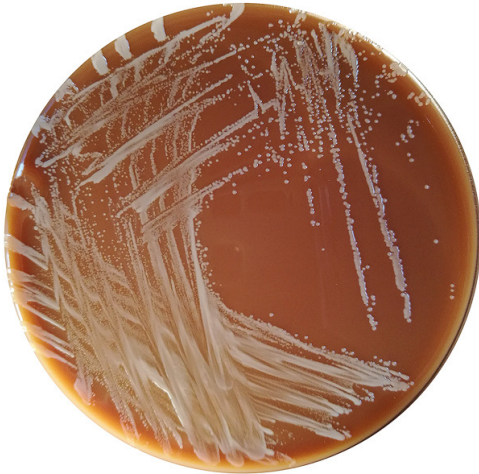




MODIFIED THAYER MARTIN (MTM) AGAR

Piastre pronte all'uso



Modified Thayer Martin Agar:
colonie di *Neisseria gonorrhoeae*

DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo per l'isolamento di *Neisseria* spp. da campioni clinici.

FORMULA TIPICA*

Peptocomplex	15,0 g
Amido	1,0 g
Potassio fosfato bibasico	4,0 g
Potassio fosfato monobasico	1,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Glucosio	1,5 g
Agar	12,0 g
Sangue sterile di montone	50,0 ml
Biovitex	10,0 ml
Vancomicina	3,0 mg
Colistina	7,5 mg
Nistatina	12500,0 IU
Trimetoprim	5,0 mg
Acqua purificata	1000,0 ml

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

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno è raccomandato dall'ASM e dal CDC per l'isolamento delle neisserie da campioni clinici ed è preparato in accordo alla formula di Thayer e Martin modificata da Martin e Lester sulla scorta delle osservazioni sull'impiego del trimetoprim lattato nel sopprimere la crescita e la sciamatura dei protei. Martin e coll. in uno studio comparativo tra terreno di Thayer Martin e terreno di Thayer Martin modificato hanno trovato che con quest'ultimo vi è un aumento del 10% nell'isolamento del gonococco nei pazienti femminili. MTM Medium è stato inoltre trovato particolarmente indicato nell'esame dei "tamponi rettali", nei quali più alta è la contaminazione da protei.

Il Modified Thayer Martin (MTM) Agar è preparato aggiungendo al GC Medium Base, sangue defibrinato di montone 5% cotto per formare "agar cioccolato", glucosio 0.15%, il supplemento selettivo VCNT (vancomicina, colistina, nistatina, trimetoprim), l'arricchimento chimicamente definito Biovitex,

Peptocomplex è una fonte di azoto per la crescita microbica, l'amido è un neutralizzante degli acidi grassi, tossici per lo sviluppo delle colonie, il sangue di montone cotto a 80°C rilascia emina (fattore V) necessaria alla crescita di *Haemophilus* spp., il Biovitex fornisce NAD (fattore X), aminoacidi, vitamine, glucosio, ioni ferro e coenzimi che stimolano la crescita; il terreno inoltre contiene glucosio quale fonte di carbonio ed un sistema tampone costituito dai sali di potassio. La vancomicina inibisce i contaminanti Gram positivi, la colistina i batteri Gram negativi, la nistatina i funghi, il trimetoprim la crescita e la sciamatura dei protei.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO IN PIASTRA

Aspetto: terreno opaco di colore marrone.

pH finale a 25 °C: 7,2 ± 0,2

MATERIALI FORNITI

Piastre pronte all'uso di Modified Thayer Martin (MTM) Agar.

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 tutti i tipi di campioni clinici (es tampone vaginale, tampone faringeo) contenenti microflora contaminante; essi devono essere seminati sulla superficie del terreno in piastra. 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. Ruotare il tampone con il quale è stato raccolto il campione su un'area ristretta della piastra, quindi strisciare con un'ansa su quattro quadranti della piastra, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate. In alternativa eseguire una semina a forma di una larga "Z" con il tampone di raccolta del campione, per scaricare il più possibile il materiale dal tampone quindi, con un'ansa sterile, strisciare incrociando la "Z". Incubare le piastre inoculate con il materiale in esame a 35-37°C in atmosfera umida con il 5-10% CO₂, per 24 ore e, in caso di piastre negative, per ulteriori 48 ore.



LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica delle colonie. Su piastre di Modified Thayer Martin (MTM) Agar le colonie di *Neisseria gonorrhoeae* sono mucose, piccole bianco-grigiastre-incolori.

