

chromID® CPS® Elite Agar (CPSE și CPSO)

Izolarea, enumerarea și identificarea directă sau prezumtivă a organismelor implicate în infecțiile tractului urinar

SUMAR ȘI EXPLICAȚIE

chromID® CPS® Elite agar este un mediu de izolare, enumerare și identificare pentru prelevatele de urină.

Acesta permite:

- enumerarea microbiană din prelevate, prin intermediul metodelor de inoculare standardizate.
- identificarea directă a *Escherichia coli* și identificarea prezumtivă a următoarelor specii sau genuri bacteriene (1, 2):
 - *Enterococcus*,
 - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC),
 - *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* (*Proteeae*).

PRINCIPIU

Mediul chromID® CPS® Elite agar este format dintr-o bază bogat nutritivă ce combină diferite peptone și substraturi cromogene care permit detecția activității enzimelor specifice.

Detecția indolului este favorizată prin prezența triptofanului în agar.

Concentrația crescută de agar previne dezvoltarea invaziei speciilor de *Proteus*.

Identificarea bacteriilor izolate cel mai frecvent în cazul infecțiilor tractului urinar se bazează pe următorul principiu:

- *E. coli*: colorația spontană în roșu până la roșu Burgundia a tulpinilor producătoare de β-glucuronidază (β-GUR) și/sau β-galactozidază (β-GAL) (1, 2).
- *Enterococcus*: colorația spontană în turcoaz a tulpinilor producătoare de β-glucozidază (β-GLU) (3).
- *KESC*: colorația spontană în albastru până la verde a tulpinilor producătoare de β-glucozidază (β-GLU) (3).
- *Proteeae*: colorația spontană în maro difuz a tulpinilor producătoare de deaminază.

CONȚINUTUL KITULUI**Medii gata de utilizare (plăci de 90 mm)**

REF 416172 Pachete de 10x10 plăci

REF 418284 Pachete de 2x10 plăci

Mediu translucid

CPSE *

REF 416173 Pachete de 10x10 plăci

REF 418206 Pachete de 2x10 plăci

Mediu opac

CPSO *

* Imprimat pe fiecare placă

COMPOZIȚIE**Formula teoretică:**

Acest mediu poate fi ajustat și/sau suplimentat în funcție de criteriile de performanță necesare:

Mediu translucid, cod 416172 și 418284

Peptonă caseină (bovină)	5 g
Peptonă vegetală	5 g
Peptonă din carne (bovină sau porcină)	8 g
Carbohidrați	1 g
L-Triptofan	0,5 g
Tampon fosfat	1 g
Substraturi cromogene	0,26 g
Agar	18 g
Apă purificată	1 l

Mediu opac, cod 416173 și 418206

Aceeași compoziție ca și mediul translucid suplimentat cu 1 g/L agent de opacizare.

pH 7,4

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE**Reactiv:**

- Tulpini ATCC® pentru Controlul de Calitate.

Material:

- anse calibrate de 1 μl sau 10 μl.
- Incubator pentru bacteriologie.

ATENȚIONĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

- **Destinat numai utilizării pentru diagnosticarea *in vitro*.**
- **A se utiliza numai de către personal calificat.**
- Acest kit conține produse de origine animală. Cunoașterea atestată a originii și/sau a stării sanitare a animalelor nu garantează în totalitate absența agenților patogeni transmisibili. De aceea se recomandă ca aceste produse să fie tratate ca fiind potențial infecțioase și manevrate respectând măsurile de siguranță obișnuite (a nu se înghiți sau inhala).
- Toate probele, culturile microbiene și produsele inoculate trebuie să fie considerate drept infecțioase și tratate în mod corespunzător. Pe parcursul desfășurării acestei proceduri trebuie respectate tehnici aseptice și măsuri de precauție obișnuite pentru manipularea bacteriilor. Consultați "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – revizuirea curentă". Pentru informații suplimentare privind măsurile de precauție în vederea manevrării, consultați "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Ultima ediție", sau reglementările curente din țara în care se utilizează.
- Mediile de cultură nu trebuie utilizate ca materiale de producție sau componente.
- Nu folosiți reactivii după data expirării.
- Nu utilizați reactivii dacă ambalajul este deteriorat.
- Nu utilizați plăcile care sunt contaminate, plăcile a căror cantitate de agar s-a micșorat sau plăcile umede.
- Utilizați numai un specimen pe placă.

