

MicroBioLogics®

Microrganismi LYFO DISK® Microrganismi KWIK-STIK™ Microrganismi KWIK-STIK™ Plus

USO PREVISTO

I **Microrganismi LYFO DISK®**, **KWIK-STIK™** e **KWIK-STIK™ Plus** sono preparazioni liofilizzate di colture di riferimento, contenenti un singolo ceppo di microrganismi.

Queste preparazioni a base di microrganismi provengono dall'American Type Culture Collection (ATCC®) o da altre autentiche collezioni di colture di riferimento come quelle.

RIEPILOGO E STORIA

È essenziale disporre di una fonte affidabile di colture di riferimento per l'uso in programmi microbiologici che garantiscano la qualità. Microrganismi dalle caratteristiche note e standardizzate vengono utilizzati in programmi di controllo qualità, istruzione e verifica della preparazione.

La liofilizzazione è un metodo ben documentato e raccomandato per la conservazione a lungo termine dei microrganismi.

I **Microrganismi LYFO DISK®**, **KWIK-STIK™** e **KWIK-STIK™ Plus** sono preparazioni liofilizzate di microrganismi. L'uso di questi microrganismi liofilizzati garantisce risultati equivalenti ai metodi tradizionali utilizzati per la preparazione, la conservazione e il mantenimento delle collezioni di colture di riferimento.

PRINCIPIO

I **Microrganismi LYFO DISK®**, **KWIK-STIK™** e **KWIK-STIK™ Plus** derivano da un metodo di liofilizzazione riportato da Obara et.al. che utilizza un mezzo di sospensione a base di gelatina, latte scremato, acido ascorbico, destrosio e carbone vegetale. La gelatina funge da carrier per i microrganismi. Il latte scremato, l'acido ascorbico e il destrosio proteggono l'integrità della membrana cellulare dei microrganismi durante la procedura di crioessiccazione e la conservazione. Il carbone vegetale viene incluso per neutralizzare ogni eventuale sostanza tossica formata durante il processo di liofilizzazione.

COMPOSIZIONE

Ogni preparazione liofilizzata consta di:

- Popolazione di microrganismi;
- Gelatina;
- Latte scremato;
- Acido ascorbico;
- Destrosio;
- Carbone vegetale

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

A. **Microrganismi LYFO DISK®**

I **microrganismi LYFO DISK®** sono confezionati in un flacone risigillabile contenente dieci (10) pastiglie liofilizzate di un singolo ceppo di microrganismi e un essiccatore che previene l'eccesso di umidità.

I microrganismi LYFO DISK® presentano una caratteristica aggiuntiva.

- Ogni preparazione liofilizzata di microrganismi non deriva da più di quattro (4) passaggi dalla coltura di riferimento.

B. **Microrganismi KWIK-STIK™**

Ogni unità **KWIK-STIK™** consta di una pastiglia liofilizzata di un singolo ceppo di microrganismi, un serbatoio per il fluido di idratazione e un tampone per inoculazione. Ogni dispositivo è sigillato all'interno di una bustina in alluminio contenente un essiccatore che previene l'eccesso di umidità.

I microrganismi KWIK-STIK™ presentano una caratteristica aggiuntiva.

- Ogni preparazione liofilizzata di microrganismi non deriva da più di quattro (4) passaggi dalla coltura di riferimento.

C. **Microrganismi KWIK-STIK™ Plus**

La confezione dei Microrganismi KWIK-STIK™ Plus è identica a quella dei Microrganismi KWIK-STIK™.

I Microrganismi KWIK-STIK™ Plus presentano due caratteristiche aggiuntive.

- Ogni preparazione liofilizzata di microrganismi deriva da due (2) passaggi dalla coltura di riferimento.
- Viene fornito un Certificato di Analisi che offre la documentazione riguardante l'identità e la provenienza della preparazione dei microrganismi da una coltura di riferimento e il numero dei passaggi dopo i quali la preparazione dei microrganismi è stata estratta dalla coltura di riferimento.

