

**ISTRUZIONI PER L'USO****ChromArt****CHROMOGENIC STREPO B SUPPLEMENT****Supplemento selettivo liofilizzato****1- DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Miscela di antimicrobici da aggiungere al terreno Chromogenic Strepto B Agar Base per la determinazione presuntiva degli streptococchi di gruppo B di Lancefield (*Streptococcus agalactiae*; GBS) in campioni clinici.

**2 - COMPOSIZIONE - CONTENUTO DEL FLACONE, PER 500 mL DI TERRENO**

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

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

Chromogenic Strepto B Supplement aggiunto a Chromogenic Strepto B Agar Base, può essere utilizzato per la determinazione presuntiva degli Streptococchi di gruppo B di Lancefield (*Streptococcus agalactiae*; GBS) in campioni clinici.

Le caratteristiche differenziali si basano su specifiche reazioni enzimatiche, che permettono la differenziazione delle colonie di *S. agalactiae* (rosa-magenta) da quelle di altri batteri non inibiti dagli agenti selettivi (es. Enterococchi) che crescono con colonie verde-blu, blu, senza con un alone rosa o incolore. Lo sfondo bianco opaco aiuta a riconoscere meglio i colori delle colonie.

Il terreno completo risulta costituito da una base nutritiva tamponata contenente antibiotici e composti cromogeni. I batteri Gram-negativi sono fortemente inibiti mentre la crescita dei batteri Gram-positivi diversi da SGB è inibita con estensione diversa a seconda del genere e della specie batterica

**4- METODO DI PREPARAZIONE DEL TERRENO**

Sciogliere il contenuto di una fiala di Chromogenic Strepto B Supplement con 5 mL di acqua purificata sterile. Aggiungere a 500 mL di Chromogenic Strepto B Agar Base (REF 408010) sterilizzato in autoclave e raffreddato a 47-50°C in condizioni asettiche. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

**5 - CARATTERISTICHE FISICHE**

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

**6- MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Chromogenic Strepto B Supplement CND W0104010104; EDMA: 14.01.01.04; RDM: 1421677	Supplemento liofilizzato	4240053	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

**7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

Chromogenic Strepto B Agar Base (REF 408010), autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

**8 - CAMPIONI**

I campioni sono costituiti da tamponi materni vaginali e anorettali bassi, raccolti e posti in un terreno di trasporto appropriato (Amies o Stuart con o senza carbone).<sup>1,2</sup> Pur in presenza di una diminuzione della carica, la vitalità di *S. agalactiae* è preservata nel terreno di trasporto mantenuto a temperatura ambiente oppure a 4°C per un massimo di 4 giorni.<sup>2</sup> I tamponi vaginali alti sono sconsigliati poiché hanno una sensibilità inferiore.<sup>1</sup> Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici; quando possibile raccogliere i campioni prima dell'inizio della terapia antibiotica.

**9 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Portare le piastre a temperatura ambiente mantenendole al buio.

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.

- Rimuovere con le cautele dell'asepsi il tappo del contenitore del campione ed introdurre i tamponi in Todd Hewitt CNA Broth, rompere (o tagliare) i bastoncini del tampone e riposizionare il tappo. I tappi devono essere tenuti allentati durante l'incubazione. Incubare a 35-37°, in atmosfera al 5% di CO<sub>2</sub>, per 18-24 ore.
- Con un'ansa sterile trapiantare dal brodo su piastra di Chromogenic Strepto B Agar e strisciare l'inoculo sulla superficie dell'agar.
- Per l'inoculo diretto, rotolare il / i tampone / i su una piccola area della superficie vicino al bordo piastra quindi strisciare da questa area inoculata.
- Incubare le piastre inoculate a 35-37°C, in aerobiosi, per 24-48 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 per 48 ore.

**10 - 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.

### 11 - 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 responsabilità 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
<i>S. agalactiae</i> ATCC 13813	35-37°C / 44-48H / A	crescita, colonie rosa-magenta
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	35-37°C / 44-48H / A	crescita, colonie blu
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	35-37°C / 44-48H / A	inibito

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

### 12 - CARATTERISTICHE 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 CNA Broth, avendo come riferimento un analogo terreno cromogeno presente sul mercato. I risultati positivi sono stati confermati con il test di agglutinazione al lattice.

