

**ISTRUZIONI PER L'USO**

SKIRROW ANTIMICROBIC SUPPLEMENT

Supplemento selettivo liofilizzato

1 - DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Miscela di antimicrobici da aggiungere ad un terreno di base per l'isolamento di *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* da campioni clinici e non-clinici.

2 - COMPOSIZIONE**CONTENUTO DEL FLACONE (PER 500 mL DI TERRENO)**

Polimixina B	1250 IU
Trimetoprim	2.5 mg
Vancomicina	5.0 mg

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Skirrow Antimicrobial Supplement è una miscela liofilizzata di antimicrobici da utilizzare come supplemento del terreno Columbia Agar Base. Il terreno completo Skirrow Medium, originariamente sviluppato nel 1977 da Skirrow,¹ è un terreno selettivo per l'isolamento di *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* da campioni clinici e non-clinici. La vancomicina inibisce i batteri Gram-positivi ed il trimetoprim e la polimixina B inibiscono molti batteri Gram-negativi.

4 - METODO DI RICOSTITUZIONE E DI PREPARAZIONE DEL TERRENO

Sciogliere il contenuto di una fiala di Skirrow Antimicrobial Supplement con 5 mL di acqua purificata sterile.

Con le precauzioni dell'asepsi, aggiungere a 500 mL di Columbia Agar Base (401136) sterilizzato in autoclave a 121°C per 15 minuti e raffreddato a 47-50°C. Aggiungere il supplemento insieme a 25 mL di sangue lisato di cavallo. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del liofilizzato	pastiglia bassa, compatta, gialla
Aspetto della soluzione	limpida, incolore

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Skirrow Antimicrobial Supplement	Supplemento liofilizzato	4240016	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Columbia Agar Base (401136), autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori per l'identificazione delle colonie. Materiali per l'incubazione in atmosfera microaerofila.

8 - CAMPIONI

Il terreno Skirrow è destinato all'esame batteriologico di campioni clinici come feci e tamponi rettali^{2,3} e di campioni non clinici come alimenti e mangimi. Se possibile raccogliere i campioni prima dell'inizio della terapia antibiotica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente.

- Feci solide: le feci possono essere diluite 1: 4 in acqua peptonata 0.1% o in soluzione fisiologica sterile. È stato dimostrato che la diluizione riduce significativamente la quantità di flora contaminante senza compromettere l'isolamento degli agenti patogeni anche se presenti in bassa carica.³ Mescolare bene quindi inoculare sulla piastra 3-5 gocce di sospensione.
- Feci liquide: inoculare 3 gocce sulla superficie della piastra.
- Tampone rettale: rotolare il tampone su una piccola area in prossimità del bordo piastra

Per tutti i campioni comunque strisciare con un'ansa sterile il campione sui 4 quadranti della piastra per ottenere colonie isolate assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano.

Incubare a 39-42°C in atmosfera microaerobica (10% CO₂; 5-6% O₂; 84-85% N₂) per 40-48 ore.²

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Campylobacter jejuni cresce con colonie non emolitiche, piccole, mucose, piatte con bordi irregolari. Le colonie tendono a sciamare.

Le specie di *Campylobacter* sono ossidasi positive. Se una colonia che fenotipicamente appare come *Campylobacter* fosse ossidasi negativa, trapiantare su agar sangue e ripetere il test dopo incubazione di 24 ore.⁴

L'identificazione presuntiva dei *Campylobacter* termofili ed enteropatogeni può essere fatta sulla base delle positività al test dell'ossidasi ed alla mobilità caratteristica a fresco. Per una descrizione completa dei criteri e dei metodi di identificazione, fare riferimento alla bibliografia citata.⁴

Le piastre dopo 24 h di incubazione devono essere esaminate rapidamente e re-incubate in condizioni microaerofile per mantenere la vitalità dei ceppi più sensibili all'ossigeno.

