



ComASP™ Piperacillin-tazobactam

ENGLISH

System for piperacillin-tazobactam susceptibility testing
with the broth microdilution method, according to ISO 20776-1.

DESCRIPTION

ComASP Piperacillin-tazobactam is a 2-test panel containing the dried up antibiotic in 15 two-fold dilutions: Piperacillin concentration ranges from 0.008 to 128 µg/ml in the presence of a fixed concentration of tazobactam (4 µg/ml).

The system is used to perform the broth microdilution (BMD) method for the antimicrobial susceptibility testing of Piperacillin-tazobactam as recommended by international standards (i.e. CLSI, EUCAST, ISO) but in a simpler and less time-consuming way.

KIT CONTENT

- 4 Systems (panels) of ComASP Piperacillin-tazobactam (panels individually packed in foil with silica gel desiccant)
- 8 Vials of Mueller Hinton II Broth (3.6 ml)
- Sealing Film
- Instructions Sheet and Test Results Form

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

- McFarland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)
- Solution reservoir for multichannel pipette (ref. 96761)
- Physiological Solution (ref. 20095)
- Tips for multichannel pipette (ref.96758)
- Multichannel pipette 30-300 µl (ref.96759)

CONFIGURATION

Test	Piperacillin*-tazobactam concentration (µg/ml)						
A							
Growth	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5
1	2	4	8	16	32	64	128
B							
Growth	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5
1	2	4	8	16	32	64	128

*Values on the panel refer to piperacillin while tazobactam is present at a fixed concentration of 4 µg/ml.

Growth indicates growth control: No antimicrobial agent in the well.

PRINCIPLE OF THE METHOD

A panel allows the susceptibility testing of 2 different isolates.

All wells related to either test A, or B are rehydrated with a standardized microbial suspension.

After incubation in thermostat the result is read and interpreted.

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLE

ComASP Piperacillin-tazobactam is not for use directly with clinical or other specimens. The microorganism to be tested must first be isolated on a suitable culture medium, either selective or non-selective. In case of mixed culture, selected colonies should be purified by subculturing.

TEST PROCEDURE

1. Take a panel from its envelop and leave it at room temperature for 10 min,
DO NOT DISCARD THE ENVELOP until both tests have been carried out.
2. Prepare a suspension of the test organism using either the direct colony suspension or growth method.
3. Standardize the suspension to the density of a McFarland 0.5 standard.
4. Optimally within 15 min of preparation, dilute the adjusted suspension 1:20 in saline; this will be the **Solution A**.
5. Add 0.4 ml of Solution A to a tube of MH II Broth* provided in the kit to obtain the **Solution B**.
6. Dispense 100 µl of Solution B into each well (test A or B).
7. Cover the panel with the lid provided and incubate at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 16-20 hours in ambient air.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Beef Extract 3.0 g; Acid Hydrolysate of Casein 17.5 g; Starch 1.5 g; Distilled Water 1000 ml;
pH 7.3 ± 0.1
(adjusted with appropriate salts to provide 20-25 mg/l of calcium and 10-12.5 mg/l of magnesium)

READING THE RESULTS

At the end of the incubation period observe the growth in the wells and establish the MIC, i.e. the lowest concentration of antibiotic that inhibits visible growth.

The result can be read visually or automatically. Reading by the naked eye can be improved by use of bright indirect lighting against a dark background.

Growth appears as turbidity or as a button at the bottom of the well (compare with the amount of growth in the growth-control well).

The growth-control well should be evaluated first. Make sure it is positive for growth. If not, check the viability of the colonies picked and repeat the test using a new row in the same panel or a new panel and a microbial culture of recent growth.

Note the results on the Test Results Form included in the kit (copy as many form as necessary).

INTERPRETATION OF THE RESULTS

The MIC obtained should be interpreted according to current EUCAST or CLSI interpretative criteria.

NOTE: Each single panel can be used up to two times. If only one test has been performed, use the film provided in the kit to seal the inoculated rows so to prevent any leakage of contaminated fluids. Then, return the panel into its own desiccant envelop and into the refrigerator (see STORAGE).

