

**ISTRUZIONI PER L'USO****MULLER KAUFFMANN TETRATHIONATE BROTH**

Provette pronte all'uso



Muller Kauffmann Tetrathionate Broth – da sinistra: provetta non inocolata e crescita di *S. Typhimurium*.

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno liquido selettivo per l'arricchimento di *Salmonella* dagli alimenti e da campioni fecali.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Triptone	7,00 g
Peptone di soia	2,30 g
Sodio cloruro	2,30 g
Calcio carbonato	25,00 g
Sodio tiosolfato	40,70 g
Sali biliari	4,75 g
Iodio	3,80 g
Potassio ioduro	4,75 g
Verde brillante	9,5 mg
Acqua purificata	1000 mL

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Muller Kauffmann Tetrathionate Broth è stato originariamente descritto da Muller¹ e successivamente modificato da Kauffmann² con l'inclusione della bile di bue e del verde brillante, come agenti selettivi per sopprimere la crescita di batteri come *Proteus* spp.

Il terreno è incluso nei Rapporti ISTISAN 05/27³ e ISTISAN 96/35⁴ per l'arricchimento selettivo di *Salmonella* dai campioni della catena alimentare e dalle feci, prima dell'isolamento selettivo su piastra.

Il triptone e il peptone di soia forniscono carbonio, azoto, vitamine e minerali per la crescita microbica; gli agenti selettivi del terreno sono i sali biliari, il verde brillante aggiunto al terreno di base e il tetratiolato di sodio che si forma dal tiosolfato di sodio quando la soluzione di iodio/ioduro di potassio viene aggiunta al terreno; il carbonato di calcio neutralizza l'acido solforico che viene prodotto dalla riduzione del tetratiolato durante la crescita delle salmonelle, mantenendo il pH a valori neutri. Il terreno completo consente lo sviluppo delle salmonelle e risulta inibitorio per i batteri Gram-positivi e per gran parte dei batteri Gram-negativi di origine enterica.

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta verde, con fondo bianco
pH (20-25°C) 8,0 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Muller Kauffmann Tetrathionate Broth	Provette pronte all'uso	551743	20 x 10 mL; provette di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite. Confezionamento in scatola di cartone.

6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Muller Kauffmann Tetrathionate Broth può essere utilizzato per l'arricchimento dei campioni fecali. Raccogliere le feci secondo le procedure standard, con tampone preferibilmente con terreno di trasporto o in un contenitore per feci con o senza liquido di trasporto. 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. Campioni alimentari: fare riferimento agli standard e alle leggi applicabili.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le provette a temperatura ambiente. Per l'esame delle feci, inoculare le provette con 1 g di feci o 1 mL di sospensione fecale ottenuta sospendendo 1 g di feci in 1 mL di soluzione salina. I tamponi rettali ricevuti freschi o nel terreno di trasporto devono essere risciacquati accuratamente con 1 mL di soluzione fisiologica. Incubare le provette inocolate in atmosfera aerobica a 35-37°C per 18-24 ore.

Per latte e derivati può essere impiegata la seguente procedura:

Trasferire 25 g di campione in 225 mL di Buffered Peptone Water ed incubare a 35-37°C per 18-24 ore.

Dal brodo di pre-arricchimento trasferire 2 aliquote da 10 mL rispettivamente in 100 mL di Muller Kauffmann Tetrathionate Broth ed in 100 mL di Selenite Cystine Broth.

Nel caso si esaminino il latte trasferire direttamente 2 aliquote da 25 mL di campione in 225 mL dei due brodi selettivi d'arricchimento.

Incubare il Muller Kauffmann Tetrathionate Broth a 42-43°C per 24 e 48 ore ed il Selenite Cystine Broth a 37°C per 24 e 48 ore.





9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione la crescita microbica si evidenzia con la presenza di torbidità e scolorimento del terreno. Seminare un'ansata di brodo di coltura 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.

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
S.Typhimurium ATCC 14028	35-37 °C / 18-24h / A	buona crescita dopo trapianto su piastre di Tryptic Soy Agar
E.coli ATCC 25922	35-37 °C / 18-24h / A	crescita scarsa dopo trapianto su piastre di Tryptic Soy Agar

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 provette pronte all'uso di Muller Kauffmann Tetrathionate Broth e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Muller Kauffmann Tetrathionate Broth Base REF 401743, addizionato dei necessari supplementi) 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 18-24 ore e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita dopo trapianto su piastre di Tryptic Soy Agar, 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 13076, S.Enteritidis ATCC 14028. L'indice di produttività ($Cr_{LR}-Cr_{LE}$) per ciascun ceppo è giudicato conforme quando è ≤ 1 .

La selettività del terreno è valutata con metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni appropriate di ceppi non target nelle provette, incubando a 35-37°C ed a 42-43°C per 18-24 ore e registrando la diluizione più alta ove si osserva crescita dopo trapianto su piastre di Tryptic Soy Agar, nel Lotto di Riferimento (Cr_{LR}) e nel lotto in esame (Cr_{LE}). La selettività è valutata con i seguenti ceppi non target: E.coli ATCC 25922, E.faecalis ATCC 29212. L'indice di selettività ($Cr_{LR}-Cr_{LE}$) 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 13076+E.coli ATCC 25922+P.aeruginosa ATCC 27853. Dopo incubazione a 35-37°C ed a 42-43°C per 18-24 ore e la subcoltura su piastre **si di** XLD Agar, i ceppi target mostrano una crescita predominante rispetto ai ceppi non target.

12 - LIMITI DEL METODO

- Muller Kauffmann Tetrathionate Broth non è adatto per la crescita di S.Typhi, S.Paratyphi, S.Sendai, S.gallinarum; non è raccomandato per l'esame della febbre tifoide.⁵
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra d'isolamento dopo l'arricchimento in Muller Kauffmann Tetrathionate Broth, 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 ai 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.

13 - 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.
- 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 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.
- Fare attenzione quando si aprono le provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso. Non suddividere il prodotto in altri contenitori.
- Muller Kauffmann Tetrathionate Broth Base è sterilizzato in autoclave ed addizionato di supplementi in condizioni asettiche; le provette non possono quindi essere considerate un "prodotto sterile", ma a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e le provette 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.
- 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.

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. Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Dopo l'apertura della scatola, le provette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere utilizzate immediatamente. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Muller, L. (1923) C.R. Soc. Biol. (Paris) 89, 434-443.
2. Kauffmann, F. (1935) Z.f. Hyg. 117, 26-32.
3. Rapporto ISTISAN 05/27. ISSN 1127-3117. Infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Raccolta a cura di C.Graziani, P.Galetta, L.Busani, AM Dionisi, E.Filetici, A.Ricci, A.Caprioli, I.Luzzi.
4. Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D. De Medici, L. Fenicia, L. Orefice e A.Stacchini.
5. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Non riutilizzare	Imballaggio riciclabile 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
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	05/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

