

**ISTRUZIONI PER L'USO****HERELLEA AGAR****Piastre pronte all'uso**Herellea Agar: *A.calcoaceticus***1 - DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno per la coltivazione, l'isolamento e la differenziazione dei batteri Gram negativi non fermentanti e fermentanti. Particolarmente adatto per la differenziazione di *Acinetobacter* spp. (precedentemente *Herellea*) in campioni uretrali e vaginali.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Peptocomplex	10,00 g
Triptone	15,00 g
Peptone di soia	5,00 g
Sodio cloruro	5,00 g
Lattosio	10,00 g
Maltosio	10,00 g
Sali biliari n.3	1,25 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g
Agar	16,00 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

Herellea Agar è stato formulato da Mandel, Wright e McKinnon¹ nel 1964 come terreno selettivo per migliorare l'isolamento degli organismi *Mima* ed *Herellea* nei campioni di pazienti con gonorrea, in presenza di un gran numero di cocchi Gram-positivi e bastoncini Gram negativi (di solito membri della famiglia *Enterobacteriaceae*) frequentemente riscontrati nelle secrezioni uretrali e vaginali.

Herellea Agar è usato per l'isolamento, la coltivazione e la differenziazione dei batteri Gram negativi fermentanti e non fermentanti il lattosio ed il maltosio ed è particolarmente raccomandato per la differenziazione di *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola* (includere insieme nelle specie *Acinetobacter*) da *Neisseria gonorrhoeae* in campioni uretrali e vaginali.²

I peptoni di caseina e di soia forniscono azoto, carbonio e altri nutrienti essenziali per la crescita batterica. L'inibizione dei batteri Gram-positivi e di *N.gonorrhoeae* è ottenuta con l'inclusione dei sali biliari n. 3. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Il lattosio e il maltosio sono carboidrati fermentabili: i batteri fermentanti producono prodotti finali acidi che inducono il viraggio dell'indicatore di pH (porpora di bromocresolo) al giallo. *Acinetobacter* spp. non fermentano i due carboidrati e crescono con colonie color lavanda, lo stesso colore del terreno. Le colonie dei batteri fermentanti i due zuccheri appaiono gialle, circondate da una zona gialla nel terreno.

4 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto	terreno limpido di colore viola-lavanda
pH finale a 20-25 °C	6,8 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Herellea Agar CND: W0104010405, EDMA: 14.01.04.0; RDM: 1444144/R	Piastre pronte all'uso	549994	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, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Possono essere utilizzati campioni clinici quali i secreti vaginali ed uretrali.^{1,2} Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

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

Inoculare con il materiale di origine clinica strisciando con l'ansa su quattro quadranti della piastra, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate assicurandosi che la semina sul quarto quadrante non si sovrapponga a quella del primo. In alternativa se il campione è seminato direttamente dal tampone di raccolta, rotolarlo su un'area ristretta in prossimità del bordo piastra, quindi strisciare su tutta la superficie del terreno con un'ansa

Incubare le piastre capovolte a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi.

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 Herellea Agar, i microrganismi coltivano con le seguenti caratteristiche:

Acinetobacter spp. (lattosio/maltosio non fermentanti): Colonie color lavanda, a volte con centro leggermente più scuro

Enterobacteriaceae (lattosio/maltosio fermentanti): Colonie gialle con alone giallo





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, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità³

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>A.calcoaceticus</i> ATCC 19606	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie color lavanda
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie gialle con alone giallo
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	34-37°C / 18-24H / A	inibito

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 Herellea Agar e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Herellea Agar REF 401543) sono testati per la produttività, la specificità e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo, con incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, con i seguenti ceppi target: *A.calcoaceticus* ATCC 19606, due *A.baumannii*, d'isolamento clinico. Le colonie dei tre ceppi appaiono di color lavanda; sono anche valutate le cariche microbiche di questi ceppi e se esse sono comparabili nei due lotti, i risultati sono giudicati conformi alle specifiche.

La specificità del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo, con incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, con *E.coli* ATCC 25922, *P.mirabilis* ATCC 12453, *S.Typhimurium* ATCC 14028 e *P.aeruginosa* ATCC 14207: le colonie di *E.coli* e di *S.Typhimurium* appaiono gialle con alone giallo, le colonie di *P.mirabilis* sono incolori e le colonie di *P.aeruginosa* sono grigio verde con il pigmento che diffonde nel terreno; sono anche valutate le cariche microbiche di questi ceppi 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 diluizioni da 10⁻¹ a 10⁻⁴ di una sospensione con densità pari a McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non-target: *L.acidophilus* d'isolamento clinico, *B.subtilis* ATCC 6633, *E.faecalis* ATCC 29212, *S.aureus* ATCC 25923: la crescita di questi ceppi è totalmente inibita.

12 - LIMITI DEL METODO

- *Pseudomonas* spp. e *Proteus* spp. non sono inibiti e, non producendo acidi dal lattosio e dal maltosio, coltivano con colonie incolori (*Proteus*) o grigio-verde (*Pseudomonas*)
- 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 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. Mandel AD, Wright K, McKinnon JM. Selective medium for isolation of Mima and Herellea organisms. J Bacteriol 1964; 88:1524
2. Ronald M. Atlas, James W. Snyder. Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology. CRC Press, 2014





3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF Numero di catalogo	 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	10/2020

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