PRECAUZIONI E LIMITAZIONI

- Questi prodotti sono ad uso esclusivo in vitro.
- Considerare questi dispositivi, e conseguentemente la crescita di questi microrganismi sui terreni di coltura, come materiale a rischio biologico.
- Questi dispositivi contengono microrganismi vitali che in alcune circostanze sono in grado di provocare malattie. Impiegare tecniche appropriate per evitare l'esposizione e il contatto con i microrganismi in crescita.
- Il laboratorio di microbiologia deve essere attrezzato ed essere in grado di ricevere, trattare, mantenere, conservare e smaltire materiale a rischio biologico.
- Il personale di laboratorio che utilizza questi dispositivi deve essere addestrato, esperto e deve dimostrare competenza nel trattare, mantenere, conservare e smaltire materiale a rischio biologico.
- Enti e norme specifiche regolano lo smaltimento del materiale a rischio biologico. Tutti i laboratori devono conoscere e osservare le modalità per un corretto smaltimento dei materiali a rischio biologico.

CONSERVAZIONE E SCADENZA

Conservare i **Microrganismi LYFO DISK®**, **KWIK-STIK™** e **KWIK-STIK™ Plus** a 2°C - 8°C nel flacone originale sigillato o nella bustina che contiene l'essiccatore.

Con una corretta conservazione, la preparazione di microrganismi liofilizzati mantiene, fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione, le sue caratteristiche e prestazioni entro i limiti stabiliti.

Non è possibile utilizzare i **Microrganismi LYFO DISK®, KWIK-STIK™ e KWIK-STIK™ Plus** se:

- non vengono conservati in maniera corretta;
- si evidenziano chiari segni di esposizione eccessiva al calore o all'umidità;
- è stata superata la data di scadenza.

MATERIALI NECESSARI MA NON IN DOTAZIONE

- I **Microrganismi LYFO DISK®** richiedono provette sterili e 0,5 ml di brodo al triptone di soia, infuso cuore cervello, soluzione salina o acqua deionizzata sterili per idratare il preparato liofilizzato. Tamponi sterili o anse sterili per inoculazione sono necessari per trasferire il preparato idratato in una piastra di agar.
- I **Microrganismi LYFO DISK®, KWIK-STIK™ e KWIK-STIK™ Plus** per ottimizzare il recupero e la crescita richiedono terreni di coltura nutrienti o arricchiti non selettivi.
- I **Microrganismi LYFO DISK®, KWIK-STIK™ e KWIK-STIK™ Plus** per ottimizzare il recupero e la crescita richiedono tempi e condizioni di incubazione specifici.

Il Bollettino di Informazione Tecnica (TIB.081) "**Recommended Growth Requirements**" elenca i requisiti di incubazione ed i terreni di coltura raccomandati. Il bollettino è disponibile sul nostro sito web all'indirizzo www.microbiologics.com

GARANZIA DEL PRODOTTO

Si garantisce che questi prodotti soddisfano le caratteristiche e le prestazioni indicate e illustrate negli specifici inserti, sulle istruzioni e in bibliografia.

La garanzia, esplicita o implicita, viene limitata quando:

- le procedure impiegate in laboratorio sono contrarie alle direttive e istruzioni indicate e illustrate o
- i prodotti vengono impiegati per applicazioni diverse dall'uso previsto citato negli specifici inserti, nelle istruzioni e nella bibliografia..

