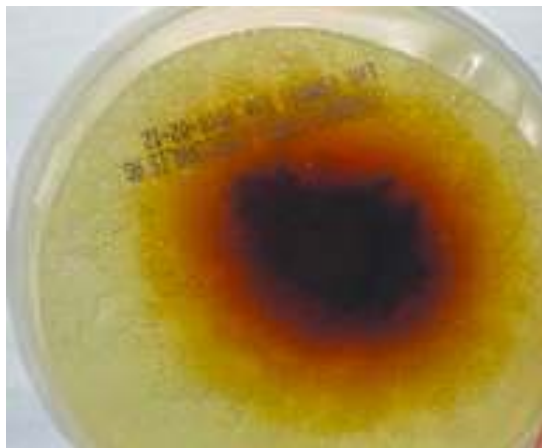


ISTRUZIONI PER L'USO

STRONGYLOIDES STERCORALIS AGAR

Piastre pronte all'uso


Strongyloides Stercoralis Agar: colonie formatesi per la migrazione di larve dal centro alla periferia della piastra

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale per evidenziare le larve di *Strongyloides stercoralis* e di altri nematodi intestinali, da campioni fecali.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Peptone	10 g
Estratto di carne	5 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	15 g
Acqua purificata	1000 mL

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La strongiloidiasi è diffusa nelle zone tropicali, sub-tropicali e in alcune aree temperate, Italia compresa. Il parassita ha un ciclo vitale che lo rende molto peculiare. L'uomo viene infestato con la penetrazione attraverso la cute delle larve L3 (stadio infestante) di *Strongyloides stercoralis*. I sintomi possono passare inosservati, ma in genere si tratta di dolori addominali, crisi asmatiche, deperimento organico, prurito generalizzato e lesioni varie sulla pelle.¹

Il metodo colturale tende ad essere più sensibile rispetto ad altri metodi diagnostici e, ad eccezione dei metodi molecolari, è attualmente il metodo di scelta.²

Strongyloides Stercoralis Agar è un terreno nutritivo d'uso generale contenete peptoni, sodio cloruro ed agar. Se presenti nel campione fecale, le larve strisciano serpeggiando sull'agar, verso l'esterno, per la ricerca di sostanze nutritive. Così facendo portano con sé i batteri fecali, creando in tal modo tracce visibili sull'agar (colonie microbiche).²

Le piastre vengono esaminate al microscopio per la conferma della presenza delle larve, la superficie dell'agar viene quindi lavata con formalina al 10% e la conferma finale dell'identificazione larvale viene effettuata mediante esame del sedimento dal lavaggio con formalina.^{1,2}

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in piastra
pH (20-25°C)

limpido di colore giallo
7,2 ± 0,2

5 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Strongyloides Stercoralis Agar CND: W0104010405 ; EDMA 14.01.04.01; RDM: 1455555/R	Piastre pronte all'uso	546550	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio, anse, aghi, tamponi sterili da microbiologia, formalina 10%, microscopio ottico.

7 - CAMPIONI

Il terreno può essere seminato direttamente con le feci raccolte dal paziente. Le feci devono fresche e conservate a temperatura ambiente senza l'uso di preservanti, per un massimo di 24 ore. Ai fini di una corretta diagnosi, può essere necessario analizzare più campioni fecali (mediante 3), possibilmente raccolti a giorni alterni.³ Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica o antiparassitaria. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.^{4,5}

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

- Prevalere una piastra dal frigorifero e portarla a temperatura ambiente. Lasciare asciugare la superficie del terreno e, se necessario far evaporare l'eccesso di acqua presente sulla superficie dell'agar, ponendo in termostato la piastra leggermente scoperta.
- Porre al centro dell'agar circa 3-5 grammi di feci. Se le feci sono liquide, miscelarle (1:1) con carbone vegetale.
- Chiudere la piastra con nastro adesivo.
- Incubare la piastra per 2-5 giorni a 26-33°C al riparo della luce.
- Esaminare la piastra al microscopio ottico (meglio capovolta allo stereo-microscopio) utilizzando se possibile un filtro verde (utilizzare obiettivi a 3.2, a 10 ed eventualmente anche a 40x).
- In presenza di larve (in caso anche adulti), ovvero dei solchi da esse tracciati, forare il coperchio della piastra utilizzando le punte riscaldate di una pinzetta.
- Erronare, attraverso il foro effettuato, la superficie dell'agar con 5-10 mL di formalina al 10% (le larve sono infettive). Usando la massima attenzione si può operare anche a piastra scoperta per agevolare la raccolta del liquido di lavaggio (che inattiva peraltro i





nematodi).

- Trasferire la formalina di lavaggio in una provetta da 12 o 15 mL con fondo conico, centrifugare (2 minuti a 550 g), eliminare il surnatante ed esaminare il sedimento al microscopio (10x e 40x).

