

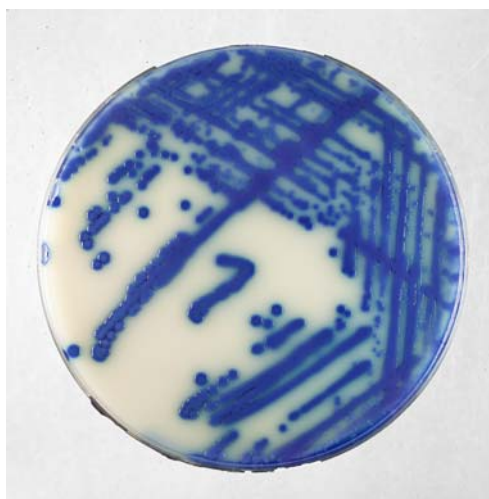
ChromArt

ChromArt CRE-ESBL Base ChromArt ESBL Supplement ChromArt CRE Supplement

Terreno cromogeno in polvere e supplementi selettivi per la preparazione dei terreni CRE Medium ed ESBL medium.



ESBL Medium: coltura mista di *Klebsiella pneumoniae* (colonie blu) ed *Escherichia coli* (colonie rosa) produttori di ESBL



CRE Medium: *Klebsiella pneumoniae* resistente ai carbapenemi

USO PREVISTO

Terreno di base e supplementi selettivi per l'isolamento e l'identificazione presuntiva degli Enterobatteri produttori di ESBL in campioni clinici (ESBL Medium) l'isolamento e l'identificazione presuntiva dei batteri Gram negativi resistenti ai carbapenemi (CRE Medium)

FORMULE TIPICHE

FORMULA TIPICA DEL TERRENO IN POLVERE (g/L)

ChromArt CRE-ESBL Base (408025)

Peptoni	16,0
Fattori di crescita.....	5,0
Opacizzante.....	10,0
Triptofano.....	2,0
Miscela di cromogeni.....	0,4
Agar.....	16,0

FORMULA TIPICA DEL SUPPLEMENTO ESBL (g/flacone)

ChromArt ESBL Supplement (4240080)

Miscela di antimicrobici.....	0,21
-------------------------------	------

FORMULA TIPICA DEL SUPPLEMENTO CRE (g/flacone)

ChromArt CRE Supplement (4240082)

Miscela di antimicrobici.....	0,21
-------------------------------	------

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sciogliere 49,4 g di terreno in polvere ChromArt CRE-ESBL Base (REF 408025) in 1000 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. Ad aliquote da 500 ml aggiungere uno dei due supplementi (ESBL o CRE).

ESBL Medium: aggiungere il contenuto di un flacone di ChromArt ESBL Supplement (REF 4240080) ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile a 500 ml di terreno di base preparato e raffreddato come descritto. pH finale $7,2 \pm 0,2$

CRE Medium aggiungere il contenuto di un flacone di ChromArt CRE Supplement (REF 4240082) ricostituito con 5 mL di acqua purificata sterile a 500 ml di terreno di base preparato e raffreddato come descritto. pH finale $7,2 \pm 0,2$

CAMPIONI

ESBL Medium è indicato per la ricerca di Enterobatteri produttori di ESBL nei campioni fecali urine o altri campioni clinici o da colture preparate ceppi isolati da campioni clinici.

CRE Medium è indicato per la ricerca dei batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi nei campioni fecali o in altri campioni clinici o da colture preparate da campioni clinici.