ISTRUZIONI PER L'USO

A. Procedura per i **Microrganismi LYFO DISK®**

1. Rimuovere il flacone di **LYFO DISK®** dalla conservazione a 2°C - 8°C e riportarlo a temperatura ambiente ancora chiuso.
2. Rimuovere in maniera asettica una (1) pastiglia di gelatina dal flacone. Sistemare la pastiglia in 0,5 ml di brodo al triptone di soia sterile, infuso cuore cervello, soluzione salina o acqua deionizzata sterile. **IMMEDIATAMENTE**, risigillare il flacone contenente l'essiccatore con il tappo di gomma e la chiusura a vite. Riportare le pastiglie rimanenti alla temperatura di conservazione di 2°C - 8°C.
3. Emulsionare e frantumare la pastiglia con un tampone sterile fino a quando le particelle della pastiglia non siano uniformi per dimensioni e la sospensione non assuma un aspetto omogeneo.
4. **IMMEDIATAMENTE**, saturare il tampone con il materiale idratato e trasferire il materiale in un terreno di coltura appropriato, non selettivo, nutriente o arricchito. Con una certa pressione, ruotare il tampone e inoculare un'area circolare (diametro 25 mm o 1 pollice) del terreno. Utilizzando lo stesso tampone o un'ansa sterile, strisciare ripetutamente (circa 10 - 20 volte) nell'area inoculata e poi continuare a strisciare per isolare la parte rimanente della superficie dell'agar.
5. **IMMEDIATAMENTE**, incubare le piastre inoculate alla giusta temperatura e alle condizioni appropriate per la crescita del microrganismo.
6. Dopo l'incubazione, selezionare le colonie rappresentative ben isolate per i previsti trasferimenti.

B. Procedura per i microrganismi KWIK-STIK™ e KWIK-STIK Plus™

1. Rimuovere l'unità di **KWIK-STIK™** dalla conservazione a 2°C - 8°C e riportarla a temperatura ambiente ancora chiusa.
2. Aprire la bustina e rimuovere l'unità **KWIK-STIK™**.
3. Strappare la linguetta dell'etichetta dal dispositivo **KWIK-STIK™**. È possibile attaccare l'etichetta ai Record QC o alla piastra primaria del terreno per l'identificazione.
4. Prendere nota della posizione della pastiglia nella parte inferiore del dispositivo e del serbatoio del fluido di idratazione nella parte superiore (tappo) del dispositivo.
NON smontare il dispositivo durante l'idratazione.
5. Rilasciare il fluido di idratazione nella parte superiore (tappo) del dispositivo rompendo l'ampolla con una pressione delle dita esercitata nella parte intermedia. Consentire al fluido di idratazione di scorrere attraverso il bastoncino del tampone **FINO ALLA** porzione inferiore dell'unità che contiene la pastiglia di gelatina.
6. Mantenendo il dispositivo in posizione verticale, con il tappo verso l'alto, picchiettare sul fondo del dispositivo per facilitare ulteriormente il flusso del fluido.
7. Premendo sul fondo dell'unità, rompere e miscelare la pastiglia nel fluido fino a quando le particelle non risultino di dimensioni uniformi e la sospensione omogenea in apparenza.
8. **IMMEDIATAMENTE**, saturare il tampone con il materiale idratato e trasferire il materiale in un terreno di coltura appropriato, non selettivo, nutriente o arricchito. Con una certa pressione, ruotare il tampone e inoculare un'area circolare (diametro 25 mm o 1 pollice) del terreno. Utilizzando lo stesso tampone o un'ansa sterile, strisciare ripetutamente (circa 10 - 20 volte) nell'area inoculata e poi continuare a strisciare per l'isolamento la parte rimanente della superficie dell'agar.
9. **IMMEDIATAMENTE**, incubare le piastre inoculate alla giusta temperatura e alle condizioni appropriate per la crescita del microrganismo.
10. Dopo l'incubazione, selezionare le colonie rappresentative ben isolate per i previsti trasferimenti.
11. Eliminare ogni residuo di materiale idratato in conformità alle procedure di laboratorio per lo smaltimento dei materiali a rischio biologico.

