

## chromID™ ESBL agar (ESBL)

**IVD**

**Селективный хромогенный агар для определения (скрининга) энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия**

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Селективная хромогенная среда chromID™ ESBL предназначена для определения (скрининга) энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС) у пациентов группы риска и хронических носителей (1, 2, 3, 4). Она не заменяет традиционные методы определения чувствительности к антибиотикам.

Энтеробактерии, продуцирующие БЛРС, характеризуются полирезистентностью и часто вызывают нозокомиальные инфекции (5). Их своевременное определение крайне важно для предотвращения вспышек и эпидемиологического мониторинга вызванных им инфекций. Данная среда была разработана для обеспечения этих целей.

### ПРИНЦИП

Среда chromID™ ESBL (зарегистрированный патент) имеет богатую питательную основу из нескольких пептонов, а также содержит:

- смесь антибиотиков, в том числе цефподоксим (1), обеспечивающую селективный рост БЛРС-продуцирующих энтеробактерий,
- два хромогенных субстрата и один естественный субстрат, обеспечивающие прямую идентификацию большинства клинически значимых БЛРС-продуцирующих энтеробактерий:
  - *Escherichia coli*: спонтанная окраска (от розового до бардового) штаммов, продуцирующих β-глюкуронидазу (β-GUR) (6).
  - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (**KESC**): спонтанная окраска (зеленый, коричневатозеленый, голубой или синий) штаммов, продуцирующих β-глюкозидазу (β-GLU).
  - *Proteaeae* (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*): спонтанная окраска (от темно- до светло-коричневого) штаммов, продуцирующих деаминазу.

**Среда обеспечивает прямую идентификацию до вида или группы (не требующую подтверждения), но продукцию БЛРС необходимо подтверждать дополнительными тестами.**

### СОСТАВ НАБОРА

<b>Готовая к использованию среда:</b>	
<b>REF 43 481</b>	Упаковка, 20 чашек Петри (90 мм)
<b>ESBL *</b>	

\* маркировка на каждой чашке

### СОСТАВ

#### Расчетный состав:

Среду можно модифицировать в соответствии с целями исследования:

Пептоны (бычьи или свиные) .....	17.2 г
L-триптофан .....	0.9 г
Буфер Нерес .....	0.4 г
Смесь хромогенных субстратов .....	6.87 г
Селективная смесь .....	0.38 г
Агар .....	18 г
Очищенная вода .....	1 л

pH 7.3

### НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

#### Реактивы:

- ID Indole-TDA (Ref. 56 541).
- JAMES (Ref. 70542)
- Oxidase (Ref. 55 635)

#### Материалы:

- Термостат.
- Чистые диски из фильтровальной бумаги (диаметр 6 мм) (Ref. 54 991).

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- **Только для диагностики in-vitro.**
- **Только для профессионального использования.**
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – действующая версия". За дополнительной информацией обращайтесь к "Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories - CDC/NIH – Последнее издание", а также нормативам, принятым в Вашей стране.
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте реактивы, если упаковка повреждена.
- Не используйте чашки со следами контаминации и/или испарений.
- Люди, плохо различающие цвета, могут испытывать трудности при работе с данной средой.
- Не рекомендуется ставить тест на индол прямо на колонии на агаре, поскольку изменение цвета может быть трудно заметить.
- Используйте отдельную чашку для каждого образца.
- При интерпретации результатов принимайте во внимание анамнестические данные, источник образца, морфологию колоний, данные микроскопии, а также результаты других тестов.
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.

### ХРАНЕНИЕ

- **Хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности..**
- После вскрытия упаковки хранить не более 2 недель в целлофановом пакете при 2-8°C в темноте.

## ОБРАЗЦЫ

Среда предназначена для работы с образцами любого типа: мазки из прямой кишки, моча, отделяемое бронхов / горла и другие образцы. Образец вносится на агар без предварительной подготовки и обогащения.

Соблюдайте правила сбора и транспортировки образцов.

## ПРИМЕНЕНИЕ

1. **Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.**
2. Сделайте посев образца на агар chromID™ ESBL.
3. Инкубируйте чашки вверх дном при 37°C в аэробных условиях. Учет результатов обычно производится через 18-24 часа инкубации. При получении отрицательного результата с бесцветной колонией можно поставить тест на оксидазу (см. п. "Ограничения метода") или продлить время инкубации еще на 24 часа.

Необходимо правильно выбрать условия инкубации, в соответствии с действующими стандартами.

## УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

По окончании инкубации оцените бактериальный рост и внешний вид колоний.

Энтеробактерии, продуцирующие БЛРС, формируют характерно окрашенные колонии:

- **От розового до бардового (красного)** или полупрозрачные колонии с розовым или бардовым (красным) центром: штаммы *E. coli*.
- **Зеленые, коричневато-зеленые, голубые, синие:** группа **KESC** (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*).  
Для идентификации до вида пользуйтесь биохимическими тестами.
- **От темно-коричневых до светло-коричневых** (колонии или сплошной рост): **Proteeae**.  
Для идентификации до вида пользуйтесь биохимическими тестами.

