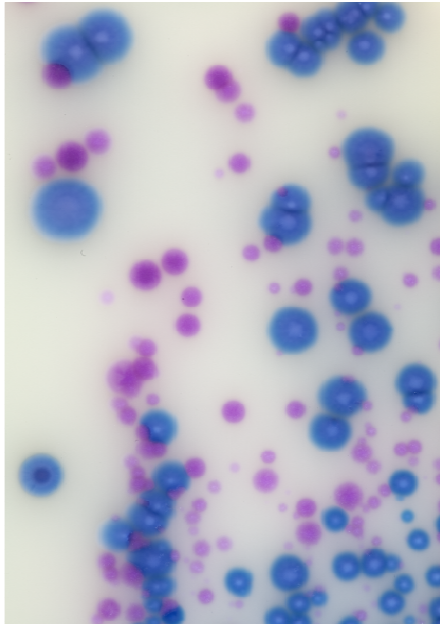




## ChromArt

# CHROMOGENIC STREPTO B AGAR BASE CHROMOGENIC STREPTO B SUPPLEMENT

Terreno di coltura in polvere e supplemento selettivo



ChromArt Strepto B: coltura mista di *Streptococcus agalactiae* (colonie rosso-magenta) ed *Enterococcus* spp. (colonie blu)

### DESTINAZIONE D'USO

Terreno selettivo e cromogeno per la determinazione degli streptococchi di gruppo B (*Streptococcus agalactiae*) nei campioni clinici.

### FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)\*

#### Chromogenic Strepto B Agar Base (REF 4080102)

|                            |          |
|----------------------------|----------|
| Peptoni                    | 28,000 g |
| Sali tampone               | 5,250 g  |
| Fattori di crescita        | 6,700 g  |
| Miscela di sali inorganici | 8,500 g  |
| Miscela di antimicrobici   | 0,067 g  |
| Miscela di cromogeni       | 0,300g   |
| Opacizzante                | 6,500 g  |
| Agar                       | 15,000 g |

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

### CONTENUTO DEL FLACONE

#### Chromogenic Strepto Supplement (REF 4240053)

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| Miscela di antimicrobici | 0,04 g |
| Miscela di cromogeni     | 0,05 g |

### DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Chromogenic Strepto B Agar Base è un terreno cromogeno, selettivo e differenziale per l'isolamento ed il riconoscimento degli Streptococchi di gruppo B. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di una miscela di antibiotici. La differenziazione è ottenuta con una miscela di composti cromogeni atti ad evidenziare le attività enzimatiche specifiche di *Streptococcus agalactiae* e delle specie microbiche diverse da *S.agalactiae* la cui crescita è consentita dalla miscela antibiotica presente nel terreno. *S. agalactiae* coltiva con colonie rosa-rosso magenta, i microrganismi la cui crescita è consentita dalla miscela antimicrobica del terreno coltivano con colonie blu o verde-blu con o senza aloni magenta o con colonie incolori o tendenti al viola.

### PREPARAZIONE

Sospendere 35,14 g in 500 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C ed aggiungere il contenuto di un flacone di Chromogenic Strepto B Supplement (REF 4240053) ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile

### CARATTERISTICHE DEL TERRENO

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| Aspetto della polvere                          | fine granulometria omogenea, rosata |
| Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra | terreno opaco, biancastro           |
| pH finale a 25 °C:                             | 7,2 ± 0,2                           |

### CARATTERISTICHE DEL SUPPLEMENTO

|                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| Aspetto del liofilizzato | alta compatta, gialla   |
| Aspetto della soluzione  | giallastra, opalescente |

### MATERIALI FORNITI

Terreno di coltura in polvere Chromogenic Strepto B Agar, supplemento Chromogenic Strepto B Supplement.

### MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

**CAMPIONI**

Il terreno qui descritto è indicato per la semina del tampone vaginale e del tampone rettale della gestante o del fluido gastrico del neonato e degli stessi arricchiti per semina in brodo selettivo (Todd Hewitt CNA Broth). Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.

