

**ISTRUZIONI PER L'USO**

LEGIONELLA BCYE α -GROWTH SUPPLEMENT W/O CYSTEINE

Arricchimento liofilizzato

1 - DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Miscela di fattori di crescita priva di L-cisteina da utilizzare con Legionella BCYE Agar Base per la conferma delle colonie di *Legionella* isolate da campioni clinici e campioni di acqua.

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

Tampone ACES /Potassio idrossido	6,4 g
Alfa-chetoglutarato, sale dipotassico	0,5 g
Pirofosfato ferrico	125,0 mg

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine è una miscela liofila di fattori di crescita priva di L-cisteina, da utilizzare come supplemento del terreno BCYE Agar Base (REF 401582) per la conferma delle colonie di *Legionella* isolate da campioni clinici e campioni di acqua.

Il tampone ACES/KOH è utilizzato per la stabilizzazione del pH, l'acido alfa-chetoglutarico ed il pirofosfato ferrico stimolano la crescita di *Legionella*. La L-cisteina, è un amminoacido essenziale ed un'importante fonte di energia per la crescita di *Legionella* spp. e non è inclusa nel supplemento: la differenziazione delle colonie di *Legionella* è ottenuta sulla base della loro incapacità di crescere sul terreno.

4 - METODO DI PREPARAZIONE DEL TERRENO COMPLETO

Ricostituire il contenuto di un flacone di Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine con 50 mL di acqua purificata sterile. Aggiungere a 450 mL di Legionella BCYE Agar Base (REF 401582) autoclavato a 121°C per 15 minuti e raffreddato a 47-50°C con le precauzioni dell'asepsi. Mescolare bene e distribuire in piastre di Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del liofilizzato	pastiglia di medie dimensioni, rosa
Aspetto della soluzione	giallo chiaro, opalescente

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine	Supplemento liofilizzato	423212	4 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Legionella BCYE Agar Base (REF 401582), autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse e tamponi sterili da microbiologia, reattivi per il trattamento dei campioni, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione completa delle colonie.

8 - CAMPIONI

Legionella BCYE Agar Base addizionato con Legionella BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine, deve essere inoculato con colonie coltivate su terreni di isolamento selettivi o non selettivi per la conferma delle colonie di *Legionella*.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

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

Un primo criterio per differenziare le colonie di *Legionella* è la loro incapacità di crescere, con rare eccezioni (*L.oakridgensis*, *L.jordanis* e *L.nagasakiensis*, *L.spiritensis*),^{1,2,3} su terreno privo di L-cisteina. In presenza di un'unica tipologia morfologica di colonie sospette sulle piastre del terreno di prima semina, selezionare 3 colonie e trapiantarle su piastre di Legionella Agar w/o Cysteine e su piastre di Legionella Agar (BCYE) completo di cisteina. Nel caso vi fossero sul terreno di prima semina più di una tipologia di colonie, trapiantare sui due terreni citati almeno 1 colonia per ciascuna tipologia osservata.²

Assicurarsi di non asportare il terreno di coltura insieme alla colonia e seminare prima il terreno privo di cisteina e poi il terreno con cisteina. Incubare le piastre inoculate a 36 \pm 2°C per 2-5 giorni.²

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, considerare come *Legionella* spp. le colonie che, trapiantate sui due terreni sopra indicati, sviluppano crescita sul terreno con cisteina e non sviluppano crescita sul terreno senza cisteina.

L'identificazione presuntiva deve essere completata mediante colorazione di Gram, effettuata su colonie prelevate dal terreno contenente cisteina: le cellule di *Legionella* appaiono come bastoncini Gram-negativi con colorazione scarsa o debole, che possono essere filamentosi nelle colture più vecchie.²

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto dei prodotti qui descritti 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. Consultare la letteratura citata per le procedure di controllo qualità.^{2,4,5}





12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di BCYE α -Growth Supplement w/o Cysteine usato congiuntamente al terreno in polvere Legionella BCYE Agar Base REF 401582 è testato per le proprietà di produttività/selettività confrontando i risultati con un lotto precedentemente approvato.

La proprietà del terreno di non consentire la crescita di *Legionella* spp. viene testata inoculando i seguenti ceppi: *L.pneumophila* ATCC 33152, *L.pneumophila*, clinico isolato e *L.anisa* ATCC 35292. La proprietà del terreno di consentire la crescita di ceppi non-*Legionella* viene testata con *E.coli* ATCC 25922 e *S.aureus* ATCC 25923. Dopo incubazione a 35-37°C per 48-72 ore i ceppi di non-*Legionella* mostrano una buona crescita mentre i ceppi di *Legionella* non crescono.

13 - LIMITI DEL METODO

- Le piastre con crescita caratteristica e con colonie presumibilmente identificate come *Legionella*, devono essere sottoposte a test di conferma con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa. Se pertinente, eseguire test di sensibilità agli antibiotici.
- In microbiologia clinica, la diagnosi di Legionellosi deve basarsi su un approccio interdisciplinare che comprenda i risultati radiologici, i risultati colturali, la determinazione dell'antigene urinario.

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 BCYE senza cisteina 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 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 materiali 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

- Mercante JW, Winchell JM. Current and Emerging Legionella Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations. Clin Microbiol Rev. 2015; 28:95-147
- ISO 11731:2017 Water quality — Enumeration of Legionella
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of Legionella species. ID18, Issue no: 3, Issue date: 14.04.15
- Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, Baine WB. Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for Legionella pneumophila, J Clin Microbiol 1979; 10:437-441.
- Edelstein P.H., Improved semiselective medium for isolation of Legionella pneumophila from contaminated clinical and environmental specimens. J Clin Microbiol 1981; 14:298-303

423212 LEGIONELLA BCYE α -GROWTH SUPPLEMENT W/O CYSTEINE

SDS rev 2

Regolamento (UE) 2020/878

Miscela contenente il composto pericoloso potassio idrossido

Classificazione

Classificazione e indicazioni di pericolo:

Sostanza o miscela corrosiva per i metalli, categoria 1	H290	Può essere corrosivo per i metalli.
Tossicità acuta, categoria 4	H302	Nocivo se ingerito.
Corrosione cutanea, categoria 1A	H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
Lesioni oculari gravi, categoria 1	H318	Provoca gravi lesioni oculari.



**Etichettatura**

Avvertenze: Pericolo
 Indicazioni di pericolo:

H290 Può essere corrosivo per i metalli.
 H302 Nocivo se ingerito.
 H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
 Consigli di prudenza:
 P260 Non respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.
 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.
 P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
 P280 Indossare guanti / indumenti protettivi e proteggere gli occhi / il viso.
 P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .
 P264 Lavare accuratamente . . . dopo l'uso.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	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	01/2022
Revisione 4	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

