

CHROMagar™ **ESBL**

Instructions For Use

Available in several languages

NT-EXT-034

Version 4

ENGLISH

English Version

FRANCAIS

Version Française

ESPAÑOL

Version Español

DEUTSCH

Deutsch Version

日本

日本版



MEDIUM PURPOSE

Chromogenic medium for overnight detection of gram-negative bacteria producing extended spectrum beta-lactamase. ESB (Extended Spectrum β-Lactamases) are enzymes that mediate resistance to penicillins, extended-spectrum third generation cephalosporins (C3G) and monobactams. ESB-producing Enterobacteriaceae started to appear in the 80s, and have since emerged as some of the most significant hospital-acquired infections with *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. being the main actors, but other gram-negative species have also been observed. Therefore, the early detection of ESB-producing bacteria carriers is important to minimise their impact and the spread of infections and customise therapeutic patient treatment.

COMPOSITION

The product is composed of a powder base (CHROMagar Orientation) and 1 supplement (CHROMagar ESB supplement).

Product	=	Base (RT)	+	Supplement (ES)
Total g/L		33.0 g/L		0.57 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone and yeast extract 17.0 Chromogenic mix 1.0		Selective mix 0.57
Aspect		Powder Form		Powder Form
STORAGE		15-30°C		2/8°C
FINAL MEDIA pH		7.0 +/- 0.2		

PREPARATION (Calculation for 1L)

Step 1 Preparation of the base CHROMagar Orientation	<ul style="list-style-type: none"> Disperse slowly 33g of powder base in 1L of purified water. Stir until agar is well thickened. Heat and bring to boiling (100°C) while swirling or stirring regularly. <p style="color: green;">Advice 1: For enhanced growth, add 0.5g/L of Tween 80 to the previous preparation mix.</p> <p style="color: green;">Advice 2: For the 100°C heating step, mixture may also be brought to a boil in a microwave oven: after initial boiling, remove from oven, stir gently, then return to oven for short repeated bursts of heating until complete fusion of the agar grains has taken place (large bubbles replacing foam).</p>									
Step 2 Autoclave	<ul style="list-style-type: none"> AUTOCLAVE at 121°C during 15 min. Cool in a water bath to 45/50°C, swirling or stirring gently. 									
Step 3 Preparation of the CHROMagar ESB supplement	<ul style="list-style-type: none"> Weight 570 mg of the required supplement powder. Add 10ml of purified sterile water to this powder to make a supplement solution. <p style="color: red;">Warning 1: This step may require several minutes of stirring to obtain a good and homogenous suspension: opaque yellowish appearance.</p> <p style="color: red;">Warning 2: Reconstituted supplement solution must be used the same day.</p> <p style="color: red;">Warning 3: Do not store and re-use a supplement solution.</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Final Media</th> <th>HELPING CALCULATION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 L</td> <td>Rehydrate 570 mg into 10 ml of purified water</td> </tr> <tr> <td>5 L</td> <td>Rehydrate 2,85 g into 50 ml of purified water</td> </tr> <tr> <td>25L</td> <td>Rehydrate 14,25 g into 250 ml of purified water</td> </tr> </tbody> </table>	Final Media	HELPING CALCULATION	1 L	Rehydrate 570 mg into 10 ml of purified water	5 L	Rehydrate 2,85 g into 50 ml of purified water	25L	Rehydrate 14,25 g into 250 ml of purified water
Final Media	HELPING CALCULATION									
1 L	Rehydrate 570 mg into 10 ml of purified water									
5 L	Rehydrate 2,85 g into 50 ml of purified water									
25L	Rehydrate 14,25 g into 250 ml of purified water									
Step 4 Integrate the supplement to the melted base	<ul style="list-style-type: none"> Vortex this supplement to homogenize and add this supplement solution to melted CHROMagar™ Orientation cooled at 45/50°C. Stir to make CHROMagar™ ESB. 									
Step 5 Pouring	<ul style="list-style-type: none"> Pour into sterile Petri dishes. Let it solidify and dry. 									
Storage	<ul style="list-style-type: none"> Store in the dark before use. Prepared media plates can be kept for one day at room temperature. Plates can be stored for up to 1 month under refrigeration (2/8°C) if properly prepared and protected from light and dehydration. 									

INOCULATION

Related samples can be processed by direct streaking on the plate.

- If the agar plate has been refrigerated, allow to warm to room temperature before inoculation.
- Streak sample onto plate.
- Incubate in aerobic conditions at 37°C for 18-24 hours.

Typical Samples

e.g. stools, urine, rectal swabs

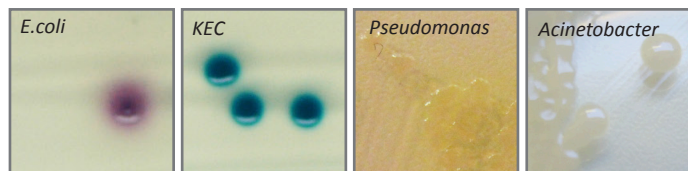
Direct streaking or spreading technique

CHROMagar™ ESBLE

INTERPRETATION

Microorganism	Typical colony appearance
ESBL <i>E.coli</i>	→ dark pink to reddish
ESBL KEC (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ metallic blue
ESBL <i>Proteus</i>	→ brown halo
ESBL <i>Acinetobacter</i>	→ cream
ESBL <i>Pseudomonas</i>	→ translucent, (+/- natural pigmentation cream to green)
<i>Stenotrophomonas</i>	→ colourless
Gram(+) strains	→ inhibited
Non Resistant Other Gram(-) strains	→ inhibited
Yeasts	→ mostly inhibited

Typical colony appearance



The pictures shown are not contractual.

