

## IMPIEGO PREVISTO

Microbank™ è un sistema pronto all'uso concepito per la conservazione a lungo termine e il recupero di ceppi batterici e fungini.

## INTRODUZIONE E SPIEGAZIONE

La possibilità di conservare i microrganismi per lungo tempo è una delle sfide più complesse in microbiologia. Microbank™ codici a barre 2D univoci consiste in una piattaforma che utilizza sferette di vetro porose e in un crioconservante appositamente formulato per la conservazione alle basse temperature. La caratteristica aggiuntiva di un codice a barre 2D univoco su ciascuna confezione e su ogni singola provetta semplifica la redazione della documentazione nonché il recupero dei propri isolati. Questa formulazione, oltre al Cryoblock Microbank™, offre la minor possibilità di alterazione dell'organismo e contemporaneamente ne consente un accesso semplice e rapido.

## DESCRIZIONE

Ciascuna provetta Microbank™ contiene circa 25 sferette colorate sterili (monocromatiche) e il crioconservante appositamente formulato. Le sferette, sottoposte a speciale trattamento, sono porose in modo tale da permettere ai microrganismi di aderire prontamente sulla superficie sferica. Per una conservazione prolungata, dopo l'inoculazione, le provette Microbank™ sono mantenute a -70°C. Quando è necessario disporre di una coltura fresca, è possibile rimuovere facilmente una singola sferetta dalla provetta Microbank™ e utilizzarla direttamente per inoculare un mezzo di coltura adatto.

I codici a barre 2D univoci riportati sulla confezione e sulle provette rappresentano un sistema di etichettatura non cancellabile e sicuro in congelatore che può essere facilmente scansionato nel proprio sistema informatico di laboratorio. Questa funzione non solo elimina il rischio di errori di trascrizione ma presenta il valore aggiunto di semplificare il recupero dal congelatore.

## MATERIALI FORNITI

- **Provette Microbank™ con crioconservante e codici a barre 2D**

N. cod	Descrizione	N. provette
PL.170C/M	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Misto (16 provette di ogni colore)	80
PL.170C/R	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Rosso	80
PL.170C/Y	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Giallo	80

PL.170C/LB	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Azzurro	80
PL.170C/G	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Verde	80
PL.170C/B	Microbank™ (con codici a barre 2D) - Blu	80

## MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

- Lettore di codici a barre 2D
- Cryoblock isolato PL.155-1 (Opzionale)
- Anse per inoculazione
- Tamponi di cotone sterili
- Standard McFarland (SD2350)
- Pipette Pasteur monouso sterili

## STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Prima dell'uso, conservare le provette Microbank™ inutilizzate a temperatura ambiente. Conservate secondo le condizioni appena descritte, le provette Microbank™ possono essere usate fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

## MISURE DI SICUREZZA

1. Osservare le precauzioni connesse al possibile rischio biologico quando si preparano nuove provette Microbank™ o se ne eliminano di usate.
2. Quando si conservano le provette Microbank™ in azoto liquido è necessario adottare le seguenti precauzioni:
  - Utilizzare sempre un apposito equipaggiamento di sicurezza.
  - Le provette Microbank™ devono sempre essere conservate nella fase gassosa dell'azoto liquido.
  - Accertarsi che la filettatura della provetta Microbank™ e il tappo a vite siano perfettamente asciutti prima della chiusura.
  - Accertarsi che il tappo della provetta Microbank™ sia ben chiuso. Non serrare eccessivamente.

## PROCEDURA

### A. INOCULAZIONE DI MICROBANK™ (CON CODICE A BARRE 2D)

1. Scansionare il codice a barre 2D presente sulla confezione di Microbank™ e annotare qualsiasi informazione rilevante nel programma di conservazione in congelatore.
2. Scansionare il codice a barre 2D presente sul lato della provetta Microbank™ e annotare qualsiasi informazione rilevante per ciascun organismo da conservare.
3. In condizioni asettiche, svitare il tappo della provetta Microbank™.
4. Utilizzando un'ansa per inoculazione sterile o un tampone di cotone raccogliere un numero sufficiente di colonie da una coltura pura per ottenere uno standard McFarland 3 - 4 nel crio-

conservante appositamente formulato. In generale è da preferirsi una coltura cresciuta nella notte (18 - 24 ore) del ceppo.