DESCRIZIONE

ESBL Medium

Le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) sono enzimi trasferibili in grado di idrolizzare la maggior parte degli antibiotici betalattamici, comprese le cefalosporine di ultima generazione e i monobattami. La loro diffusione è ormai a livelli preoccupanti, sia in ambiente ospedaliero che comunitario. Il terreno in polvere addizionato del supplemento selettivo (ESBL Medium) è un terreno di screening, cromogeno selettivo e differenziale per l'isolamento e la differenziazione degli Enterobatteri produttori di ESBL. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di una miscela di antibiotici inibitoria nei confronti dei batteri Gram-positivi, dei funghi ed dei batteri Gram negativi sensibili alle cefalosporine di terza o quarta generazione. La differenziazione batterica è ottenuta con una miscela di composti cromogeni atti ad evidenziare le attività enzimatiche specifiche di *E.coli*, dei batteri del gruppo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter Serratia*, *Citrobacter*) e del gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*. *Acinetobacter* e *Pseudomonas* coltivano sul terreno con colonie incolori. Il fondo opaco del terreno consente una migliore evidenziazione delle colonie ed una loro più facile lettura.

CRE Medium

Le infezioni causate da batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi sono ormai un grave problema a livello mondiale, data l'elevata capacità di diffusione di tali microrganismi e la scarsità di opzioni terapeutiche disponibili. La loro precoce individuazione nei campioni clinici è un fattore determinante per prevenirne o limitarne la diffusione e preservare l'efficacia terapeutica dei carbapenemi. Il terreno in polvere addizionato del supplemento selettivo è un terreno di screening, cromogeno, selettivo e differenziale per l'isolamento e la differenziazione batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di una miscela di antibiotici inibitoria nei confronti dei batteri Gram-positivi, dei funghi ed dei batteri Gram negativi sensibili ai carbapenemi. La differenziazione è ottenuta con una miscela di composti cromogeni atti ad evidenziare le attività enzimatiche specifiche di *E.coli*, dei batteri del gruppo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter Serratia*, *Citrobacter*) e del gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*. *Acinetobacter* coltiva sul terreno con colonie incolori. Il fondo opaco del terreno consente una migliore evidenziazione delle colonie ed una loro più facile lettura.

METODO D'IMPIEGO

CRE Medium ed ESBL Medium

I due terreni preparati con il medesimo terreno di base e l'aggiunta dello specifico supplemento selettivo possono essere impiegati per semina diretta del campione fecale o dell'urina o di altro campione clinico sulla superficie della piastra o per semina con una ansata di crescita di una brodocoltura, con opacità pari a Mc Farland 0.5, ottenuta da una colonia isolata.

Incubare le piastre inoculate a 37°C per 18-24 ore. In caso di assenza di crescita, proseguire l'incubazione per ulteriori 24 ore (48 ore complessive di incubazione).

Osservare per la presenza di colonie tipiche :

Colonie	Identificazione presuntiva su CRE Medium	Identificazione presuntiva su ESBL Medium
Larghe colonie rosa / rosso-magenta	<i>E.coli</i> resistente ai carbapenemi	<i>E.coli</i> produttore di ESBL
Colonie blu/ verde-blu / blu-viola / grigio-viola	<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> resistenti ai carbapenemi	<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> produttori di ESBL
Colonie con alone marrone	<i>Proteus-Morganella-Providencia</i> resistenti ai carbapenemi	<i>Proteus-Morganella-Providencia</i> produttori di ESBL
Colonie bianche	<i>Acinetobacter</i> o altri Gram negativi non fermentanti, resistenti ai carbapenemi	<i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> o altri Gram negativi non fermentanti, produttori di ESBL

ESBL Medium: confermare la produzione di ESBL con appropriati test diagnostici (es. kit per le resistenze Rosco).

CRE Medium: confermare la produzione di carbapenemasi con appropriati test diagnostici (es. kit per le resistenze Rosco).

ESBL MEDIUM: CONTROLLO DI QUALITÀ SUGGERITO PER L'UTILIZZATORE (37°C / 24 h)

Controllo della produttività

K.pneumoniae SHV-18 ATCC 700603: buona crescita colonie blu

Controllo della selettività

E.coli ATCC 25922 crescita inibita*C.albicans* ATCC 10231 crescita inibita

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il Controllo di Qualità in accordo alle norme locali e tenendo in considerazione l'uso previsto.