PERFORMANCE & LIMITATIONS

- Some *Pseudomonas* spp and *Acinetobacter* spp, widely-known to be frequently Multi Drug Resistant bacteria, could grow on the medium with typical colony aspects as Typical on CHROMagar™ Orientation.
- Final identification may require additional testing such as biochemical or immunological test: Latex agglutination confirmation test can be performed directly from the plates on suspected colonies.
- Most AmpC-producing bacteria are inhibited but some may show some growth.

QUALITY CONTROL

Please perform Quality Control according to the use of the medium and the local QC regulations and norms. Good preparation of the medium can be tested, isolating the ATCC strains below:

Microorganism	Typical colony appearance
ESBL <i>E.coli</i> CIP 103982	→ reddish, small colonies
ESBL <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	→ metallic blue
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibited

Microorganism	Typical colony appearance
<i>P.aeruginosa</i> ATCC® 10145	→ inhibited
<i>E.coli</i> ATCC® 25922	→ inhibited
<i>C.albicans</i> ATCC® 60193	→ inhibited
<i>S.aureus</i> ATCC® 25923	→ inhibited

WARNINGS

- Do not use plates if they show any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- Do not use the product beyond its expiry date or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- For *in vitro* diagnostic use. This laboratory product should be used only by trained personnel in compliance with good laboratory practices.
- Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Any change or modification of the required storage temperature may affect the performance of the product.
- Unappropriate storage may affect the shelf life of the product.
- Recap the bottles/vials tightly after each preparation and keep them in a low humidity environment, protected from moisture and light.
- For a good microbial detection: collection and transport of specimen should be well handled and adapted to the particular specimen according to good laboratory practices.

DISPOSAL OF WASTE

After use, all plates and any other contaminated materials must be sterilized or disposed of by appropriate internal procedures and in accordance with local legislations. Plates can be destroyed by autoclaving at 121°C for at least 20 minutes.

REFERENCES

Please refer to our website page «Publications» for scientific publications about this particular product.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

IFU/LABEL INDEX

- Quantity of powder sufficient for X liters of media
- Expiry date
- Required storage temperature
- Store away from humidity

Pack Size	Ordering References	Base (RT)	Supplement (ES)
5000 ml 250 Tests of 20ml	ESRT2	RT412 Weight: 165gr	ES372 Weight: 2,85gr
25 L 1250 Tests of 20ml	ESRT3-25	RT413-25 Weight: 825gr	ES373-25 Weight: 14,25gr

Need some Technical Documents?

- Available for download on www.CHROMagar.com
- Certificate of Analysis (CoA) --> One per Lot
- Material Safety Data Sheet (MSDS)

CHROMagar™ and Rambach™ are trademarks created by Dr A. Rambach
ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection
NT-EXT-034 V4 / 18-Sep-13

CHROMagar™ ESBL

OBJECTIF DU MILIEU

Milieu chromogénique pour une détection de bactéries gram(-) produisant des beta-lactamase à spectre élargie.

Les BLSE (β-Lactamases à spectre élargi) sont des enzymes qui véhiculent la résistance à la pénicilline, à la 3ème génération de cephalosporine à spectre élargi (C3G) et aux monobactames. Les Enterobacteriaceae produisant des BLSE sont apparues au milieu des années 80, et sont depuis, devenues une des sources significatives d'infections acquises en hôpital, principalement à *Escherichia coli* et *Klebsielle*, bien que d'autres espèces de gram(-) ont été aussi observés. Ainsi, la détection précoce des bactéries BLSE est importante pour minimiser l'impact, la propagation des infections et adapter les traitements thérapeutiques des patients.

COMPOSITION

Ce produit est composé d'une base (CHROMagar Orientation) et d'un supplément (CHROMagar ESBL Supplément).

Produit	=	Base (RT)	+	Supplément (ES)
Total g/L		33.0 g/L		0.57 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone et extraits de levure 17.0 Mix Chromogénique 1.0		Mix Sélectif 0.57
Aspect		Poudre		Poudre
STOCKAGE		15-30°C		2/8°C
pH DU MILIEU FINAL		7.0 +/- 0.2		

PRÉPARATION (Calcul pour préparer 1L)

