

**ISTRUZIONI PER L'USO****ChromArt****ESBL SUPPLEMENT****Supplemento selettivo liofilizzato****1- DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Miscela di antimicrobici da aggiungere al terreno CRE-ESBL Base per la determinazione presuntiva delle *Enterobacteriaceae* produttrici di ESBL (ESBL medium), in campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - CONTENUTO DEL FLACONE

Miscela di antimicrobici 0,21 g

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

ESBL Supplement addizionato al terreno di base CRE-ESBL Base (REF 408025) può essere utilizzato per la preparazione del terreno ESBL per l'isolamento e la differenziazione dei ceppi di *Enterobacteriaceae* produttori di ESBL. L'uso di terreni cromogenici è l'opzione preferita per lo screening delle feci con l'obiettivo della determinazione dei ceppi produttori di ESBL.^{1,2} La differenziazione batterica è ottenuta con una miscela di composti cromogeni atti ad evidenziare le attività enzimatiche specifiche (β -galattosidasi, β -glucosidasi, triptofanasi), di *E.coli*, dei batteri del gruppo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) e del gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*. Il fondo opaco del terreno consente una migliore evidenziazione delle colonie ed una loro più facile lettura. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di una miscela di antibiotici inibitoria dei batteri Gram-positivi, funghi e dei batteri Gram-negativi sensibili alle cefalosporine di 3a o 4a generazione.

4- METODO DI PREPARAZIONE

Sciogliere il contenuto di una fiala di ESBL Supplement con 5 mL di acqua purificata sterile. Aggiungere a 500 mL di CRE-ESBL Base (REF 408025) 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 pastiglia alta omogenea, rossastra
Aspetto della soluzione rossastra opalescente

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
ChromArt ESBL Supplement CND W0104010104; EDMA: 14.01.01.04; RDM:1421723	Supplemento liofilizzato	4240080	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

CRE-ESBL Agar Base (REF 408025), 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.

8 - CAMPIONI

ESBL Medium è impiegato per lo screening di campioni clinici come feci, tamponi rettali o peri-rettali e per processare altri campioni clinici come urina, ferite e secrezioni respiratorie.¹

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.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Inoculare strisciando il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano. In alternativa, se il materiale viene seminato direttamente da un tampone, ruotare il tampone su una piccola area della superficie vicino al bordo; quindi strisciare su tutta la piastra da questa zona inoculata.

Incubare in aerobiosi, a 35-37°C per 18-24 ore.

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Le *Enterobacteriaceae* produttrici di ESBL mostrano le seguenti colonie caratteristiche:

Colonie rosa / rosso-magenta: *E.coli*

Colonie blu / verde-blu / blu-viola / grigio-viola: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*

Colonie brune con alone marrone: *Proteus-Morganella-Providencia*

I ceppi di *Enterobacteriaceae* isolati sul terreno devono essere sottoposti a test di conferma; consultare i riferimenti riportati in bibliografia.¹⁻³

10 - CONTROLLO QUALITA' 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>K. pneumoniae</i> SHV-18	ATCC 700603	35-37°C / 18-24H / A	crescita, colonie blu
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	inibito
<i>C. albicans</i>	ATCC 10231	35-37°C / 18-24H / A	inibito

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

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Le prestazioni del terreno ESBL sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica del nord-Italia⁴ su 2500 urino-colture e 38 colture di altri campioni clinici (emocolture e liquor). I dati dimostrano che il terreno ChromArt ESBL è in grado di rilevare gli Enterobatteri produttori di ESBL con elevate sensibilità (98,82%) e specificità (98,29%).

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi del terreno in polvere Chromart CRE-ESBL Base REF 408025, addizionato di Chromart ESBL Supplement REF 4240080, 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: *K.pneumoniae* ATCC 700603, ceppi d'isolamento clinico di *E.coli*, *E.cloacae*, *C.freundii*, *C.koserii* produttori di ESBL. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi, i ceppi target mostrano buone crescite con caratteristiche cromatiche tipiche.

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: *P.aeruginosa* ATCC 27853, *C.albicans* ATCC 10231, *S.aureus* (MR) ATCC 43300, *E.coli* ATCC 25922, *A.calcoaceticus* ATCC 19606, *E.fecium* (VRE) ATCC 700221 un ceppo d'isolamento clinico di *E.cloacae* iperproduttore di AmpC e por+, un ceppo d'isolamento clinico di *E.coli* iperproduttore di AmpC. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi, la crescita di *P.aeruginosa*, *C.albicans*, *S.aureus*, *E.coli* ATCC 25922 e *E.faecium* risulta totalmente inibita, mentre la crescita dei ceppi di *E.coli* ed *E.cloacae* iperproduttori di AmpC risulta parzialmente inibita.

12 - LIMITI DEL METODO

- È possibile che i terreni cromogeni per ESBL siano meno specifici, in particolare nelle aree in cui i ceppi produttori di ESBL sono molto comuni.¹
- Sul terreno ESBL possono crescere alcuni ceppi di *Enterobacteriaceae* che iperproducono cefalosporinasi e alcuni ceppi di *Pseudomonas* spp. ed *Acinetobacter* spp. multi-resistenti.
- La crescita sul terreno dipende dalle esigenze metaboliche di ciascun microrganismo e dalla resistenza agli antimicrobici presenti; alcuni ceppi target potrebbero non essere in grado di crescere sul terreno o potrebbero mostrare una crescita ritardata.
- 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 supplemento qui descritto, addizionato all'appropriato terreno di base, 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.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- ESBL Supplement 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.
- Il prodotto qui descritto è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente; consultare la Scheda di Sicurezza prima dell'uso.
- ESBL 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.
- ESBL 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 ESBL 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.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (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.

14 - 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).



**15 – BIBLIOGRAFIA**

1. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI) B 59: Detection of *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum β lactamases.2016
2. Perry JD. A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in an Era of Molecular Diagnostics. Clin Microbiol Rev. 2017; 30:449-479.
3. Simner PJ, Humphries R. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
4. Comi C, Bracco S, Colombo L, Bartesaghi P, Barletta R, Silva M, Luzzaro F. Valutazione del terreno ChromArt ESBL (Biolife) per la rilevazione degli Enterobatteri produttori di ESBL in campioni clinici. XLIII Congresso AMCLI, Sezione Poster, 2014.

4240080 ESBL SUPPLEMENT

SDS rev 1

Regolamento (UE) 2020/878

Contiene:

CEFSULODINA
CLOXACILLIN SODIUM
CEFPODOXIME SODIUM

Classificazione

Sensibilizzazione respiratoria, categoria 1
Sensibilizzazione cutanea, categoria 1

H334
H317

Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
Può provocare una reazione allergica cutanea.

Etichettatura

Pittogramma di pericolo:



Avvertenze: Pericolo

Indicazioni di pericolo:

H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.**H317** Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P261 Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.**P280** Indossare guanti protettivi.**P342+P311** In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .**P304+P340 I** N CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.**P333+P313** In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.**P362+P364** Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD 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	12/2021

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