- Utilizarea mediului poate fi dificilă pentru persoanele care întâmpină probleme în recunoașterea culorilor.
- Datele de performanță prezentate au fost obținute folosind procedura indicată în acest insert tehnic. Orice schimbare sau modificare adusă în cadrul procedurii poate afecta rezultatele și trebuie validată mai întâi de către utilizator.
- Interpretarea rezultatelor testelor trebuie efectuată luând în considerare morfologia macroscopică și microscopică și rezultatele oricăror alte teste efectuate.

CONDIȚII DE PĂSTRARE

- Plăcile pot fi păstrate în cutia lor la 2-8°C, până la data expirării.
- Plăcile pot fi păstrate în cutia lor timp de 2 săptămâni la 15-25°C.
- A se proteja de lumină.
- Dacă nu se țin în cutie, plăcile pot fi păstrate timp de 2 săptămâni la 2-8°C, în ambalajul de celofan.

PROBELE

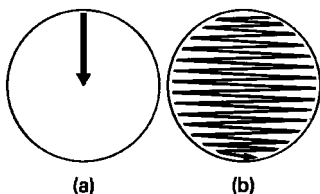
Mediul este inoculat direct cu proba din urină. Trebuie respectate bunele practici de laborator pentru recoltare și transport.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

1. Lăsați plăcile să ajungă la temperatura camerei.
2. În cazul în care este necesar, uscați suprafața agarului.
3. Inocularea
 - manuală (4, 5):

Inoculați proba la sosirea acesteia în laborator, folosind o ansă calibrată după cum urmează:

 - introduceți o ansă în urină menținând-o în poziție verticală,
 - descărcați pe raza plăcii pentru a distribui urina de pe ansă (a) (asigurați-vă de faptul că urina a fost descărcată),
 - apoi, fără a mai adăuga urină, efectuați însămânțarea realizând striuri perpendiculare și dese pe toată suprafața plăcii (b).



- automat folosind PREVI® Isola:

Respectați instrucțiunile din Manualul utilizatorului PREVI® Isola.

4. Incubați plăcile cu capacul în jos la 35°C ±2°C în condiții aerobe. Utilizatorul este responsabil pentru alegerea temperaturii adecvate în funcție de scopul utilizării, în conformitate cu standardele curente. Culturile sunt în general examinate după 18-24 ore de incubare.

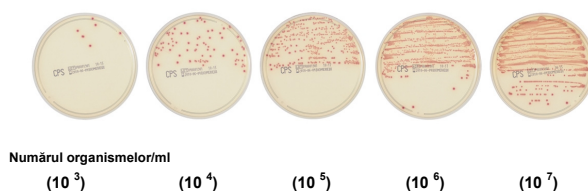
CITIREA ȘI INTERPRETAREA

După incubare, observați creșterea bacteriană.

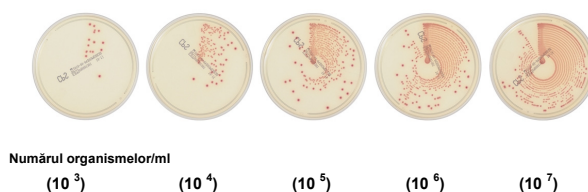
Enumerarea semi-cantitativă (ansă de 10 µL):

Determinați concentrația de bacterii prin compararea densității coloniilor prezente pe jumătatea superioară a plăcii cu densitatea indicată în imaginea [A] pentru inocularea manuală, sau imaginea [B] pentru inocularea automată cu PREVI® Isola

Imaginea [A]



Imaginea [B]



Enumerarea semi-cantitativă (ansă de 1 µL) (4):

Numărați coloniile de pe placă.

Concentrația teoretică a bacteriilor este obținută prin înmulțirea numărului de colonii de pe placă cu un factor de diluție de 1000 (exemplu: 10 colonii corespund la 10⁴ UFC/mL).

Interpretarea rezultatelor enumerării trebuie efectuată luând în considerare alte teste incluzând leucocituria, simptomele clinice și epidemiologia. (4, 5),

Identificarea:

1. Identificarea directă a *E.coli*:

• Colonii de culoare roșie până la roșu Burgundia.

Unele colonii de *E. coli* care nu indică o activitate enzimatică β-GUR sau β-GAL, produc o culoare roz pal până la roz.

2. Identificarea prezumtivă la nivel de grup sau gen:

• Colonii de culoare turcoaz sau albatru pal până la verde: genul *Enterococcus*.

• Colonii albastre până la verde: grup KESC.

• Colonii de culoare maro difuz sau colonii cu un halo maro: *Proteaeae*.

Identificarea microorganismului izolat trebuie urmată de teste suplimentare (6).

Se recomandă realizarea unei colorații Gram în cazul utilizării testelor biochimice pentru genul *Enterococcus* și grupul KESC.