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 facoltà 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>C.jejuni</i> ATCC 33291	39-42°C / 40-48 h / M	buona crescita
<i>C.coli</i> ATCC 43478	39-42°C / 40-48 h / M	buona crescita
<i>E.coli</i> ATCC 25922	39-42°C / 40-48 h / M	crescita parzialmente o totalmente inibita
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	39-42°C / 40-48 h / M	crescita inibita

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

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di Skirrow Antimicrobial Supplement addizionato al terreno in polvere Columbia Agar Base insieme al 5% di sangue lisato di cavallo, vengono testati per la produttività e la selettività avendo come riferimento lotti precedentemente approvati e considerati come Lotti di Riferimento.

La produttività è testata con un test semi-quantitativo con i ceppi target *C.jejuni* ATCC 33291 e *C.coli* ATCC 43478; le piastre sono inoculate con diluizioni decimali in soluzione salina delle sospensioni delle colonie e incubate in atmosfera microaerofila a 39-42°C per 24 ore. Entrambi i ceppi mostrano una buona crescita

La selettività viene valutata con il metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland dei ceppi non-target: *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853 *S.aureus* ATCC 25923, *E.faecalis* ATCC 19433, *P.rettgeri* ATCC 39944, *P.mirabilis* ATCC 12453, *C.albicans* ATCC 60193. La crescita di *E.faecalis*, *S.aureus* e *P.mirabilis* è totalmente inibita mentre la crescita di altri ceppi non bersaglio è parzialmente inibita dopo incubazione a 39-42°C per 48 ore

13 - LIMITI DEL METODO

- I contaminanti che più frequentemente si ritrovano sul terreno sono *Enterobacteriaceae* resistenti agli antimicrobici del supplemento.
- Per ottenere i migliori tassi di isolamento di *Campylobacter* dai campioni fecali, è raccomandabile una combinazione di terreni che includa il terreno Skirrow e un secondo terreno basato su un diverso sistema selettivo (ad esempio, il terreno Karmali).⁴
- Non vi sono adeguate evidenze sperimentali che dimostrino in maniera univoca il vantaggio clinico dell'uso dei brodi di arricchimento formulati per migliorare il recupero di *Campylobacter*.² L'arricchimento sembra non essere necessario per i campioni raccolti nella fase acuta di campilobatteriosi, mentre il recupero di *Campylobacter* aumenta nei pazienti asintomatici, in studi che coinvolgono un basso numero del batterio-target, in campioni inviati non prontamente al laboratorio e in campioni prelevati nella fase di convalescenza dopo un episodio di diarrea.^{5,6}
- 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 terreno di coltura ed il supplemento qui descritti sono 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.
- I supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il supplemento qui descritto ed il terreno di base devono essere usati in associazione secondo le indicazioni sopra riportate. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Il supplemento qui descritto 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 il supplemento qui descritto 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 della tipologia (piastre/flaconi) e delle condizioni di conservazione (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

- Skirrow, M. B. 1977. Campylobacter enteritis: a "new" disease. Br. Med. J. 2:9-11.
- Fitzgerald C, Nachamkin I. Campylobacter and Arcobacter. In Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.998
- Public Health England. Investigation of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. ID30. Issue 8.1. 2014
- Public Health England. Identification of Campylobacter species. ID23. Issue 3.1. 2018





5. Endtz HP, Ruijs GJ, et al. Comparison of six media including a semisolid agar for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1007
6. Bolton FJ, Robertson L. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol* 1982; 35:462

SKIRROW ANTIMICROBIC SUPPLEMENT 4240016

SDS rev 5

Regolamento (UE) 2020/878

Contiene: vancomicina**Classificazione**

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1

H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

Etichettatura

Pittogramma

Avvertenza

Attenzione

Indicazioni di pericolo

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H317

Consigli di prudenza:

Indossare guanti protettivi-

P280

Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P261

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 o REF Numero di catalogo	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 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	02/2022
Revisione 3	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