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La sospetta presenza di nematodi è indicata dalla comparsa di tracce di colonie batteriche che si irradiano dal campione fecale verso l'esterno della piastra

IDENTIFICAZIONE DELLE LARVE

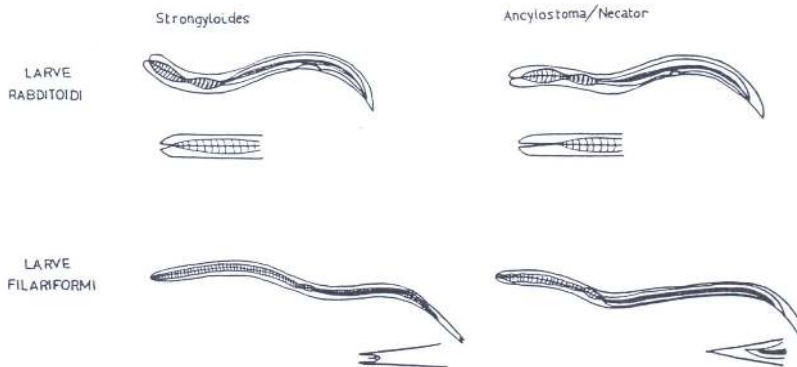
A - Caratteristiche delle larve di elminti: *S.stercoralis* e ancilostomidi:

LARVE RABTIDOIDI

	<i>Strongyloides</i>	<i>Ancylostoma/Necator</i>
GRANDEZZA	200-300 X 15-18 µm.	100-150 X 15-17 µm
CAVITA' BUCCALE	corta (4 µm)	lunga (15 µm)
ESOFAGO	1/3 della lunghezza del corpo, con due strozzature	1/3 della lunghezza del corpo, con due strozzature
ABBOZZO GENITALE	grande (22 µm)	piccolo (7 µm)
PORO ANALE	a 50 µm dalla coda	a 80 µm dalla coda

LARVE FILARIFORMI

	<i>Strongyloides</i>	<i>Ancylostoma/Necator</i>
GRANDEZZA	500 X 14-20 µm	500 X 14-20 µm
GUAINA	assente	presente
CODA	a 2-3 punte o smussata	appuntita
ESOFAGO	1/2 della lunghezza del corpo, senza strozzature	1/3 della lunghezza del corpo, senza strozzature



B. Caratteristiche delle larve di elminti: *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale* e *Trichostrongylus* spp.:

LARVE RABDITOIDI
Pressoché indistinguibili

LARVE FILARIFORMI

	<i>N. americanus</i>	<i>A. duodenale</i>	<i>Trichostrongylus</i> spp
cuticola	Sorpassa di molto il corpo della larva con fine striatura trasversale	Sorpassa di poco il corpo della larva Liscia con strie poco evidenti	Variabile
Estremità anteriore	ovale	piana	Variabile
Esofago con cavità orale	¼ del corpo lunga	¼ del corpo lunga	¼ del corpo corta
coda	Non affilata ma conica appuntita	Molto affilata con punta arrotondata	Solitamente molto lunga e sempre più sottile



**C. Sequenza evolutiva "in vitro":**

	Feci appena emesse	2 giorni	3-5 giorni	> 7 giorni
<i>S. stercoralis</i>	Larva rabditoide L1	Larva filariforme L2	Larva filariforme L3 Adulti (M e F)	Larva di II generazione
ancilostomidi	Uova con blastomeri	Larva rabditoide L1	Larva filariforme L2	Larva filariforme incapsulata L3

10 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio 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 del terreno.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	28-32°C / 18-24 H / A	buona crescita
<i>E. coli</i> ATCC 8739	28-32°C / 18-24 H / A	buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Strongyloides Stercoralis Agar vengono testati per la produttività con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 25923. Dopo incubazione a 28-32°C per 18-24 ore si osserva l'entità delle crescite. Tutti i ceppi mostrano e buone crescite

12 - LIMITI DEL METODO

- I metodi di raccolta e di conservazione dei campioni, così come il numero di campioni fecali esaminati sono fattori critici per l'ottenimento di risultati adeguati.^{4,6,7}
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni parassitarie. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- 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.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- 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, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. 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, rotture dell'agar, colore alterato).



**15 - BIBLIOGRAFIA**

1. Metodo Coprocoltura su Agar. Dipartimento Malattie Infettive, Tropicali e Microbiologia, IRCSS Ospedale Sacro Cuore Don Calabria, Nagra. <http://www.tropicalmed.eu/Page/WebObjects/PageTropE.woa/wa/displayPage?name=Esame+Coprocoltura+Strongyloides>
2. Garcia LS, Paltridge GP, Shimizu R. General approach for detection and identification of parasites. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019
3. Bernieri F, Casella P, Crotti D, Cutrupi V, Galli D, Di Matteo L, Raglio A. Linee Guida Operative per la diagnosi delle Parassitosi Intestinali. Micr.Medica 2005; 20, n° 1:39-46
4. Sheorey H, Biggs BA, Ryan N. Nematodes. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
5. Shimizu R, Garcia LS. Specimen Collection, Transport and Processing: Parasitology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
6. De J Inês E, et al. Efficacy of parasitological methods for the diagnosis of Strongyloides stercoralis and hookworm in faecal specimens Acta trop 2011; 120: 206-210.
7. Moustafa MA. An evaluation of the modified agar plate method for diagnosis of Strongyloides stercoralis. J Egypt Soc Parasitol . 1997;27(2):571-9.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	01/2021

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

