

Agar Elite chromID® CPS® (CPSE i CPSO)

IVD

Izolacja, ocena ilościowa oraz bezpośrednia lub wstępna identyfikacja drobnoustrojów wywołujących zakażenia dróg moczowych.

WPROWADZENIE

Agar Elite chromID® CPS® jest podłożem do izolacji, oceny ilościowej i identyfikacji bakterii z moczu. Pozwala ono na:

- mikrobiologiczną ocenę ilościową próbki dzięki posiewowi wystandaryzowaną metodą.
- bezpośrednią identyfikację *Escherichia coli* oraz wstępną identyfikację następujących gatunków lub rodzajów bakterii (1, 2):
 - *Enterococcus*,
 - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC),
 - *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* (Proteeae).

ZASADA DZIAŁANIA

Agar Elite chromID® CPS® zawiera różne bogate w substancje odżywcze peptony i substraty chromogenne, które pozwalają na wykrycie aktywności specyficznych enzymów.

Wykrywanie indolu jest ułatwione dzięki dodaniu do podłoża tryptofanu.

Wysokie stężenie agaru zapobiega mgławicowemu wzrostowi *Proteus*.

Identyfikacja bakterii najczęściej izolowanych z infekcji dróg moczowych jest oparta na następujących zasadach:

- *E. coli*: spontaniczne zabarwienie (różowe do bordowego) kolonii wytwarzających β-glukuronidazę (β-GUR) oraz/lub β-galaktozydazę (β-GAL) (1, 2).
- *Enterococcus*: spontaniczne turkusowe zabarwienie szczepów posiadających β-glukozydazę (β-GLU) (3).
- *KESC*: spontaniczne niebieskie do zielonego zabarwienie szczepów wytwarzających β-glukozydazę (β-GLU) (3).
- *Proteeae*: spontaniczne, dyfundujące brązowe zabarwienie szczepów wytwarzających dezaminazę.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

Podłoże gotowe do użycia (płytki 90 mm)	
REF 416172	Opakowanie 10x10 płytek
REF 418284	Opakowanie 2x10 płytek
Podłoże przezroczyste	
CPSE *	
REF 416173	Opakowanie 10x10 płytek
REF 418206	Opakowanie 2x10 płytek
Podłoże mleczne	
CPSO *	

* wydrukowano na każdej płytce

SKŁAD**Teoretyczna zawartość.**

Podłoże to może być dostosowywane i/lub uzupełniane zgodnie z wymaganymi kryteriami:

Podłoże przezroczyste, ref. 416172 oraz 418284

Pepton kazeinowy (wołowy).....	5 g
Pepton roślinny	5 g
Pepton mięsny (wołowy lub wieprzowy).....	8 g
Węglowodany	1 g
L-tryptofan	0,5 g
Bufor fosforanowy	1 g
Substraty chromogenne	0,26 g
Agar	18 g
Woda oczyszczona	1 l

Podłoże mleczne, ref. 416173 oraz 418206

Zawiera te same składniki co podłoże przezroczyste oraz dodatek 1 g/l środka zmętniającego.

pH 7,4

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU**Odczynnik:**

- Szczepy do kontroli jakości z kolekcji ATCC®.

Materiały:

- Ezy kalibrowane 1 µl lub 10 µl.
- Inkubator bakteriologiczny.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do diagnostyki in vitro.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Podłoża hodowlane nie powinny być wykorzystywane jako materiał do produkcji lub składniki.
- Nie używać płytek przeterminowanych.
- Nie używać podłoża, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać przerośniętych lub wyschniętych płytek.
- Posiewać jeden materiał na płytkę.

- Osoby z zaburzeniami percepcji kolorów mogą mieć problemy ze stosowaniem podłoża.
- Prezentowane dane dotyczące oceny uzyskano stosując procedurę zawartą w tej instrukcji. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wynik.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę makro- i mikroskopową morfologię oraz wyniki innych przeprowadzonych testów.

PRZECHOWYWANIE

- Płytki przechowywać w pudełku w temperaturze 2-8°C do upływu daty ważności.
- Płytki mogą być przechowywane w pudełku przez 2 tygodnie w temperaturze 15-25°C.
- Chronić przed światłem.
- Jeśli nie są w pudełku, płytki mogą być przechowywane przez 2 tygodnie w temperaturze 2-8°C w opakowaniach celofanowych.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Na podłoże posiewa się bezpośrednio moczu. Należy respektować zasady dobrej praktyki laboratoryjnej dotyczące pobierania i transportu materiału.

