

BD BBL CHROMagar ESB

PRZEZNACZENIE

CHROMagar ESB to podłoże przesiewowe z chromogenami do selektywnej izolacji szczepów *Enterobacteriaceae* i kilku innych gatunków pałeczek Gram-ujemnych wytwarzających beta-laktamazę o szerokim spektrum (ESB). Odpowiednie próbki zawierają wymazy z odbytu i inne, różnorodne próbki kliniczne (patrz **Typy próbek**). Podłoże umożliwia też identyfikowanie szczepów *E. coli* bez przeprowadzania testów potwierdzających i wykrywanie grup drobnoustrojów *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* oraz *Proteus-Morganella-Providencia*, jeśli izolaty są odporne na działanie antybiotyków zawartych w podłożu. Należy potwierdzić, że izolaty uzyskane na tym podłożu produkują ESB, wykonując dodatkowe testy.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Odporność na beta-laktamazę o szerokim spektrum, w tym cefalosporyny trzeciej generacji, jest spowodowana różnorodnymi mechanizmami oporności. Najistotniejszym mechanizmem wśród nich jest oporność przenoszona przez plazmidy, będąca wynikiem beta-laktamazy o szerokim spektrum (ESB), ponieważ rozprzestrzenia się w formie epidemii na oddziałach intensywnej opieki medycznej i w innych środowiskach szpitalnych. Zazwyczaj szczepy wytwarzające ESB są wrażliwe na działanie inhibitorów beta-laktamaz (np. kwasu klawulanowego), cefamycyn (np. cefoksytyny) i karbapenemów.^{1,5} Niedawno pojawiły się doniesienia o potwierdzeniu oporności szczepów odpornych na karbapenemy (producenci karbapenemaz) (za wyjątkiem kilku producentów OXA-48) również na cefalosporyny trzeciej generacji.²

Te rodzaje enzymów beta-laktamazy znaleziono w gatunkach *Klebsiella*, *Escherichia coli* i rzadziej w innych rodzajach *Enterobacteriaceae*.

Płytki **BBL CHROMagar ESB** zawierają podłoże **BBL CHROMagar Orientation** opracowane przez firmę A. Rambach, CHROMagar, zlokalizowaną w Paryżu, we Francji. Firma BD, na mocy umowy licencyjnej, zoptymalizowała tę formułę, korzystając z własnych, zastrzeżonych rozwiązań używanych do wytwarzania gotowego podłoża na płytkach **BBL CHROMagar Orientation**. Źródłem składników odżywczych w podłożu **BBL CHROMagar Orientation Medium**, są specjalnie dobrane peptony. Mieszanka chromogenów składa się z substratów sztucznych (chromogenów), które w wyniku rozkładu przez określone enzymy bakteryjne tworzą związki o różnym zabarwieniu, co umożliwia bezpośrednie różnicowanie pewnych gatunków lub wykrywanie pewnych grup drobnoustrojów przy ograniczeniu testów potwierdzających do minimum. Dzięki opracowaniu różnych kolorów, podłoża z chromogenami **BBL CHROMagar ESB** ułatwiają wykrywanie mieszanych kultur bakterii Gram-ujemnych oraz identyfikowanie bakterii *E. coli* (kolor różowy do fioletoworóżowego) bez wykonywania uprzednich testów potwierdzających oraz wykrywanie grup drobnoustrojów *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* (kolor niebieskozielony do niebieskiego) i *Proteus-Morganella-Providencia* (bezbarwny do jasnobrązowego z brązowymi obwódkami sięgającymi podłoża) oraz innych pałeczek Gram-ujemnych (występujących w kolorze naturalnym), jeżeli izolaty są odporne na cefalosporyny o rozszerzonym spektrum zawarte w podłożu.

