

**ISTRUZIONI PER L'USO**

ChromArt
CRE 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* resistenti ai carbapenemi in campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - CONTENUTO DEL FLACONE

Miscela di antimicrobici 0,21 g

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

CRE Supplement addizionato al terreno di base CRE-ESBL Base (REF 408025) può essere utilizzato per la preparazione del CRE medium per l'isolamento e la differenziazione dei ceppi di *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi. L'uso di terreni cromogenici è l'opzione preferita per lo screening delle feci con l'obiettivo della determinazione dei ceppi CRE.^{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 inibitoria di antibiotici contro batteri Gram-positivi, funghi e batteri Gram-negativi sensibili ai carbapenemi.

4- METODO DI PREPARAZIONE

Sciogliere il contenuto di una fiala di CRE 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 limpida o leggermente opalescente

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
ChromArt CRE Supplement CND W0104010104; EDMA: 14.01.01.04; RDM:1421734	Supplemento liofilizzato	4240082	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

Per CRE Medium è possibile utilizzare qualsiasi tipo di campione, tuttavia le feci e il tampone rettale sono i più sensibili per rilevare la colonizzazione CRE; se il tampone rettale non è fattibile o accettabile, sono utilizzabili altri campione clinici quali sangue, tampone dalla ferita o urina.³

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 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.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Le *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi 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.^{1,2,4}

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>K.pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Le prestazioni del terreno CRE sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica del nord-Italia⁵ su 110 ceppi di batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi, 40 ceppi di Enterobatteri resistenti alle cefalosporine di 3a generazione o produttori di ESBL.

I dati pubblicati dimostrano che il terreno CRE rileva batteri Gram negativi resistenti ai carbapenemi con elevata sensibilità (98.2%) e specificità (100%) mentre non consente la crescita di organismi sensibili ai carbapenemi ma che possiedono altri meccanismi che possono causare resistenza agli antibiotici beta-lattamici, come ESBL o la sovrapproduzione di AmpC. Se l'obiettivo della ricerca è la determinazione dei ceppi produttori di carbapenemasi, la sensibilità è del 100% e la specificità è ridotta (85,1%) poiché il terreno consente la crescita di ceppi resistenti ai carbapenemi dovuta all'impermeabilità della membrana da perdita di porine.

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi del terreno in polvere Chromart CRE-ESBL Base REF 408025, addizionato di Chromart CRE Supplement REF 4240082, 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 BAA-1705, ceppi d'isolamento clinico resistenti ai carbapenemi di *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, e *K.pneumoniae*. 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, *A.calcoaceticus* ATCC19606, *E.fecium* (VRE) ATCC 700221, *K.pneumoniae* ATCC 700603 produttore di ESBL, un ceppo d'isolamento clinico di *E.cloacae* e di *E.coli* produttori di AmpC, due ceppi d'isolamento clinico di *E.coli* produttore di ESBL. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, la crescita di *P.aeruginosa* e *S.aureus* e *E.faecium* è totalmente inibita mentre la crescita degli altri ceppi non-target è parzialmente inibita

13 - LIMITI DEL METODO

- Sul terreno CRE possono crescere alcuni batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi per impermeabilità di membrana.
- Possono crescere sul terreno CRE batteri Gram-negativi multiresistenti diversi dalle *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi (*Acinetobacter* e *Pseudomonas*).
- Ci sono poche prove che dimostrano come l'incubazione prolungata aumenti la sensibilità dei terreni cromogeni per CRE, ma ci sono prove che dimostrano che la specificità viene diminuita.³
- Lo screening per la colonizzazione intestinale da CRE è importante per lo sviluppo di strategie di controllo delle infezioni. Tuttavia, l'utilizzatore finale deve stabilire le modalità ottimali di screening per ciascuna sede e per ogni scopo specifico.⁶
- I metodi colturali potrebbero non essere ottimali per il rilevamento della produzione di bassi livelli di carbapenemasi, che hanno comunque un significato epidemiologico.⁶
- Le procedure basate su metodi colturali richiedono sempre test di conferma per rilevare il tipo di gene *bla* presente, dopo che è stato rilevato un ceppo potenzialmente resistente.
- 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.
- 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 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

- Il supplemento 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.
- Il prodotto qui descritto è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente; consultare la Scheda di Sicurezza prima dell'uso.
- CRE 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.
- CRE 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 CRE 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.

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 laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione delle condizioni di conservazione (temperatura e confezionamento).

16 – BIBLIOGRAFIA

- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI) B 59: Detection of *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum β lactamases.2016
- 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.
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI) B 60: detection of bacteria with carbapenem hydrolysing β -lactamases (carbapenemases); September 2020
- 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.
- 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.
- Viau R, Frank KM, Jacobs MR, Wilson B, Kaye K, Donskey CJ, Perez F, Endimiani A, Bonomo RA. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. Clin Microbiol Rev. 2016; 29:1-27

4240082 CRE SUPPLEMENT

SDS rev 1

Regolamento (UE) 2020/878

Contiene

CLOXACILLIN SODIUM

TAZOBACTAM

ERTAPENEM SODIUM

CEFSULODINA

Classificazione

Sensibilizzazione respiratoria, categoria 1

H334

Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1

H317

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** IN 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.