**При получении любого результата продукцию БЛРС необходимо подтверждать дополнительными тестами.**

**Примечание:** В дополнительных исследованиях (7, внутренние данные) на коллекционных штаммах показано, что энтеробактерии, продуцирующие карбапенемазы, формируют на данной среде характерно окрашенные колонии.

При получении любого результата продукцию карбапенемазы необходимо подтверждать дополнительными тестами.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

### Протокол:

Для контроля питательных и селективных свойств среды рекомендуется использовать следующие штаммы:

- *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603
- *Escherichia coli* CIP 105903
- *Escherichia coli* ATCC® 25922

## Результаты:

Штамм	Результат при 33-37°C	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 700603	Рост за 24 часа	Зеленые колонии за 24 часа
<i>Escherichia coli</i> CIP 105903	Рост за 24 часа	Розовые колонии за 24 часа
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Отсутствие роста в течение 48 часов	

## Примечание:

Контроль качества следует осуществлять в соответствии с действующими нормами и положениями (частота, количество штаммов, температура культивирования, пр...).

## ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Некоторые энтеробактерии, продуцирующие БЛРС, образуют на данной среде бесцветные колонии, в частности, штаммы *E. coli*, не обладающие β-глюкуронидазной активностью (8) или штаммы *P. mirabilis*, для которых характерен низкий уровень продукции БЛРС (слабый рост). Если тест на оксидазу с бесцветными колониями, снятыми со среды, отрицателен, необходимо поставить дополнительные тесты на подтверждение продукции БЛРС.
- Некоторые другие полирезистентные микроорганизмы (не продуцирующие БЛРС энтеробактерии) могут образовывать характерно окрашенные колонии на данной среде.
- Некоторые штаммы *Pseudomonas* могут образовывать коричневые колонии на данной среде. Для дифференциации *Pseudomonas* и *Proteeae* используйте тест на оксидазную активность.
- Некоторые энтеробактерии, не продуцирующие БЛРС, могут образовывать колонии на данной среде, как правило, штаммы, продуцирующие цефалоспориноазу в больших количествах (*E. coli*, *Enterobacter*, пр.) или штаммы *Klebsiella oxytoca*, (K1) продуцирующие пенициллиназу в больших количествах.
- Отдельные нетипичные штаммы некоторых энтеробактерий, не принадлежащие к виду *E. coli* (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* spp, пр.), могут образовывать розовые или бардовые (красные) колонии на данной среде. Если в Вашем учреждении распространены такие штаммы, с розовыми/бардовыми (красными) колониями можно ставить тест на индол:
  - если тест на индол положителен (голубая/синяя окраска с реактивом ID Indole TDA или от розовой до красной с реактивом JAMES), колонии можно считать принадлежащими к виду *E. coli*.
  - если тест на индол отрицателен, для идентификации необходимы дополнительные тесты.
- При получении смешанной культуры для теста на индол культуру следует пересеять (до получения чистой культуры).
- Некоторые штаммы энтеробактерий, имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия культивирования), могут не образовать колоний на данной среде (в частности, *Proteeae*).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в двух учреждениях во Франции (один протокол) и в одном учреждении в Бельгии, с использованием клинических образцов (мазки из прямой кишки, моча, отделяемое бронхов), взятых у пациентов группы риска и хронических носителей БЛРС-продуцирующих штаммов энтеробактерий. Образцы наносили непосредственно на агар, без предварительной подготовки. Учет результатов производили через 18-24 часа и 48 часов инкубации при 37°C в аэробных условиях.

**В первом исследовании (Бельгия)** использовали 173 образцов. Агар chromID™ ESBL bioMérieux сравнивали с другим методом, совместным использованием агара МакКонки и дисков с цефтазидимом (культуры, образующие колонии в зоне ингибирования вокруг диска с антибиотиком, считают возможными продуцентами БЛРС и подтверждают продукцию БЛРС, а также идентификацию, дополнительными тестами).

Для 19 образцов был получен положительный результат (наличие БЛРС), по крайней мере, одним из методов.

