

ISTRUZIONI PER L'USO

SELENITE BROTH BASE

Terreno di coltura in polvere


 Selenite Broth – da sinistra: provetta non inocolata e crescita di *S. Typhimurium*
1 - DESTINAZIONE D'USO

 Diagnostico *in vitro*. Terreno liquido d'arricchimento usato nelle procedure d'isolamento di *Salmonella* da campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE
FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)*

Triptone	5 g
Lattosio	4 g
Sodio fosfato bibasico	10 g

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

 Il brodo selenito è basato sui lavori di Klett¹ e Guth² che dimostrarono l'effetto inibitorio del sodio selenito e impiegarono questa osservazione per la coltivazione dei "batteri tifoidei". Leifson³, 20 anni dopo, utilizzò queste prime ricerche per sviluppare il terreno liquido selenite broth e per promuoverne l'ampio uso quale terreno d'arricchimento per l'isolamento di *Salmonella* spp.

 Selenite Broth Base addizionato di sodio biselenito (sodio idrogeno selenito) è un terreno selettivo d'arricchimento usato nelle procedure di isolamento di *Salmonella* da campioni clinici quali le feci e le urine.

 Il triptone fornisce azoto, carbonio ed oligoelementi per la crescita microbica; il sodio biselenito, a pH neutro, ha proprietà inibitorie sulla crescita dei batteri Gram positivi e parzialmente riduce la crescita di *Escherichia coli*, coliformi ed altri batteri enterici, favorendo lo sviluppo dei microrganismi appartenenti al genere *Salmonella*. Si ritiene che, almeno in parte, l'attività tossica del sodio selenito sia da attribuire alla formazione di proteine con aminoacidi incorporanti dei derivati del selenio. Il tampone fosfato, oltre a diminuire gli effetti tossici del selenio, tende a ridurre gli affetti alcalinizzanti della riduzione del sodio selenito. Anche gli acidi, che sono prodotti dai coliformi a partire dal lattosio, contribuiscono a neutralizzare le reazioni alcaline nel brodo.

 Il recupero ottimale di *Salmonella* dalle feci si ottiene usando un brodo di arricchimento seguito dal trapianto su piastra di un terreno selettivo.⁵ Secondo Kelly et al.⁶ circa il 40% delle salmonelle isolate con arricchimento in brodo selenito, seguito da subcoltura su piastre di XLD, non crescono con la semina diretta del campione su piastre di XLD. Il brodo selenito è stato valutato come il terreno di arricchimento ottimale per l'isolamento di *S. Typhi*.⁷
4 - METODO DI PREPARAZIONE

Sciogliere 4 g di Sodio Biselenito (REF 4123651) in 1 litro di acqua purificata fredda e quindi aggiungere 19 g di Selenite Broth Base. Scaldare per sciogliere completamente e distribuire in provette sterili. Non surriscaldare né sterilizzare in autoclave.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto del terreno in provetta	limpido, incolore o giallo molto chiaro.
pH (20-25°C)	7,0 ± 0,1

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Selenite Broth Base	Terreno di coltura in polvere	402025B2	500 g (26,3L)

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Sodium Biselenite (REF 4123651), anse e tamponi sterili da microbiologia, provette con tappo a vite, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Selenite Broth Base addizionato di sodio biselenito può essere inoculato direttamente con i campioni clinici quali feci ed urine. 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.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Per l'esame delle feci inoculare la provetta contenente 9-10 mL di brodo con 1 g di campione o con 1 mL della sospensione fecale in 1 mL di soluzione fisiologica. Il tampone rettale ricevuto tal quale o in terreno di trasporto deve essere vigorosamente emulsionato in 1 mL di





soluzione fisiologica e tale aliquota usata per la semina della provetta di Selenite Broth. Per l'esame delle urine, centrifugare il campione e seminare il sedimento nella provetta di Selenite Broth. Incubare le provette inoculate a 35-37°C in aerobiosi per 16-24 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione la crescita microbica si evidenzia con la presenza di torbidità nel brodo che spesso vira al rosa-rosso-arancio. Seminare un'ansata di coltura in Selenite Broth su piastre di terreni per Salmonella. Per la scelta di tali terreni prediligere una combinazione di un terreno con un'elevata selettività e di un terreno con una moderata selettività. Per l'isolamento di S.Typhi è consigliabile seminare una piastra di Bismuth Sulphite Agar o di Chromogenic Salmonella Agar.