Étape 1 Préparation de la base CHROMagar Orientation	<ul style="list-style-type: none"> Disperser doucement 33g de base dans 1L d'eau purifiée. Mélanger jusqu'à ce que l'agar soit bien gonflé. Chauffer et porter à ébullition (100°C) avec un mouvement de rotation lent et régulier. <p>Conseil N°1 (optionnel): Pour une meilleure pousse, ajouter 0.5g de Tween 80 à la préparation précédente.</p> <p>Conseil N°2: Pour l'étape du chauffage à 100°C, le mélange peut être porté à ébullition dans un four à micro-ondes: après une première ébullition, retirer du four et agiter doucement, puis remettre au four pour des courts chauffages répétés jusqu'à fusion complète des grains d'agar (grands bouillons remplaçant la mousse).</p>							
Étape 2 Autoclaver	<ul style="list-style-type: none"> Autoclaver à 121°C pendant 15 min. Refroidir dans un bain marie à 45-50°C, en mélangeant doucement. 							
Étape 3 Préparation de CHROMagar ESBL Supplément	<ul style="list-style-type: none"> Peser 570 mg de supplément en poudre. Ajouter 10ml d'eau purifiée stérile à cette poudre pour faire une solution. <p>Attention N°1: Cette étape peut demander plusieurs minutes de mélange pour obtenir une suspension bonne et homogène: apparence opaque jaune.</p> <p>Attention N°2: La solution de supplément reconstitué doit être utilisée le jour même.</p> <p>Attention N°3: Ne pas conserver ou ré-utiliser une solution de supplément.</p>	Milieu final AIDE AUX CALCULS <table border="1"> <tbody> <tr> <td>1 L</td> <td>Réhydrater 570 mg dans 10 ml d'eau purifiée</td> </tr> <tr> <td>5 L</td> <td>Réhydrater 2,85 g dans 50 ml d'eau purifiée</td> </tr> <tr> <td>25L</td> <td>Réhydrater 14,25 g dans 250 ml d'eau purifiée</td> </tr> </tbody> </table>	1 L	Réhydrater 570 mg dans 10 ml d'eau purifiée	5 L	Réhydrater 2,85 g dans 50 ml d'eau purifiée	25L	Réhydrater 14,25 g dans 250 ml d'eau purifiée
1 L	Réhydrater 570 mg dans 10 ml d'eau purifiée							
5 L	Réhydrater 2,85 g dans 50 ml d'eau purifiée							
25L	Réhydrater 14,25 g dans 250 ml d'eau purifiée							
Étape 4 Intégration du supplément à la base préparée	<ul style="list-style-type: none"> Agiter au vortex ce supplément pour homogénéiser et ajouter cette solution de supplément à la préparation du CHROMagar™ Orientation refroidi à 45/50°C. Mélanger le tout pour faire du CHROMagar™ESBL. 							
Étape 5 Coulage des boîtes	<ul style="list-style-type: none"> Couler dans des boîtes de Petri stériles. Laisser solidifier et sécher. 							
STOCKAGE	<ul style="list-style-type: none"> Conserver à l'obscurité. Les boîtes préparées peuvent être conservées un jour à température ambiante. Les boîtes peuvent être stockées jusqu'à 1 mois au réfrigérateur (2/8°C) si elles ont été bien préparées et protégées de la lumière et de la déshydratation. 							

INOCULATION

Les échantillons appropriés peuvent être utilisés directement en isolement sur la boîte.

- Si vos boîtes ont été réfrigérées, merci de les laisser revenir à température ambiante avant inoculation.
- Isoler l'échantillon sur la boîte.
- Incuber dans des conditions d'aérobiose à 37°C pendant 18-24 h.

Échantillons typiques

selles, urines, prélèvements rectaux

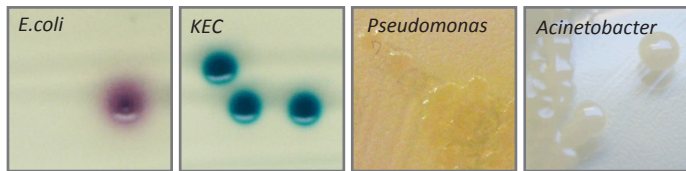
Techniques d'isolement ou d'étalement

CHROMagar™ ESBL

INTERPRÉTATION

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>E.coli</i> BLSE	→ rose foncé à rougeâtre
KEC BLSE (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ bleu métallique
<i>Proteus</i> BLSE	→ halo marron
<i>Acinetobacter</i> BLSE	→ crème
<i>Pseudomonas</i> BLSE	→ translucide, (+/- pigmentation naturelle crème à vert)
<i>Stenotrophomonas</i>	→ incolore
Souches Gram(+)	→ inhibé
Autres souches non résistantes Gram(-)	→ inhibé
Levures	→ en majorité inhibé

Apparence des colonies typiques



Photos non contractuelles

PERFORMANCE & LIMITATIONS

- Quelques *Pseudomonas* et *Acinetobacter*, reconnus pour être fréquemment résistants aux antibiotiques, peuvent pousser sur le milieu avec des aspects de colonies typiques, couleurs typiques de CHROMagar™ Orientation.
- L'identification peut demander des tests additionnels comme des tests biochimiques ou immunologiques: les tests de confirmation par agglutination au latex peuvent être fait directement à partir de colonies suspectes présentes sur les boîtes.
- La plupart des bactéries produisant des AmpC sont inhibées mais quelques unes peuvent pousser.

CONTRÔLE QUALITÉ

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'utilisation du milieu et les normes locales de contrôle qualité. La bonne préparation du milieu peut être testée grâce à l'isolation de souches ATCC ci-dessous:

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>E.coli</i> BLSE CIP 103982	→ rougeâtre, petites colonies
<i>K. pneumoniae</i> BLSE ATCC® 700603	→ bleu métallique
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibé

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>P.aeruginosa</i> ATCC® 10145	→ inhibé
<i>E.coli</i> ATCC® 25922	→ inhibé
<i>C.albicans</i> ATCC® 60193	→ inhibé
<i>S.aureus</i> ATCC® 25923	→ inhibé

ATTENTION

- Ne pas utiliser les boîtes si elles montrent un signe évident de contamination ou de détérioration.
- Ne pas utiliser notre produit au delà de sa date d'expiration ou si le produit montre des signes de contamination ou de détérioration.
- Dispositif médical de diagnostic *in vitro*. Ceci est un produit de laboratoire qui doit être utilisé par du personnel spécialisé et formé aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Tout changement ou modification dans la procédure peut affecter les résultats.
- Tout changement ou modification de la température de stockage requise peut affecter la performance du produit.
- Une conservation inappropriée peut affecter la durée de vie du produit.
- Bien refermer les bouteilles/flacons après chaque préparation et les conserver dans un endroit à faible humidité, protégés de la lumière et de l'humidité.
- Pour une bonne détection microbienne, la collecte et le transport des échantillons doivent être bien gérés et adaptés à l'échantillon en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire.

ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Après utilisation, toutes les boîtes et matériels contaminés doivent être stérilisés ou jetés selon des procédures internes et en accord avec la législation locale. Les boîtes peuvent être détruites par autoclavage à 121°C pendant 20 minutes.

