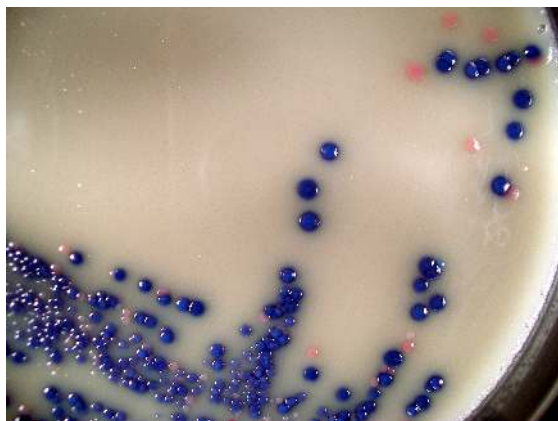


ISTRUZIONI PER L'USO
ChromArt
ESBL
Piastre pronte all'uso


ChromArt ESBL:
K.pneumoniae (colonie blu)
 ed *E.coli* (colonie rosa) produttori di ESBL

1- DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno cromogeno per la determinazione presuntiva di *Enterobacteriaceae* produttori di ESBL in campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Peptoni	16,00 g
Fattori di crescita	5,00 g
Opacizzante	10,00 g
Triptofano	2,00 g
Miscela di cromogeni	0,40 g
Miscela di antimicrobici	0,21 g
Agar	16,00 g
Acqua purificata	1000 mL

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Le beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) sono beta-lattamasi di classe A di origine plasmidica che idrolizzano e (solitamente) conferiscono resistenza alle cefalosporine di 2a e 3a generazione (ad es. cefuroxima, cefotaxime, ceftazidime e ceftriaxone) ed alle cefalosporine di 4a generazione (es. cefepime, ceftiprome), ma non alle cefamicine (ad es. cefoxitina) o ai carbapenemi.¹ Le lattamasi a spettro esteso si sono diffuse a livello globale all'interno delle specie di *Enterobacteriaceae*.² L'aumentata prevalenza di batteri produttori di ESBL in ambiente ospedaliero e l'aumento della colonizzazione intestinale da parte di batteri produttori di ESBL in individui sani e la loro associazione con infezioni acquisite in comunità, sono fenomeni che destano grande preoccupazione. 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}

ChromArt ESBL è un terreno di screening cromogenico e selettivo per l'isolamento e la differenziazione delle *Enterobacteriaceae* che producono ESBL. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di una miscela di antibiotici inibitoria nei confronti dei batteri Gram-positivi, dei funghi e 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 (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.

4 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del terreno	grigio, opaco
pH finale a 20-25 °C	7,2 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
ChromArt ESBL CND: W0104010404, EDMA: 14.01.04.04; RDM: 1403813/R	Piastre pronte all'uso	548020	2 x 10 piastre \varnothing 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Chromart ESBL 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.⁶; 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. In caso di assenza di crescita, continuare l'incubazione per altre 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* che producono 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 ChromArt ESBL sono state valutate in uno studio clinico da un Laboratorio di Microbiologia Clinica del nord-Italia⁴ 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

		Ceppi di Enterobatteri isolati	Enterobatteri confermati produttori di ESBL*	Enterobatteri confermati non produttori di ESBL*
N° DI CAMPIONI URINARI	2500	736	79	657
N° DI ALTRI CAMPIONI °	38	37	6	31
TOTALI	2538	773	85	688
CRESCITA SU CHORMART ESBL			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 ChormArt ESBL	84 (veri positivi)	12 (falsi positivi) **
Nessuna crescita su ChormArt ESBL	1 (falsi negativi)	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.

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di ChromArt ESBL e delle materie prime impiegate per la loro produzione (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*. 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, 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* e *S.aureus*, risulta totalmente inibita, mentre la crescita di *E.coli* ed *E.cloacae* risulta parzialmente inibita.

12 - LIMITI DEL METODO

- È possibile che i terreni cromogenici per ESBL siano meno specifici, in particolare nelle aree in cui i ceppi produttori di ESBL sono molto comuni.¹
- Sul terreno 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 (ad esempio *Proteus* spp.).
- 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 ai 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.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra 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 non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- 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 questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- 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. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - 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.
- Forsythe SJ *et al.* *Klebsiella* and selected Enterobacterales. 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.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	12/2020

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