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 facoltà 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.⁸

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
S.Typhimurium ATCC 14028	35-37 °C / 16-24h / A	buona crescita
E.coli ATCC 25922	35-37 °C / 16-24h / A	crescita scarsa

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi dei lotti di terreno in polvere Selenite Broth Base addizionato di sodio biselenito vengono testati per la produttività e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività del terreno è valutata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi target nelle provette, incubando a 35-37°C per 16-24 ore e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita, nel Lotto di Riferimento (Cr_{LR}) e nel lotto in esame (Cr_{LE}). La produttività è valutata con i seguenti ceppi target: S.Typhimurium ATCC 14028, S.Enteritidis ATCC 13076, *S.arizonae* ATCC 13314 e *S.Gallinarum* di isolamento clinico. L'indice di produttività ($Cr_{LR}-Cr_{LE}$) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1.

La produttività e la selettività sono valutate contestualmente seminando nelle provette miscele di appropriate diluizioni di ceppi target e non target: S.Typhimurium ATCC 14028 + *E.coli* ATCC 25922, S.Enteritidis ATCC 13076 + *E.coli* ATCC 25922, S.Enteritidis ATCC 13076 + *P.vulgaris* ATCC 9484. Dopo incubazione a 35-37°C per 16-24 ore e la subcoltura su MacConkey Agar ed Hecktoen Enteric Agar, i ceppi target mostrano una crescita predominante rispetto ai ceppi non target sui terreni in piastra,

13 - LIMITI DEL METODO

- Eliminare le provette nel caso si formasse un abbondante precipitato rosso, dovuto all'ossidazione del sodio selenito.⁹
- Il brodo selenite risulta inibitorio per *Salmonella Cholerae-suis* e la *Salmonella Abortus-ovis*.¹⁰
- L'applicabilità del brodo selenite per l'arricchimento di *Shigella* spp. non è chiaramente definita, poiché alcuni ceppi di *Shigella*, avendo delle similarità con *E. coli*, sono inibiti nella stessa misura di questi ultimi; i campioni che potrebbero contenere organismi inibiti dal brodo di arricchimento selettivo dovrebbero essere seminati direttamente su un terreno in piastra e/o arricchiti in un brodo non selettivo (ad es. brodo GN).⁵
- Non incubare le provette di brodo selenite oltre 24 ore; l'effetto inibitorio diminuisce dopo le prime 6-12 ore di incubazione.⁹
- Lo sviluppo di *E. coli* e *Proteus* spp non è ritardato indefinitamente nel brodo selenite. Laddove la proporzione iniziale di questi organismi sia elevata, può essere vantaggioso il trapianto su piastra dopo 6 ore e dopo 18 ore di incubazione.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra d'isolamento dopo l'arricchimento in brodo selenite, 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 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.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno 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.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura in provetta o in flacone.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime 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 di sicurezza 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 i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed 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

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo del terreno preparato in laboratorio e della validazione della sua shelf life, in funzione del metodo di conservazione applicato (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Klett A. (1900) Zeitsch. für Hyg. und Infekt. 33. 137-160.
2. Guth F. (1916) Zbl. Bakt. I. Orig. 77. 487-496.
3. Leifson E. New selenite selective enrichment medium for isolation of typhoid and paratyphoid (salmonella) bacilli. A. J Hyg 1936; 24:423
4. Weiss KF, Ayres JC, Kraft AA. Inhibitory action of selenite on Escherichia coli, Proteus vulgaris, and Salmonella Thompson. J Bacteriol 1995; 90:857
5. Strockbine NA, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Nataro JP. Escherichia, Shigella and Salmonella. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.685.
6. Kelly S, Cormican M, Parke L, Feeney GC, Flynn J. Cost-Effective Methods for Isolation of Salmonella enteric in the Clinical Laboratory. J Clin Microbiol 1999; 37:3369
7. Iveson JB, Kovacs N. Comparative trial of Rappaport enrichment medium for the isolation of Salmonellae from faeces J Clin Path 1967; 20: 290
8. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
9. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
10. Smith HW. The evaluation of culture media for the isolation of salmonellae from faeces. J. Hyg 1952; 50:21-36.

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	Proteggere dalla luce	Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	04/2022
Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