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 incubazione 5 campioni sono risultati negativi sul terreno di riferimento e positivi su Chromogenic Strepto B Agar tali campioni hanno sviluppato crescita caratteristica anche sul terreno di riferimento dopo 48 ore di incubazione. Questo elemento e le osservazioni sperimentali di carattere generale hanno dimostrato crescita 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 crescita tipiche entro 24 ore di incubazione su entrambi i terreni cromogeni.

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di Chromogenic Strepto B Supplement addizionato al terreno in polvere Chromogenic Strepto B Agar Base REF 408010, vengono testati per la produttività e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi target: *S. agalactiae* ATCC 13813, *S. agalactiae* ATCC 12386, 3 ceppi d'isolamento clinico identificati come streptococchi di gruppo B. Dopo incubazione a 35-37°C per 48 ore complete in aerobiosi, i ceppi target mostrano buone crescite con caratteristiche cromatiche tipiche (colonie rosa-magenta).

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate, con metodo ecometrico semiquantitativo, appropriate diluizioni di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 dei seguenti ceppi non-target: *E. gallinarum* ATCC 49573, *E. faecium* ATCC 700221, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *S. xyloso* ATCC 35033, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231. Dopo incubazione a 35-37°C per 48 ore complete, la crescita di *P. aeruginosa* e *C. albicans* è totalmente inibita, la crescita di *E. gallinarum*, *S. saprophyticus*, *S. xyloso*, è parzialmente inibita con lo sviluppo di colonie blu chiaro, la crescita di *S. pneumoniae* è parzialmente inibita con lo sviluppo di piccole colonie rosa, mentre *E. faecalis* ed *E. faecium* non sono inibiti e crescono con colonie blu o blu - grigie.

### 13 - LIMITI DEL METODO

- È possibile che pochi ceppi di *S. agalactiae* con esigenze di crescita specifiche non crescano su questo terreno. Il rilevamento ottimale degli streptococchi di gruppo B può richiedere l'uso di più di un terreno di coltura (ad es. terreno selettivo e agar sangue).<sup>1</sup>
- Alcune specie (ad esempio *Enterococcus* spp.) resistenti agli antibiotici possono svilupparsi e produrre colonie con un colore non tipico. Tuttavia, durante le prove di convalida, 5 ceppi di enterococchi hanno prodotto piccole colonie rosa.
- Gli streptococchi di gruppo A e gli pneumococchi possono produrre piccole colonie rosa.
- La lettura finale e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguite dopo un periodo di incubazione completo di 48 ore.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, 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 di coltura 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.

### 14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Strepto B Supplement è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori del laboratorio 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 supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Strepto B Supplement ed il terreno di base devono essere usati in associazione secondo le indicazioni sopra descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Strepto B Supplement è sottoposto a sterilizzazione con membrana filtrante.
- Porre molta attenzione nell'apertura della ghiera metallica per evitare lesioni.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.





- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il supplemento, i terreni di coltura e con gli agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione; smaltire il supplemento non utilizzato ed i terreni di coltura seminati con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare Strepto B Supplement come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano e animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Comunicare a Biolife Italiana Srl ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto: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.

**15 - 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 oltre questa data. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Esaminare il prodotto liofilo ed il prodotto ricostituito al momento dell'uso e scartare se vi fossero segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

L'utilizzatore è responsabile della correttezza del ciclo di produzione e di controllo dei terreni preparati in piastra e della validazione della loro shelf life, in funzione delle condizioni di conservazione (temperatura e confezionamento).

**16 - BIBLIOGRAFIA**

1. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI) Bacteriology, B58, Issue no:3, Issue date: 26.06.18 Detection of Carriage of
2. Spellerberg B, Brandt C, Sendi P. *Streptococcus*. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> o <b>REF</b> Numero di catalogo	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	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
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	03/2022

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