BBL CHROMagar ESB zawiera dwa podłoża, wypełnione na płytce podwójnej. Każde z dwóch podłoży zawiera inną cefalosporynę trzeciej generacji w odpowiednim stężeniu, co umożliwia wykrywanie oporności wraz z innymi czynnikami selektywnymi hamującymi towarzyszącą florę obecną w próbce. Podłoże 2 wzbogacono dwutlenkiem tytanu, aby ułatwić rozróżnianie obu podłoży na podstawie ich wyglądu. Oba podłoża należy inokulować tą samą próbką lub izolatem. Bakterie Gram-dodatnie, np. *Enterobacteriaceae* i niektóre drobnoustroje niewywołujące fermentacji spowodują wzrost na podłożu, jeśli są odporne na działanie środków przeciwko drobnoustrojom.

W przypadku metod tradycyjnych, próbki, co do których istnieje podejrzenie, że zawierają producentów ESBL, należy posiać na standardowych podłożach izolacyjnych w celu uzyskania czystych kultur. Po inkubacji należy je przetestować pod kątem wrażliwości. Proces izolowania i badania wrażliwości zajmuje co najmniej 48 godzin. Ponieważ wyłącznie niewielki procent próbek zawiera producentów ESBL, procedura ta jest czasochłonna i kosztowna.

W przypadku stosowania podłoża **BBL CHROMagar ESBL**, próbki posiewa się pasmowo na obu podłożach na płytce. Po całonocnej inkubacji trwającej 18 – 28 godzin (najlepiej 20 – 22 godziny), wzrost izolatu na jednym lub dwóch podłożach wskazuje na obecność potencjalnego producenta ESBL. Konieczne jest potwierdzenie poprzez wykonanie testów wrażliwości lub zastosowanie metod cząsteczkowych.

W porównaniu z izolacją nieselektywną, po której wykonuje się testy wrażliwości, zastosowanie tego produktu przyczynia się do zredukowania nakładów pracy i skrócenia czasu wymaganego na wykrycie ESBL.

ODCZYNNIKI

BBL CHROMagar ESBL

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Podłoże 1 (przejrzyste)		Podłoże 2 (mętne)	
Chromopepton	16,1 g	Chromopepton	16,1 g
Mieszanka chromogenów	1,3	Mieszanka chromogenów	1,3
Środki selektywne	0,24	Środki selektywne	0,24
Agar	15,0	Tlenek tytanu (nierozpuszczalny)	0,35
		Agar	15,0
pH 6,8+/-0,2			

*Odpowiednio skorygowany lub uzupełniony w celu spełnienia kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. Ⓢ

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz utylizowanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w **zaciemnionym pomieszczeniu**, w temperaturze od 2 – 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu użycia. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji.

Płytki z otwartego opakowania zawierającego 10 płytek mogą zostać użyte w ciągu tygodnia pod warunkiem przechowywania w ciemności, w czystym miejscu, w temperaturze od 2 – 8°C.

Przed oraz podczas inkubacji należy ograniczyć do minimum ekspozycję na światło, gdyż może ono zniszczyć układ chromogenów.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Reprezentatywne próbki podłoża należy zaszczerpić hodowlami wymienionych niżej szczepów (szczegółowe informacje — patrz **Typy próbek** i **Procedura testowa**). Płytki najlepiej inkubować w położeniu odwróconym, w temperaturze 35 – 37°C, w atmosferze tlenowej, przez okres 20 – 22 godzin.

Szczepy	Wyniki wzrostu (oba podłoża)
<i>E. coli</i> DSM 22314 (producent ESBL)	Podłoże 1 (przejrzyste): wzrost dobry lub doskonały; kolonie barwy od różowej do fioletoworóżowej Podłoże 2 (mętne): brak wzrostu lub zadowalający wzrost; kolonie barwy od różowej do fioletoworóżowej
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (producent ESBL)	Oba podłoża: wzrost dobry lub doskonały; kolonie barwy od niebieskiej do niebieskozielonej
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (producent nie-ESBL)	Oba podłoża: całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Oba podłoża: całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Oba podłoża: całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Podłoże 1 (przejrzyste): przezroczyste, bezbarwne do jasnobursztynowego (może zawierać umiarkowaną ilość małych cząstek) Podłoże 2 (mętne): matowe, białe do kremowego

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BBL CHROMagar ESBL (płytki podwójne 90 mm **Stacker**). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki oraz wyposażenie laboratoryjne.

