



BD BBL CHROMagar ESB� (Biplate)

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

Το **BBL CHROMagar ESB� (Biplate)** είναι ένα επιλεκτικό χρωμογόνο υλικό καλλιέργειας προληπτικού ελέγχου για την απομόνωση των *Enterobacteriaceae* και ορισμένων άλλων Gram αρνητικών ραβδίων που παράγουν βήτα-λακταμάσες ευρέως φάσματος (ESBL). Τα κατάλληλα δείγματα περιλαμβάνουν πρωκτικά επιχρίσματα και διάφορα άλλα κλινικά δείγματα (ανατρέξτε στην ενότητα **Τύποι δειγμάτων**). Επίσης, το υλικό καλλιέργειας επιτρέπει την ταυτοποίηση του *E. coli* χωρίς επιπλέον εξετάσεις επιβεβαίωσης και την ανίχνευση των ομάδων μικροοργανισμών *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* και *Proteus-Morganella-Providencia*, εάν τα απομονωμένα στελέχη είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά που περιλαμβάνονται στο υλικό. Για τα απομονωμένα στελέχη που προκύπτουν σε αυτό το υλικό, πρέπει να επιβεβαιώνεται ότι παράγουν ESB� με πρόσθετες εξετάσεις.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανθεκτικότητα στις βήτα-λακτάμες ευρέως φάσματος, συμπεριλαμβανομένων των κεφαλοσπορινών τρίτης γενιάς, οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς ανθεκτικότητας. Μεταξύ αυτών των μηχανισμών, η ανθεκτικότητα που οφείλεται στα πλασμίδια λόγω των βήτα-λακταμασών ευρέως φάσματος (ESBL) είναι ο σημαντικότερος μηχανισμός, καθώς μεταδίδεται επιδημικά στις μονάδες εντατικής θεραπείας και σε άλλα νοσοκομειακά περιβάλλοντα. Συνήθως, τα στελέχη που παράγουν ESB� είναι ευαίσθητα στους αναστολείς της βήτα-λακταμάσης (όπως το κλαβουλανικό οξύ), τις κεφαμυκίνες (π.χ. κεφοξιτίνη) και τις καρβαπενέμες.^{1,5} Πιο πρόσφατα αναφέρθηκε ότι τα στελέχη που εκφράζουν ανθεκτικότητα στις καρβαπενέμες (που παράγουν καρβαπενεμάσες) (εκτός από ορισμένα στελέχη που παράγουν OXA-48) παρουσιάζουν ανθεκτικότητα και στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς.² Αυτοί οι τύποι ενζύμων βήτα-λακταμάσης έχουν βρεθεί σε *Klebsiella*, *Escherichia coli* και, αν και σπανιότερα, σε άλλα γένη *Enterobacteriaceae*.

Το **BBL CHROMagar ESB� (Biplate)** βασίζεται στο **BBL CHROMagar Orientation** που δημιουργήθηκε αρχικά από τον Α. Rambach, CHROMagar, Παρίσι, Γαλλία. Κατόπιν συμφωνητικού δικαιοχρησίας, η BD βελτιστοποίησε το σκεύασμα κάνοντας χρήση των πνευματικών δικαιωμάτων κυριότητας του έτοιμου για χρήση υλικού σε τρυβλία **BBL CHROMagar Orientation**. Στο **Υλικό καλλιέργειας BBL CHROMagar Orientation**, ειδικά επιλεγμένες πεπτόνες παρέχουν τα θρεπτικά στοιχεία. Το μείγμα χρωμογόνων αποτελείται από τεχνητά υποστρώματα (χρωμογόνα) τα οποία απελευθερώνουν ενώσεις διαφορετικού χρώματος κατά την αποικοδόμηση από ειδικά μικροβιακά ένζυμα, διασφαλίζοντας έτσι την άμεση διαφοροποίηση ορισμένων ειδών ή την ανίχνευση ορισμένων ομάδων μικροοργανισμών, με ελάχιστες εξετάσεις επιβεβαίωσης. Μέσω της ανάπτυξης διαφορετικών χρωμάτων, το χρωμογόνο υλικό καλλιέργειας που παρέχεται στο **BBL CHROMagar ESB� (Biplate)** επιτρέπει την εύκολη ανίχνευση μεικτών καλλιεργειών Gram αρνητικών και την ανίχνευση του *E. coli* (ρόδινο έως μοβ) χωρίς επιπλέον εξετάσεις επιβεβαίωσης, καθώς και την ανίχνευση των *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* (κυανοπράσινο έως κυανό) και *Proteus-Morganella-Providencia* (άχρωμο έως μπεζ με καστανούς δακτυλίους που εκτείνονται στο υλικό) και άλλων Gram αρνητικών ραβδίων (που εμφανίζονται στο φυσικό τους χρώμα), εάν τα απομονωμένα στελέχη είναι ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες ευρέως φάσματος που περιλαμβάνονται στο υλικό καλλιέργειας.