RÉFÉRENCES

Merci de vous référer à notre page «Publications» de notre site internet pour les publications scientifiques sur ce produit
Lien Internet: <http://www.chromagar.com/publication.php>

LEXIQUE ÉTIQUETTE

- Quantité de poudre suffisante pour X litres de milieu
- Date d'expiration
- Température de stockage requise
- Conserver à l'abri de l'humidité

Besoin de Documentation Technique?

Disponible en téléchargement sur www.CHROMagar.com

- Certificat d'analyse (CoA) --> Un par Lot
- Fiche de Sécurité (MSDS)

Format du pack	Références de commande	Base (RT)	Supplément (ES)
5000 ml	ESRT2	RT412 Poids: 165gr	ES372 Poids: 2,85gr
25 L	ESRT3-25	RT413-25 Poids: 825gr	ES373-25 Poids: 14,25gr

CHROMagar™ et Rambach™ sont des marques créées par le Dr. A. Rambach
 ATCC® est une marque enregistrée par l' American Type Culture Collection
 NT-EXT-034 V4 / FR 04-Nov-13

FINALIDAD DEL MEDIO

Medio cromogénico para la detección a lo largo de la noche de bacterias gramnegativas productoras de beta-lactamasa de amplio espectro.

Las ESBL (β-lactamasas de amplio espectro) son enzimas que median la resistencia a las penicilinas, las cefalosporinas de amplio espectro de tercera generación (C3G) y los monobactámicos. Las enterobacterias productoras de ESBL comenzaron a aparecer en los años 80 y, desde entonces, han llegado a ser una de las infecciones nosocomiales más significativas, con *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. como actores principales, habiéndose observado también otras especies gramnegativas. Por tanto, la detección precoz de los portadores de bacterias productoras de ESBL es importante para minimizar su impacto y la propagación de infecciones y personalizar el enfoque terapéutico de los pacientes.

COMPOSICIÓN

El producto está compuesto de una base de polvo (CHROMagar Orientation) y 1 suplemento (CHROMagar ESBL suplemento).

Producto	=	Base (RT)	+	Suplemento (ES)
Total g/L		33.0 g/L		0,57 g/L
Composición g/L		Agar 15,0 Extracto de peptonas y levadura 17,0 Mezcla cromogénica 1,0		Mezcla selectiva 0,57
Aspecto		Forma en polvo		Forma en polvo
ALMACENAMIENTO		15-30 °C		2/8 °C
pH FINAL DEL MEDIO		7,0 +/- 0,2		

PREPARACIÓN (Cálculo para 1l)

Paso 1

Preparación de la base CHROMagar Orientación

- Suspender lentamente 33g de base de polvo en 1 L de agua purificada.
- Remover hasta que el agar haya espesado bien.
- Calentar hasta la ebullición (100 °C) agitando o removiendo regularmente.

Consejo 1: Para aumentar el crecimiento, añadir 0,5 g/L de Tween 80 a la mezcla preparada anteriormente. **Consejo 2:** En el paso de calentamiento a 100 °C, la mezcla también puede llevarse a ebullición en un horno microondas: tras la ebullición inicial, retirar del horno, remover suavemente, y devolver al horno para aplicar breves y reiteradas sesiones de calentamiento brusco hasta lograr la fusión completa de los granos de agar (grandes burbujas sustituirán a la espuma).

Paso 2

Autoclave

- AUTOCLAVAR a 121 °C durante 15 min.
- Enfriar en una cubeta térmica a 45/50 °C, agitando o removiendo suavemente.

Paso 3

Preparación del suplemento CHROMagar ESBL

- Pesar 570 mg del polvo de suplemento necesario.
- Añadir 10 ml de agua purificada estéril a este polvo para hacer una solución de suplemento.

Advertencia 1: Este paso puede requerir varios minutos de agitación para obtener una suspensión adecuada y homogénea: **aspecto opaco amarillento**.

Advertencia 2: La solución de suplemento reconstituida debe utilizarse el mismo día.

Advertencia 3: No almacenar ni reutilizar una solución de suplemento.

Medio Final AYUDA PARA EL CÁLCULO

1 l	Rehidratar 570 mg en 10 ml de agua purificada
5 l	Rehidratar 2,85 g en 50 ml de agua purificada
25 l	Rehidratar 14,25 g en 250 ml de agua purificada

Paso 4

Integrar el complemento en la base fundida

- Agitar en Vortex el suplemento hasta homogeneizar y agregar esta solución de suplemento al CHROMagar™ Orientation fundido y enfriado a 45/50 °C.
- Agitar para preparar el CHROMagar™ ESBL.

Paso 5

Vertido

- Verter en placas de Petri estériles.
- Dejar solidificar y secar.

Almacenamiento

- Almacenar en la oscuridad antes de usar.
- Las placas preparadas con medio pueden conservarse durante un día a temperatura ambiente.
- Las placas pueden almacenarse hasta 1 mes refrigeradas (2/8 °C) si se han preparado correctamente y se protegen de la luz y la deshidratación.

INOCULACIÓN

Las muestras relacionadas pueden ser procesadas mediante siembra directa en la placa.

- Si la placa de agar ha sido refrigerada, dejar que caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.
- Sembrar la muestra por estrías en la placa.
- Incubar en condiciones aerobias a 37 °C durante 18-24 horas.