3. Alte orientări în vederea identificării

- *Staphylococcus saprophyticus*: Colonii mici de culoare roz deschis.
- *Streptococcus agalactiae*: Colonii violet albastri până la violet.
- Alte specii: colonii de alte culori sau colonii incolore.
În orice caz, identificarea microorganismului izolat trebuie urmată de teste suplimentare (6).

CONTROLUL DE CALITATE

Protocol:

Specificațiile mediului pot fi testate folosind următoarele tulpini:

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

Aria rezultatelor așteptate:

Tulpina	Rezultate la 35°C ±2°C	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	Creștere în decurs de 24 de ore	Colonii de culoare roșu Burgundia
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212™		Colonii de culoare turcoaz
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 12453™		Colonii de culoare maro difuz:

Notă:

Este responsabilitatea utilizatorului de a efectua Controlul de Calitate luând în considerare scopul utilizării mediului, în conformitate cu orice reglementări locale aplicabile (frecvență, număr de tulpini, temperatura de incubare, etc.).

PERFORMANȚA

Performanța mediului chromID® CPS® Elite agar a fost evaluată într-o locație franceză folosind specimene de urină din fluxul de lucru de rutină. Inocularea a fost efectuată manual folosind o ansă calibrată de 10 µl. Cele două versiuni de chromID® CPS® Elite agar (CPSE și CPSO) au fost comparate cu versiunea anterioară: chromID® CPS® (Ref. 43821/43829 CPS), și cu un alt mediu cromogen pentru detecția organismelor ce provoacă infecții ale tractului urinar.

Citirile au fost efectuate după 18-24 de ore de incubare la 35°C. O citire timpurie a fost realizată după 16-18 ore de incubare doar pentru mediul chromID® CPS® Elite.

Toate tulpinile au fost identificate prin spectrometria de masă.

Studiul a fost efectuat folosind 300 de probe de urină, incluzând 88 care au fost indicate ca fiind sterile și 212 care au fost indicate ca fiind pozitive pentru cel puțin o specie.

Dintre cele 212 probe pozitive de urină:

- 111 au fost indicate ca fiind pozitive pentru *E. coli*,
- 101 au fost indicate ca fiind pozitive pentru una sau mai multe specii, altele decât *E. coli*.

Capacitatea nutritivă

Numărul de tulpini obținute per specie sau grup de specii după 18-24 de ore de incubare.

	Numărul tulpinilor obținute				
	Toate mediile incluse *	CPSE	CPSO	CPS	Alt mediu
<i>E. coli</i>	117	115	115	115	114
KESC	44	42	42	40	40
<i>Proteeae</i>	24	22	24	21	23
Gram-negative nefermentative	8	7	7	7	7
Alte Gram-negative	2	2	2	2	2
Total Gram-negative excluzând <i>E. coli</i>	78	73	75	70	72
<i>E. faecalis</i>	66	62	62	58	63
Alți enterococi	15	14	14	14	13
<i>S. agalactiae</i>	7	5	7	5	6
Alți streptococi	3	2	3	2	2
<i>S. aureus</i>	8	7	8	7	8
Alți stafilococi	37	33	29	19	31
Alte Gram-pozitive	3	2	2	1	3
Total Gram-pozitive	139	125	125	106	126
Drojii	19	18	19	17	19
Total	353	331	334	308	331

* Unele probe de urină au permis creșterea mai multor tulpini, uneori aparținând aceleiași specii sau aceluiași grup de specii.

Sensibilitatea per specie sau grup de specii (Interval de Încredere 95%) obținută după 18-24h

	Numărul probelor de urină pozitive *				
	Toate mediile incluse	CPSE	CPSO	CPS	Alt mediu
Identificare directă					
<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]
Identificare prezumtivă					
<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]

*: O probă de urină polimicrobiană se ia în calcul pentru fiecare specie sau grup de specii care o conține.

**: Celălalt mediu identifică numai grupul KES.

Specificitatea colorației pentru *E. coli* (Interval de Încredere 95%) obținută după 18-24h

Numărul probelor de urină negative pentru <i>E. coli</i>			
CPSE	CPSO	CPS	Alt mediu
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]

Rezultatele citirii timpurii efectuate după 16-18 ore de incubareCapacitatea nutritivă

	Număr de tulpini obținute per specie sau grup de specii			
	CPSE		CPSO	
	16-18h	18-24h	16-18h	18-24h
<i>E. coli</i>	114	115	115	115
KESC	41	42	40	42
<i>Proteeae</i>	18	22	20	24
Gram-negative nefermentative	6	7	6	7
Alte Gram-negative	2	2	2	2
Total Gram-negative excluzând <i>E. coli</i>	67	73	68	75
<i>E. faecalis</i>	58	62	57	62
Alți enterococi	13	14	13	14
<i>S. agalactiae</i>	5	5	7	7
Alți streptococi	2	2	3	3
<i>S. aureus</i>	4	7	6	8
Alți stafilococi	25	33	23	29
Alte Gram-pozitive	1	2	1	2
Total Gram-pozitive	108	125	110	125
Drojdii	14	18	14	19
Total	303	331	307	334

