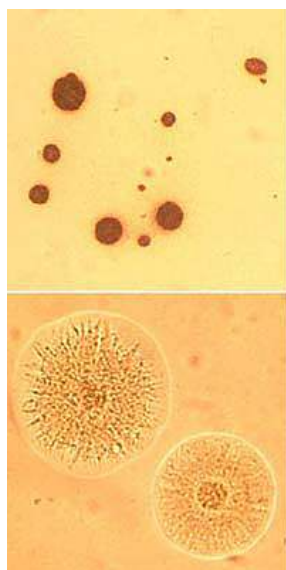


**ISTRUZIONI PER L'USO**

# UREAPLASMA DIFFERENTIAL AGAR A7

## Piastre pronte all'uso



Dall'alto:  
colonie reattive di *Ureaplasma urealyticum* e larghe  
colonie non reattive di *Mycoplasma hominis*.  
(Edis Medco)

### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo per la coltivazione e l'isolamento di *Ureaplasma urealyticum* e altri membri del genere *Ureaplasma* da campioni clinici e per la loro differenziazione da *Mycoplasma* spp.

### 2 - COMPOSIZIONE

Digerito pancreatico di caseina	17.0 g
Peptone di soia	3.0 g
Sodio cloruro	5.0 g
Dipotassio idrogeno fosfato	2.5 g
Glucosio	2.5 g
Manganese solfato	0,2 g
Rosso fenolo	0.002 g
Agar	14 g
Acqua purificata	825 mL
Siero di cavallo	200 mL
L-cisteina HCl, soluzione 4%	2.5 mL
Biovitex <sup>^</sup>	5 mL
Estratto di lievito, soluzione 25%	10 mL
Urea, soluzione 10%	10 mL
Miscela antimicrobica	17.5 mL

<sup>^</sup> Per la formulazione del Biovitex, consultare il codice 42185011.

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

### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Dopo la pubertà, *Ureaplasma* spp. e *M.hominis* possono essere isolati dal tratto genitale inferiore in molti adulti sani sessualmente attivi, ma ci sono prove che questi organismi svolgono un ruolo eziologico importante in alcune malattie del tratto genitale.<sup>1</sup>

L'Ureaplasma Differential Agar A7, preparato secondo una modifica della formulazione descritta da Shepard e Lunceford<sup>2,3</sup>, è utilizzato per la coltivazione e l'isolamento di *Ureaplasma urealyticum* e di altre specie del genere *Ureaplasma*, in particolare da campioni urogenitali e per la loro differenziazione da *Mycoplasma hominis*.

I peptoni, il glucosio, l'estratto di lievito ed il siero di cavallo forniscono i nutrienti necessari per la crescita dei mollicuti. L'aggiunta di L-cisteina e Biovitex, una miscela di aminoacidi e vitamine, favorisce la crescita delle specie *Ureaplasma* e *Mycoplasma*. L'urea, il manganese solfato ed il rosso fenolo costituiscono i sistemi indicatore e differenziale del terreno. L'ammoniaca prodotta da *U.urealyticum* mediante l'enzima ureasi, viene rilevata dall'indicatore di manganese che produce un prodotto di reazione stabile (biossido di manganese) che si sviluppa sulla superficie ed all'interno delle singole colonie. Inoltre il pH alcalino induce il viraggio di colore dell'indicatore di pH rosso fenolo: di conseguenza, il terreno che circonda le colonie di *Ureaplasma* vira leggermente verso il rosso. *Mycoplasma hominis* non idrolizza l'urea, non modifica il pH del terreno e cresce con grandi colonie incolori. La miscela antibiotica inibisce la maggior parte dei batteri Gram-negativi e Gram-positivi, che possono essere presenti nei campioni.

### 4 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del terreno	ambra, limpido
pH finale a 20-25 °C	6,1 ± 0,2

### 5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Ureaplasma Differential Agar A7	Piastre pronte all'uso	542181	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, giare e reattivi per lo sviluppo di una atmosfera di incubazione anaerobica o con CO<sub>2</sub>, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

### 7 - CAMPIONI

Ureaplasma Differential Agar A7 è destinato all'esame microbiologico di campioni clinici, soprattutto urine ed essudati uretrali e vaginali.<sup>2,3</sup> 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.<sup>1</sup>

### 8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Centrifugare il campione di urina e inoculare una goccia di sedimento da circa 0,03 mL. Si possono seminare diversi campioni per piastra.

Gli essudati uretrali e vaginali devono essere inoculati direttamente su una piccola area della superficie del terreno.

Lasciare assorbire l'inoculo prima dell'incubazione.





