

**ISTRUZIONI PER L'USO****CNA ANTIMICROBIC SUPPLEMENT****Supplemento selettivo liofilizzato****1 - DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Miscela di sostanze antimicrobiche da aggiungere al terreno Columbia Agar Base per l'isolamento dei cocchi Gram positivi da campioni clinici e da altri materiali.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA**CONTENUTO DEL FLACONE PER 500 mL DI TERRENO**

Acido nalidissico	7,5 mg
Colistina	5 mg

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

CNA Antimicrobial Supplement è una miscela liofilizzata di antimicrobici da utilizzare come supplemento del terreno Columbia Agar Base. Il terreno completo Columbia CNA con sangue defibrinato di montone o di cavallo, corrisponde al terreno descritto nel 1966 da Ellner, Stoessel, Drakeford e Vasi.¹ ed è indicato per l'isolamento e la determinazione delle proprietà emolitiche dei cocchi Gram positivi (*Staphylococcus* e *Streptococcus*), soprattutto nell'esame di campioni contaminati da flora Gram negativa (es. *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*) che tende a sovra crescere nei terreni al sangue convenzionali non selettivi.^{2,3}

La colistina, antibiotico polipeptidico del gruppo delle polimixine e l'acido nalidissico, un chinolone di prima generazione, sono attivi nei confronti dei batteri Gram negativi, rendendo il terreno selettivo per i cocchi Gram positivi.

4 - METODO DI RICOSTITUZIONE E DI PREPARAZIONE DEL TERRENO

Ricostituire il contenuto di una fiala di CNA Antimicrobial Supplement con 5 mL di acqua purificata sterile, usando le precauzioni dell'asepsi. Aggiungere a 500 mL di Columbia Agar Base (REF 401136), o di Columbia Agar Base EP (REF 401135) sterilizzati in autoclave e raffreddati a 47-50°C in condizioni aseptiche, insieme al 5% di sangue defibrinato sterile di montone o cavallo. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE FISICHE

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

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
CNA Antimicrobial Supplement	Supplemento liofilizzato	4240018	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

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

8 - CAMPIONI

Le piastre preparate con Columbia Agar Base, CNA Antimicrobial Supplement e sangue animale possono essere inoculate direttamente con una varietà di campioni clinici umani raccolti da siti normalmente non sterili quali l'orecchio, le vie aeree superiori, il tratto genitale, pus ed essudati.^{4,5} Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica.

Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.⁴

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente (15-30°C) e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Inoculare con il materiale strisciando con l'ansa su quattro quadranti della piastra, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate, assicurandosi che la semina sul quarto quadrante non si sovrapponga a quella del primo. In alternativa se il campione è seminato direttamente dal tampone di raccolta, rotolarlo su una area ristretta in prossimità del bordo piastra quindi strisciare su tutta la superficie del terreno con un'ansa.

Incubare a 35-37 °C in aerobiosi o in atmosfera al 5-10% di CO₂ ed osservare dopo 18-24 e 48 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie e delle aree di emolisi. Consultare la bibliografia citata per l'interpretazione delle caratteristiche emolitiche delle colonie.⁶

11 - CONTROLLO DI 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.⁷

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	35-37°C / 18-24H / A o CO ₂	buona crescita, β-emolisi
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	35-37°C / 18-24H / A o CO ₂	buona crescita, α-emolisi





<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A o CO ₂	buona crescita
<i>P.mirabilis</i>	ATCC 12453	35-37°C / 44-48H / A o CO ₂	totalmente o parzialmente inibito

A: incubazione in 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 CNA Antimicrobic Supplement sono testati per la produttività e la selettività con il terreno di base Columbia Agar Base addizionato di sangue di montone, avendo come riferimento lotti precedentemente approvati e considerati come Lotti di Riferimento.

La produttività è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi target: *S.pyogenes* ATCC 19615, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S.aureus* ATCC 25923, *S.epidermidis* ATCC 12228, *E.faecalis* ATCC 19433. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 h ore in aerobiosi si osservano le caratteristiche emolitiche dei ceppi e l'entità delle crescite. Tutti i ceppi mostrano emolisi tipiche e buone crescite.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate con metodo Miles Misra modificato appropriate diluizioni di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 di ceppi non-target: *E.coli* ATCC 25922, *P.mirabilis* ATCC 12453, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *C.albicans* ATCC 60193. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi la crescita di *E.coli* risulta completamente inibita e la crescita degli altri ceppi non-target è parzialmente inibita.

13 - LIMITI DEL METODO

- A causa della presenza di carboidrati (amido) le zone di beta emolisi possono essere circondate da un piccolo alone più scuro, apparentemente di alfa emolisi.³
- La crescita ed il tipo di emolisi sul terreno qui descritto dipendono dalle esigenze metaboliche di ciascun microorganismo; è possibile che alcuni ceppi non siano in grado di coltivare sul terreno e/o dimostrino modelli emolitici diversi dall'atteso.
- I lieviti ed alcuni batteri Gram negativi resistenti alla miscela antibiotica CNA potrebbero non essere inibiti su questo terreno.
- Poiché alcuni agenti patogeni richiedono anidride carbonica per una crescita ottimale, è preferibile incubare le piastre con il 5-10% di CO₂.
- 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 richiesto e pertinente, sottoposte al 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.

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.
- Il supplemento 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.
- Il supplemento qui descritto è sottoposto a sterilizzazione in autoclave a vapore.
- 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 del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

- Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi, F. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Path* 1966; 45: 502-504.
- Atlas D, Snyder J. Media Reagents and Stains. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington,DC: American Society for Microbiology; 2015. p.345.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington,DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
- Public Health England- UK Standards for microbiology investigations (UK SMI): searchable index. 9 January 2019
- Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, K.L., Isenberg H.D. and Shadomy, H.J. (ed) (1991) *Manual of Clinical Microbiology*, 5th edition, Washington,DC: American Society for Microbiology; 1991.





7. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004

CNA ANTIMICROBIC SUPPLEMENT REF 4240018

SDS rev 7

Regolamento (UE) 2020/878

Componenti pericolosi della miscela: acido nalidissico sale sodico, colistina**Classificazione**

Tossicità acuta, categoria 3

H301

Tossico se ingerito.

Tossicità acuta, categoria 4

H332

Nocivo se inalato.

Tossicità specifica per organi bersaglio -esposizione singola, categoria 3

H335

Può irritare le vie respiratorie.

Etichettatura

Pittogramma



Avvertenza Attenzione

Indicazioni di pericolo

H301 Tossico se ingerito

H332 Nocivo se inalato.

H335 Può irritare le vie respiratorie.

Consigli di prudenza:

P261 Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .

P403+P233 Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato.

P264 Lavare accuratamente . . . dopo l'uso.

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 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	02/2022
Revisione 4	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

