderata – intensa e sviluppano una reazione acida (colore giallo – marrone). Gli streptococchi possono essere inibiti; in caso contrario, non si sviluppa una reazione acida. Tutte le colture di controlli non selettivi in **Trypticase Soy Broth** evidenziano crescita moderata – intensa.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

221712 **BBL SF Broth**, cartone da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Hajna, A.A., and C.A. Perry. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. Am. J. Public Health, 33:550-557.
2. Marshall (ed.). 1993. Standard methods for the examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
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 and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2011 BD.