

**ISTRUZIONI PER L'USO****CAMPYLOBACTER GROWTH SUPPLEMENT****Supplemento di crescita liofilizzato****1 - DESTINAZIONE D'USO**

Diagnostico *in vitro*. Supplemento per migliorare la crescita e l'aerotolleranza di *Campylobacter* spp.

**2 - COMPOSIZIONE - CONTENUTO DELLA FIALA PER 500 mL DI TERRENO**

Sodio piruvato	125 mg
Sodio metabisolfito	125 mg
Ferro solfato	125 mg

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

Campylobacter Growth Supplement è una miscela liofilizzata di composti preparati secondo la formulazione ideata da George al.<sup>1</sup> Il piruvato di sodio, il metabisolfito di sodio e il solfato ferroso, aggiunti a terreni di base solidi o a terreni di arricchimento liquidi, migliorano l'isolamento e la tolleranza all'ossigeno di *Campylobacter* spp., neutralizzando gli anioni superossido ed il perossido di idrogeno che si formano spontaneamente nel terreno di coltura.<sup>2,3</sup>

Il terreno completo può essere preparato aggiungendo Campylobacter Growth Supplement ad un terreno di base come Columbia Agar Base, Nutrient Broth n° 2, con il 5-7% di sangue lisato di cavallo o di montone ed il contenuto reidratato di una fiala di un supplemento selettivo come Skirrow, Butzler, Preston o Blaser Wang.

**4 - METODO DI RICOSTITUZIONE E DI PREPARAZIONE DEL TERRENO**

Ricostituire asetticamente il contenuto di una fiala di Campylobacter Growth Supplement con 5 mL di acqua purificata sterile e mescolare delicatamente per dissolvere.

Preparare 500 mL del terreno di base adatto, sterilizzato in autoclave e raffreddato a 47-50°C. Aggiungere il supplemento insieme a 25-35 mL di sangue lisato di cavallo o sangue di montone e, se necessario, al contenuto reidratato di una fiala di un supplemento selettivo. Mescolare bene e versare in piastre Petri sterili o in provette sterili.

I terreni di base suggeriti ed i supplementi selettivi includono: Columbia Agar Base (401136), Nutrient Broth n° 2 (401812), Skirrow Antimicrobial Supplement (4240016), Preston Antimicrobial Supplement (4240017, 4240022).

**5 - CARATTERISTICHE FISICHE**

Aspetto del supplemento liofilizzato	pastiglia bassa, friabile, grigio-verde
Aspetto del supplemento ricostituito	soluzione grigio-verde, limpida

**6 - MATERIALI FORNITI**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Campylobacter Growth Supplement	Supplemento liofilizzato	4240021	10 fiale, ciascuna per 500 mL di terreno

**7 - MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI**

Terreno di base e supplemento selettivo adatto, sangue lisato di cavallo o di montone, autoclave, bagnomaria, incubatore e attrezzatura da laboratorio come richiesto, anse e tamponi sterili, piastre e provette Petri, beute, mezzi di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie. Materiali per l'incubazione in atmosfera microaerofila.

**8 - CAMPIONI**

I terreni di coltura completi preparati con Campylobacter Growth Supplement sono destinati all'esame batteriologico di campioni clinici come feci e tamponi rettali<sup>4,5</sup> e di campioni non clinici come alimenti e mangimi. Devono essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Raccogliere i campioni prima della terapia antimicrobica, se possibile.

**9 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Lasciare che le piastre arrivino a temperatura ambiente e che si asciughi la superficie del mezzo.

- Feci solide: le feci possono essere diluite 1:4 in soluzione salina sterile o in acqua di peptone allo 0,1%. È stato dimostrato che la diluizione riduce significativamente la quantità di flora concorrente senza compromettere l'isolamento di un basso numero di patogeni.<sup>3</sup> Inoculare 3-5 gocce sulla superficie del terreno.
- Feci liquide: inoculare 3 gocce sulla superficie del supporto.
- Tamponi rettali: far rotolare il tampone su una piccola area della superficie al bordo; poi strisciare da questa area inoculata.

Per tutti i tipi di campioni, strisciare con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano. Incubare in un'atmosfera microaerofila composta approssimativamente da 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> e 85% N<sub>2</sub>, a 39-42°C per 40-48 ore.<sup>2</sup>

Per il rilevamento di *Campylobacter* in campioni alimentari, fare riferimento agli standard applicabili.