5. In condizioni asettiche, riposizionare il tappo sulla provetta Microbank™ serrandolo bene e capovolgerla 4 - 5 volte in modo da emulsionare l'organismo. **NON UTILIZZARE IL VORTEX!**
6. Lasciare riposare la provetta Microbank™ per 2 minuti in modo che il ceppo possa legarsi alle sferette. Togliere il tappo e utilizzare una pipetta Pasteur monouso sterile per rimuovere il crioconservante appositamente formulato. È necessario rimuovere dalle sferette quanto più liquido possibile.
7. Chiudere la provetta Microbank™ avvitando solo con forza. È importante non serrare eccessivamente le provette Microbank™.
8. Posizionare la provetta Microbank™ nella cassetta di conservazione appropriata in congelatore e congelare a -70°C.

## B. RECUPERO DEI CEPI BATTERICI E FUNGINI

1. Utilizzando il programma del congelatore individuare la posizione dell'isolato con cui si desidera lavorare. Scansionare il codice a barre 2D presente sul lato della provetta per accertarsi di aver recuperato il giusto isolato. Se il codice a barre è nascosto dalla brina del congelatore rimuoverla delicatamente in modo da rendere visibile il codice a barre completo.
2. Sistemare la provetta Microbank™ in un cryoblock freddo (PL.155-1).
3. In condizioni asettiche, aprire la provetta Microbank™ e, usando un ago sterile oppure delle pinzette, rimuovere una sferetta colorata. Richiudere bene la provetta Microbank™ e riporla nel congelatore il prima possibile. Variazioni eccessive di temperatura riducono la vitalità del ceppo congelato.
4. A questo punto la sferetta può essere usata per seminare direttamente un terreno solido oppure inoculata in un appropriato terreno liquido.

## AVVERTENZE

1. Microbank™ è proposto esclusivamente come strumento per la conservazione a lungo termine di ceppi batterici e fungini.
2. È necessario rispettare sempre condizioni asettiche per non compromettere l'integrità del ceppo conservato.
3. Microbank™ non deve essere usato se prima della preparazione della sospensione sono presenti le seguenti condizioni:
  - La provetta presenta segni di perdite (fuoriuscita di liquido crioconservante).
  - Il crioconservante presenta un'eccessiva torbidità che potrebbe essere indice di contaminazione.
  - È stata superata la data di scadenza riportata sull'etichetta esterna.
4. Non riversare per nessun motivo le sferette nella provetta Microbank™.
5. Le provette Microbank™ sono disponibili in vari colori. Questi colori non implicano alcuna diversa funzionalità del prodotto. I diversi colori servono solo all'utente ai fini della tracciabilità.

## PERFORMANCE DEL METODO

Fin dalla sua introduzione sul mercato Microbank™ è stato utilizzato con ottimi risultati da molti clienti per la conservazione e il recupero di batteri e funghi. I dati attuali in possesso di Pro-Lab Diagnostics sono messi a disposizione dei clienti nel Microbank™ World Wide Performance Portfolio. Il presente documento contiene un panorama esaustivo del successo riscosso dalla conservazione a lungo termine e dal recupero di molti ceppi batterici e fungini per max. 20 anni. Per richiedere una copia del portfolio contattare Pro-Lab Diagnostics.

1. Uno studio prestazionale continuativo condotto da Brazier and Hall presso il PHLS Reference Centre (U.K.) ha recentemente consacrato il successo di 10 anni di conservazione e recupero di 100 organismi anaerobi grazie al sistema Microbank™.
2. Moyes e Young, Regno Unito, del Gonococcal Reference Laboratory, hanno ottenuto un eccellente recupero utilizzando il sistema Microbank™ (98,6%) con ceppi GC dopo 12 mesi.
3. Espinal e Ingroff, Spagna, in 10 anni di studio della conservazione a lungo termine sono riusciti a conservare 6.198 (97,8%) lieviti e 391 (98,6%) muffe.
4. Killingworth, Le Roux, Lastovica, di Città del Capo, Sud Africa, hanno dimostrato l'efficacia della conservazione e del recupero di fastidiosi ceppi di *Campylobacter* ed *Helicobacter* utilizzando il sistema Microbank™.
5. Donovan, Regno Unito PHLS, è riuscito a dimostrare l'efficacia della conservazione nel sistema Microbank™ per due anni di 44 ceppi NCTC/ATCC standard conformemente ai requisiti previsti dal controllo qualità e dall'accreditamento del laboratorio.
6. Il VLA Brucella Research Laboratory (Regno Unito) ha dimostrato l'efficacia della conservazione e del recupero dopo due anni all'interno del sistema Microbank™ di ceppi rappresentativi di ciascuna sottospecie di *Brucella* tra cui il tipo più fastidioso *Brucella abortus biovar 2*.
7. McLaren e Bell, del VLA Salmonella Reference Laboratory (Regno Unito) sono attualmente in possesso di dati relativi all'efficacia della conservazione e del recupero di 312 ceppi di *Salmonella* utilizzando il sistema Microbank™ dal 1992.
8. Professoressa Valerie Edwards Jones. Università Metropolitana di Manchester (Regno Unito). Conservazione di ceppi NCTC a -20°C utilizzando Microbank™
9. Williams N.J. et al. Dipartimento di epidemiologia e di salute della popolazione, Istituto per le infezioni e la salute globale, Campus Leahurst, Neston, Regno Unito. Conservazione a lungo termine di svariati campionamenti di colture in seguito a ricerche su vasta scala di patogeni enterici zoonotici e batteri commensali.
10. D. Chandler. Istituto internazionale di ricerca orticolturale, Wellesbourne, Warwick, Regno Unito. Crioconservazione di spore fungine utilizzando Microbank™.
11. Seidel KE, Gareis M. Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, München Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Giu. 1995;108(6):215-20. Efficienza di Microbank™ nella conservazione di microorganismi di pertinenza della medicina veterinaria.
12. M. Baker e P. Jeffries. Servizio di microbiologia del Kent orientale, Ospedale William Harvey, Kennington Road, Ashford, Kent. Dipartimento di Bioscienze, Università del Kent, Canterbury, Kent (Regno Unito) J Clin Microbiol. Feb. 2006; 44(2): 617-618. Uso di Microbank™ per la conservazione a lungo termine di funghi dermatofiti.

