

ISTRUZIONI PER L'USO

VANCOMYCIN SCREEN AGAR

Piastre pronte all'uso

 Vancomycin Screen Agar:
Enterococcus faecalis resistente alla vancomicina

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno di screening per la rilevazione presuntiva della resistenza degli enterococchi alla vancomicina e della ridotta sensibilità di *Staphylococcus aureus* alla vancomicina.

2 - COMPOSIZIONE

| | |
|--------------------------------------|---------|
| Infuso di cuore e cervello e peptoni | 27,5 g |
| Glucosio | 2,0 g |
| Sodio cloruro | 5,0 g |
| Sodio fosfato bibasico | 2,5 g |
| Agar | 15,0 g |
| Vancomicina | 6,0 mg |
| 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

 Gli enterococchi sono causa comune di infezioni del tratto urinario, ascessi intra-addominali e intra-pelvici, infezioni delle ferite post-chirurgiche ed infezioni del torrente circolatorio. L'emergere e la diffusione di enterococchi resistenti agli antibiotici ed in particolare di enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE), rappresenta un grave problema di salute pubblica. La resistenza ai glicopeptidi è mediata da diversi operoni del gene per la resistenza alla vancomicina (*van*): sono stati riconosciuti almeno nove tipi di resistenza acquisita e un tipo aggiuntivo (*vanC*) con resistenza intrinseca in *E.casseliflavus* ed *E.gallinarum*.¹
S.aureus è un microrganismo virulento responsabile di molte infezioni gravi nella popolazione. Il primo ceppo di *S.aureus* d'isolamento clinico con ridotta sensibilità alla vancomicina è stato descritto da Hiramatsu *et al.* nel 1997² e questi ceppi sono ora oggetto di segnalazioni frequenti in tutto il mondo.

 Il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) raccomanda il terreno Brain Heart Infusion Agar con l'aggiunta di 6 mg/L di vancomicina come test di screening per la rilevazione presuntiva di colture pure di enterococchi resistenti alla vancomicina e di ceppi di *S.aureus* con ridotta sensibilità alla vancomicina.³

Vancomycin Screen Agar contiene infuso di cuore-cervello e peptoni come fonti di azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita microbica; il glucosio è incluso come fonte di energia, il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico, il sodio fosfato bibasico è presente come sistema tampone; la vancomicina alla concentrazione di 6 mg/L viene utilizzata per rilevare la resistenza alla vancomicina.

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

 Aspetto del terreno in piastra
 pH finale a 25 °C

 terreno limpido di colore giallo chiaro
 7,4 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

| Prodotto | Tipo | REF | Confezione |
|--|------------------------|--------|---|
| Vancomycin Screen Agar CND:W0104010403 EDMA:14.01.04.03; RDM: 1456098/R | Piastre pronte all'uso | 549520 | 2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone |

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio, anse e tamponi sterili da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

 Vancomycin Screen Agar è inoculato con colture pure di ceppi clinici identificati presuntivamente come Enterococchi o *S.aureus*. Il terreno non è da utilizzare per l'isolamento microbico da campioni clinici.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

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

- Preparare la sospensione dell'inoculo selezionando le colonie da una crescita su piastra di terreno non selettivo.
- Trasferire le colonie in Tryptic Soy Broth per preparare una sospensione con torbidità pari a McFarland 0,5.
- Preferibilmente, utilizzando una micropipetta, depositare una goccia da 1-10 µL (Enterococchi) o una goccia da 10 µL (*S.aureus*) su una piastra di Vancomycin Screen Agar. In alternativa, utilizzando un tampone immerso nella sospensione, eliminando il liquido in eccesso, seminare un'area di 10-15 mm di diametro o strisciare una porzione della piastra.
- Inoculare anche una piastra di agar sangue come controllo della crescita, per verificare la vitalità e la purezza del ceppo.
- Capovolgere la piastra ed incubare a 35 ± 2 ° C, in aerobiosi, per 24 ore complete.