**PROCEDURA DELL'ANALISI**

Portare le piastre a temperatura ambiente. Il terreno può essere impiegato per semina diretta del campione sulla superficie della piastra o per semina con una ansata di crescita ottenuta nel terreno liquido di arricchimento Todd Hewitt CNA Broth. Quest'ultima procedura è raccomandata poiché validata nello studio clinico riportato oltre e poiché aumenta la sensibilità e la specificità del metodo.

Strisciare con un'ansa su quattro quadranti, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate. Incubare le piastre a 37°C per 48 ore. La lettura alle 24 ore è possibile in casi di urgenza ma aumenta il tasso di false positività. In ogni caso la lettura definitiva dei risultati deve essere fatta dopo incubazione a 37°C per 48 ore.

**LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

Colonie tipiche di *S.agalactiae*: colonie rotonde di dimensioni variabili, rosa o rosa-magenta o magenta. La maggior parte dei ceppi alle 48 ore di incubazione sviluppa colonie rotonde di buone dimensioni (3-4 mm) di color magenta. Alle 24 ore alcuni ceppi di *Enterococcus* sviluppano piccole colonie rosa oppure rosa con sfumature grigie o presentano due tipologie di piccole colonie: rosa e grigie. Di norma le colonie di questi ceppi alle 48 ore mostrano una decisa colorazione blu oppure grigio-blu oppure viola.

La presenza di colonie blu, verde blu, grigio blu, viola con o senza alone magenta o incolore deve essere interpretata come appartenenti a specie diverse da *S.agalactiae* ed il campione deve essere considerato come negativo.

Le piastre con crescita caratteristiche devono essere sottoposte all'identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche (es: Prolex Streptococcal Grouping Latex Kit – REF 17PL030), molecolari o di spettrometria di massa, dopo purificazione delle colonie con subcoltura su terreno appropriato.

**CONTROLLO QUALITÀ**

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. E' 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 / ATM) | RISULTATI ATTESI                             |
|---------------------------------|----------------------------|--|
| <i>S.agalactiae</i> ATCC 138013 | 37°C / 48 h / A            | buona crescita, larghe colonie rosso magenta |
| <i>E.faecium</i> ATCC 700221    | 37°C / 48 h / A            | buona crescita, piccole colonie blu-grigio   |
| <i>C.albicans</i> ATCC 10231    | 37°C / 48 h / A            | crescita inibita                             |
| <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853  | 37°C / 48 h / A            | crescita inibita                             |

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

**VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI**

Le prestazioni del Chromogenic Strepto B Agar sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica indipendente su 225 campioni vaginali/rettali arricchiti in Todd Hewitt Broth + antibiotici, avendo come riferimento un analogo terreno cromogeno presente sul mercato. I risultati positivi sono stati confermati con il test di agglutinazione al lattice. I risultati alle 48 ore di incubazione sono riassunti nella tabella che segue.

|   |                | Chromogenic Strepto B Agar |                |               |                |
|---|----------------|----------------------------|----------------|---------------|----------------|
|   |                | Veri negativi              | Falsi negativi | Veri positivi | Falsi positivi |
| <b>Terreno cromogeno di riferimento</b> | Veri negativi  | 168                        |                |               | 4**            |
|   | Falsi negativi |                            |                | 3*            |                |
| <b>di riferimento</b>                   | Veri positivi  |                            |                | 44            |                |
|   | Falsi positivi |                            | 5**            |               | 1**            |

\* Identificati con il test al lattice come streptococchi di gruppo B

\*\* Confermati con il test al lattice come streptococchi non di gruppo B

168 campioni sono risultati negativi con entrambi i terreni; 44 campioni sono risultati positivi con entrambi i terreni. 3 campioni sono risultati positivi con Chromogenic Strepto B Agar, negativi con il terreno cromogeno di riferimento e confermati come Streptococchi di gruppo B con il test al lattice. 4 campioni su Chromogenic Strepto B Agar e 5 campioni sul terreno cromogeno di riferimento hanno dato origine a piccole colonie rosa, indicate in tabella con la categoria "falsi positivi", identificate poi come appartenenti al genere *Enterococcus*. 1 ceppo, identificato con il test al lattice non di gruppo B, ha fornito risultati "dubbi" e considerato come falso positivo (piccole colonie rosa su entrambi i terreni).