Typy próbek

Ten produkt jest głównie używany w celu wykrywania kolonizacji przez szczepy, w przypadku których potwierdzono wytwarzanie ESBL, w celu ułatwienia zapobiegania infekcjom ESBL i kontrolowania ich w placówkach ochrony zdrowia, w szczególności na oddziałach intensywnej opieki medycznej. Jest on głównie używany podczas badań wymazów z odbytu pacjentów, jednak może znaleźć zastosowanie w badaniach próbek z innych części ciała (wymazy z nosa, ran, gardła, cewki moczowej i pachwin) potencjalnie zawierających bakterie *Enterobacteriaceae* produkujących beta-laktamazy o szerokim spektrum (ESBL) lub innych pałeczek Gram-ujemnych bakterii tlenowych wykazujących wysoką odporność na beta-laktamazę o szerokim spektrum (ESBL). Zaleca się stosowanie materiałów do transportu zatwierdzonych do pobierania próbek klinicznych do badań mikrobiologicznych. Postępować zgodnie z zaleceniami producenta materiałów do transportu.

Użytkownik może również zapoznać się z odpowiednim piśmiennictwem w celu uzyskania informacji dotyczących metod pobierania próbek i postępowania z nimi.^{3,4}

Produkt można też używać do podhodowli szczepów, w przypadku których możliwe jest wytwarzanie ESBL, na innych podłożach. Nie zaleca się bezpośredniej inokulacji kolonii. Aby nie dopuścić do inokulacji zbyt dużą dawką, kolonie należy najpierw rozpuścić w soli fizjologicznej (patrz **Procedura testowa**), a następnie posiać pełną objętość na każdym podłożu.

Procedura testowa

Podłoże CHROMagar ESBL należy inokulować bezpośrednio z wymazówki, bez uprzedniego wzbogacania lub z izolowanej kolonii rozpuszczonej w soli fizjologicznej w celu uzyskania zmętnienia o wartości około 0,5 w skali McFarlanda. Bezpośrednia inokulacja z wyizolowanych kolonii nie jest zalecana ze względu na fakt, iż wysoki poziom inokulum może w rzadkich przypadkach powodować uzyskanie wyników fałszywie dodatnich.

Próbkę należy inokulować za pomocą wymazówki lub ezy na obu podłożach na płytce **BBL CHROMagar ESBL** i posiać pasmowo w celu uzyskania pojedynczych kolonii, używając ezy. Należy ściśle przestrzegać poniższej procedury inokulacji, aby uzyskać wyizolowane kolonie o typowym wyglądzie. Niewystarczająca inokulacja lub inokulacja całych powierzchni podłoża wyłącznie przy użyciu wymazówek (bez stosowania ezy w celu wykonania posiewu pasmowego) może być przyczyną uzyskania nieprawidłowych rezultatów lub spowodować, że płytka będzie

nieczytelna. Nie należy inokulować więcej niż jednej próbki na płytce. Obie strony podwójnej płytki należy inokulować tą samą próbką.

Procedura inokulacji i inkubacji:

1. Przeciągnąć wymazówką zawierającą próbkę po niewielkim obszarze pierwszego podłoża **BBL CHROMagar ESB**L: Unikać inokulacji zbyt dużą dawką! Usunąć wymazówkę z zainokulowanego podłoża.
2. Delikatnie przekreślić wymazówką i zainokulować drugie podłoże **BBL CHROMagar ESB**L: przeciągnąć wymazówką w obszarze pierwszego posiewu drugiego podłoża. Unikać inokulacji zbyt dużą dawką!