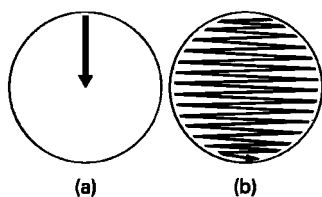
SPOSÓB WYKONANIA

1. Doprowadzić płytki do temperatury pokojowej.
2. Jeśli to konieczne, osuszyć powierzchnię agaru.
3. Posiew

- manualny (4, 5):

Posiać próbkę, dostarczoną do laboratorium, przy pomocy ezy kalibrowanej w następujący sposób:

- zanurzyć oczko ezy w moczu trzymając ją w pozycji pionowej,
- Posiać mocz pociągnięciem ezy wzdłuż promienia płytki (a) (upewnić się, że mocz został pobrany),
- Następnie nie pobierając kolejnej ezy moczu, rozprowadzić próbkę na całej powierzchni płytki gęstymi pociągnięciami prostopadłymi do pierwszego posiewu (b).



- automatyczny przy użyciu PREVI Isola:

Postępować według instrukcji zawartych w Podręczniku użytkownika PREVI Isola.

4. Inkubować w temperaturze 35°C ±2°C w warunkach tlenowych. Użytkownik jest odpowiedzialny za wybór właściwej temperatury inkubacji, zgodnie z zamierzeniami i obowiązującymi standardami. Hodowle są na ogół oceniane po 18-24 godzinach inkubacji.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Po inkubacji obserwować wzrost bakterii.

Ocena półilościowa (eza 10 µl):

Określić zawartość bakterii w próbce przez porównanie gęstości kolonii występujących na górnej połowie płytki z zamieszczonym diagramem. Diagram [A] dla posiewu manualnego lub [B] dla posiewu automatycznego przy użyciu PREVI® Isola.

Diagram [A]

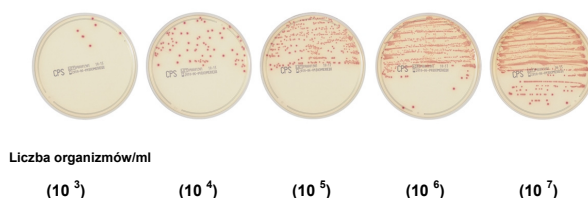
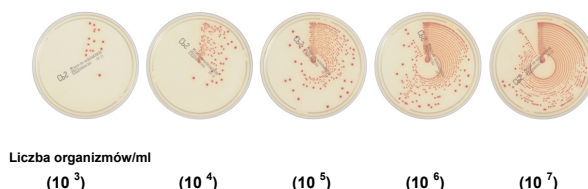


Diagram [B]



Ocena półilościowa (eza 1 µl) (4):

Policzyć kolonie na płytce.

Teoretyczne stężenie bakterii otrzymywane jest po przemnożeniu liczby kolonii na płytce przez współczynnik rozcieńczenia 1000 (np. 10 kolonii odpowiada 10⁴ CFU/ml).

W interpretacji wyników należy wziąć pod uwagę wyniki innych badań (leukocyturę, objawy kliniczne oraz epidemiologię). (4, 5),

Identyfikacja:

1. Bezpośrednia identyfikacja *E. coli*:

• Kolonie różowe do bordowych.

Niektóre szczepy *E. coli* wykazujące brak aktywności β-GUR lub β-GAL wytwarzają kolor białoróżowy lub różowy.

2. Wstępna identyfikacja do poziomu grupy lub rodzaju:

• Kolonie małe turkusowe lub bładoniebieskie do zielonych: rodzaj *Enterococcus*.

• Kolonie niebieskie do zielonych: grupa KESC.

• Rozlane brązowe kolonie lub kolonie z brązową otoczką: *Proteaeae*.

Identyfikację wyizolowanego mikroorganizmu należy potwierdzić dodatkowymi testami (6).

W przypadku użycia testów biochemicznych dla rodzaju *Enterococcus* oraz grupy KESC, zalecane jest przeprowadzenie barwienia metodą Grama.

3. Dalsze wskazówki dotyczące identyfikacji:

- *Staphylococcus saprophyticus*: małe, jasnoróżowe kolonie.
- *Streptococcus agalactiae*: kolonie niebieskawofioletowe do fioletowych.
- Inne gatunki: inne kolory lub kolonie bezbarwne.

W każdym przypadku identyfikacja wyizolowanego drobnoustroju musi być potwierdzona dodatkowymi testami (6).

KONTROLA JAKOŚCI**Protokół:**

Właściwości odżywcze podłoża mogą być sprawdzane przy użyciu następujących szczepów:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™
- *Proteus mirabilis* ATCC® 12453™

Zakres spodziewanych wyników:

Szczep	Wyniki w 35°C ±2°C	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	Wzrost po 24 godzinach	Kolonie bordowe
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212™		Kolonie turkusowe
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 12453™		Rozlane brązowe kolonie

Uwaga:

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura inkubacji, itd.).

