

ISTRUZIONI PER L'USO

SERUM TELLURITE AGAR

Piastre pronte all'uso

C. diphtheriae su Serum Tellurite Agar

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo e differenziale per l'isolamento e il rilevamento di *Corynebacterium diphtheriae* da campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Digerito pancreatico di caseina	15 g
Peptone di soia	5 g
Sodio cloruro	5 g
Agar	15 g
Siero di cavallo	50 mL
Potassio tellurito soluzione 1%	10 mL
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

 Serum Tellurite Agar è una modifica terreno di Hoyle¹, descritta nel Manuale di Tecniche Batteriologiche del Comitato Regionale per l'Ordinamento dei Servizi di Patologia². Serum Tellurite Agar è un terreno selettivo e differenziale per l'isolamento ed il rilevamento di *C. diphtheriae*, da campioni clinici.² Il terreno contiene due peptoni come fonti di azoto e carbonio, necessari per la crescita microbica. Il cloruro di sodio fornisce elettroliti essenziali e contribuisce all'equilibrio osmotico. Il siero di cavallo stimola la crescita dei corinebatteri, il potassio tellurito inibisce la crescita della maggior parte dei normali batteri Gram-negativi delle prime vie respiratorie³ ed è ridotto dai corinebatteri ed altri microrganismi con formazione di colonie grigie o nere.

4 - CARATTERISTICHE FISICHE

 Aspetto colore paglierino, limpido
 pH finale a 20-25 °C 7,3 ± 0,1

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Serum Tellurite Agar CND: W0104010405, EDMA: 14.01.04.01 EDMA: RDM: 1455471/R	Piastre pronte all'uso	549998	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

 Le piastre di Serum Tellurite Agar possono essere inoculate direttamente con campioni clinici o con colture ottenute sul terreno di Loeffler. In caso di difterite respiratoria, il materiale per la coltura deve essere raccolto su un tampone (con punta in cotone o poliestere) dall'area infiammata del rinofaringe; le membrane, se presenti e rimuovibili, devono essere inviate anche esse al laboratorio.⁴ Quando possibile, raccogliere i campioni prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente. Rotolare il tampone con il campione o con la subcoltura del terreno Loeffler su un'area ristretta della piastra di Serum Tellurite Agar, quindi strisciare con un'ansa su quattro quadranti per disperdere l'inoculo e ottenere colonie isolate. Incubare in aerobiosi a 35-37°C per 24-48 ore ma scartando le piastre come negative dopo 4 giorni di incubazione. Osservare quotidianamente per lo sviluppo delle colonie tipiche.

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

 Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie. Dopo 24-48 ore di incubazione *C. diphtheriae* coltiva con colonie grigio-nere con alone più chiaro e con bordi frastagliati, da 1 a 5 mm di diametro, con superfici spesso ruvide e talvolta lisce (forme RS). Il colore grigiastro delle colonie si intensifica con il prolungamento dell'incubazione fino a raggiungere il grigio-nero nel 4° giorno.

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
C.diphtheriae ATCC 11913
E.coli ATCC 25922

INCUBAZIONE T°/ T / ATM
35-37°C / 24-48 H / A
35-37°C / 24-48 H / A

RISULTATI ATTESI
crescita con colonie grigie
inibito

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

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo dei lotti di produzione di piastre di Serum Tellurite Agar é valutato per la produttività e la selettività.

La produttività è valutata con tecnica ecometrica semiquantitativa, inoculando le piastre con i ceppi-target *C.diphtheriae* ATCC 11913 e *C.diphtheriae* ATCC 13812. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48°C, in aerobiosi, i ceppi target mostrano una buona crescita con colonie grigie.

La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra modificato ed in ecometria, inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione con torbidità pari a McFarland 0,5 di *E.coli* ATCC 25922 e *S.aureus* ATCC 25923. Dopo incubazione a 35-37°C per 44-48 ore in aerobiosi, la crescita di *E.coli* è totalmente inibita, mentre *S.aureus* sviluppa colonie nere.

12 - LIMITI DEL METODO

- Il potassio tellurite inibisce la crescita di molti batteri non corineformi, ma anche alcuni ceppi di *C.diphtheriae* sono sensibili al composto e quindi non crescono su Serum Tellurite Agar.⁴
- La crescita su Serum Tellurite Agar e la riduzione del tellurito non sono specifiche per *C.diphtheriae* poiché molti altri corineformi e altri batteri Gram-positivi possono produrre colonie nere.⁴
- Il terreno non è inibitorio per i batteri Gram positivi: pseudodifterici, stafilococchi, streptococchi, micrococchi, listerie possono crescere con colonie bianco-grigie. *Candida* sviluppa piccole colonie bianco-grigiastre.²
- Si consiglia di inoculare, insieme al Serum Tellurite Agar, altri terreni in piastra o in provetta come Blood Agar e Loeffler Medium.^{2,3,4}
- 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 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.
- 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

- Hoyle L. A tellurite blood-agar medium for the rapid diagnosis of diphtheria. *Lancet*, 1941;1:175
- Comitato Regionale per l'Ordinamento dei Servizi di Patologia (1977) Manuale di Tecniche Batteriologiche. Giunta Regionale della Lombardia Ass. Sanità.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Bernard KA. Coryneform Gram-positive rods. In Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.



**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

 REF 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	12/2020

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

