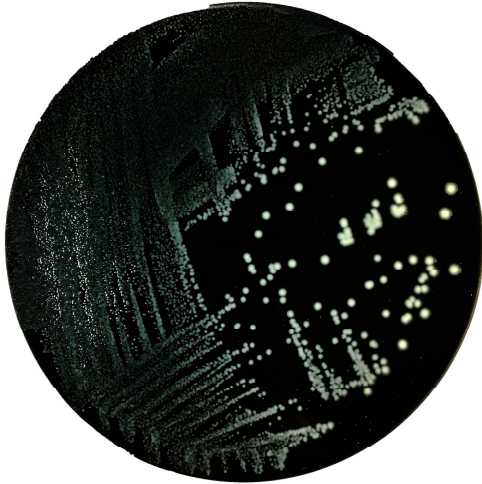




CAMPYLOBACTER BLOOD FREE AGAR (KARMALI)

Piastre pronte all'uso



Campylobacter coli su piastra di
Campylobacter Blood Free Agar (Karmali),

DESTINAZIONE D'USO

Piastre pronte all'uso con terreno selettivo per l'isolamento dei *Campylobacter* termofili da campioni clinici e da altri materiali.

FORMULA TIPICA*

Peptocomplex	10,000 g
Triptosio	10,000 g
Peptone	3,000 g
Amido di mais	1,000 g
Sodio cloruro	5,000 g
Carbone vegetale	4,000 g
Ematina	0,032 g
Sodio piruvato	0,100 g
Cicloeximide	0,100 g
Cefoperazone	0,032 g
Vancomicina	0,020 g
Agar	14,000 g
Acqua purifica	1000 ml

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno Campylobacter Blood Free Agar (Karmali), preparato come terreno pronto per l'uso in piastra aggiungendo al terreno di base Campylobacter Blood Free Medium Base Karmali il supplemento selettivo Karmali Antimicrobic Supplement, è indicato per l'isolamento di *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari* dalle feci e da altri campioni.

Per primi Bolton e Coates hanno studiato la possibilità di sostituire il sangue lisato o defibrinato con una varietà di sostanze atte a stimolare la crescita di *Campylobacter*, ad incrementarne l'aerotolleranza e ad inibire i composti tossici che si formano durante la crescita. Il terreno completo qui proposto, rispecchia la formulazione del substrato selettivo descritto da Karmali e coll. e risulta costituito dal Columbia Agar Base, da una miscela di sostanze antimicrobiche e da supplementi che agiscono quali chelanti dei derivati dell'ossigeno generati per via fotochimica e tossici per *Campylobacter*.

Gli agenti selettivi del terreno sono la vancomicina con spiccata attività inibitoria nei confronti dei batteri Gram positivi, il cefoperazone che prevalentemente sopprime la crescita dei Gram negativi e la cicloeximide, inclusa quale composto antifungino. I componenti del terreno che sostituiscono il sangue nell'aumentare l'aerotollerabilità dei campylobacter sono il carbone vegetale, l'ematina ed il sodio piruvato.

Karmali e Coll. in uno studio comparativo con il terreno selettivo di Skirrow riportano i seguenti risultati:

- 1) Il terreno privo di sangue qui descritto consente una crescita di *Campylobacter* spp., seminati in coltura pura, quantitativamente e qualitativamente simili a quella ottenuta su terreno non selettivo (agar sangue)
- 2) Rispetto al terreno di Skirrow, su una casistica di 1227 campioni di feci di pazienti con diarrea, si registra un notevole incremento nell'isolamento di *Campylobacter* in coltura pura: 36,7% per il terreno di Skirrow, 85,3% per il substrato Karmali
- 3) Rispetto al terreno di Skirrow, vi è una forte diminuzione nel ritrovamento di contaminanti Gram positivi, di *Pseudomonas* spp., di lieviti ed un incremento nell'isolamento degli enterobatteri. Quest'ultimo risultato è dovuto, secondo gli autori citati, ad una resistenza al cefoperazone delle *Enterobacteriaceae* dipendente dall'inoculo. Con una semina non pesante delle feci sulle piastre si ha un significativo miglioramento della selettività verso questi microrganismi.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO IN PIASTRA

Aspetto: terreno opaco di colore nero.

pH finale a 25 °C: 7,4 ± 0,2

MATERIALI FORNITI

Piastre pronte all'uso di Campylobacter Blood Free Agar (Karmali).