USER QUALITY CONTROL

Quality control of ComASP Piperacillin-tazobactam is performed using the reference strains reported below:

Strain		QC MIC range (µg/ml)
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29231	0.25 - 2
2. <i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	1 - 4
3. <i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	1 - 4
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	1 - 8
5. <i>Escherichia coli</i>	ATCC® 35218	0.5 - 2
6. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603	8 - 32

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Contaminated culture; poor standardization of the inoculum; clinical material unsuitable; use of expired panels or expired supplementary reagents; non compliance with temperatures and times of incubation.

PRECAUTIONS

The product ComASP Piperacillin-tazobactam does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. ComASP Piperacillin-tazobactam is a disposable device to be used for *in vitro* diagnostic use only. The product must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store ComASP Piperacillin-tazobactam at 2-8°C in the original packaging. Once an envelope is opened the panel should be used within 7 days. Keep away from direct sunlight and direct heat. Do not use the panels beyond the expiry date indicated on the label. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, ComASP Piperacillin-tazobactam and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with guidelines used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.








REFERENCES

1. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
2. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
5. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTATION

Product	µg/ml	Packaging	Ref.
ComASP™ Piperacillin-tazobactam	0.008 - 128 (piperacillin) 4 (tazobactam)	4x2 tests	75002

TABLE OF SYMBOLS

IVD <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limits
REF Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	LOT Batch code



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Piperacillin-tazobactam

ITALIANO

Sistema per il test di sensibilità della piperacillina-tazobactam
con il metodo della microdiluzione in brodo, secondo ISO 20776-1.

DESCRIZIONE

ComASP Piperacillin-tazobactam è un dispositivo contenente l'antibiotico essiccato in concentrazioni scalari: Il range di concentrazione della piperacillina va da 0.008 a 128 µg/ml in presenza di una concentrazione fissa di tazobactam (4 µg/ml); ciascun pannello permette di effettuare 2 test. Il sistema è utilizzato per eseguire il metodo della microdiluzione in brodo (BMD) per l'antibiogramma della piperacillin-tazobactam come raccomandato dagli standard internazionali (i.e. CLSI, EUCAST, ISO) ma in maniera più semplice e meno dispendiosa in termini di tempo.

CONTENUTO DEL KIT

- 4 Sistemi (pannelli) di ComASP Piperacillin-tazobactam (pannelli confezionati singolarmente in bustina con gel essiccante)
- 8 Provette di Mueller Hinton II Broth (3.6 ml)
- Film adesivo
- Istruzioni per l'Uso e Modulo Raccolta Dati

PRODOTTI NECESSARI MA NON CONTENUTI NEL KIT

- McFarland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)
- Puntali per pipetta multicanale (ref.96758)
- Vaschetta per soluzione inoculo per pipetta multicanale (ref. 96761)
- Pipetta multicanale 30-300 µl (ref.96759)
- Physiological Solution (ref. 20095)

CONFIGURAZIONE

Test	Concentrazione Piperacillin*-tazobactam (µg/ml)						
A							
Growth	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5
1	2	4	8	16	32	64	128
B							
Growth	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5
1	2	4	8	16	32	64	128

*I numeri sul pannello si riferiscono alla piperacillina mentre il tazobactam è presente con concentrazione fissa di 4 µg/ml.

"Growth" indica il controllo di crescita: pozzetto non contenente l'agente antimicrobico.

PRINCIPIO DEL METODO

Un pannello permette di effettuare il test di sensibilità su 2 differenti isolati.

Tutti i pozzetti per il test A, o B, vengono reidratati con una sospensione microbica standardizzata.

I risultati si leggono ed interpretano dopo l'incubazione in termostato.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

ComASP Piperacillin-tazobactam non è utilizzato direttamente con campioni clinici o di altro genere. I microrganismi da testare devono prima essere isolati su un terreno di coltura appropriato non selettivo. In caso di colture miste, le colonie selezionate dovrebbero essere purificate mediante subcoltura.

