

**ISTRUZIONI PER L'USO**

# BLOOD AGAR HORSE

**Piastre pronte all'uso**


Blood Agar Horse:  
colonie di Streptococco beta emolitico di gruppo A

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno d'uso generale con sangue defibrinato di cavallo per l'isolamento e la coltivazione di microrganismi esigenti e non, da campioni clinici ed altri materiali e per la determinazione dell'emolisi batterica.

**2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA \***

Digerito pancreatico di caseina	15,0 g
Peptone di soia	5,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Agar	13,5 g
Fattori di crescita	1,5 g
Sangue defibrinato di cavallo	50,0 mL
Acqua purificata	1000,0 mL

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

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

L'origine dell'agar sangue è incerta. L'inclusione del sangue come supplemento nei terreni di coltura sembra precedere l'uso dell'agar<sup>1</sup>; nel loro Manuale di Batteriologia del 1903, Muir e Ritchie<sup>2</sup> ne elencano l'inclusione prima di descrivere l'uso dell'agar-agar in sostituzione della gelatina come agente solidificante.<sup>2</sup>

Il termine "agar sangue", come lo conosciamo oggi, in via generale, si riferisce ad un terreno di base, arricchito con sangue defibrinato di mammifero. Le piastre di Blood Agar Horse Biolife sono preparate con Tryptic Soy Blood Agar Base addizionato del 5% di sangue defibrinato di cavallo.

Blood Agar Horse è un terreno d'uso generale, arricchito, per la crescita di microrganismi esigenti e non e per la differenziazione batterica sulla base delle loro caratteristiche emolitiche.

Il sangue di cavallo fornisce i fattori X (emina) e V (NAD) necessari per la crescita di alcuni microrganismi esigenti, tra cui *Haemophilus influenzae*. I peptoni selezionati di caseina e soia migliorano le reazioni emolitiche batteriche e forniscono carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita batterica; il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. La presenza del sangue defibrinato di cavallo permette una preliminare differenziazione batterica sulla base del tipo di emolisi espressa.

**4 - CARATTERISTICHE FISICHE**

Aspetto	rosso-sangue, opaco
pH finale a 20-25 °C	7,3 ± 0,2

**5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Blood Agar Horse	Piastre pronte all'uso	541180	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, materiali per la generazione di una atmosfera di incubazione controllata, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

**7 - CAMPIONI**

Le piastre di Blood Agar Horse possono essere inoculate direttamente con una varietà di campioni clinici umani raccolti da siti sterili e non. Consultare la bibliografia citata per i campioni da esaminare in rapporto a specifiche infezioni.<sup>3-5</sup> Le piastre di Blood Agar Horse non sono indicate per la semina diretta di campioni di sangue. Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.<sup>3</sup>

**8 - 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 una area ristretta in prossimità del bordo piastra, quindi strisciare su tutta la superficie del terreno con un'ansa.

Incubare a 35-37 °C in aerobiosi o in atmosfera al 5-10% di CO<sub>2</sub> ed osservare dopo 18-24, 48 e, se necessario, 72 ore.

L'utilizzatore è responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriata, a seconda del campione in esame, delle esigenze nutrizionali degli organismi da isolare e dei protocolli operativi locali applicabili.





## 9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie e le aree di emolisi.

Su Blood Agar Horse si possono evidenziare i seguenti tipi di emolisi:

1.  $\alpha$ -emolisi: emolisi parziale delle emazie con la formazione di alone grigio-marrone-verdastro attorno alle colonie.
2.  $\beta$ -emolisi: emolisi complete dei globuli rossi con la formazione di una zona trasparente attorno alle colonie.
3.  $\gamma$  o non-emolisi: i globuli rossi non sono emolizzati e non vi è alcuna modifica del terreno attorno alle colonie.

Le proprietà emolitiche riferite al terreno con sangue di montone potrebbero essere diverse con le piastre di Blood Agar Horse.

Blood Agar Horse fornisce un  $\beta$ -emolisi degli streptococchi più chiara rispetto a Blood Agar Sheep.

- Streptococchi di gruppo A: colonie circondate da una zona ben definita di emolisi completa

- Streptococchi emolitici di gruppo B e C: colonie più grandi (2-4 mm) circondate da una zona di trasparenza ( $\beta$ -emolisi)

Le colonie di *H. haemolyticus* producono  $\beta$ -emolisi e sono simili alle colonie di *Streptococcus pyogenes*.

Gli enterococchi producono  $\beta$ -emolisi su sangue di cavallo e normalmente non sono emolitici con il sangue di montone.

*S.aureus*, che di solito è  $\beta$ -emolitico con sangue di montone, è spesso non emolitico con sangue di cavallo.

## 10 - CONTROLLO QUALITA' 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.<sup>7</sup>

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	35-37°C / 24H / A o CO <sub>2</sub>	buona crescita, $\beta$ -emolisi
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	35-37°C / 24H / A o CO <sub>2</sub>	buona crescita, $\alpha$ -emolisi
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 24H / A o CO <sub>2</sub>	buona crescita
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 24H / A o CO <sub>2</sub>	buona crescita
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	35-37°C / 24H / A o CO <sub>2</sub>	buona crescita

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 Blood Agar Horse sono testati per la produttività e per l'emolisi. La produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi: *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *H.influenzae* ATCC 10211, *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 h in aerobiosi si osservano le caratteristiche emolitiche dei ceppi e l'entità delle crescite. Tutti i ceppi mostrano emolisi tipiche e buone crescite.

## 12 - LIMITI DEL METODO

- La crescita ed il tipo di emolisi sul terreno qui descritto dipendono dalle esigenze metaboliche di ciascun microrganismo; è possibile che alcuni ceppi non siano in grado di coltivare sul terreno e/o dimostrino modelli emolitici diversi dall'atteso.
- Su questo terreno, non si sviluppano adeguatamente *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bordetella*, *Legionella* ed altri microrganismi con particolari esigenze nutritive. Per l'isolamento di queste specie utilizzare terreni di coltura specifici.
- Per isolare e riconoscere i patogeni contenuti nel campione, seminare il materiale in esame anche su appropriati terreni selettivi e sull'agar cioccolato.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche, morfologiche ed emolitiche, 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 prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://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](http://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. Buxton T. Blood agar plates and hemolysis protocols. ASM Science, 2005
2. Robert M, Ritchie J. 1903. Manual of Bacteriology . The MacMillan Company, London, 1903.
3. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
4. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. 2003; Geneve: World Health Organization.
5. Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI): searchable index. 9 January 2019
6. Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, K.L., Isenberg H.D. and Shadomy, H.J. (ed) (1991) In Manual of Clinical Microbiology, 5th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b>	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> 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 3	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	08/2020
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 4	Rimozione della classificazione obsoleta	03/2023

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

