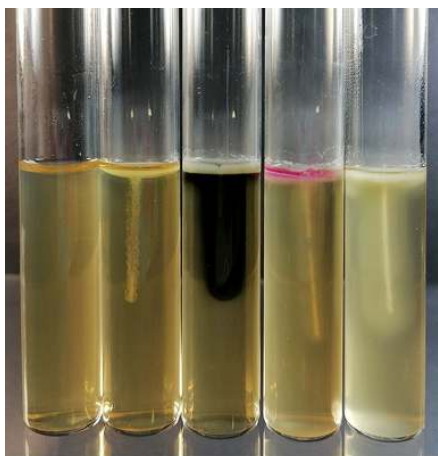


ISTRUZIONI PER L'USO

SIM BIOS MEDIUM

Terreno in polvere



SIM Bios medium: da sinistra: provetta non inocolata, *K.pneumoniae* (immobile), *S.arizonae* H₂S+, *E.coli* (mobile, indolo+), *E.aerogenes* (mobile)

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. SIM Bios Medium è indicato per la differenziazione delle *Enterobacteriaceae*, soprattutto *Salmonella* e *Shigella*, sulla base della produzione di H₂S, indolo e della prova della mobilità.

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

Triptone	20,0 g
Peptone	6,1 g
Ferro ammonio solfato	0,2 g
Sodio tiosolfato	0,2 g
Agar	3,5 g

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

SIM (Sulfide Indole Motility) Bios Medium è indicato per la differenziazione delle *Enterobacteriaceae*, soprattutto *Salmonella* e *Shigella*, sulla base della produzione di H₂S, indolo e della prova della mobilità.^{1,2}

L'idrogeno solforato che si produce dal sodio tiosolfato per mezzo dell'enzima tiosolfato reductasi, è evidenziato da un apposito indicatore, il ferro ammonio solfato, che in presenza di H₂S precipita sotto forma di ferro solfuro nero. Il triptone è ricco in triptofano, sul quale agisce l'enzima triptofanasi con la produzione di tre prodotti di reazione finali: indolo, piruvato e ioni ammonio; l'indolo reagisce con la dimetilaminobenzaldeide contenuta nel reattivo di Kovacs, addizionato al terreno dopo incubazione, con la formazione di una colorazione rossa. La determinazione della mobilità batterica è favorita dalla bassa concentrazione di agar presente nel terreno: la diffusione della crescita oltre la linea dell'inoculo indica che il microorganismo testato è mobile. Il terreno contiene inoltre un peptone di carne che favorisce la crescita microbica. Il terreno non contiene carboidrati poiché risultano inibitori per la triptofanasi³ e per la produzione di ferro solfuro, a causa dell'ambiente acido che si forma a seguito della loro fermentazione⁴.

4 - PREPARAZIONE

Sospendere 30 g di polvere in 1000 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire in provette ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Lasciar solidificare il terreno in provetta in posizione verticale.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, giallo chiaro
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	giallo chiaro, limpido.
pH (20-25°C)	7,3 ± 0,2

6 - MATERIALI FORNITI - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
SIM Bios Medium CND: W0104010101;EDMA:14.01.01.01; RDM: 1875714/R	Terreno di coltura in polvere	4020362	500 g (16,6 L)

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette, flaconi o beute autoclavabili, aghi da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti (Kovacs Reagent REF 19171000).

8 - CAMPIONI

Il campione è costituito da colonie pure di batteri isolati da campioni clinici o altri materiali. Il terreno non è indicato per la semina diretta dei campioni.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago da batteriologia, caricato con la colonia in esame, inoculare il terreno per infissione per circa due terzi dell'altezza, nel centro della provetta.

Incubare, con i tappi allentati, a 35-37°C, in aerobiosi, per 18-24 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Leggere la reazione di produzione di H₂S e la mobilità prima di aggiungere il reattivo per la determinazione dell'indolo.