	Высеваемость БЛРС-продуцирующих энтеробактерий	
	chromID™ ESBL (+ подтверждение продукции БЛРС)	МакКонки + диск с цефтазидимом (+ подтверждение продукции БЛРС и идентификации)
18 - 24 часа	19/19 без теста на оксидазу (ПЦ = 67.9% [ 48.96% ; 82.29% ])	13/19  (ПЦ = 43.3% [ 27.1% ; 61.13% ])
48 часов	19/19 без теста на оксидазу (ПЦ = 57.6% [ 40.49% ; 73.03% ])	13/19  (ПЦ = 38.2% [ 23.66% ; 55.29% ])

ДИ: 95% доверительный интервал

ПЦ : прогностическая ценность положительного результата

**Во втором исследовании (Франция)** использовали 765 образцов (один протокол). Агар chromID™ ESBL bioMérieux сравнивали с другой коммерчески доступной средой для скрининга (Комбинированная среда: МакКонки с цефтазидимом + Дригальского с цефотаксимом) (культуры, образующие колонии на среде, считают возможными продуцентами БЛРС и подтверждают продукцию БЛРС, а также идентификацию, дополнительными тестами).

Для 32 образцов был получен положительный результат (наличие БЛРС), по крайней мере, на одной из сред.

	Высеваемость БЛРС-продуцирующих энтеробактерий	
	chromID™ ESBL (+подтверждение продукции БЛРС)	Агар МакКонки с цефтазидимом / Агар Дригальского с цефотаксимом (+подтверждение продукции БЛРС и идентификации)
18 - 24 часа	29/32 без теста на оксидазу 32/32 с тестом на оксидазу* (ПЦ = 41.4% [30.43% ; 53.35%])	27/32  (ПЦ = 17% [11.85% ; 23.73%])
48 часов	31/32 без теста на оксидазу 32/32 с тестом на оксидазу (ПЦ = 30.7% [22.4% ; 40.46%])	27/32  (ПЦ = 12,7% [8.79% ; 17.93%])

ДИ: 95% доверительный интервал

ПЦ : прогностическая ценность положительного результата

\* Для агара chromID™ ESBL, тест на оксидазу ставили с бесцветными колониями, и подтверждали наличие БЛРС при получении отрицательного результата, что позволяло получить окончательный ответ для всех образцов за 24 часа.

Примечание: высеваемость может варьировать в зависимости от эпидемиологических характеристик местности (встречаемость, видовой состав продуцентов БЛРС и пр.)

**УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ**

Утилизируйте неиспользованные и использованные реактивы, а также контаминированные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Сотрудники лаборатории несут ответственность за утилизацию отходов в соответствии с типом и классом опасности и согласно действующим правилам.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Paterson D., Bonomo R. – Extended-Spectrum B-lactamase: a clinical update – Clin. Microbiol. Rev. – 2005 – Vol. 18, N° 4 – p. 657-686.
2. JACOBY G.A., MEDEIROS A.A. – More extended-spectrum  $\beta$ -lactamases – Antimicrob. Agents Chemother., 1991, vol. 35, p. 1697-1704.
3. GLUPCZYNSKI Y., BERHIN C., BAURAING C. and BOGAERTS P. - Novel chromogenic medium from bioMérieux for detection of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* - Poster D-0457 - San Francisco (U.S), 2006 ICAAC.
4. GLUPCZYNSKI Y., BERHIN C., BAURAING C. and BOGAERTS P. - Evaluation of a new selective chromogenic medium for detection of Extended-spectrum beta-lactamases-producing *Enterobacteriaceae* – J Clin Microbiol – February 2007, Vol. 45, N°2, p. 501-505.
5. JARLIER V. – Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : des premiers indicateurs au Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin), BEH, 2004, vol. 32-33, p. 148-151.
6. KILIAN M., BULOW P. - Rapid identification of *Enterobacteriaceae* - II. Use of a  $\beta$ -glucuronidase detecting agar medium (PGUA Agar) for the identification of *E. coli* in primary cultures of urine samples. - *Acta Path. Microb. Scand.*, 1979, vol. 87, p. 271-276.
7. CARRÉR A., FORTINEAU N., NORDMANN P. - Use of ChromID ESBL medium for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. – J Clin Microbiol. – may 2010, Vol. 48, N°5, p.1913-1914.
8. RALOVICH B., IBRAHIM G.A.M., FABIAN A. and al. – "Beta-D-Glucuronidase (BDG) activity of Gram-negative bacteria" - *Acta Microbiol. Hung.*, 1991, vol. 38, p. 283-291.

**ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ**

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для диагностики in-vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Содержимого достаточно для <n> тестов
	Беречь от света

BIOMERIEUX, логотип и chromID являются зарегистрированными (или находящимися в процессе регистрации) торговыми марками компании bioMérieux SA. Все права защищены.

ATCC является торговой маркой, принадлежащей Американской типовой коллекции клеточных культур American Type Culture Collection. CLSI является зарегистрированной и/или находящейся в процессе регистрации торговой маркой, принадлежащей Институту клинических лабораторных стандартов.

Другие названия и торговые марки являются собственностью их законных владельцев.



  
**bioMérieux SA**  
 RCS LYON 673 620 399

69280 Marcy-l'Etoile / France  
 Тел. 33 (0)4 78 87 20 00  
 Факс 33 (0)4 78 87 20 90  
 www.biomerieux.com