Το **BBL CHROMagar ESB� (Biplate)** αποτελείται από δύο υλικά καλλιέργειας που πληρώνονται σε ένα διπλό τρυβλίο. Κάθε ένα από τα δύο υλικά περιέχει μια διαφορετική κεφαλοσπορίνη τρίτης γενιάς σε κατάλληλη συγκέντρωση, ώστε να επιτρέπει την ανίχνευση της ανθεκτικότητας, μαζί με άλλους επιλεκτικούς παράγοντες που αναστέλλουν τη συνοδευτική

χλωρίδα που υπάρχει στο δείγμα. Το υλικό καλλιέργειας 2 έχει συμπληρωθεί με διοξείδιο του τιτανίου ώστε να είναι δυνατή η εύκολη διαφοροποίηση των δύο υλικών. Και τα δύο υλικά πρέπει να ενοφθαλμιστούν με το ίδιο δείγμα ή απομονωμένο στέλεχος. Gram αρνητικά βακτήρια, όπως οι *Enterobacteriaceae* και ορισμένα αζυμωτικά, παράγουν ανάπτυξη στο υλικό, εάν είναι ανθεκτικά στα αντιμικροβιακά που περιλαμβάνονται.

Με τις παραδοσιακές μεθόδους, τα δείγματα με υποψία ότι περιέχουν στελέχη που παράγουν ESBL πρέπει να τοποθετούνται πρώτα σε τυπικά υλικά απομόνωσης, έτσι ώστε να λαμβάνονται καθαρές καλλιέργειες. Μετά την επώαση, πρέπει να υποβάλλονται σε εξετάσεις ευαισθησίας. Η διαδικασία της απομόνωσης και της εξέτασης ευαισθησίας διαρκεί τουλάχιστον 48 ώρες. Καθώς μόνο ένα σχετικά μικρό ποσοστό δειγμάτων περιέχει στελέχη που παράγουν ESBL, αυτή η μέθοδος είναι χρονοβόρα και δαπανηρή.

Με το **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**, το δείγμα επιστρώνεται και στα δύο υλικά καλλιέργειας του τρυβλίου. Μετά από ολονύκτια επώαση για 18 έως 28 ώρες (ιδανικά για 20-22 ώρες), η ανάπτυξη ενός απομονωμένου στελέχους σε ένα ή και στα δύο υλικά δηλώνει πιθανή παρουσία στελέχους που παράγει ESBL. Η επιβεβαίωση μέσω εξετάσεων ευαισθησίας ή μοριακών μεθόδων είναι απαραίτητη.