9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare attentamente le piastre incubate, con luce trasmessa.

Osservare la piastra di controllo: la crescita del ceppo in coltura pura indica la presenza di microrganismi vitali nell'inoculo.

Esaminare attentamente la piastra di Vancomycin Screen Agar per verificare la crescita.

Enterococchi resistenti alla vancomicina: presenza di > 1 colonia

S.aureus con una ridotta sensibilità alla vancomicina: presenza di > 1 colonia o leggero film di crescita.

I risultati ottenuti su Vancomycin Screen Agar sono presuntivi e devono essere confermati con la determinazione delle CMI.

Test e refertazioni aggiuntive (enterococchi)

Eseguire la CMI alla vancomicina su *Enterococcus* spp. che crescono su Vancomycin Screen Agar e testarne la motilità e la produzione di pigmenti per distinguere le specie con resistenza acquisita (es. *vanA* e *vanB*) da quelle con resistenza intrinseca di livello intermedio alla (es. *vanC*), come *E.gallinarum* ed *E.casseliflavus* che spesso crescono sul terreno. *E.gallinarum* ed *E.casseliflavus* con CMI di vancomicina di 8-16 µg / mL (intermedio) differiscono dagli enterococchi resistenti alla vancomicina perché richiedono diverse strategie di prevenzione delle infezioni.

Test e report aggiuntivi (*S.aureus*)

Eseguire la CMI alla vancomicina utilizzando un metodo validato sui ceppi di *S.aureus* che crescono su Vancomycin Screen Agar.

10 - CONTROLLO QUALITÀ

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 qualità³

| CEPPI DI CONTROLLO | INCUBAZIONE (T° / t / ATM) | RISULTATI ATTESI |
|------------------------------------|----------------------------|------------------|
| <i>E. faecalis</i> (VR) ATCC 51299 | 33-37°C / 24 h / A | crescita |
| <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 | 33-37°C / 24 h / A | nessuna crescita |

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

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di piastre pronte per l'uso di Vancomycin Screen Agar è testato per le caratteristiche delle prestazioni con un ceppo sensibile alla vancomicina (*E.faecalis* ATCC 29212) e con un ceppo resistente (*E.faecalis* ATCC 51299). Dopo incubazione a 33-37 ° C per 24 ore in aerobiosi, *E.faecalis* ATCC 51299 sviluppa una crescita mentre *E.faecalis* ATCC 29212 è completamente inibito.

12 - LIMITI DEL METODO

- Il test su Vancomycin Screen Agar non rileva in modo affidabile tutti i ceppi di *S.aureus* con sensibilità intermedia alla vancomicina: alcuni ceppi per i quali le CMI della vancomicina sono 4 µg/mL non sviluppano crescita.³
- Eseguire le CMI per vancomicina con un metodo affidabile e validato su *Enterococcus* spp. e *S.aureus* che sviluppano crescita su Vancomycin Screen Agar, per confermare la resistenza e per determinare la concentrazione precisa di vancomicina a cui il ceppo è resistente.
- *E.gallinarum* ed *E.casseliflavus*, con una resistenza intrinseca di livello intermedio alla vancomicina, crescono spesso sul terreno.³
- Non ci sono dati sufficienti per raccomandare l'uso di questo terreno per il rilevamento di ceppi resistenti alla vancomicina diversi da enterococchi e *S.aureus*.
- 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 europea 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.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- 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 tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- 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

1. Orsi GB, Ciorba V. Vancomycin resistant enterococci healthcare associated infections. Ann Ig 2013; 25: 485-492
2. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J. Ant Chem 1997;40(1):135-6
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 30th ed. CLSI supplement M100-S30. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

| | | | | | |
|---|---|--|---|---|--|
| REF Numero di catalogo | o 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 2 | Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746 | 11/2020 |

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

