

**ISTRUZIONI PER L'USO****SELENITE BROTH**

Provette pronte all'uso

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

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

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Triptone	5 g
Lattosio	4 g
Sodio fosfato bibasico	10 g
Sodio biselenito (NaHSeO ₃)	4 g
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

Il brodo selenite 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 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 selenito, 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 selenite, seguito da subcoltura su piastre di XLD, non crescono con la semina diretta del campione su piastre di XLD. Il brodo selenite è stato valutato come il terreno di arricchimento ottimale per l'isolamento di *S. Typhi*.⁷

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO I

Aspetto del terreno in provetta

limpido, incolore o giallo molto chiaro.

pH (20-25°C)

7,0 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Selenite Broth	Provette pronte all'uso	552025	20 x 9 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

Selenite Broth può essere inocolato 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.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Per l'esame delle feci inoculare la provetta 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 inocolate a 35-37°C in aerobiosi per 16-24 ore.

9 - 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.





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.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

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di provette pronte all'uso di Selenite Broth e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Selenite Broth REF 402025) 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 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 13076, S.Enteritidis ATCC 14028, S.Gallinarum e S.arizonae 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 13076 + E.coli ATCC 25922, S.Enteritidis ATCC 14028 + E.coli ATCC 25922, S.Enteritidis ATCC 14028 + P.vulgaris ATCC 9484. Dopo incubazione a 35-37°C per 16-24 ore e la subcoltura su MacConkey Agar ed Hektoen Enteric Agar, i ceppi target mostrano una crescita predominante rispetto ai ceppi non target sui terreni in piastra.

12 - LIMITI DEL METODO

- Selenite Broth risulta inibitorio per *Salmonella Cholerae-suis* e la *Salmonella Abortus-ovis*.¹⁰
- L'applicabilità del Selenite Broth 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 Selenite Broth 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 Selenite Broth. 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 Selenite 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 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.

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.
- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione per filtrazione.
- 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. 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	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 3	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	05/2020
Revisione 4	Modifiche ai punti: "Precauzioni ed avvertenze", "Conservazione e validità"	05/2021
Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