Συγκριτικά με τη μη επιλεκτική απομόνωση που ακολουθείται από εξέταση ευαισθησίας, η χρήση του εν λόγω προϊόντος μειώνει τον εργασιακό φόρτο και επιταχύνει το χρόνο που απαιτείται για την ανίχνευση των ESBL.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BBL CHROMagar ESBL (Biplate)

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Υλικό καλλιέργειας 1 (διαυγές)		Υλικό καλλιέργειας 2 (θολερό)	
Χρωμοπεπτόνη	16,1 g	Χρωμοπεπτόνη	16,1 g
Μείγμα χρωμογόνων	1,3	Μείγμα χρωμογόνων	1,3
Επιλεκτικοί παράγοντες	0,24	Επιλεκτικοί παράγοντες	0,24
Άγαρ	15,0	Οξείδιο του τιτανίου (αδιάλυτο)	0,35
		Άγαρ	15,0
pH 6,8 +/- 0,2			

*Προσαρμοσμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD Προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση. ②

Μη χρησιμοποιείτε τρυβλία που φέρουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμού, ξηρότητας, ρωγμών ή άλλα ίχνη αλλοίωσης.

Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία **στο σκοτάδι** σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης.

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες 10 τρυβλίων επί μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C στο σκοτάδι.

Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως τόσο πριν όσο και κατά τη διάρκεια της επώασης, καθώς το φως ενδέχεται να καταστρέψει τα χρωμογόνα.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τα ακόλουθα στελέχη σε κάθε υλικό καλλιέργειας (για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην ενότητα **Τύποι δειγμάτων** και στην ενότητα **Διαδικασία της**

εξέτασης). Επνώστε τα τρυβλία, κατά προτίμηση σε ανεστραμμένη θέση, αερόβια στους 35 έως 37 °C για 20 έως 22 ώρες.

Στελέχη	Αποτελέσματα ανάπτυξης (και για τα δύο υλικά καλλιέργειας)
<i>E. coli</i> DSM 22314 (παραγωγή ESB�)	Υλικό καλλιέργειας 1 (διαυγές): ανάπτυξη μέτρια έως εξαιρετική, ρόδινες έως μοβ αποικίες. Υλικό καλλιέργειας 2 (θολερό): απουσία ανάπτυξης έως μέτρια ανάπτυξη, ρόδινες έως μοβ αποικίες
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (παραγωγή ESB�)	Και για τα δύο υλικά καλλιέργειας: ανάπτυξη μέτρια έως εξαιρετική, κυανές έως κυανοπράσινες αποικίες
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (μη παραγωγή ESB�)	Και για τα δύο υλικά καλλιέργειας: πλήρης αναστολή
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Και για τα δύο υλικά καλλιέργειας: πλήρης αναστολή
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Και για τα δύο υλικά καλλιέργειας: πλήρης αναστολή
Μη ενοφθαλμισμένο	Υλικό καλλιέργειας 1 (διαυγές): διάφανο, άχρωμο έως πολύ ανοικτό πορτοκαλί (ενδέχεται να περιέχει έως μια μέτρια ποσότητα μικρών σωματιδίων) Υλικό καλλιέργειας 2 (θολερό): αδιαφανές, λευκό έως κρεμ

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

BBL CHROMagar ESB� (Biplate) (διπλά τρυβλία **Stacker** των 90 mm). Μικροβιολογικά ελεγμένα.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια και εργαστηριακός εξοπλισμός.