Incubare le piastre inoculate in un'atmosfera arricchita con 5-10% di CO<sub>2</sub> o in ambiente anaerobico con 95% di N<sub>2</sub> e 5% di CO<sub>2</sub>; nel caso non fosse disponibile un incubatore dedicato è possibile utilizzare giare per anaerobiosi con catalizzatore e generatori di un'atmosfera controllata.

Incubare a 35-37°C per 2-4 giorni. In certi casi è necessaria un'incubazione prolungata.<sup>1</sup>

### 9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione, osservare le piastre macroscopicamente e al microscopio con luce diretta a basso ingrandimento (100 X), principalmente ai bordi dell'area inoculata; registrare ogni specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

*U.urealyticum* è ureasi positivo, cresce con colonie di colore dorato scuro o bruno con la tipica morfologia a "riccio di mare". L'area intorno alle colonie vira al rosso chiaro.

Le colonie di *Mycoplasma* spp. di solito hanno un aspetto "ad uovo fritto", sono incolori non producendo biossido di manganese ed essendo ureasi negative.

Le piastre con crescite caratteristiche devono essere sottoposte a test di conferma con tecniche appropriate.

### 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 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.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>U. parvum</i> ATCC 27813	35-37°C / fino a 6 giorni / AN	colonie marroni con morfologia a "riccio di mare"
<i>M.hominis</i> ATCC 15488	35-37°C / fino a 6 giorni / CO <sub>2</sub>	colonie incolori con morfologia "ad uovo fritto"
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C / fino a 6 giorni / CO <sub>2</sub>	inibito

AN: incubazione in anaerobiosi; 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 Ureaplasma Differential Agar A7 sono testati per la produttività, la specificità e la selettività.

La produttività e la specificità del terreno sono valutate con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi target: *U. parvum* ATCC 27813 e *M.hominis* ATCC 15488. Dopo incubazione a 35-37°C, in atmosfera anaerobica (*U.parvum*) o con CO<sub>2</sub> (*M.hominis*) prolungata fino a 6 giorni, si osservano le caratteristiche cromatiche dei ceppi e l'entità delle crescite. *U. parvum* appare microscopicamente con tipiche colonie marroni dovute alla formazione di biossido di manganese, mentre *M.hominis* mostra un aspetto "ad uovo fritto" senza lo sviluppo di colore.

La selettività è valutata con metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione McFarland 0,5 dei ceppi non-target *E.faecalis* ATCC 29212, *P.aeruginosa* ATCC 9027 e, *C.albicans* ATCC 18804. La crescita dei ceppi non-target è completamente inibita.

### 12 - LIMITI DEL METODO

- L'aspetto uniforme e circolare a "uovo fritto" dei ceppi di *Mycoplasma* è una caratteristica tipica dei ceppi di laboratorio che non sempre si manifesta nei ceppi di primo isolamento clinico.<sup>3</sup>
- Nei pazienti con uretrite si isolano un numero maggiore di colonie di *U.urealyticum* dall'essudato uretrale che dalle urine.<sup>3</sup>
- Impiegare per la raccolta ed il trasporto del campione un terreno di trasporto specifico per micoplasmi e non impiegare il campione raccolto per altre analisi microbiologiche.<sup>3</sup>
- Crescite bizzarre di *U.urealyticum* (crescite in associazione con colonie di altre specie di micoplasmi, crescite associate a cellule epiteliali singole o a gruppi) non devono essere considerati come artefatti.<sup>3</sup>
- Se si osserva al microscopio con luce trasmessa indiretta o con luce obliqua, il precipitato di manganese può apparire bianco.<sup>2</sup>
- Se il terreno viene inciso durante la semina del campione, spesso i microrganismi vengono intrappolati e l'attività ureasica produce striature intense prodotte dalla reazione del manganese solfato.<sup>2</sup>
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte 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 materiali 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.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- 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 tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- 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

- Waites KB, Bébéar C. Mycoplasma and Ureaplasma. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
- Shepard MC, Lunceford, CD. Differential agar medium (A7) for identification of Ureaplasma urealyticum (human T mycoplasmas) in primary cultures of clinical material. J Clin Microbiol 1976; 3(6): 613-625
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

#### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 <b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b> Numero di catalogo	 <b>LOT</b> Numero di lotto	 <b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 <b>Fabbricante</b>	 <b>Utilizzare entro</b>
 <b>Limiti di temperatura</b>	 <b>Contenuto sufficiente per &lt;n&gt; saggi</b>	 <b>Consultare le Istruzioni per l'Uso</b>	 <b>Non riutilizzare</b>	 <b>Fragile maneggiare con cura</b>	

#### 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	01/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	03/2023

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