Uwaga: kolejność wykonania inokulacji nie ma wpływu na wynik.

3. Umieścić wymazówkę z powrotem w probówce zawierającej próbkę.
4. Za pomocą ez ukończyć posiewy na płytkach. Posiać pasmowo w celu uzyskania pojedynczych kolonii! Najpierw ukończyć pierwszy posiew pasmowy, a następnie drugi i trzeci na obu podłożach. Zaleca się stosowanie świeżych ez do każdej strony produktu.
5. Płytki należy inkubować najlepiej w położeniu odwróconym (podłożem skierowanym w górę), w temperaturze 35 – 37°C, w atmosferze tlenowej, przez okres 18 – 28 godzin (optymalnie 20 – 22). Nie zaleca się inkubowania przez dłuższy czas ani w atmosferze wzbogaconej w dwutlenek węgla. Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum ekspozycję na światło, gdyż może ono zniszczyć układ chromogenów. Po wystąpieniu zabarwienia kolonii ekspozycja na światło jest dopuszczalna.
6. Wykonać odczyt płytek w sposób opisany w sekcji **Wyniki i interpretacja**.

W zależności od rodzaju i przeznaczenia próbki, należy inokulować również inne podłoża, aby możliwe było pełne wykrycie zawartych w niej patogenów. Wspomniane podłoża powinny zawierać co najmniej płytkę z nieselektywną pożywką z agarem z krwią.

Wyniki i ich interpretacja

Po inkubacji, będą rosły próbki zawierające izolaty odporne na inhibitory zawarte w podłożu. Choć większość szczepów produkujących ESBL będzie rosła na obu podłożach na podwójnej próbce, istnieją szczepy wykazujące się wrażliwością w warunkach in vitro na jeden z dwóch środków przeciwko drobnoustrojom i w związku z tym, będą rosły tylko na jednym podłożu. Na płytkach powinny pojawić się pojedyncze kolonie w miejscach odpowiedniego rozcieńczenia inokulum. Należy wykonać odpowiednie testy wrażliwości lub skorzystać z metod cząsteczkowych, aby potwierdzić obecność izolatów wytwarzających ESBL.

Brak wzrostu na **obu** podłożach oznacza, że próbka nie zawiera szczepów opornych na działanie środków przeciwko drobnoustrojom zawartych w podłożach.

Należy zauważyć, że odbarwienie podłoża bez widocznych kolonii (które może mieć miejsce, jeśli podłoża zainokulowano zbyt dużą dawką próbki stolca lub zbyt dużą ilością bakterii) jest uznawane za wynik ujemny (patrz także **Ograniczenia procedury**).

Różnicowanie lub identyfikacja izolatów wg koloru kolonii i wyglądu

Kolonie o zabarwieniu jasno- lub fioletoworóżowym *Escherichia coli*; opcjonalny test indolowy z wykorzystaniem **BD BBL DMACA Indole Reagent Droppers** (zakraplacze z odczynnikami indolowym, nr kat. 261187) można przeprowadzić na bibule filtracyjnej w celu potwierdzenia obecności *E. coli* (wynik indolododatni). Nie nakładać odczynnika indolowego na powierzchnię podłoża!

Uwaga: jak stwierdzono, niektóre szczepy *Citrobacter*, np. *Citrobacter braakii*, produkują kolonie w kolorze od fioletowego do liliowego na podłożu **BBL CHROMagar Orientation** i jeśli są odporne na zawarte w nim antybiotyki, na podłożu **BBL CHROMagar ESB**L. W przypadku tych szczepów zaleca się przeprowadzenie identyfikacji biochemicznej.