Τύποι δειγμάτων

Αυτό το προϊόν χρησιμοποιείται κυρίως για την ανίχνευση του αποικισμού από στελέχη που παράγουν ESB� ως βοήθεια στην πρόληψη και τον έλεγχο των λοιμώξεων από ESB�, σε χώρους υγειονομικής περίθαλψης, ιδιαίτερα σε μονάδες εντατικής θεραπείας. Χρησιμοποιείται πρωτίστως με πρωκτικά επιχρίσματα, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και με κλινικά δείγματα από άλλα μέρη του σώματος (όπως επιχρίσματα ρινικά, ουρηθρικά, τραυμάτων, λάρυγγα και βουβώνα), για τα οποία υπάρχουν υποψίες ότι περιέχουν *Enterobacteriaceae* που παράγουν βήτα-λακταμάσες ευρέος φάσματος (ESB�) ή άλλα Gram αρνητικά αερόβια αναπτυσσόμενα ραβδία με υψηλή ανθεκτικότητα στις βήτα-λακτάμες ευρέος φάσματος. Συνιστάται η χρήση συσκευών μεταφοράς εγκεκριμένων για τη συλλογή μικροβιολογικών κλινικών δειγμάτων. Ακολουθείτε τις συνιστώμενες διαδικασίες του κατασκευαστή της συσκευής μεταφοράς. Ο χρήστης μπορεί επίσης να ανατρέξει στις κατάλληλες βιβλιογραφικές αναφορές για λεπτομέρειες σχετικά με τις διαδικασίες συλλογής και χειρισμού των δειγμάτων.^{3,4} Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την ανακαλλιέργεια στελεχών που πιθανά παράγουν ESB� από άλλα υλικά καλλιέργειας. Δεν συνιστάται ο άμεσος ενοφθαλμισμός με αποικίες. Για την αποφυγή υπερ-ενοφθαλμισμού, οι αποικίες πρέπει πρώτα να υποβληθούν σε εναιώρηση σε αλατούχο διάλυμα (ανατρέξτε στην ενότητα **Διαδικασία της εξέτασης**) και σε κάθε υλικό να επιστρωθεί ένας γεμάτος κρίκος.

Διαδικασία της εξέτασης

Το CHROMagar ESB� πρέπει να ενοφθαλμίζεται απευθείας από το επίχρισμα, χωρίς προεμπλουτισμό, ή από απομονωμένη αποικία που έχει υποβληθεί σε εναιώρηση σε αλατούχο διάλυμα, έτσι ώστε να αντιστοιχεί σε θολερότητα 0,5 McFarland. Δεν συνιστάται ο απευθείας ενοφθαλμισμός από απομονωμένες αποικίες, επειδή το υψηλό επίπεδο του ενοφθαλμίσματος μπορεί να προκαλέσει, σε σπάνιες, περιπτώσεις, ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Ενοφθαλμίστε το δείγμα με ένα στυλεό ή κρίκο και στα δύο υλικά καλλιέργειας ενός τρυβλίου **BBL CHROMagar ESB� (Biplate)** και επιστρώστε για απομόνωση, με χρήση κρίκου. Πρέπει να τηρηθεί αυστηρά η παρακάτω διαδικασία, ώστε να ληφθούν απομονωμένες αποικίες με την

τυπική τους όψη. Τυχόν ανεπαρκής ενοφθαλμισμός ή ενοφθαλμισμός ολόκληρων των επιφανειών του υλικού μόνο με στυλεό (χωρίς τη χρήση κρίκων για επίστρωση απομόνωσης) μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα ή να κάνει το τρυβλίο μη αναγνώσιμο. Μην ενοφθαλμίζετε περισσότερα από ένα δείγματα ανά τρυβλίο. Και οι δύο πλευρές του διπλού τρυβλίου πρέπει να ενοφθαλμιστούν με το ίδιο δείγμα.

Διαδικασία ενοφθαλμισμού και επώασης:

1. Επαλείψτε το στυλεό δείγματος σε μια μικρή περιοχή του πρώτου υλικού του **BBL CHROMagar ESB (Biplate)**: Μην υπερ-ενοφθαλμίζετε! Αφαιρέστε το στυλεό από το υλικό που μόλις ενοφθαλμίσατε.
 2. Στρέψτε ελαφρώς το στυλεό και ενοφθαλμίστε το δεύτερο υλικό του **BBL CHROMagar ESB (Biplate)**: επαλείψτε το στυλεό στην πρώτη περιοχή επιχρίσματος του δεύτερου υλικού καλλιέργειας. Μην υπερ-ενοφθαλμίζετε!
- Έχετε υπόψη ότι η ακολουθία του ενοφθαλμισμού δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα.
3. Τοποθετήστε εκ νέου το στυλεό στο σωληνάριο δείγματος.
 4. Με κρίκους, ολοκληρώστε την επίστρωση στα τρυβλία. Επιστρώστε για απομόνωση! Πρώτα ολοκληρώστε τις περιοχές της πρώτης επίστρωσης και επιστρώστε τη δεύτερη και την τρίτη περιοχή και των δύο υλικών. Συνιστάται η χρήση νέου κρίκου για κάθε πλευρά του προϊόντος της εξέτασης.
 5. Επωάστε σε αερόβιες συνθήκες στους 35 έως 37 °C για 18 έως 28 ώρες (ιδανικά για 20-22 ώρες), κατά προτίμηση σε ανεστραμμένη θέση (η πλευρά του υλικού προς τα πάνω). Μην επωάζετε για μεγαλύτερο διάστημα και μην επωάζετε σε ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με διοξείδιο του άνθρακα. Αποφύγετε την έκθεση στο φως κατά τη διάρκεια της επώασης καθώς μπορεί να καταστρέψει τα χρωμογόνα. Όταν αναπτυχθούν τα χρώματα των αποικιών, επιτρέπεται η έκθεση στο φως.
 6. Ερμηνεύστε τα τρυβλία όπως περιγράφεται στην ενότητα **Αποτελέσματα και ερμηνεία**.

Ανάλογα με τον τύπο και τον σκοπό του δείγματος, πρέπει να ενοφθαλμιστούν και άλλα υλικά καλλιέργειας, ώστε να είναι δυνατή η πλήρης ανίχνευση όλων των παθογόνων που περιέχει το δείγμα. Αυτά τα υλικά καλλιέργειας περιλαμβάνουν τουλάχιστον ένα τρυβλίο μη επιλεκτικού άγαρ αίματος.

Αποτελέσματα και ερμηνεία

Μετά την επώαση, αναπτύσσονται τα δείγματα που περιέχουν απομονωμένα στελέχη ανθεκτικά στους αναστολείς που περιλαμβάνονται στο υλικό. Παρόλο που τα περισσότερα στελέχη που παράγουν ESB αναπτύσσονται και στα δύο υλικά του διπλού τρυβλίου, υπάρχουν στελέχη με in-vitro ευαισθησία σε κάποιο από τα αντιμικροβιακά που, κατά συνέπεια, θα αναπτυχθούν μόνο στο ένα υλικό καλλιέργειας. Τα τρυβλία θα πρέπει να εμφανίζουν απομονωμένες αποικίες στις περιοχές όπου αραιώθηκε σωστά το ενοφθαλμισμα. Πρέπει να διεξαχθούν κατάλληλες εξετάσεις ευαισθησίας ή μοριακές μέθοδοι, έτσι ώστε να επιβεβαιωθεί η παρουσία απομονωμένων στελεχών που παράγουν ESB.

Η απουσία ανάπτυξης **και στα δύο** υλικά καλλιέργειας δηλώνει ότι το δείγμα δεν περιέχει στελέχη με ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά που περιλαμβάνονται στο μέσο.

Έχετε υπόψη ότι ο αποχρωματισμός των υλικών χωρίς ορατές αποικίες (που μπορεί να παρουσιαστεί, εάν το υλικό έχει υπερ-ενοφθαλμιστεί με δείγματα κοπράνων ή με υπερβολικά υψηλά βακτηριακά φορτία) θεωρείται αρνητικό αποτέλεσμα (ανατρέξτε επίσης στην ενότητα **Περιορισμοί της διαδικασίας**).

Διαφοροποίηση ή/και ταυτοποίηση των απομονωμένων στελεχών κατά χρώμα και όψη αποικίας

Ρόδινες έως ροζ (μοβ) αποικίες: *Escherichia coli*. Μπορεί να πραγματοποιηθεί μια προαιρετική εξέταση ινδόλης, στην οποία χρησιμοποιούνται **BD BBL DMACA Indole Reagent Droppers** (Σταγονόμετρα αντιδραστήριου ινδόλης BD BBL DMACA) (αρ. κατ. 261187) σε διηθητικό χαρτί για την επιβεβαίωση του *E. coli* (θετικό στην ινδόλη). Μην εφαρμόζετε το αντιδραστήριο ινδόλης στην επιφάνεια του υλικού καλλιέργειας!