Muestras típicas

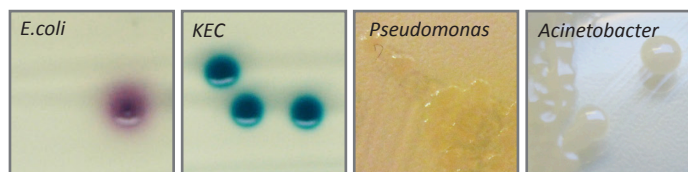
p. ej., muestras de heces, orina, rectales

Siembra directa en estrías o en extensión

INTERPRETACIÓN

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
ESBL <i>E.coli</i>	→ rosa oscuro a rojizo
ESBL KEC (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ azul metálico
ESBL <i>Proteus</i>	→ halo de color marrón
ESBL <i>Acinetobacter</i>	→ crema
ESBL <i>Pseudomonas</i>	→ translúcidas, (+/- pigmentación natural de crema a verde)
<i>Stenotrophomonas</i>	→ incoloras
Tinciones Gram(+)	→ inhibidas
Otras cepas Gram(-) non resistentes	→ inhibidas
Levaduras	→ inhibido en su mayor parte

Aspecto **típico** de las colonias



Las imágenes mostradas no son contractuales.

RENDIMIENTO Y LIMITACIONES

- Algunas *Pseudomonas* spp y *Acinetobacter* spp, bien conocidas como bacterias que con frecuencia adquieren resistencia a múltiples fármacos, podrían crecer en el medio con el aspecto de colonias normales consideradas Típicas en CHROMagar™ Orientation.
- La identificación definitiva puede requerir pruebas adicionales tales como pruebas bioquímicas o inmunológicas: El test de confirmación por aglutinación del látex puede hacerse directamente en las placas en las colonias sospechosas.
- La mayoría de las bacterias productoras de AmpC se ven inhibidas, pero algunas pueden presentar un cierto crecimiento.

CONTROL DE CALIDAD

Realizar el control de calidad de acuerdo con la utilización del medio y los reglamentos y normas locales para QC. La correcta preparación del medio puede analizarse aislando las cepas ATCC que se enumeran más abajo:

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
ESBL <i>E.coli</i> CIP 103982	→ rojizas, pequeñas colonias
ESBL <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	→ azul metálico
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibidas

Tamaño del envase

Referencias para pedidos

Base (RT)

Suplemento (ES)

5000 ml

250 pruebas de 20 ml

ESRT2

RT412
Peso: 165 gr

+

ES372
Peso: 2,85 gr

25 L

1250 pruebas de 20 ml

ESRT3-25

RT413-25
Peso: 825 gr

+

ES373-25
Peso: 14,25 gr

CHROMagar™ y Rambach™ son marcas comerciales creados por el Dr. A. Rambach
ATCC® es una marca registrada de la American Type Culture Collection
NT-EXT-034 V4 / SPA 25-Nov-13

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>P.aeruginosa</i> ATCC® 10145	→ inhibidas
<i>E.coli</i> ATCC® 25922	→ inhibidas
<i>C.albicans</i> ATCC® 60193	→ inhibidas
<i>S.aureus</i> ATCC® 25923	→ inhibidas

PRECAUCIONES

- No utilice placas que muestren cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- No utilizar el producto más allá de su fecha de caducidad o si el producto muestra cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- Uso previsto para diagnóstico *in vitro*. Este producto de laboratorio debe ser utilizado exclusivamente por personal cualificado conforme a las buenas prácticas de laboratorio.
- Cualquier cambio o modificación en el procedimiento puede afectar a los resultados.
- Cualquier cambio o modificación de la temperatura de almacenamiento requerida puede afectar al rendimiento del producto.
- Un almacenamiento inadecuado puede afectar la vida útil del producto.
- Volver a tapar herméticamente los frascos / viales después de cada preparación y mantenerlos en un ambiente de baja humedad, protegido de la condensación y la luz.
- Para una buena detección microbiana: la recogida y transporte de las muestras deberán realizarse y adaptarse a cada muestra concreta de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

ELIMINACIÓN DE DESECHOS

Después de su uso, todas las placas y el resto de material contaminado deben esterilizarse o eliminarse mediante procedimientos internos apropiados y de acuerdo con las normativas locales. Las placas pueden destruirse mediante autoclavado a 121 °C durante al menos 20 minutos.

REFERENCIAS

Consulte nuestra página web "Publicaciones" para acceder a las publicaciones científicas sobre este producto en particular.
Enlace web: <http://www.chromagar.com/publication.php>

ÍNDICE DE LAS INSTRUCCIONES / ETIQUETA

- Cantidad de polvo suficiente para X litros de medio
- Fecha de caducidad
- Temperatura de almacenamiento requerida
- Guardar protegido de la humedad

¿Necesita algún documento técnico?

Disponible para su descarga en www.CHROMagar.com

- Certificado de análisis (CoA) --> Uno por lote
- Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS)

VERWENDUNGSZWECK

Chromogenes Medium für die Über-Nacht-Detektion von Extended-Spectrum Beta-Lactamase produzierenden gramnegativen Bakterien.

ESBL (Extended-Spectrum β -Lactamasen) sind Enzyme, die für die Resistenz gegenüber Penicillinen, Extended-spectrum Cephalosporinen der dritten Generation (C3G) und Monobactamen verantwortlich sind. ESBL-produzierende Enterobakterien sind in den 80er-Jahren aufgekommen und haben sich seitdem zu einigen der am meisten verbreiteten Krankenhausregern entwickelt. *Escherichia coli* und *Klebsiella sp.* sind die wichtigsten Akteure, aber andere gramnegative Arten wurden ebenfalls beobachtet. Daher ist die frühe Detektion von ESBL-produzierenden Bakterien wichtig, um ihre Auswirkungen und die Verbreitung von Infektionen zu minimieren und eine individuelle Patientenversorgung zu ermöglichen.

ZUSAMMENSETZUNG

Das Produkt besteht aus einer Base (CHROMagar Orientation) und einem Supplement (CHROMagar ESB-Supplement).