MATERIALI NON FORNITI

Anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori, materiali per la generazione dell'atmosfera di incubazione controllata, termostato e strumentazione di laboratorio.

**CAMPIONI**

Possono essere utilizzati campioni clinici quali feci o tamponi rettali o non clinici; applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.

PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente. Eseguire la semina con le seguenti modalità:

- Feci solide: emulsionare circa 0,5 g di campione in 3 ml di acqua peptonata o di soluzione fisiologica sterile, vortexare bene quindi inoculare sulla piastra 3-5 gocce.
- Feci liquide: inoculare 3 gocce sulla superficie della piastra.
- Tamponi rettali: strisciare il tampone direttamente sulla superficie della piastra.

Per tutti i campioni comunque strisciare sui 4 quadranti della piastra per ottenere colonie isolate

Incubare a 42°C in atmosfera microaerofila (10% CO₂; 5-6% O₂; 84-85% N₂) per 24-48 ore.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica delle colonie. *Campylobacter jejuni* cresce con colonie piccole, mucose, piatte con bordi irregolari. Le colonie tendono a sciamare. Se l'esame delle piastre viene effettuato alle 24 ore, riportarle al più presto in atmosfera microaerofila per l'incubazione delle successive 24 ore.

L'identificazione presuntiva dei *Campylobacter* termofili ed enteropatogeni può essere fatta sulla base delle positività al test dell'ossidasi ed alla mobilità caratteristica a fresco.

Per una identificazione completa fare riferimento al lavoro di Penner riportato in bibliografia. Nel caso si renda necessario eseguire l'arricchimento del campione, operare secondo le istruzioni riportate nella scheda tecnica di *Campylobacter* Enrichment Broth (551977).

L'identificazione completa dei microrganismi coltivati sul terreno deve essere effettuata con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa, dopo purificazione delle colonie con subcoltura su terreno appropriato.

CONTROLLO QUALITÀ

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>C.jejuni</i> ATCC 33291	42°C / 24h / M	buona crescita
<i>C.coli</i> ATCC 43478	42°C / 24h / M	buona crescita
<i>E.coli</i> ATCC 25922	37°C / 24h / A	crescita parzialmente o totalmente inibita
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	37°C / 24h / A	crescita inibita

A: incubazione in aerobiosi; M: incubazione in microaerofilia

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Le piastre pronte di *Campylobacter* Blood Free Agar (Karmali) sono state valutate in una sperimentazione clinica su 198 coproculture avendo come riferimento il terreno CCDA Preston (Varoli et al.). In 8 campioni è stato rinvenuto *Campylobacter* spp. su entrambi i terreni ma, mentre sul terreno Karmali 5 volte è stato ritrovato in coltura pura, sul terreno CCDA Preston è stato ritrovato solo 2 volte. Non sono state trovate differenze significative tra i due terreni per quanto riguarda la crescita di flora microbica contaminante di lieviti e di bacilli Gram negativi; differenze significative, a favore del terreno Karmali, sono state calcolate per quanto riguarda l'inibizione dei batteri Gram positivi.

LIMITI DEL METODO

- Per una ottimale procedura d'isolamento dei *Campylobacter* termofili è raccomandabile abbinare al terreno Karmali un secondo terreno selettivo.
- Il terreno in piastra qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene peptoni di origine animale. Scaricare da sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire i rifiuti in accordo alla legislazione vigente in materia.



Biolife

Scheda tecnica - foglio istruzioni

N°ST-541283.doc rev 3 2017/05/17 pag. 3 di 3

- Non utilizzare le piastre con l'imballaggio deteriorato. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, colore alterato)
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

BIBLIOGRAFIA

- Bolton, F. J., Coates, D. (1983) J. App. Bact. 54, 115-125.
- Karmali, M.A., Simor, A.E., Roscoe, M., Fleming, P.C., Smith, S.S., Lane, J. (1986) J. Clin. Microbiol. 21, 456-59
- Penner, J.L. (1988) Clin. Microbiol. Rev., 1, 157 - 172.
- Varoli, O., Gatti M. (1989) Comunicazione personale.

CONFEZIONE

541283 **CAMPYLOBACTER BLOOD FREE AGAR (KARMALI)**

2 x 10 piastre ø 90 mm, confezionate in film plastico / scatola di cartone

CODICE CND: W0104010405 - RDM: 1443736/R



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.