Sensibilitatea per specie sau grup de specii (Interval de Încredere 95%)

- Identică în comparație cu aceea obținută după 18-24 de ore de incubare pentru *E. coli* și KESC,
- 91,8% [83,2-96,2] pe CPSE și 90,4% [81,5-95,3] pe CPSO pentru *Enterococcus*,
- 77,3% [56,6-89,9] pe CPSE și 81,8% [61,5-92,7] pe CPSO pentru *Proteeae*,

Specificitatea colorației pentru *E. coli* (Interval de Încredere 95%)

Specificitatea s-a îmbunătățit: 99,0% [94,6-100,0] pentru CPSE și CPSO.

Enumerarea

Enumerările obținute pe CPSE și CPSO după 18-24 de ore sunt echivalente cu cele obținute:

- pe CPSE și CPSO după 16-18 ore în 99,7% din cazuri,
- pe mediul CPS în 96,9% din cazuri,
- pe celălalt mediu în 95,7% din cazuri.

LIMITĂRILE METODEI

- Anumite specii pot produce colonii având aceeași caracteristică a culorii ca și *E. coli* (ex.: *Citrobacter*).
- Alte specii în afară de *Enterococcus* pot produce colonii de culoare turcoaz: ex.: *Streptococcus agalactiae* (3).
- Anumite tulpini de *Proteus vulgaris* produc β-glucozidază care poate fi exprimată prin colonii de culoare verde cu sau fără virarea agarului în maro.
- Creșterea bacteriană depinde în funcție de cerințele fiecărui microorganism în mod individual. Astfel, este posibil ca anumite tulpini care au cerințe specifice (substrat, temperatură, condiții de incubare, etc.) să nu se dezvolte pe mediu.

ÎNDEPĂRTAREA DEȘEURILOR

Reactivii neutilizați pot fi considerați ca fiind deșuri nepericuloase și pot fi îndepărtați în consecință. Îndepărtați reactivii folosiți, precum și orice alte materiale de unică folosință contaminate respectând procedurile cu privire la produsele infecțioase sau potențial infecțioase.

Este responsabilitatea fiecărui laborator de a manevra deșeurile și scurgerile produse conform tipului și gradului de pericolozitate al acestora și de a le trata și îndepărta (sau de a angaja pe cineva care să le trateze sau să le îndepărteze) în conformitate cu orice reglementări aplicabile.

BIBLIOGRAFIE

1. 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.
2. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. Journal of Microbiological Methods, 79: 139-155.
3. 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.
4. 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.
5. European Manual of Clinical Microbiology (1st edition) – ISBN: 978-2-87805-026-4.
6. Statement - NA - 416172 – 416173 – 418206 - 418284 - Certificate of compatibility.pdf.
<http://www.biomerieux.com/techlib>.

INDEX AL SIMBOLURILOR

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv Medical de Diagnosticare <i>In Vitro</i>
	Producător
	Limitare de temperatură
	A se utiliza până la data de
	Cod lot
	A se consulta instrucțiunile de utilizare
	Conținut suficient pentru <n> teste
	A se proteja de lumină

ISTORICUL REVIZUIRILOR

Categoriile tipurilor de modificări

N/A	Nu se aplică (Prima publicare)
Corectură	Corectarea anomaliilor de documentare
Modificări tehnice	Completări, revizuirii și/sau îndepărtarea de informații legate de produs
Administrativ	Implementarea de schimbări non-tehnice importante pentru utilizator
Notă:	<i>Modificări minore de tipar, gramaticale și de format nu sunt incluse în istoricul revizuirilor.</i>

Data lansării	Număr de catalog	Tipul modificării	Sumarul modificărilor
2014/09	20787B	N/A	N/A

BIOMERIEUX, logo-ul BIOMERIEUX, CPS, PREVI și CHROMID sunt mărci comerciale utilizate, înregistrate și/sau în curs de înregistrare, care aparțin bioMérieux sau uneia dintre filialele sau companiile sale.
Marca și denumirea comercială ATCC și orice numere de catalog ATCC sunt mărci comerciale ale American Type Culture Collection.
CLSI este o marcă comercială aparținând Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.
Oricare altă denumire sau marcă comercială aparține proprietarului respectiv.