Kolonie **od niebieskich do niebieskozielonych**, które mogą być otoczone obwódkami w kolorze od różowego do fioletoworóżowego: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* lub inne. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych testów w celu identyfikacji. Szczegółowe informacje zawiera instrukcja użytkowania podłoża **BBL CHROMagar Orientation** (patrz: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Kolonie od bezbarwnych do jasnobrązowych z brązowymi obwódkami sięgającymi podłoża: szczepy *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych testów w celu pełnej identyfikacji. Szczegółowe informacje zawiera instrukcja użytkownika podłoża **BBL CHROMagar Orientation** (patrz: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

W rzadkich sytuacjach szczepy *Pseudomonas aeruginosa* mogą wytwarzać dyfundujący, brązowy barwnik przypominający *Proteus*. Można wykonać test oksydazowy w celu różnicowania (patrz poniżej).

Kolonie bezbarwne: należy wykonać test oksydazowy: jeśli uzyskany wynik jest dodatni i zostanie zaobserwowany typowy, owocowy zapach lub zielonkawy, niebieskawy bądź brązowy kolor (wynikający z własnego barwnika drobnoustroju) → *Pseudomonas aeruginosa*. Zaleca się stosowanie **BD Oxidase Reagent Droppers** (zakraplacze z odczynnikami oksydazowym, nr kat. 261181) w celu wykonania tego testu. Wykonać test oksydazowy na bibule filtracyjnej w sposób opisany w instrukcji użytkownika dołączonej do testu, ale nie na koloniach na płycie. Zalecane jest przeprowadzenie procedury testów potwierdzających.

Szczepy *Pseudomonas aeruginosa* często rosną po nieprzejrzystej stronie płytki (=naturalna oporność). Szczepy charakteryzujące się wyższą opornością na antybiotyki rosną również po stronie przejrzystej. Aby dokładnie określić oporność tych szczepów, wszystkie izolaty szczepu *P. aeruginosa* z tego podłoża należy zbadać pod kątem wrażliwości, stosując zatwierdzone metody. W przypadku uzyskania ujemnego wyniku testu oksydazowego, należy przeprowadzić pełną identyfikację biochemiczną izolatu. Bezbarwne kolonie, dla których wynik testu na oksydazę jest ujemny, mogą zawierać bakterie niezdolne do fermentacji, np. *Acinetobacter* lub *Enterobacteriaceae*, które nie metabolizują żadnych z zawartych chromogenów, np. *Salmonella*. Wspomniane gatunki mogą także być odporne na cefalosporyny trzeciej generacji i nie można ich pominąć!

Kultury mieszane na płycie BBL CHROMagar ESBL: zazwyczaj można je łatwo rozpoznać i różnicować ze względu na różnice kolorystyczne. Przykładowo, kultura mieszana złożona z bakterii *Klebsiella* i *E. coli* będzie zawierać kolonie barwy niebieskiej (*Klebsiella*) i barwy od różowej do różowofioletowej (*E. coli*).

Skontrolować płytkę, poszukując obecności różnych typów i kolorów kolonii.

Zaleca się wykonanie hodowli pochodnych na podłożu **BBL CHROMagar ESB**L, jeśli na płycie zostaną zaobserwowane więcej niż dwa różne typy kolonii.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

BBL CHROMagar ESBL to podłoże przesiewowe z chromogenami do bezpośredniej identyfikacji i różnicowania szczepów *Enterobacteriaceae* oraz kilku innych gatunków pałeczek Gram-ujemnych opornych na beta-laktamazę o szerokim spektrum (ESBL). Umożliwia to wykrywanie szczepów wytwarzających ESBL. Podłoże umożliwia wykonanie bezpośredniej, biochemicznej identyfikacji opornych bakterii *E. coli* oraz różnicowanie innych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* wg koloru kolonii. Zazwyczaj następuje zahamowanie wzrostu bakterii Gram-dodatnich i drożdży.

Należy potwierdzić, że izolaty uzyskane na tym podłożu produkują ESBL, wykonując dodatkowe testy.