OCENA TESTU

Ocenę agaru chromID® CPS® Elite przeprowadzono we Francji przy użyciu rutynowo pobieranych próbek moczu. Materiał posiewano manualnie przy użyciu ezy kalibrowanej 10 µl.

Obie wersje agaru chromID® CPS® Elite (CPSE i CPSO) porównywano z wcześniejszą wersją: chromID® CPS® (Ref. 43821/43829 CPS) oraz innym podłożem chromogennym do wykrywania bakterii wywołujących infekcje dróg moczowych.

Odczytu dokonywano po 18-24 godzinach inkubacji w 35°C. Wcześniejszy odczyt prowadzony był wyłącznie na podłożu chromID® CPS® Elite po 16-18 godzinach inkubacji.

Wszystkie szczepy zidentyfikowano metodą spektrometrii masowej.

Badanie przeprowadzono przy użyciu 300 próbek moczu, z których 88 było jałowe a w 212 stwierdzono obecność przynajmniej jednego gatunku drobnoustrojów.

Spośród 212 dodatnich próbek moczu:

- w 111 stwierdzono obecność *E. coli*,
- w 101 stwierdzono obecność jednego lub więcej gatunków innych niż *E. coli*.

Właściwości odżywcze

Liczba uzyskanych szczepów z podziałem na gatunki lub grupy gatunków po 18-24 godzinach inkubacji.

	Liczba uzyskanych szczepów				
	Wszystkie podłoża *	CPSE	CPSO	CPS	Inne podłoże
<i>E. coli</i>	117	115	115	115	114
KESC	44	42	42	40	40
<i>Proteaeae</i>	24	22	24	21	23
Gram-ujemne niefermentujące	8	7	7	7	7
Inne Gram-ujemne	2	2	2	2	2
Ogółem Gram-ujemne z wyłączeniem <i>E. coli</i>	78	73	75	70	72
<i>E. faecalis</i>	66	62	62	58	63
Inne enterokoki	15	14	14	14	13
<i>S. agalactiae</i>	7	5	7	5	6
Inne paciorkowce	3	2	3	2	2
<i>S. aureus</i>	8	7	8	7	8
Inne gronkowce	37	33	29	19	31
Inne Gram-dodatnie	3	2	2	1	3
Ogółem Gram-dodatnie	139	125	125	106	126
Drożdżaki	19	18	19	17	19
Ogółem	353	331	334	308	331

* Z niektórych próbek moczu uzyskano wzrost kilku szczepów, czasem należących do tego samego gatunku lub grupy gatunków.

Czułość dla gatunków lub grup gatunków (95% współczynnik ufności) uzyskana po 18-24 godz.

	Liczba dodatnich próbek moczu*				
	Wszystkie podłoża	CPSE	CPSO	CPS	Inne podłoże
Bezpośrednia identyfikacja					
<i>E. coli</i>	111	108 97,3% [92,3-99,4]	109 98,2% [93,6-99,8]	109 98,2% [93,6-99,8]	108 97,3% [92,3-99,4]
Wstępna identyfikacja					
<i>Enterococcus</i>	73	70 95,9% [88,5-99,1]	70 95,9% [88,5-99,1]	66 90,4% [81,5-95,3]	70 95,9% [88,5-99,1]
KESC **	38	37 97,4% [86,2-99,9]	37 97,4% [86,2-99,9]	37 97,4% [86,2-99,9]	
<i>Proteeae</i>	22	21 95,5% [77,2-99,9]	22 100,0% [84,6-100,0]	20 90,9% [72,2-97,5]	22 100,0% [84,6-100,0]

*: Próbkę moczu z florą mieszaną liczono dla każdego gatunku lub grupy gatunków występujących w danej próbce.

**: Inne podłoże rozróżnia jedynie grupę KES.

Czułość dla zabarwienia *E. coli* (95% współczynnik ufności) uzyskana po 18-24 godz.