GUIDA ALLA RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

In caso di problemi, consultare questa guida e il bollettino "Recommended Growth Requirements" (Requisiti di crescita raccomandati) TIB.081

PROBLEMA	POSSIBILE CAUSA	AZIONE CONSIGLIATA
NESSUNA CRESCITA	1) La pastiglia liofilizzata è stata conservata correttamente?	1a) Conservare i microrganismi liofilizzati ad una temperatura di 2-8 gradi C fin dal loro arrivo.
	2) La pastiglia liofilizzata è stata idratata correttamente?	2a) Non incubare la sospensione idratata. La pastiglia idratata deve essere utilizzata entro trenta (30) minuti. 2b) Le specie <i>Vibrio</i> & <i>Shewanella</i> dovrebbero essere idratate esclusivamente nel fluido Kwik-Stik, soluzione salina a 0.85%, BHI o TSB.
	3) E' stato usato il terreno di coltura appropriato?	3a) Alcuni microrganismi richiedono terreni particolari. Esempio: * <i>Bordetella pertussis</i> necessita di Bordet Gengou o di carbone vegetale. 3b) Gli anaerobici dovrebbero iniziare con terreni anaerobici o di agar precedentemente ridotti. 3c) E' preferibile iniziare con microrganismi liofilizzati su terreno di agar non selettivo.
	4) Il microrganismo è stato incubato alla giusta temperatura ?	4a) Alcuni microrganismi non crescono a 35 gradi. Esempi: * <i>Geobacillus stearothermophilus</i> cresce a 55 gradi. * Alcuni lieviti crescono preferibilmente a 25 o 30 gradi. 4b) Verificare che il termometro sia preciso. 4c) Eseguire le analisi sull'uniformità dell'incubazione per assicurare l'uniformità della temperatura.
	5) Il microrganismo è stato incubato nella giusta atmosfera ?	5a) Il campilobatterio richiede condizioni microaerofile. 5b) Utilizzare un indicatore anaerobico con anaerobi.
	6) Il microrganismo è stato nell'incubatrice per un tempo sufficiente?	6a) Alcuni microrganismi impiegano diversi giorni a svilupparsi. Esempi: * <i>Micromonas</i> – 5/7 giorni * <i>Porfiromoni</i> – 5/7 giorni * <i>Prevotella</i> - 5/7 giorni
CONTAMINAZIONE	1) Il microrganismo liofilizzato si è sviluppato in brodo?	1a) I contaminanti si moltiplicano velocemente nel brodo. È consigliabile iniziare la coltura di microrganismi in terreni di agar.
INATTESI RISULTATI DEL TEST	1) Il microrganismo è stato sostituito adeguatamente?	1a) Non effettuare mai analisi durante lo sviluppo della pastiglia. 1b) Ripetute subcolture possono causare mutazioni. 1c) Utilizzare sempre su colture fresche.
	2) La quantità di inoculo era troppo bassa?	2a) Le colonie di <i>Bacteroides ureolyticus</i> sono molto piccole. Sostituire diverse piastre per il test.
	3) E' stato usato l'organismo corretto per il controllo qualità?	3a) Usare il microrganismo raccomandato dal produttore del test o un equivalente.

SMALTIMENTO MATERIALE A RISCHIO BIOLOGICO

Potendosi verificare una perdita accidentale o lo sgocciolamento del dispositivo o la conseguente crescita dei microrganismi sui terreni di coltura, le seguenti informazioni precisano quali materiali e quali procedure facilitano con sicurezza lo smaltimento del materiale a rischio biologico.

1. Scheda informativa sulla sicurezza dei materiali (MSDS)

- Conservare un dossier contenente tutta la documentazione che riguarda il materiale a rischio biologico.
- Il dossier deve essere disponibile a tutto il personale.
- Tutto il personale deve conoscere l'ubicazione dei dossier MSDS.

2. Kit per l'eliminazione del materiale a rischio biologico

I kit per l'eliminazione del materiale a rischio biologico sono disponibili in commercio o è possibile crearli utilizzando i seguenti materiali.

- Una bottiglia da un litro di una soluzione germicida acquosa;
- Un paio di guanti monouso in lattice;
- Una pinza atraumatica;
- Un sacchetto per rifiuti a rischio biologico con chiusura; e,
- Un rotolo di carta.

