

**ISTRUZIONI PER L'USO****ChromArt****SALMONELLA SELECTIVE SUPPLEMENT**

Supplemento selettivo

1- DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Supplemento selettivo da aggiungere al terreno Chromogenic Salmonella Agar Base, per l'isolamento e la differenziazione di *Salmonella* spp., da campioni clinici e non clinici.

2 - COMPOSIZIONE**Salmonella Selective Supplement, Vial A****Contenuto della fiala per 500 mL di terreno**

Emulsionanti 5,7 mL

Salmonella Selective Supplement, Vial B**Contenuto della fiala per 500 mL di terreno**

Cefsulodina 2,5 mg

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Salmonella Selective Supplement Vial A e Vial B, aggiunti a Chromogenic Salmonella Agar Base, possono essere utilizzati per la preparazione di un terreno completo per l'isolamento e la differenziazione di *Salmonella* spp., da campioni clinici e non clinici.

La differenziazione di Salmonella dagli altri organismi che possono crescere sul terreno è ottenuta con:

- la presenza di un substrato cromogeno (magenta caprilato) sul quale agisce una esterasi specifica di Salmonella con liberazione di un metabolita color rosso magenta.
- la presenza di un derivato cromogeno glucopiranosidico sul quale agisce la β -glucosidasi con liberazione di un metabolita color verde-blu.

La selettività del terreno è dovuta alla presenza di: cefsulodina, una cefalosporina di terza generazione che ha un'attività inibitoria molto specifica verso *P. aeruginosa* e *S.aureus*, desossicolato di sodio che sopprime la crescita dei batteri Gram-positivi e di alcuni batteri Gram-negativi e Tergitol 4, attivo principalmente contro la crescita di *Proteus* spp.

4- METODO DI PREPARAZIONE

Salmonella Selective Supplement La fiala A è pronta per l'uso.

Sciogliere il contenuto di una fiala di Salmonella Selective Supplement Vial B con 2 mL di acqua purificata sterile.

Preparare 500 mL di Chromogenic Salmonella Agar Base (REF 405350), sterilizzato in autoclave e raffreddato a 47-50 ° C ed aggiungere il contenuto di una fiala di Salmonella Selective Supplement Vial A e di una fiala di Salmonella Selective Supplement Vial B ricostituita come sopra descritto, in condizioni asettiche. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

5- CARATTERISTICHE FISICHE**Salmonella Selective Supplement, Vial A**

Aspetto della soluzione giallina, leggermente opalescente

Salmonella Selective Supplement, Vial B

Aspetto del liofilizzato pastiglia bassa, compatta, bianca

Aspetto della soluzione limpida, incolore

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Salmonella Selective Supplement CND :W01040101045; EDMA: 14.01.01.04; RDM:1892762/R	Supplemento selettivo	4240013	5 + 5 fiale ciascuna per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Chromogenic Salmonella Agar Base (REF 405350), autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

8 - CAMPIONI

Chromogenic Salmonella Agar Base addizionato di Chromogenic Salmonella Supplement è destinato all'esame batteriologico di campioni clinici come feci e tampone rettale e campioni non clinici. Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio (GLP) per la raccolta, il trasporto, la conservazione dei campioni clinici.¹ Consultare le norme applicabili per i dettagli sulla raccolta e la preparazione dei campioni alimentari e delle acque.^{2,3}

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno. Inoculare con il materiale 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.

Il massimo recupero di *Salmonella* dai campioni fecali si ottiene utilizzando un arricchimento in Selenite Broth seguito dalla semina in Chromogenic Salmonella Agar ed in un secondo terreno a selettività più bassa.

Incubare le piastre inoculate con il campione o con il campione arricchito in terreno liquido, in aerobiosi a 35-37°C per 18-24 ore.