Chromogenic Strepto B Agar non ha dato origine ad alcun falso negativo: sensibilità 100%

Chromogenic Strepto B Agar ha dato origine a 5 falsi positivi (specificità 97,2 %)



Alle 24 ore di incubazioni 5 campioni sono risultati negativi sul terreno di riferimento e positivi su Chromogenic Strepto B Agar; tali campioni hanno sviluppato crescite caratteristiche anche sul terreno di riferimento dopo 48 ore di incubazione. Questo elemento e le osservazioni sperimentali di carattere generale hanno dimostrato crescite tipiche più rapide su Chromogenic Strepto B Agar rispetto al terreno cromogeno di riferimento.

Le prestazioni del Chromogenic Strepto B Agar sono state inoltre valutate con 20 ceppi di collezione di *S.agalactiae*: tutti i ceppi hanno fornito crescite tipiche entro 24 ore di incubazione su entrambi i terreni cromogeni.

### LIMITI DEL METODO

- Il tasso di crescita di *S.agalactiae* sulle piastre dipende anche dalle richieste nutrizionali dei diversi ceppi. E' possibile che certi ceppi con particolari caratteristiche metaboliche non crescano sul terreno; è quindi consigliabile abbinare alla piastra di terreno cromogeno una piastra di agar sangue.
- Alcune specie o generi batterici (es. Enterococchi o *S.pyogenes*) resistenti alla miscela di antimicrobici presenti, possono crescere sul terreno ma sono riconoscibili per le loro differenti caratteristiche cromatiche.
- E' stato riportato che alcuni ceppi di Enterococchi possono presentare alle 48 ore di incubazione una crescita con piccole colonie rosa.
- La lettura definitiva delle piastre deve essere fatta al termine del periodo di incubazione di 48 ore.
- Il terreno ed il supplemento qui descritti sono 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.

### PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I terreni in polvere devono essere manipolati con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza del terreno in polvere e del supplemento selettivo.
- 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 questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto qui descritto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare). Scaricare da sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- Il terreno di coltura ed il supplemento selettivo qui descritti sono diagnostici *in vitro* di tipo qualitativo, sono per uso professionale e devono essere usati in Laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Smaltire il terreno ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).

### CONSERVAZIONE

**Terreno in polvere:** conservare a +2°C / +8°C al riparo della luce e dall'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).

**Supplemento liofilizzato:** conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C.

### BIBLIOGRAFIA

- Craven R.R., Weber C.J., Jennemann R.A., Dunne M.D. Jr. Evaluation of a chromogenic agar for detection of group B Streptococcus in pregnant women. J. Clin. Microbiol. 48, 3370-3371, 2010.
- Dunne W.M. Jr, Holland-Staley C.A. Comparison of NNA culture and selective broth culture for the detection of Group B Streptococci colonization in women. J. Clin. Microbiol. 36, 2298-2300, 1998.
- Gray B.A.; Pass M.N.; Dillon H.C Jr. Laboratory and field evaluation of selective media for isolation of Group B Streptococci. J. Clin. Microbiol. 9, 466-470, 1979.
- Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. MMWR Recomm Rep. 2010 Nov 19; 59(RR-10):1-36.

### CONFEZIONI

| Prodotto                                     | Tipo                     | Cat. N° | Confezione                                 |
|--|--------------------------|---------|--|
| ChromArt Chromogenic Strepto B Agar base*    | Terreno in polvere       | 4080102 | 500 g (7,1 L)                              |
| ChromArt Chromogenic Strepto B Supplement ** | Supplemento liofilizzato | 4240053 | 10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno |

\*CODICE CND W0104010101; \*\*CODICE CND W0104010104



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.