PROCEDURA DEL TEST

1. Prelevare un pannello dalla sua bustina e lasciare a temperatura ambiente per 10 min, NON ELIMINARE LA BUSTINA finché non sono stati effettuati entrambi i test.
2. Preparare una sospensione del microrganismo da testare utilizzando direttamente la sospensione della colonia (direct colony suspension) o il metodo di crescita (growth method).
3. Standardizzare la sospensione alla densità 0.5 McFarland.
4. Approssimativamente entro 15 min dalla preparazione, diluire la sospensione 1:20 in fisiologica; questa sarà la **Soluzione A**.
5. Trasferire 0.4 ml di Soluzione A in una provetta di MH II Broth* fornita nel kit per ottenere la **Soluzione B**.
6. Dispensare 100 µl di Soluzione B in ciascun pozzetto (test A o B).
7. Coprire il pannello con il coperchio fornito ed incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 16-20 ore in atmosfera aerobica.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Estratto di Manzo 3.0 g; Idrolizzato Acido di Caseina 17.5 g; Amido 1.5 g; Acqua Distillata 1000 ml; pH 7.3 ± 0.1 (formulazione compensata e/o corretta con sali adeguati per ottenere 20-25 mg/l di calcio e 10-12.5 mg/l di magnesio)

LETTURA DEI RISULTATI

Al termine del periodo di incubazione osservare la crescita nei pozzetti e stabilire la MIC, i.e. la concentrazione più bassa di antibiotico in grado di inibire una crescita visibile.

Il risultato può essere letto visualmente o automaticamente. La lettura ad occhio nudo può essere agevolata utilizzando luce indiretta e luminosa contro un fondo scuro.

La crescita appare come torbidità o come un bottone sul fondo del pozzetto (confrontare con la crescita nel pozzetto di controllo).

Valutare per prima il pozzetto di controllo. Assicurarsi che sia positivo per la crescita. Se negativo, controllare la vitalità delle colonie prelevate e ripetere il test utilizzando un'altra fila nello stesso pannello o un nuovo pannello e una coltura microbica fresca.

Trascrivere i risultati sul Modulo Raccolta Dati incluso nel kit (fotocopiare il numero necessario di moduli).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il valore di MIC ottenuto va interpretato secondo i criteri aggiornati forniti da EUCAST, CLSI o altri standard di riferimento.

NOTE: Ciascun pannello può essere utilizzato fino a due volte. Se è stato eseguito un solo test, utilizzare il film adesivo incluso nel kit per sigillare le file di pozzetti inoculati al fine di prevenire lo sversamento di fluidi contaminati. Quindi reinserire il pannello nella sua bustina con gel essiccante e riporre in frigorifero (vedi CONSERVAZIONE).

CONTROLLO QUALITÀ

Il controllo qualità del ComASP Piperacillin-tazobactam viene effettuato utilizzando i seguenti ceppi di riferimento:

Microrganismo		Range CQ MIC (µg/ml)
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29231	0.25 - 2
2. <i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	1 - 4
3. <i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	1 - 4
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	1 - 8
5. <i>Escherichia coli</i>	ATCC® 35218	0.5 - 2
6. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603	8 - 32

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Colture contaminate; scarsa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non adatto; utilizzo di pannelli scaduti o reagenti supplementari scaduti; non rispetto delle temperature e tempi di incubazione.

PRECAUZIONI

Il prodotto ComASP Piperacillin-tazobactam non contiene sostanze dannose in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente è perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il corretto utilizzo. ComASP Piperacillin-tazobactam è un dispositivo monouso per esclusivo uso diagnostico *in vitro*. Il prodotto deve essere utilizzato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare ComASP Piperacillin-tazobactam a 2-8°C nella confezione originale. Una volta che una bustina viene aperta il pannello all'interno dovrebbe essere utilizzato entro 7 giorni. Tenere al riparo dalla luce diretta del sole e da fonti di calore. Non utilizzare i pannelli oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta. Non utilizzare ed eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE UTILIZZATO

Dopo l'utilizzo, ComASP Piperacillin-tazobactam ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio.








BIBLIOGRAFIA

1. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
2. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
5. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTAZIONE

Prodotto	µg/ml	Confezionamento	Ref.
ComASP™ Piperacillin-tazobactam	0.008 - 128 (piperacillin) 4 (tazobactam)	4x2 test	75002

TABELLA DEI SIMBOLI

IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>In Vitro</i>	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Temperature limits
REF Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, consultare i documenti all'interno	LOT Codice del lotto



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