Consultare le norme citate, per la determinazione di *Salmonella* negli alimenti e nelle acque.^{2,3}





10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie isolate. I diversi microrganismi coltivano su Chromogenic Salmonella Agar con le seguenti caratteristiche:

Microrganismo	Caratteristiche colturali
<i>Salmonella</i> spp.	buona crescita colonie color magenta
<i>Salmonella</i> spp. lac +	buona crescita colonie color magenta
<i>Salmonella</i> Typhi	buona crescita colonie color magenta
<i>E.coli</i>	crescita scarsa con colonie incolori
<i>Enterobacter</i> spp.	crescita scarsa con colonie verde-blu
<i>Klebsiella</i> spp.	crescita scarsa con colonie verde-blu
<i>Pseudomonas</i> spp	crescita generalmente inibita
<i>Proteus</i> spp.	crescita scarsa con colonie marrone chiaro
Batteri Gram positivi	crescita inibita

11 - 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
S. Typhimurium ATCC 14028	37°C / 24 h / A	buona crescita, colonie color magenta
S. Enteritidis ATCC 13076	37°C / 24 h / A	buona crescita, colonie color magenta
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	37°C / 24 h / A	crescita, colonie verdi-blu
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	37°C / 24 h / A	crescita inibita

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Chromogenic Salmonella Agar è stato valutato da Babic-Ergeg et al.⁴ su 3000 coproculture, delle quali 45 positive per *Salmonella*, avendo come riferimento il terreno SS Agar. Gli autori riportano una sensibilità del 100% ed una specificità del 99% nell'isolamento e nell'identificazione preliminare delle colonie di *Salmonella*.

In un altro studio indipendente⁵, 50 ceppi d'isolamento clinico di *Salmonella*, in coltura pura, hanno dato tutti reazioni cromatiche specifiche; tra gli altri 80 ceppi di batteri Gram negativi testati non appartenenti al genere *Salmonella*, 3 ceppi su 3 di *P.aeruginosa* e 1 ceppo su 3 di *A.baumannii* hanno fornito risultati cromatici simili a *Salmonella* spp.(colonie rosso-rosa), i restanti 76 ceppi di *Enterobacteriaceae* hanno dato reazioni cromatiche non tipiche; 20 ceppi su 20 di batteri Gram positivi sono stati totalmente inibiti.

Le prestazioni del Chromogenic Salmonella Agar sono state valutate con uno studio interno, confrontando le piastre di agar cromogeno selettivo con Hektoen Enteric Agar. Produttività, selettività e specificità sono state valutate usando 43 ceppi batterici: 8 ceppi target e 35 ceppi non target. 8 ceppi di *Salmonella*, inclusi 2 ceppi di *S.Typhi*, hanno mostrato una buona crescita con colonie rosso magenta; 3 ceppi di *Shigella* hanno mostrato una crescita più scarsa rispetto a HEA con colonie incolori; 22 ceppi di *Enterobacteriaceae* appartenenti a 9 diversi generi hanno mostrato una crescita più scarsa rispetto a HEA con colonie incolori o blu-verdi; 4 ceppi di *P.aeruginosa* sono stati totalmente inibiti; 2 ceppi di batteri non fermentanti sono stati totalmente inibiti e *A.hydrophila* è cresciuta con colonie rosso magenta; 1 ceppo Gram-positivo è stato totalmente inibito e 1 ceppo di lievito è stato parzialmente inibito mostrando colonie incolori

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di Salmonella Selective Supplement addizionato al terreno in polvere Chromogenic Salmonella Agar Base (REF 405350), vengono testati per la produttività e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività è testata mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i ceppi target *S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. Typhimurium* ATCC 14028 e *S.arizonae* ceppo clinico. Dopo incubazione a 35-37 ° C per 18-24 ore, vengono valutati e registrati il colore delle colonie e l'entità delle crescite.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate con metodo Miles Misra modificato diluizioni da 10⁻¹ a 10⁻⁶ di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 di ceppi non-target: *E.faecalis* ATCC 19433, *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 8739, *P.vulgaris* ATCC 13315, *A.calcoaceticus* ATCC 19606, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *A.hydrophila* ATCC 7966, *Mucor* sp. d'isolamento ambientale. La crescita dei ceppi non-target *E.faecalis*, *S.aureus*, *Mucor* sp, *P.aeruginosa* è totalmente inibita, la crescita di *P.vulgaris*, *A.calcoaceticus*, *A.hydrophila* è parzialmente inibita. Le colonie dei ceppi non-target mostrano il tipico colore blu-verde o sono incolori, come da specifiche. Solo *A.hydrophila* cresce leggermente con colonie rosso-magenta.