**10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie.

*Campylobacter jejuni* cresce con colonie piccole, mucose, piatte con bordi irregolari. Le colonie tendono a sciamare. Possono apparire come uno strato di crescita sulla superficie dell'agar. Le colonie di solito non sono pigmentate.

Le specie di *Campylobacter* sono positive all'ossidasi. Se una colonia fenotipicamente riconducibile a *Campylobacter* sp. è negativa all'ossidasi, effettuare una subcoltura su agar sangue e ripetere il test dopo 24 ore di incubazione.<sup>6</sup>

L'identificazione presuntiva del *Campylobacter* termofilo ed enteropatogeno può essere fatta sulla base del test dell'ossidasi (+) e della caratteristica motilità. Per una spiegazione completa dei criteri e dei metodi di identificazione, fare riferimento alla bibliografia.<sup>6</sup>





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 *Campylobacter* Growth Supplement, addizionato al terreno in polvere Columbia Agar Base, insieme al 5% di sangue lisato di cavallo ed al supplemento selettivo Skirrow, vengono testati per la produttività e la selettività avendo come riferimento lotti precedentemente approvati e considerati come Lotti di Riferimento.

La produttività viene testata con un test semi-quantitativo con i ceppi target *C.jejuni* ATCC 33291 e *C.coli* ATCC 43478; le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione salina delle sospensioni delle colonie e incubate in atmosfera microaerofila a 39-42°C per 18-24. Entrambi i ceppi mostrano una buona crescita.

La selettività è valutata con il metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con adeguate diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione 0,5 McFarland dei ceppi non-target *E.coli* ATCC 25922 e *S.aureus* ATCC 25923. La crescita di *S.aureus* è totalmente inibita mentre la crescita di *E.coli* è parzialmente inibita dopo incubazione a 39-42°C per 48 ore in atmosfera microaerofila.

### 13 - LIMITI DEL METODO

- Per ottenere i migliori tassi di isolamento di *Campylobacter* dai campioni fecali, è raccomandabile una combinazione di terreni che includa il supplemento Skirrow e un secondo terreno basato su un diverso sistema selettivo (ad esempio, il terreno Karmali).<sup>7</sup>
- 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*.<sup>4</sup> 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.<sup>7,8</sup>
- 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 E 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 supplemento è classificato come pericoloso secondo le norme europee. 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](http://www.biolifeitaliana.it).
- Comunicare a Biolife Italiana Srl ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto: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/provette) e delle condizioni di conservazione (temperatura e confezionamento).



**16 - BIBLIOGRAFIA**

- George HA, Hoffman PS, Smibert RM, Krieg NR. Improved media for growth and aerotolerance of *Campylobacter fetus*. J Clin Microbiol. 8(1); 1978.
- Hoffman PS, George HA, Krieg NR, Smibert RM. Studies of the microaerophilic nature of *Campylobacter fetus* subsp. jejuni. II. Role of exogenous superoxide anions and hydrogen peroxide. Can J Microbiol 1979 Jan;25(1):8-16.
- Chou SP, Dular R, Kasatiya S. Effect of ferrous sulfate, sodium metabisulfite, and sodium pyruvate on survival of *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol. 1983 Oct;18(4):986-7
- Fitzgerald C, Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In Jorgensen JH, Carroll KC, Tenover FC, Bannister GL 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
- 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
- Bolton FJ, Robertson L. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. J Clin Pathol 1982; 35:462

**4240021 Campylobacter Growth Supplement**

SDS rev 5

Regolamento (UE) 2020/878

**Miscela con ingredienti pericolosi: SODIO BISOLFITO, SODIO PIRUVATO****Classificazione**

Lesioni oculari gravi, categoria 1

Irritazione cutanea, categoria 2

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1B

H318 Provoca gravi lesioni oculari.

H315 Provoca irritazione cutanea.

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

**Etichettatura**

Pittogramma



Avvertenze: Pericolo

## Indicazioni di pericolo:

- H318 Provoca gravi lesioni oculari.  
 H315 Provoca irritazione cutanea.  
 H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.  
 EUH031 A contatto con acidi libera gas tossici.

## Consigli di prudenza:

- P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.  
 P280 Indossare guanti protettivi e proteggere gli occhi / il viso.  
 P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .  
 P261 Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.  
 P264 Lavare accuratamente . . . dopo l'uso.  
 P362+P364 Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b>	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> 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 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	02/2022
Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

