

**ISTRUZIONI PER L'USO****GARDNERELLA SELECTIVE AGAR****Piastre pronte all'uso**Gardnerella Selective Agar:  
*Gardnerella vaginalis***1- DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo con sangue defibrinato di montone per l'isolamento di *Gardnerella vaginalis* dal secreto vaginale.

**2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA \***

Peptocomplex	10 g
Triptosio	10 g
Peptone	3 g
Amido di mais	1 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	12 g
Sangue defibrinato di montone	50 mL
Gentamicina solfato	4 mg
Acido nalidissico	30 mg
Anfotericina B	2 mg
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**

*G. vaginalis* è un bacillo Gram negativo o Gram variabile, anaerobio facoltativo, immobile, pleomorfo, ossidasi e catalasi negativo, presente in carica bassa nel normale microbiota vaginale, insieme alla flora lattobacillare. Nella vaginosi batterica vi è uno squilibrio microbico caratterizzato da una diminuzione del numero di lattobacilli, rimpiazzati da una flora mista aerobica, anaerobica o microaerofila che include anche *G. vaginalis*.<sup>1</sup>

La diagnosi di vaginosi batterica è basata sui criteri di Amsel che sono considerati avere una accuratezza del 90% nel caso di ritrovamento di 3 o 4 delle seguenti situazioni: 1-secreto vaginale omogeneo di colore e quantità variabile, 2- pH vaginale superiore a 4,5, 3-epitelio vaginale coperto da bastoncini Gram negativi (più del 20% di cellule "clue"), 4- odore "di pesce" dopo aggiunta al secreto vaginale di KOH 10%.

Sebbene non raccomandato come test di routine nelle procedure di laboratorio, l'isolamento colturale di *G. vaginalis* è di supporto alla diagnosi di vaginosi batterica.

Gardnerella Selective Agar è preparato sulla base della miscela antimicrobica proposta da Ison<sup>4</sup> e delle osservazioni sulla validità del Columbia agar base addizionato di sangue defibrinato di montone nel sostenere una adeguata crescita di *G. vaginalis*.<sup>5</sup>

I peptoni forniscono azoto, carbonio e minerali per la crescita batterica; il sodio cloruro mantiene l'equilibrio osmotico del terreno; l'amido di mais ha la funzione di assorbire i sotto-prodotti tossici contenuti nei campioni; il sangue defibrinato di montone è incluso nel terreno per incrementare la crescita di *G. vaginalis*, sebbene non abbia la capacità di differenziarne le colonie che sono  $\beta$ -emolitiche solo su sangue umano o di coniglio. La gentamicina è un antibiotico inibitore dei batteri Gram negativi e Gram positivi diversi da *G. vaginalis*<sup>4</sup>, l'acido nalidissico sopprime la flora Gram negativa, l'anfotericina B è un antifungino.

**4 - CARATTERISTICHE FISICHE**

Aspetto	rosso, opaco
pH finale a 20-25 °C	7,3 ± 0,2

**5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Gardnerella Selective Agar CND: W0104010405; EDMA: 14.01.04.01; RDM: 1444007/R	Piastre pronte all'uso	549993	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

**6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, materiali per la generazione di una atmosfera di incubazione con CO<sub>2</sub> o incubatore a CO<sub>2</sub>, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

**7 - CAMPIONI**

Le piastre di Gardnerella Selective Agar possono essere seminate direttamente con il tampone vaginale. È consigliabile effettuare due tamponi, uno per eseguire la colorazione di Gram, l'altro per l'isolamento colturale.<sup>3</sup>

Applicare le norme di buona prassi di laboratorio (GLP) per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.<sup>6</sup>

**8 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Ruotare il tampone con il quale è stato raccolto il campione su un'area ristretta accanto al bordo della piastra, quindi strisciare con un'ansa sterile sui quattro quadranti per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate.

Incubare a 35-37°C per 44-48 ore in atmosfera con CO<sub>2</sub> al 5-7%





### 9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie. Su piastre di Gardnerella Selective Agar *G. vaginalis* coltiva con piccole colonie bianche (< 0.5 mm) prive di zona di  $\beta$ -emolisi.

### 10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

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, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>G.vaginalis</i> ATCC 14018	35-37°C / 44-48H / CO <sub>2</sub>	buona crescita, colonie senza $\beta$ -emolisi
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	35-37°C / 44-48H / CO <sub>2</sub>	crescita inibita
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C / 44-48H / CO <sub>2</sub>	crescita inibita

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 Gardnerella Selective Agar e delle materie prime impiegate per la produzione (terreno in polvere Columbia Agar Base REF 401136 addizionato di sangue defibrinato di montone e di Gardnerella Selective Supplement REF 4240019) vengono testati per la produttività e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con il ceppo target *G.vaginalis* ATCC 14018. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48 ore in atmosfera con CO<sub>2</sub> al 5-7%, sono valutate le cariche microbiche e se esse sono comparabili nei due lotti, i risultati sono giudicati conformi alle specifiche.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate, con metodo Miles Misra modificato, appropriate diluizioni di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 di ceppi non-target: *E.faecalis* ATCC 29212, *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *P.mirabilis* ATCC 10005, *L.acidophilus* d'isolamento clinico, *C.albicans* ATCC 10231. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48 ore in atmosfera con CO<sub>2</sub> al 5-7%, la crescita di *S.aureus*, *E.coli*, *L.acidophilus*, risulta totalmente inibita, mentre la crescita di *E.faecalis*, *P.mirabilis* e *C.albicans* risulta parzialmente inibita.

### 12 - LIMITI DEL METODO

- Il terreno Gardnerella Selective Agar, non contenendo sangue umano o di coniglio, non si presta all'identificazione presuntiva delle colonie attraverso l'osservazione della  $\beta$ -emolisi.
- Il ritrovamento di *G. vaginalis* in un campione vaginale non indica necessariamente che l'organismo isolato sia la causa dell'infezione.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura 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 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 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](http://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.
- 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 le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://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. Public Health England. Investigation of Genital Tract and Associated Specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. 2017, B 28 Issue 4.6.
2. Colonna C, Steelman M. Amsel Criteria. *In* Statpearls. StatPearls Publishing; Last update, July 1, 2019
3. Funke G, Bernard KA. Coryneform Gram-Positive Cocci. *In* Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.474
4. Ison CA, Dawson SG, Hilton J, Csonka GW, Easmon CSF. Comparison of culture and microscopy in the diagnosis of Gardnerella vaginalis infection. *J. Clin. Pathol* 1982; 35:550
5. Catlin BV. Gardnerella vaginalis: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5:213
6. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing; Bacteriology. *In* Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b> Numero di catalogo	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> 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	11/2020

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