Wyniki badań skuteczności

W ramach zewnętrznej oceny charakterystyki działania podłoża przebadano 320 próbek klinicznych (277 wymazów z odbytu, 12 wymazów z ust/gardła, 11 wymazów z nosa i 20 próbek różnych) na podłożu, poprzez posiew pasmowy próbek pochodzących z wymazów z podłoża transportowego bezpośrednio na testowanym podłożu. Spośród 320 próbek, 108 dało wynik dodatni, a 212 ujemny, jak ustalono, korzystając z metody wewnętrznej (automatyczne i ręczne testy wrażliwości, w tym test potwierdzający CLSI przeznaczony dla izolatów wytwarzających ESBL na podłożu Mueller Hinton II Agar). Na podłożu **BBL CHROMagar ESB**L ustalono wartość wrażliwości 100% i swoistości 93%.⁶

Wewnętrzna ocena wydajnościowa

Granice wykrywalności (Limits of Detection, LOD)

Podłoże **BBL CHROMagar ESB** oceniono w celu ustalenia granicy wykrywalności (LOD) szczepów wytwarzających ESB. Oceniono trzy szczepy kontrolne (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *E. coli* DSM 22664 i *E. coli* ENF 11013) pod kątem odzyskiwania na podłożu **BBL CHROMagar ESB**. Do ustalenia stężenia posianych drobnoustrojów w jednostkach tworzących kolonie (CFU) dla każdego rozcieńczenia wykorzystano nieselektywne płytki z podłożem Columbia Agar with 5% Sheep Blood. Granica wykrywalności dla podłoża **BBL CHROMagar ESB** mieściła się w zakresie 8 – 16 CFU w okresie 24 godz. (średnio, 13 CFU).

Wykrywanie oporności

Wykryto szczepy o następującej oporności na podłożu **BBL CHROMagar ESB**:

Gatunki	Typy oporności	Gatunki	Typy oporności
<i>Escherichia coli</i>	CAZ-9, TEM-46	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1
	CTX-M, TEM		OXA-2
	CTX-M1		SHV
	CTX-M15		TEM
	KPC		TEM, SHV
	OXA-48		TEM, SHV, OXA-10
	SHV-5; TEM-1b		TEM-1, SHV-12
	TEM		TEM-1, SHV-5
	TEM, SHV		SHV
	TEM, CTX-M, SHV	Gatunki z rodzaju <i>Salmonella</i>	TEM
	TEM, SHV, KPC		TEM, CTX-M, OXA-2
	TEM, SHV, OXA-1, KPC	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
	TEM-50	Nie-Enterobacteriaceae	
	VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP
<i>Klebsiella oxytoca</i>	VIM		VIM
	CTX-M, SHV		VIM-1
	KPC	<i>Acinetobacter baumannii</i>	OXA-23
<i>Klebsiella pneumoniae</i> podgat. <i>pneumoniae</i>	NDM-1		OXA-58
	OXA-48		VIM-2
	SHV		
	SHV, OXA-10		
	SHV-18		
	TEM		
	TEM, CTX-M, SHV, IMP-1		
	TEM, CTX-M5, SHV		
	TEM, SHV		
	TEM-1, SHV-5		
	TEM-3, SHV		
	VIM		

Niniejsza lista zawiera karbapenemazy wytwarzające szczepy², które wyrosły na podłożu w kolorze charakterystycznym dla odpowiedniej kolonii. Należy zauważyć, że konieczne jest wykonanie testów mających na celu potwierdzenie wytwarzania karbapenemazy.

Ograniczenia procedury

Ważne: oba podłoża na podwójnej płytce należy inokulować tą samą próbką. Nie należy podejmować próby inokulowania więcej niż jednej próbki na płytce!

Podczas gdy identyfikacja biochemiczna do poziomu gatunku lub grupy (na podstawie reakcji chromogenicznych podłoża) jest ostateczna, konieczne jest potwierdzenie odporności za pomocą zatwierdzonych metod badania wrażliwości.