Produkt	=	Base (RT)	+ Supplement (ES)
Gesamt		33,0 g/L	0,57 g/L
Zusammensetzung		Agar 15,0 Pepton und Hefe-Extrakt 17,0 Chromogenmischung 1,0	Selektive Mischung 0,57
Aussehen		Pulver	Pulver
AUFBEWAHRUNG		15-30 °C	2-8 °C
pH DES ENDMEDIUMS		7,0 +/- 0,2	

ZUBEREITUNG (Berechnung für einen Liter)

Schritt 1

Zubereitung der Base
CHROMagar
Orientation

- 33 g der Base langsam in 1 L destilliertem Wasser resuspendieren.
 - Rühren, bis der Agar aufgequollen ist.
 - Unter regelmäßigem Schwenken oder Rühren erhitzen und zum Kochen (100 °C) bringen.
- Hinweis 1:** Setzen Sie der vorherigen Mischung 0,5 g/L Tween 80 zu, um ein besseres Wachstum zu erzielen.

Hinweis 2: Die Suspension kann auch in der Mikrowelle auf 100 °C erhitzt werden: Nach kurzem Aufkochen aus der Mikrowelle nehmen und vorsichtig rühren. Anschließend mit mehreren kurzen Hitzestößen erneut in der Mikrowelle erhitzen, bis sich der Agar vollständig aufgelöst hat (große Blasen ersetzen den Schaum).

Schritt 2

Autoklavieren

- 15 Minuten bei 121 °C AUTOKLAVIEREN.
- Im Wasserbad auf 45-50 °C abkühlen lassen, dabei vorsichtig schwenken oder rühren.

Schritt 3

Zubereitung des
CHROMagar ESB
Supplements

- 570 mg des benötigten Supplements abwiegen.
 - 10 ml destilliertes Wasser zugeben, um eine Supplement-Lösung herzustellen.
- Warnung 1:** Möglicherweise muss mehrere Minuten gerührt werden, damit eine gute, homogene Suspension entsteht: **opak, gelblich.**
- Warnung 2:** Die hergestellte Supplementlösung muss am selben Tag verwendet werden.
- Warnung 3:** Supplementlösung nicht lagern und wiederverwenden.

End-medium	RECHENBEISPIEL
1 l	570 mg in 10 ml destilliertem Wasser rehydrieren
5 l	2,85 g in 50 ml destilliertem Wasser rehydrieren
25 l	14,25 g in 250 ml destilliertem Wasser rehydrieren

Schritt 4

Supplement zur geschmolzenen Base geben

- Das Supplement zum Homogenisieren gut vortexen und zum zubereiteten, auf 45-50 °C abgekühlten CHROMagar™ Orientation geben.
- Rühren, um CHROMagar™ESBL herzustellen.

Schritt 5

Ausgießen

- In sterile Petrischalen gießen.
- Erstarren und trocknen lassen.

Aufbewahrung

- Vor dem Gebrauch dunkel lagern.
- Fertige Platten können einen Tag bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.
- Die Platten können bis zu 1 Monat im Kühlschrank (2-8 °C) aufbewahrt werden, wenn sie sachgerecht zubereitet wurden und vor Licht und Austrocknung geschützt sind.

BEIMPEN

Die Proben können direkt auf der Platte ausgestrichen werden.

- Kühl gelagerte Agarplatten vor dem Beimpfen auf Raumtemperatur bringen.
- Probe auf der Platte ausstreichen.
- 18-24 Stunden bei 37 °C aerob inkubieren.

Typische Proben

z. B. Stuhlproben,
Urinproben, Rektalabstriche

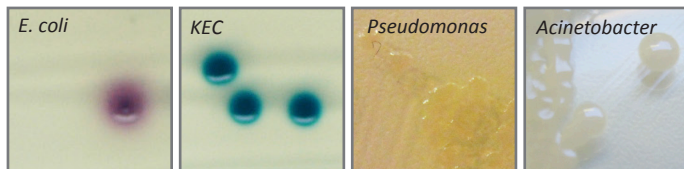
Direktes Ausstreichen
oder Ausplattieren

CHROMagar™ ESB

INTERPRETATION

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
ESBL <i>E. coli</i>	→ dunkelpinkfarben bis rötlich
ESBL KEC (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ metallisch blau
ESBL <i>Proteus</i>	→ brauner Hof
ESBL <i>Acinetobacter</i>	→ cremefarben
ESBL <i>Pseudomonas</i>	→ transparent, (+/- natürliche cremefarbene bis grüne Pigmentierung)
<i>Stenotrophomonas</i>	→ farblos
grampositive Stämme	→ inhibiert
Nicht resistente andere gram- negative Stämme	→ inhibiert
Hefen	→ meist inhibiert

Typisches Erscheinungsbild der Kolonien



Die gezeigten Fotos sind unverbindlich.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Einige *Pseudomonas* sp. und *Acinetobacter* sp., bei denen häufig eine Multiresistenz vorliegt, können auf dem Medium mit den typischen Kolonieeigenschaften wie auf dem CHROMagar™ Orientation wachsen.
- Zur endgültigen Identifizierung können zusätzliche Tests (z.B. biochemische oder immunologische Tests) erforderlich sein: Verdächtige Kolonien können durch Latex-Agglutination direkt von der Platte bestätigt werden.
- Die meisten AmpC-produzierenden Bakterien werden inhibiert, aber einige können ein gewisses Wachstum zeigen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Bitte führen Sie die Qualitätskontrolle je nach Gebrauch des Mediums und gemäß nationaler Qualitätskontrollvorschriften und -normen durch.