3. Procedura

- Avvertire **OGNI** persona che lavora nelle immediate vicinanze dell'incidente.
- **NON** lasciare l'area incustodita (a meno che non si sia soli nell'area). Incaricare un altro membro del personale di presenziare la zona dell'incidente e deviare il passaggio da essa.
- Dopo aver avvertito tutto il personale presente nelle immediate vicinanze, prendere il kit per l'eliminazione del materiale a rischio biologico e ritornare nella zona **IMMEDIATAMENTE**.
- Indossare i guanti monouso.
- Con le pinze atraumatiche, raccogliere la maggior quantità di materiale possibile e sistemarla all'interno dello specifico sacchetto.
- Saturare l'area della perdita con una soluzione germicida.
- Mantenere bagnata l'area in questione con la soluzione germicida per la giusta quantità di tempo indicata sulla sua confezione.
- Asciugare l'area con la carta.
- Porre tutta la carta utilizzata nel sacchetto per materiali a rischio biologico.
- Proseguendo nello smaltimento, rimuovere con attenzione i guanti e sistemare anche questi all'interno del sacchetto.
- Chiudere ermeticamente il sacchetto.
- Smaltire il sacchetto in base alle normative vigenti.

LEGENDA SIMBOLI

Rappresentante
autorizzato presso la
Comunità Europea



Codice spedizione (Lotto)



Pericolo biologico
Rischi biologici



Marchio CE



Numero Catalogo



Avviso: consultare documentazione allegata
Attenzione, vedere le istruzioni d'uso



Dispositivo medico diagnostico in vitro



Produttore



Limite di temperatura



Scade il

CONTROLLO QUALITÀ

Questo prodotto è sviluppato, prodotto e distribuito:

- in accordo con quanto prescritto dalla FDA: Quality System Regulation; (QSR), 21Cfr Sez.820;
- in conformità con le norme della ISO 9001:2000
- in conformità con i requisiti del marchio CE.

Le funzioni del controllo di qualità includono, ma non si limitano a:

- purezza e caratteristiche di crescita;
- caratteristiche morfologiche;
- attività biochimica;
- identità e provenienza della preparazione di microrganismi dalla coltura di riferimento e,
- il numero di passaggi dopo i quali la preparazione di microrganismi è stata estratta dalla coltura di riferimento.

La decisione di effettuare un ulteriore controllo di qualità è sola responsabilità di ogni singolo laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

La seguente bibliografia cita le basi del metodo di liofilizzazione impiegato su queste preparazioni di microrganismi.

1. Y. Obara, S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. J. Clin. Microbiol. 14:61-66.

La selezione delle colture di riferimento è solo una parte integrante dell'intero schema per le procedure e le tecniche di controllo QC. È essenziale il riferimento alle linee guida per le applicazioni di ogni laboratorio. Gli esempi includono:

1. AOAC Compendium of Microbiological Methods.
2. Clinical Microbiology Procedure Handbook. 2nd Ed. 2004. ASM. Washington, D.C.
3. FDA Bacteriological Analytical Manual.
4. Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C.
5. Manual of Quality Control Procedures for Microbiology Laboratories, 3rd Ed., 1981. CDC, Atlanta, GA.
6. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. CLSI.
7. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
8. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. CLSI.
9. Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media. CLSI.
10. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. CLSI.
11. Standard Methods for the Examination of Dairy Products.
12. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
13. US Pharmacopoeia 28 and National Formulary 23.

SITO WEB

Visitare il nostro sito Web per informazioni tecniche e per la disponibilità del prodotto.

www.microbiologics.com

ATTESTAZIONI

MicroBioLogics, Inc
217 Osseo Avenue North
St. Cloud, MN 56303 USA
Tel: 320 253 1640
Fax: 320 253 6250
Email: info@mbi2000.com

 MediMark® Europe
11, rue Emile Zola B.P. 2332
38033 Grenoble Cedex 2, France
Tel: 33 (0)4 76 86 43 22
Fax: 33 (0)4 76 17 19 82
Email: info@medimark-europe.com



*

ATCC Licensed Derivative
Emblem, ATCC Licensed
Derivative e ATCC sono marchi
registrati di ATCC.
MicroBioLogics, Inc. è autorizzato ad
utilizzare questi marchi registrati e a
vendere prodotti provenienti da colture
ATCC®.