CRE MEDIUM: CONTROLLO DI QUALITÀ SUGGERITO PER L'UTILIZZATORE (37°C / 24 h)c

Controllo della produttività:

K.pneumoniae ATCC BAA-1705: buona crescita colonie blu,

Controllo della selettività:

E.coli ATCC 25922 crescita inibita*C.albicans* ATCC 10231 crescita inibita

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il Controllo di Qualità in accordo alle norme locali e tenendo in considerazione l'uso previsto.

CONSERVAZIONE

Conservare il terreno in polvere, ed i supplementi selettivi nella loro confezione originale (flacone/ scatola) a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni i prodotti sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data.

LIMITI DEL METODO E AVVERTENZE

- L'identificazione ottenuta con ESBL Medium o CRE Medium deve essere confermata con gli appropriati test diagnostici (biologia molecolare, biochimici, dischetti-tavolette) .
- Sul terreno ESBL possono crescere ceppi di batteri Gram-negativi iper-produttori di AmpC.
- Il terreno ESBL può risultare inibitorio per i ceppi produttori di carbapenemasi del tipo Oxa-48.
- Sul terreno CRE possono crescere ceppi di batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi per un meccanismo di impermeabilità di membrana ma non produttori di carbapenemasi.
- L'interpretazione dei risultati di crescita su ESBL Medium o CRE Medium deve tenere in considerazione la storia del paziente, l'origine del campione, la morfologia delle colonie, l'osservazione microscopica del ceppo isolato ed eventualmente i risultati di altri test diagnostici.

VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI: ESBL MEDIUM

Le prestazioni del terreno ESBL Medium sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica del nord-Italia (1) su:

2500 urinocolture e 38 colture di altri campioni clinici (emocolture e liquor)

I risultati sono riassunti nelle tabelle che seguono.

Tab.1: Riassunto dei risultati ottenuti su 2538 campioni

	N°	Ceppi di Enterobatteri isolati	Enterobatteri confermati come produttori di ESBL*	Enterobatteri confermati come NON produttori di ESBL*
Campioni di urine	2500	736	79	657
Altri campioni clinici °	38	37	6	31
Total	2538	773	85	688
Growth on ESBL Medium			84	12**

* la conferma della produzione di ESBL è stata eseguita con la tecnica del doppio disco

° 37 emocolture ed 1 liquor

Tab.2: Calcolo della sensibilità e specificità

	ESBL POS	ESBL NEG
Crescita su ESBL Medium	84 (veri positivi)	12 (falsi positivi)**
Nessuna crescita su ESBL Medium	1 (falso negativo)	688 (veri negativi)

** : 9 dei 12 falsi positivi erano ceppi iper-produttori di AmpC

Sensibilità: 98.82%

Specificità: 98.29%

I dati dimostrano che il terreno ChromArt ESBL è in grado di rilevare gli Enterobatteri produttori di ESBL con elevate sensibilità e specificità.

VALUTAZIONE DELLE PRESTAZIONI: CRE MEDIUM

Le prestazioni del CRE Medium sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica del nord-Italia (2) su:

110 ceppi di batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi, 40 ceppi di Enterobatteri resistenti alle cefalosporine di 3a generazione o produttori di ESBL, 25 tamponi rettali.

I risultati sono riassunti nelle tabelle che seguono. Le tabelle 1, 2, 3, 4 si riferiscono a 92 Enterobatteri e 18 Gram-negativi non fermentanti il lattosio resistenti ai carbapenemi attraverso diversi meccanismi di resistenza (inclusi 13 ceppi resistenti per perdita di porine) ed inoltre 40 Enterobatteri sensibili ai carbapenemi ma resistenti agli antibiotici beta-lattamici (ceppi AmpC ed ESBL).

Tab.1: Riassunto dei risultati riferiti ai ceppi produttori di carbapenemasi. (Ambler class A, B, D)

Meccanismo di resistenza	N° di ceppi	Crescita su CRE Medium	Crescita su Tryptic Soy Agar
KPC	60	60	60
KPC+ESBL	1	1	1
OXA	12	12	12
VIM	15	15	15
NDM	3	3	3
IMP	4	4	4
MBL	2	2	2
Totale	97	97	97

*Semina di 100 µl di una sospensione batterica pari a circa $1,5 \times 10^4$, $1,5 \times 10^5$, $1,5 \times 10^6$

Tab. 2: Riassunto dei risultati riferiti ai ceppi resistenti ai carbapenemi per impermeabilità di membrana.