Test positivo per la mobilità: presenza di crescita batterica (torbidità) attorno alla linea dell'inoculo o presenza di torbidità a carico di tutto il terreno. Test negativo per la mobilità: la crescita batterica è osservabile solo lungo la linea dell'inoculo.





Test positivo per la produzione di H₂S: annerimento del terreno lungo la linea dell'inoculo o esteso annerimento del terreno.

Test negativo per la produzione di H₂S: nessun annerimento del terreno.

Test dell'indolo: aggiungere alle provette 3-4 gocce di reattivo di Kovacs che si stratifica ad anello sulla superficie del terreno. Test positivo: il reattivo vira al rosso. Test negativo: il reattivo non vira al rosso e rimane di colore giallastro.

11 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del terreno qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T	H ₂ S	MOBILITA'	INDOLO
<i>E.coli</i> ATCC 25922	37° / 24H /A	-	+	+
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	37° / 24H /A	+	+	-
<i>S.sonnei</i> ATCC 9290	37° / 24H /A	-	-	-

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di terreno in polvere SIM Bios Medium viene testato per le caratteristiche prestazionali, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Colonie pure coltivate su Tryptic Soy Agar di 6 ceppi Gram negativi vengono inoculate per infissione del terreno in provetta: *E.coli* ATCC 25922, *S.sonnei* ATCC 9290, *K.pneumoniae* ATCC 23357, *C.freundii* ATCC 8090, *P.vulgaris* ATCC 9484, *S.Typhimurium* ATCC 14028. Dopo incubazione a 35-37 °C per 18-25 ore in aerobiosi, si osservano e si registrano la motilità, la produzione di H₂S ed indolo. Tutti i ceppi mostrano caratteristiche prestazionali secondo le specifiche per entrambi i lotti testati.

13 - LIMITI DEL METODO

- Il test eseguibile con il terreno SIM non sono sufficienti ad identificare le *Enterobacteriaceae* a livello di specie.
- Non seminare il terreno con colture da terreni liquidi.
- È necessario inoculare per infissione il terreno prestando attenzione a rimuovere l'ago lungo la stessa linea usata per l'inoculo.
- L'annerimento del terreno è favorito dalla mobilità batterica.¹
- Edmondson e Sanford in uno studio clinico⁵ sottolineano l'importanza del test della mobilità per differenziare *Klebsiella* (immobile) ma riportano che i ceppi mucoidi possono dare falsi positivi se la lettura non viene effettuata con la dovuta attenzione, a causa della loro sciamatura tra il terreno e la provetta con formazione di una generica torbidità che può essere confusa con la mobilità.
- Per molti ceppi di *Yersinia enterocolitica* si osserva una mobilità temperatura-dipendente⁶. I risultati ambigui che sono riportati per questo microorganismo sconsigliano di adottare il test della mobilità negli schemi identificativi per *Y.enterocolitica*.⁶
- Microrganismi mobili ma con flagelli danneggiati possono dare falsi negativi.
- Le colture in esame, 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 dei test microscopici e/o 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.
- 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.
- Sterilizzare tutti i rifiuti biologici. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con ceppi microbici 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.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito 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. Questo vale anche in relazione a eventuali diritti di terzi. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE











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 o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).



**16 - BIBLIOGRAFIA**

1. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
2. Atlas D, Snyder J. Media Reagents and Stains. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.345.
3. Freundlich M, Lichstein HC. Inhibitory effect of glucose on thryptophanase. J Bacteriol 1960; 80:633-638.
4. Bulmash JM, Fulton M. Discrepant tests for hydrogen sulfide J. Bact 1964;88:1813.
5. Edmondson EB, Sanford JP. The Klebsiella-Enterobacter (Aerobacter)-Serratia group. Medicine 1967; 46(4): 323.
6. D'Amato RF, Tomfohrde KM. Influence of Media on Temperature-Dependent Motility Test for Yersinia enterocolitica. J Clin Microbiol 1981; 14:347-348.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 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 5	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2020

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