Ob das Medium richtig hergestellt wurde, kann durch Isolierung der folgenden ATCC-Stämme getestet werden:

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
ESBL <i>E. coli</i> CIP 103982	→ rötlich, kleine Kolonien
ESBL <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	→ metallisch blau
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibiert

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145	→ inhibiert
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	→ inhibiert
<i>C. albicans</i> ATCC® 60193	→ inhibiert
<i>S. aureus</i> ATCC® 25923	→ inhibiert

WARNHINWEISE

- Platten nicht verwenden, wenn diese Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung zeigen.
- Produkt nicht verwenden, wenn das Haltbarkeitsdatum überschritten ist oder Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung beobachtet werden.
- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Dieses Produkt darf nur von geschultem Labpersonal und unter Einhaltung guter Laborpraktiken verwendet werden.
- Jede Abweichung von dem beschriebenen Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Jede Abweichung von der erforderlichen Lagertemperatur kann die Leistung des Produkts beeinträchtigen.
- Unsachgemäße Lagerung kann sich auf die Haltbarkeitsdauer auswirken.
- Die Flaschen/Ampullen müssen nach jeder Präparation wieder fest verschlossen und an einem trockenen, lichtgeschützten Ort aufbewahrt werden.
- Um einen guten Nachweis von Mikroorganismen zu gewährleisten, ist es wichtig, dass Probenahme und -transport sorgfältig und entsprechend der jeweiligen Probenart unter Einhaltung guter Laborpraktiken durchgeführt werden.

ABFALLENTSORGUNG


Alle Platten und sonstige kontaminierte Materialien müssen nach dem Gebrauch sterilisiert oder durch geeignete interne Verfahren und in Übereinstimmung mit den lokalen Vorschriften entsorgt werden. Die Platten können durch mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C unschädlich gemacht werden.

LITERATUR

Wissenschaftliche Artikel über dieses spezielle Produkt finden Sie im Bereich „Publications“ auf unserer Website.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

ZEICHENERKLÄRUNG GEBRAUCHSANWEISUNG/ ETIKETT

 Die Basemenge reicht für X Liter Medium

 Haltbar bis

 Erforderliche Lagertemperatur

 Vor Feuchtigkeit schützen

Technische Dokumente:

- Als Download erhältlich auf:
www.CHROMagar.com
- Analysenzertifikat (CoA) -> Eins pro Charge
 - Sicherheitsdatenblatt (SDB)

Packungsgröße	Artikelnummern	Base (RT)	Supplement (ES)
5000 ml 250 Tests zu je 20 ml	ESRT2	RT412 Gewicht: 165 g	ES372 Gewicht: 2,85 g
25 L 1250 Tests zu je 20 ml	ESRT3-25	RT413-25 Gewicht: 825 g	ES373-25 Gewicht: 14,25 g

Die Marken CHROMagar™ und Rambach™ wurden von Dr. A. Rambach entwickelt.
ATCC® ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection
NT-EXT-034 V4 / GER 31-Okt-2013

培地の目的

本品は、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(extended spectrum beta-lactamase)を生産するグラム陰性細菌を一晩培養して検出するための発色酵素基質培地です。

ESBL (Extended Spectrum β-Lactamases) は、ペニシリン、基質特異性拡張型第三代セファロスポリン (C3G)、モノバクタムに対する耐性を媒介する酵素です。ESBLを生産する腸内細菌は1980年代に現れ始め、以降、主に*Escherichia coli* や*Klebsiella* sppが院内感染原因菌として問題視されています。また、その他のグラム陰性菌属にも広がりを見せています。ゆえにESBLを生産する細菌キャリアの早期検出は、細菌の威力と感染の拡大を最小限に抑え、患者の治療法を決定する上で重要です。

組成

本品は、粉末Base(CHROMagar Orientation)と1種のサプリメント(CHROMagar ESBLサプリメント)から成ります。

本品	=	Base (RT)	+	サプリメント (ES)
合計 g/L		33.0 g/L		0.57 g/L
組成 g/L		寒天 15.0 ペプトンと酵母エキス 17.0 発色酵素基質混合物 1.0		選択剤混合物 0.57
形態		粉末		粉末
保存法		15~30°C		2~8°C
7.0 +/- 0.2				

調整方法 (1Lあたりの計量)

ステップ 1

Baseの調整
CHROMagar
Orientation

- 粉末Base33g を1Lの精製水に静かに分散させる。
- 寒天が十分膨潤するまで攪拌する。
- 定期的に攪拌しながら加熱し(100°Cに)沸騰させる。
アドバイス 1:成長促進には、調整用混合物にTween 80を0.5g/L加える。
アドバイス 2:混合物を100°Cに加熱する際、電子レンジを使用することもできます。最初に沸騰したら電子レンジから取り出し、静かに攪拌します。再度電子レンジに戻し、短時間の沸騰を繰り返して起こさせ、寒天の粒子を完全に融解させます (小さな泡から大きな泡に変わります)。

- オートクレーブで、121°Cで15分間加熱する。
- 静かに攪拌しながら水浴にて45~50°Cに冷却する。

ステップ 3

CHROMagar ESBL
サプリメントの調整

- 必要となるサプリメント粉末570 mgを計量する。
- 滅菌精製水10mlを粉末に加え、サプリメント溶液を作る。
注意 1:この工程において、良質で均質な懸濁を得るため数分間攪拌する必要がある場合があります:不明瞭な黄色っぽい色になる。
注意 2:再構成されたサプリメント溶液は、同日内に使用すること。
注意 3:サプリメント溶液は、保存および再利用しないこと。

最終培地	役立つ計算
1 L	10 mlの精製水に 570 mgを再水和させる
5 L	50 mlの精製水に 2.85 gを再水和させる
25L	250 mlの精製水に 14.25 gを再水和させる