Σημείωση: έχει διαπιστωθεί ότι ορισμένα στελέχη *Citrobacter*, όπως τα *Citrobacter braakii*, παράγουν βιολετί έως λιλά αποικίες στο **BBL CHROMagar Orientation** και, εάν είναι

ανθεκτικά στα αντιβιοτικά που περιλαμβάνονται, στο **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**. Για αυτά τα στελέχη συνιστάται η βιοχημική ταυτοποίηση.

Κυανές έως κυανοπράσινες αποικίες που μπορεί να περιλαμβάνονται ή μη σε ρόδινη έως μοβ ζώνη: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* ή άλλα. Για την ταυτοποίηση απαιτούνται περαιτέρω εξετάσεις. Για λεπτομέρειες, συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης του **BBL CHROMagar Orientation** (ανατρέξτε στη διεύθυνση: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Άχρωμες έως μπεζ αποικίες με καστανωπούς δακτυλίους που εκτείνονται στο υλικό καλλιέργειας: Στελέχη *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. Για την πλήρη ταυτοποίηση απαιτούνται περαιτέρω εξετάσεις. Για λεπτομέρειες, συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης του **BBL CHROMagar Orientation** (ανατρέξτε στη διεύθυνση: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Σπανίως, το *Pseudomonas aeruginosa* μπορεί να παράγει διαχεόμενη χρωστική καστανού χρώματος, μιμώμενο το *Proteus*. Για τη διαφοροποίησή τους, μπορεί να πραγματοποιηθεί μια εξέταση οξειδάσης (βλ. παρακάτω).

Άχρωμες αποικίες: Πραγματοποιήστε μια εξέταση οξειδάσης: εάν είναι θετική και έχει την τυπική φρουτώδη οσμή ή/και έχει πρασινωπή, κυανωπή ή καστανωπή χρώση (λόγω της χρώσης του ίδιου του μικροοργανισμού) θεωρείται → *Pseudomonas aeruginosa*. Για αυτή την εξέταση, συνιστάται η χρήση **BD Oxidase Reagent Droppers** (Σταγονόμετρα αντιδραστήριου οξειδάσης BD) (αρ. κατ. 261181). Πραγματοποιήστε την εξέταση οξειδάσης σε διηθητικό χαρτί όπως περιγράφεται στις Οδηγίες Χρήσης αυτής της εξέτασης, αλλά όχι στις αποικίες στο τρυβλίο. Συνιστάται επιβεβαίωση με πρόσθετες εξετάσεις.

Το *Pseudomonas aeruginosa* συχνά αναπτύσσεται στην αδιαφανή πλευρά του τρυβλίου (=φυσική ανθεκτικότητα), ενώ τα στελέχη με υψηλότερη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αναπτύσσονται επίσης στη διαυγή πλευρά. Για να καθοριστεί η ακριβής μορφολογία ανθεκτικότητας, πρέπει να εξεταστούν με εγκεκριμένες μεθόδους όλα τα απομονωμένα στελέχη του *P. aeruginosa* από αυτό το υλικό ως προς την ευαισθησία τους. Αν το αποτέλεσμα της οξειδάσης είναι αρνητικό ή διφορούμενο, διεξάγετε πλήρη βιοχημική ταυτοποίηση. Οι άχρωμες, αρνητικές στην οξειδάση αποικίες μπορεί να περιλαμβάνουν αζυμωτικά, όπως *Acinetobacter* ή *Enterobacteriaceae*, τα οποία δεν μεταβολίζουν κανένα από τα περιλαμβανόμενα χρωμογόνα, όπως το *Salmonella*. Αυτά τα είδη μπορεί επίσης να παρουσιάσουν ανθεκτικότητα στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς και δεν πρέπει να παραβλέπονται!