Meccanismo di resistenza	N° di ceppi	Crescita su CRE Medium	Crescita su Tryptic Soy Agar
AmpC + perdita di porine	5	3	5
ESBL + perdita di porine	8	8	8
Totale	13	11	13

*Semina di 100 µl di una sospensione batterica pari a circa $1,5 \times 10^4$, $1,5 \times 10^5$, $1,5 \times 10^6$

Tab 3: Riassunto dei risultati riferiti a ceppi sensibili ai carbapenemi.

Meccanismo di resistenza	N° di ceppi	Crescita su CRE Medium	Crescita su Tryptic Soy Agar
AmpC	10	0	10
ESBL	40	0	40
Totale	50	0	50

*Con semina di 100 mcl di una sospensione microbica pari a circa $1,5 \times 10^7$ UFC

Tab 4 : Sensibilità e specificità riferita ai targets

	Target: produzione di carbapenemasi	Crescita su CRE Medium	Target: resistenza ai carbapenemi	Crescita su CRE Medium
Veri positivi	97	97	110	108
Veri negativi	63	11	50	0
Falsi positivi		11		0
Falsi negativi		0		2

Sensibilità	100%
Specificità	85.1%

98.2%
100%

I dati dimostrano che il terreno CRE Medium è in grado di rilevare batteri Gram negativi resistenti ai carbapenemi con elevate sensibilità mentre non consente la crescita di microrganismi sensibili ai carbapenemi ma che possiedono altri meccanismi che possono causare resistenza agli antibiotici beta-lattamici, come ESBL o iperproduttori di AmpC. Se il target della ricerca è la determinazione dei ceppi produttori di carbapenemasi, la specificità si riduce poiché il terreno consente la crescita di ceppi resistenti ai carbapenemi causata dalla impermeabilità di membrana per perdita di porine.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il terreno in polvere qui descritto non è classificabile come pericolosi ai sensi della legislazione vigente.

Come per tutti i terreni in polvere, la manipolazione del ChromArt CRE ESBL Base deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

Leggere le Schede di Sicurezza dei supplementi ChomArt ESBL Supplement e ChromArt CRE Supplement prima del loro uso.

I prodotti qui descritti sono diagnostici *in vitro* 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. Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- 1-Valutazione del terreno ChromArt ESBL (Biolife) per la rilevazione degli Enterobatteri produttori di ESBL in campioni clinici. Cristina Comi, Silvia Bracco, Laura Colombo, Patrizia Bartesaghi, Rita Barletta, Martha Silva, Francesco Luzzaro. XLIII Congresso AMCLI, Sezione Poster, 2014
- 2-Valutazione del terreno ChromArt CRE (Biolife) per la rilevazione di batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi. Silvia Bracco, Carola Mauri, Elisa Meroni, Luigi Principe, Beatrice Pini, Francesco Luzzaro. XLIII Congresso AMCLI, Sezione Poster, 2014.

CONFEZIONI

REF 4080252	ChromArt CRE ESBL Base,	500 g (10.1 L) - CODICE CND: W0104010101
REF 4240080	ChromArt ESBL Supplement	10 x 500 mL - CODICE CND W0104010104
REF 4240082	ChromArt CRE Supplement	10 x 500 mL - CODICE CND W0104010104

ALTRI PRODOTTI DISPONIBILI

REF 548020	ChromArt ESBL	20 piastre pronte all'uso (90 mm) - CODICE CND W0104010404
REF 548015	ChromArt CRE	20 piastre pronte all'uso (90 mm) - CODICE CND W0104010404



Biolife Italiana S.r.l. Viale Monza 272, 20128 Milano.