13 - LIMITI DEL METODO

- L'impiego di un unico terreno è raramente sufficiente per recuperare tutti i patogeni contenuti in un campione. È necessario pertanto utilizzare, insieme al terreno qui descritto, terreni aggiuntivi per l'isolamento di *Salmonella*, con selettività inferiore, come Mac Conkey Agar; è consigliabile anche la semina del campione su altri terreni colturali specifici per altri patogeni enterici.
- Sul terreno possono coltivare, con colonie rosso-rosa, ceppi di *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ed *Aeromonas* resistenti agli agenti antimicrobici del terreno, differenziabili da *Salmonella* con il test dell'ossidasi.
- Il tasso di crescita sulle piastre dipende anche dalle richieste nutrizionali delle salmonelle. È possibile che certi ceppi con particolari caratteristiche metaboliche non crescano sul terreno o crescono privi di colore (es. *Salmonella enterica* serovar Dublin cresce con colonie bianche).
- 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

- Salmonella Selective Supplement è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori. Il supplemento 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.
- Salmonella Selective Supplement ed il terreno di base devono essere usati in associazione secondo le indicazioni sopra descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Salmonella Selective Supplement Vial B è sottoposto a sterilizzazione con membrana filtrante.
- Porre molta attenzione nell'apertura della ghiera metallica per evitare lesioni.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il supplemento, i terreni di coltura e con gli agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione; smaltire il supplemento non utilizzato ed i terreni di coltura seminati con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare Salmonella Selective Supplement come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano e animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- 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.

15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

SALMONELLA SELECTIVE SUPPLEMENT, VIAL A

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; non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto il flacone, la soluzione deve essere usata immediatamente. Durante la conservazione si possono formare aghi o cristalli, che si dissolvono, con lieve agitazione, dopo aver riportate il reattivo a temperatura ambiente. Tale caratteristica non inficia le prestazioni del prodotto.

SALMONELLA SELECTIVE SUPPLEMENT, VIAL B

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; non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Esaminare il prodotto liofilo ed il prodotto ricostituito al momento dell'uso e scartare se vi fossero segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

L'utilizzatore è responsabile della correttezza del ciclo di produzione e di controllo dei terreni preparati in piastra e della validazione della loro shelf life, in funzione delle condizioni di conservazione (temperatura e confezionamento).

15 - BIBLIOGRAFIA

- 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.
- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella
- ISO 19250:2010 Water quality — Determination of Salmonella species
- Babic-Erceg A et al. 12th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Milan, April 24-27, 2002
- Andreoni S. et al. Microbiologia Medica, 2002.

4240013A SALMONELLA SELECTIVE SUPPLEMENT VIAL A

SDS rev 2

Regolamento (UE) 2020/878

Contiene: Sodium tetradecyl sulfate

Classificazione

Corrosione cutanea, categoria 1

Lesioni oculari gravi, categoria 1

B H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H318 Provoca gravi lesioni oculari..

Etichettatura

Pittogramma di pericolo:



Avvertenze

Pericolo

Indicazioni di pericolo:

H314

Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

Consigli di prudenza:

P260

Non respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.





- P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
- P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
- P280 Indossare guanti / indumenti protettivi e proteggere gli occhi / il viso.
- P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .
- P264 Lavare accuratamente . . . dopo l'uso.

4240013B SALMONELLA SELECTIVE SUPPLEMENT VIAL B

SDS rev 2

Regolamento (UE) 2020/878

Contiene: Cefsulodina**Classificazione**

- Sensibilizzazione respiratoria, categoria 1 H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
- Sensibilizzazione cutanea, categoria 1 H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Etichettatura

Pittogramma di pericolo:

**Avvertenze Pericolo**

Indicazioni di pericolo:

H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P261 Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 Indossare guanti protettivi.

P342+P311 In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .

P304+P340 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P333+P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P362+P364 Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	03/2022

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