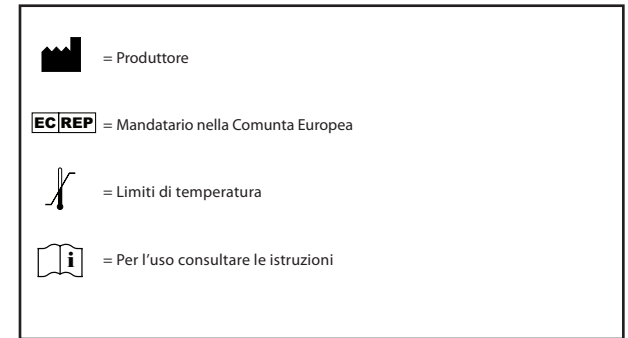
13. W. Vegaulla, K. K. Peak, V. A. Luna, J. C. Roberts, C. R. Davis, A. C. Cannons, P. Amuso, J. Cattani. Centro di difesa biologica, College della salute pubblica, Università della Florida meridionale, Tampa, Florida. Dipartimento della salute della Florida, Bureau of Laboratories, Tampa, Florida (U.S.A.). J Clin Microbiol. Ott. 2008;46(10):3494-7. doi: 10.1128/JCM.00654-08. Studio della durata di due anni finalizzato alla valutazione della potenziale perdita di resistenza alla meticillina nel campionamento di una coltura MRSA.
14. Peter Taft. Microbiologia. Ospedale Reale di Oldham. (Regno Unito). Uno schema di assicurazione interna della qualità per la batteriologia clinica utilizzando Microbank™.
15. Bestbion DX. Colonia, Germania. Un riepilogo dei dati di conservazione ben riuscita raccolti da 24 laboratori di microbiologia tedeschi allo scopo di valutare il buon esito della conservazione di microorganismi utilizzando Microbank™.

I seguenti libri di testo indicano il sistema di conservazione Microbank™ come il metodo consigliato:

1. Microbiologia diagnostica di Bailey e Scott a cura di P. Tille. ISBN:9780323083300.
2. Metodi di laboratorio nella microbiologia alimentare a cura di W. F. Harrigan. ISBN: 9780123260437
3. Patogeni delle piante fungine - Serie di principi e protocolli a cura di C. Lane, P. Beales, K. Hughes. ISBN: 9781845936686
4. Probiotici nella salute e sicurezza alimentare umana a cura di I. Goktepe, V. K. Juneja, M. Ahmedna. ISBN: 9781574445145
5. Protocolli di crioconservazione e liofilizzazione a cura di J. G. Day, M. R. McLellan. ISBN: 9780896032965
6. Manuale delle tecniche sulle patologie degli invertebrati a cura di L. A. Lacey. SBN: 9780123868992
7. Manuale di batteriologia sistematica di Bergey a cura di W. Whitman, A. Parte, M. Goodfellow, P. Kämpfer, H-J. Busse, M. E. Trujillo, W. Ludwig, K.I. Suzuki. ISBN: 9780387950433
8. Manuale di microbiologia clinica a cura di J. Versalovic. ISBN: 9781555814632

## BIBLIOGRAFIA

1. White and Sand, R.L. 1985. Medical Laboratory Sciences 42:289-290 (U.K.)
2. Feltham et al. 1978. Journal of Applied Bacteriology. 44:313-316.
3. Nagel, J.G. & Cunz, L.J. 1971. Applied Microbiology. 23(4):837-838.



**Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.**