ステップ 4

サプリメントを溶けた状態のBaseに添加

- サプリメント溶液を攪拌して均質化し、45~50°Cに冷却した溶けた状態のCHROMagar™ Orientationに加える。
- 攪拌してCHROMagar™ ESBLを調整する。

ステップ 5

分注

- 滅菌ペトリ皿に分注する。
- 固まらせ、乾燥させる。

保存法

- 使用前は暗所で保存すること。
- 調整した培地は室温でも1日は保存できます。
- 遮光して乾燥を避け、冷蔵 (2~8°C) すれば、正しく調整された培地は1か月まで保存できます。

接種法

培地への直接塗抹により検体を培養します。

- 寒天培地が冷蔵保存されていた場合は、接種前に室温に戻す。
- 検体を培地に画線塗抹する。
- 好気条件下で、37°C で 18~24 時間培養する。

典型的な検体

例: 糞便、尿、直腸スワブ

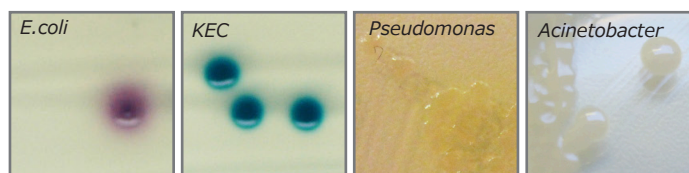
直接塗抹あるいは塗布法

CHROMagar™ ESB

結果の判定

微生物の種類	典型的なコロニーの形状
ESBL <i>E. coli</i>	→ 濃いピンク色～赤っぽい色
ESBL KEC (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ メタリックブルー
ESBL <i>Proteus</i>	→ 茶色の輪
ESBL <i>Acinetobacter</i>	→ クリーム色
ESBL <i>Pseudomonas</i>	→ 半透明 (+/- 自然な色素、ク リーム色～緑色)
<i>Stenotrophomonas</i>	→ 無色
グラム(+)染色	→ 形成が抑制された
その他の無抵抗 グラム(-)染色	→ 形成が抑制された
酵母	→ ほぼ形成が抑制された

典型的なコロニーの形状



写真はあくまでイメージです。

性能と限界

- しばしば多剤耐性菌として知られる *Pseudomonas* spp および *Acinetobacter* spp の一部のコロニーの形態は、CHROMagar™ Orientation 培地上に形成される典型的なコロニーのものと類似する場合があります。
- 最終同定には、生化学的ないし免疫学的試験といったさらなる試験を必要とする場合があります: ラテックス凝集試験を、培地上で直接疑わしいコロニーに行うことができます。
- ほとんどの AmpC 生産菌はコロニーの形成が抑制されますが、一部は成長をみせる場合があります。

品質管理

培地の使用方法と地域の品質管理条例および規範に従って、品質管理を行ってください。
適当な培地の調整は、以下の ATCC 菌株を分離することで検査できます:

微生物の種類	典型的なコロニーの形状
ESBL <i>E. coli</i> CIP 103982	→ 赤っぽい色、小さいコロニー
ESBL <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	→ メタリックブルー
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212	→ 形成が抑制された
<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 10145	→ 形成が抑制された

微生物の種類	典型的なコロニーの形状
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	→ 形成が抑制された
<i>C. albicans</i> ATCC® 60193	→ 形成が抑制された
<i>S. aureus</i> ATCC® 25923	→ 形成が抑制された

注意

- 培地にコンタミネーションや品質低下が認められる場合は、使用しないでください。
- 本品の有効期限が切れている場合や、本品にコンタミネーションや品質低下が認められる場合は使用しないでください。
- 本品は体外検査用です。本品は研究用製品であり、優良実験室規範に則った専門家のみによって取り扱い可能です。
- 異なった使用方法で本品が使用された場合、結果に影響を及ぼす可能性があります。
- 定められた保存温度と異なる温度で保存された場合、本品の性能に影響を及ぼす可能性があります。
- 保存方法が不適切な場合、本品の有効期限に影響を及ぼす可能性があります。
- 調整に使用したボトルおよびバイアル瓶のふたは使用後しっかりと閉め、湿気と光を避けて低湿度環境下で保管してください。
- 微生物検出の良い結果を得るために: 優良実験室規範に従って検体を適切に収集、輸送すること。

廃棄物処分

試験終了後、使用した培地とコンタミネーションが認められた器具はすべて滅菌するか、適切な内部手続き及び地域の条例に従って処分すること。培地は、オートクレーブを 121°C で最低 20 分間かけることで滅菌できます。

参照

本品に関する科学的発行物については、弊社ウェブサイトの «Publications» を参照してください。
ウェブリンク: <http://www.chromagar.com/publication.php>

取扱説明書/ラベル・インデックス

- X リットルの培地に対して必要な粉末量
- 有効期限
- 指定された保存温度
- 湿気を避けて保存すること

パックサイズ

5000 ml	注文番号	Base (RT)	+	サブリメント (ES)
試験250回分 / 1試験20ml	ESRT2	RT412 重量:165gr	+	ES372 重量:2.85gr
25 L	ESRT3-25	RT413-25 重量:825gr	+	ES373-25 重量:14.25gr

テクニカルドキュメントが必要ですか?

- 下記のウェブサイトからダウンロード可能です
www.CHROMagar.com
- Certificate of Analysis (CoA) --> One per Lot
 - Material Safety Data Sheet (MSDS)

CHROMagar™ および Rambach™ は、Dr A. Rambach の商標です。
ATCC® は、American Type Culture Collection の登録商標です。
NT-EXT-034 V4 / JAP 25-Nov-13