L'identificazione completa dei microrganismi coltivati sul terreno deve essere effettuata con metodologie 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>N.gonorrhoeae</i>	ATCC 43069	37°C / 24H / CO ₂	buona crescita,
<i>N.sicca</i>	ATCC 9913	37°C / 24H / CO ₂	crescita parzialmente inibita
<i>S. epidermidis</i>	ATCC 12228	37°C / 24H / CO ₂	crescita inibita
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	37°C / 24H / CO ₂	crescita inibita
<i>P.mirabilis</i>	ATCC 43071	37°C / 24H / CO ₂	crescita inibita
<i>C.albicans</i>	ATCC 60193	37°C / 24H / CO ₂	crescita inibita

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

LIMITI DEL METODO

- La crescita sul terreno qui descritto dipende dalle esigenze metaboliche e di resistenza di ciascun microrganismo agli antibiotici presenti; è possibile che alcuni ceppi di *N.gonorrhoeae* sensibili alla vancomicina non siano in grado di coltivare sul terreno. Viceversa è possibile che microrganismi "saprofiti", resistenti agli antimicrobici presenti nel terreno, possano sviluppare delle colonie.
- E' sconsigliabile l'impiego di questo terreno per l'isolamento di *Neisseria* da siti sterili (es. liquido cefalorachidiano) per i quali sono consigliabili terreni non selettivi (es. Chocolate Agar Enriched e/o brodi arricchiti per microrganismi esigenti)
- Per la crescita di *N.gonorrhoeae* è necessario che la superficie delle piastre sia umida; nel caso si presentassero secche, umidificare con qualche goccia di acqua distillata sterile.
- Su questo terreno *N.gonorrhoeae* coltiva con colonie più piccole e più granulari rispetto all'agar cioccolato senza antimicrobici.
- I gonococchi sono tra i batteri Gram negativi più fragili, per fenomeni di autolisi. E' importante impiegare adeguati sistemi per il trasporto del campione in Laboratorio, eseguire la semina il più presto possibile e non protrarre l'incubazione oltre i tempi previsti. Esaminare le piastre ogni 24 ore e, in caso di sviluppo di colonie procedere alla subcoltura ed all'identificazione, possibilmente entro le 24 ore di incubazione.
- Sebbene il terreno qui descritto sia inibitorio per le neisserie non patogene, è stato riportato che *Neisseria lactamica* è in grado di sviluppare colonie sul terreno Thayer Martin (Edberg)
- Eseguire gli appropriati test diagnostici per la completa identificazione dei microrganismi coltivati sul terreno di coltura.
- 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 sangue animale. Anche se esso è raccolto in ambiente controllato, da animali sani e con la supervisione veterinaria, è comunque consigliabile maneggiare le piastre con le precauzioni adeguate, considerandole come potenzialmente infettive.
- 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.
- 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.



Biolife

Scheda tecnica - foglio istruzioni

N°ST-541522.doc rev 3 2017/05/11 pag. 3 di 3

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

- Edberg S.C. (1974) The growth of *Neisseria lactamica* in media selective for *Neisseriaceae*. *Am. J. Clin. Path.* 62:445,
- Kellogg D.S., Holmes, K.K., Hill G.A. (1976) *Laboratory Diagnosis of Gonorrhoea*. Cumitech 4, American Society for Microbiology. Washington, D.C.
- Mac Faddin, J.F. (1985) *Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Martin, J.E. and Lester, A. (1971) Transgrow, a medium for transport and growth of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. *HSMHA Health Reports*. 86, 30-33.
- Martin, J.E., Armstrong J.H., Smith P.B. (1974) New system for cultivation of *N. gonorrhoeae* *App. Microbiol.* 27, 802-805.
- Memor, Recom.to use the same medium, MTM in both plates and bottles for the GC Cul. *Scr. Prog., CDC, Atlanta, GA, 1975.*
- Morello J.A. and M. Bohnhoff. *Neisseria and Branhamella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, 3rd Ed. 1980, pg. 111-130.
- Seth, A. (1970) Use of trimethoprim to prevent overgrowth by *Proteus* in the cultivation of *N. gonorrhoeae*. *Brit. J. Vener. Dis.* 46, 201-202.
- Thayer J.D. and Martin J.E. (1966) Improved Medium for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. *Public Health Reports*. 81, 559-562.
- U.S. Pub. Hlth. Service, CDC, Veneral Dis. Br.: *Criteria and Techniques for the Diagnosis of Gonorrhoea*, 1971.

CONFEZIONE

541522 MODIFIED THAYER MARTIN (MTM) MEDIUM

2 x 10 piastre ø 90 mm, confezionate in film plastico / scatola di cartone
CODICE CND: W0104010405 – RDM: 1444712/R



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