Identyfikację izolatów w kolorze niebieskim, niebieskozielonym oraz izolatów bezbarwnych do poziomu gatunku należy wykonać z wykorzystaniem testów biochemicznych.

Niektóre bakterie Gram-dodatnie mogą być odporne na działanie inhibitorów i rosnąć na podłożu.

Ponieważ izolacja szczepów wytwarzających ESBL jest zależna od liczby organizmów obecnych w próbce, wiarygodne wyniki zależą od prawidłowego pobrania próbki, jej obróbki oraz przygotowania (patrz **PROCEDURA – typy próbek**).

Duża ilość bakterii lub pewne próbki mogą dawać nieswoiste zabarwienie obszaru głównego posiewu podłoża. Może to doprowadzić do pojawienia się fioletoworóżowego, fioletowego, zielonego lub niebieskiego zabarwienia podłoża bądź niewielkiej mgiełki na powierzchni podłoża, ale bez wyraźnych kolonii. Należy zinterpretować to jako wynik ujemny.

Inkubacja nie powinna trwać mniej niż 18 godzin, ponieważ może to skutkować wytworzeniem małych kolonii lub słabym wybarwieniem kolonii. Optymalny czas trwania inkubacji wynosi 20 – 22 godziny. Inkubacja nie powinna trwać dłużej niż 28 godzin. W przypadku kultur mieszanych, dłuższa inkubacja może być przyczyną koalescencji kolonii, utrudniającej ich rozpoznanie i oczyszczanie.

Rzadko zdarza się, że wytwarzające ESBL szczepy drobnoustrojów *Proteus* spp. słabo rosną na tym podłożu, szczególnie, jeśli są obecne w niewielkiej ilości CFU.

Nie zaleca się lekceważyć izolatów zawierających bezbarwne kolonie podczas testów przesiewowych pod kątem zawartości producentów ESBL na tym podłożu. Należy wykonać test oksydazowy tych izolatów. W przypadku uzyskania wyniku ujemnego, należy przeprowadzić identyfikację biochemiczną izolatu.

Chociaż do podłoża dodano inhibitor hiperproducentów cefalosporiny ampC, wyrośnie na nim pewien procent takich szczepów. Dlatego podłoże **BBL CHROMagar ESBL** jest brane pod uwagę podczas **testów przesiewowych**, jednak nie w celu **ostatecznej identyfikacji** producentów ESBL. Konieczne jest przeprowadzenie określonych testów wrażliwości lub korzystanie z metod molekularnych w celu zdefiniowania dokładnego rodzaju oporności, jaką charakteryzują się izolaty.

Przed pierwszym zastosowaniem podłoża **BBL CHROMagar ESBL** zaleca się sprawdzić typowy wygląd kolonii przy użyciu określonych szczepów, np. szczepów wymienionych w części **KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA**.

PIŚMIENNICTWO

1. Bradford, P.A. 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev. 14: 933-951.
2. Glasner, C. et al. (2013). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. Eurosurveillance 18: 1-7.
3. Linscott, A.J. 2007. Specimen collection and transport. In L.S. Gracia, and H.D. Isenberg, (eds.), Clinical microbiology procedures handbook, 2nd ed. ASM, Washington DC.
4. Miller, J.M., K. Krisher, and H.T. Holmes. 2007. General principles of specimen collection and handling. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (eds.), Manual of clinical microbiology. 9th ed., ASM, Washington DC.
5. Paterson, D.L., Bonomo, R.A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev. 18: 657-686.
6. Data on file. Becton Dickinson GmbH.

OPAKOWANIE/DOSTĘPNOŚĆ

BD BBL CHROMagar ESBL

Nr kat.

Opis

REF 257606

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

69126 Heidelberg/Niemcy

Telefon: +49-62 21-30 50 Faks: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2019 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.