Liczba próbek moczu ujemna dla <i>E. coli</i>			
CPSE	CPSO	CPS	Inne podłoże
98/101 97,0% [91,6-99,4]	99/101 98,0% [93,0-99,8]	98/101 97,0% [91,6-99,4]	96/101 95,0% [88,8-98,4]

Wyniki wczesnych odczytów prowadzonych po 16-18 godzinach inkubacjiWłaściwości odżywcze

	Liczba szczepów uzyskanych dla gatunku grupy gatunków			
	CPSE		CPSO	
	16-18 godz	18-24 godz	16-18 godz	18-24 godz
<i>E. coli</i>	114	115	115	115
KESC	41	42	40	42
<i>Proteeae</i>	18	22	20	24
Gram-ujemne niefermentujące	6	7	6	7
Inne Gram-ujemne	2	2	2	2
Ogółem Gram-ujemne z wyłączeniem <i>E. coli</i>	67	73	68	75
<i>E. faecalis</i>	58	62	57	62
Inne enterokoki	13	14	13	14
<i>S. agalactiae</i>	5	5	7	7
Inne paciorkowce	2	2	3	3
<i>S. aureus</i>	4	7	6	8
Inne gronkowce	25	33	23	29
Inne Gram-dodatnie	1	2	1	2
Ogółem Gram-dodatnie	108	125	110	125
Drożdżaki	14	18	14	19
Ogółem	303	331	307	334

Czułość dla gatunków lub grup gatunków (95% współczynnik ufności)

- Identyczne z uzyskanymi po 18-24 godzinach inkubacji dla *E. coli* i KESC,
- 91,8% [83,2-96,2] na CPSE oraz 90,4% [81,5-95,3] na CPSO dla enterokoków,
- 77,3% [56,6-89,9] na CPSE oraz 81,8% [61,5-92,7] na CPSO dla *Proteeae*,

Czułość dla zabarwienia dla *E. coli* (95% współczynnik ufności)

Czułość jest zwiększona: 99,0% [94,6-100,0] dla CPSE i CPSO.

Ocena ilościowa

Ocena ilościowa uzyskana na CPSE i CPSO po 18-24 godzinach jest równoważna do uzyskanej:

- na CPSE i CPSO po 16-18 godzinach w 99,7% przypadków,
- na podłożu CPS w 96,9% przypadków,
- na innym podłożu w 95,7% przypadków.

OGRANICZENIA TESTU

- Niektóre gatunki mogą wytwarzać kolonie o tym samym charakterystycznym kolorze co *E. coli* (np.: *Citrobacter*).
- Turkusowe kolonie mogą wytwarzać szczepy inne niż *Enterococcus*: np. *Streptococcus agalactiae* (3).
- Niektóre szczepy *Proteus vulgaris* mogą posiadać β -glukozydazę, której obecność jest uwidaczniana poprzez zielone kolonie z lub bez zabarwienia agaru na brązowo.
- Wzrost zależy od indywidualnych wymagań każdego mikroorganizmu. Może zdarzyć się, że jakiś szczep o specyficznych wymaganiach (substrat, temperatura, warunki inkubacji itd.) nie wyrośnie.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI










Niezużyte odczynniki mogą być traktowane jako nie stanowiące zagrożenia odpady, których należy pozbywać się zgodnie z odpowiednimi przepisami. Zużytych odczynników jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

PIŚMIENNICTWO

- MONGET D., ORENGA S., PEYRET M., ROGER-DALBERT C. (2008) Milieu de détection et/ou d'identification des bactéries. PCT/FR2008/050185, WO 2008/104681, 1-12.
- ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. Journal of Microbiological Methods, 79: 139-155.
- SAVARINO A., PRATTICHIZZO F.A., MATTEI R. et al. - Importance of Streptococci and in particular of the Enterococci in urinary tract infections. – *Quad. Sclavo. Diagn.*, 1987 sept, vol. 23, n°3, p. 312-317.
- McCARTER Y. S., BURD E. M., HALL G. S. and ZERVOS M. (2009) - *Cumitech 2C* - Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections - Coordinating ed., S. E. Sharp - ASM Press, Washington, DC.
- European Manual of Clinical Microbiology (1st edition) – ISBN: 978-2-87805-026-4.
- Statement - NA - 416172 – 416173 – 418206 - 418284 - Certificate of compatibility.pdf.
<http://www.biomerieux.com/techlib>.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Chronić przed światłem

HISTORIA ZMIAN

Kategorie zmian

N/A	Nie dotyczy (Pierwsza publikacja)
Korekta	Korekta nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana techniczna	Dodanie, zmiana i/lub usunięcie informacji związanych z produktem
Zmiana administracyjna	Wdrożenie zmian nietechnicznych widocznych dla użytkownika
Uwaga:	<i>Drobne zmiany typograficzne, gramatyczne i zmiany formatowania nie są widoczne w historii zmian</i>

Data wydania	Numer wersji	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2014/09	20787B	N/A	N/A

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX, CPS, PREVI oraz CHROMID są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

Znak towarowy ATCC i nazwa handlowa oraz wszelkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Wszelkie inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.

 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