Μεικτές καλλιέργειες στο τρυβλίο BBL CHROMagar ESBL (Biplate): συνήθως αναγνωρίζονται και διαφοροποιούνται εύκολα η μία από την άλλη με τα διαφορετικά χρώματα των αποικιών. Για παράδειγμα, μια μεικτή καλλιέργεια *Klebsiella* και *E. coli* θα εμφανίσει κυανές αποικίες (*Klebsiella*) και ρόδινες έως μοβ αποικίες (*E. coli*).

Επιθεωρήστε το τρυβλίο για την παρουσία διαφορετικών τύπων και χρωμάτων αποικίας. Συνιστώνται ανακαλλιέργειες στο **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**, εάν παρατηρούνται περισσότεροι από δύο διαφορετικοί τύποι ή χρώματα στο τρυβλίο.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** είναι ένα επιλεκτικό χρωμογόνο υλικό καλλιέργειας προληπτικού ελέγχου για την άμεση ταυτοποίηση και διαφοροποίηση των *Enterobacteriaceae* και ορισμένων άλλων Gram αρνητικών ραβδίων που είναι ανθεκτικά στις βήτα-λακτάμες ευρέως φάσματος, επιτρέποντας την ανίχνευση των στελεχών που παράγουν ESBL. Το υλικό επιτρέπει την άμεση βιοχημική ταυτοποίηση του ανθεκτικού *E. coli* και τη διαφοροποίηση άλλων *Enterobacteriaceae* κατά χρώμα αποικίας. Τα Gram θετικά βακτήρια και οι ζυμομύκητες συνήθως αναστέλλονται.

Για τα απομονωμένα στελέχη που προκύπτουν σε αυτό το υλικό, πρέπει να επιβεβαιώνεται ότι παράγουν ESBL με πρόσθετες εξετάσεις.

Αποτελέσματα της απόδοσης

Σε μια εξωτερική αξιολόγηση της απόδοσης, εξετάστηκαν 320 κλινικά δείγματα (που αποτελούνταν από 277 πρωκτικά επιχρίσματα, 12 επιχρίσματα στόματος/λάρυγγα, 11 ρινικά επιχρίσματα και 20 διάφορα δείγματα) στο υλικό καλλιέργειας με απευθείας επίστρωση των επιχρισμάτων από το υλικό μεταφοράς δείγματος στο υλικό καλλιέργειας. Από αυτά τα 320 δείγματα, τα 108 ήταν θετικά και τα 212 ήταν αρνητικά, όπως καθορίζεται από την ενδοαργαστηριακή μέθοδο (αυτοματοποιημένες και χειροκίνητες εξετάσεις ευαισθησίας, συμπεριλαμβανομένης της Εξέτασης επιβεβαίωσης CLSI για απομονωμένα στελέχη που παράγουν ESBL στο άγαρ Mueller Hinton II Agar.) Στο **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**, προσδιορίστηκε ευαισθησία 100% και ειδικότητα 93%.⁶

Εσωτερική Αξιολόγηση Απόδοσης

Όρια ανίχνευσης (LOD)

Το **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** αξιολογήθηκε ως προς τον καθορισμό του ορίου ανίχνευσης (LOD) των στελεχών που παράγουν ESBL. Αξιολογήθηκαν τρία στελέχη εξέτασης (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *E. coli* DSM 22664 και *E. coli* ENF 11013 για την ανάκτηση στο **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**. Τρυβλία με μη επιλεκτικό άγαρ Columbia με 5% αίμα προβάτου χρησιμοποιήθηκαν για να καθορίσουν τη συγκέντρωση μικροοργανισμών που εκφράζεται σε μονάδες σχηματισμού αποικιών (CFU) για κάθε αραίωση. Το όριο ανίχνευσης του **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** κυμαινόταν μεταξύ 8-16 CFU στις 24 ώρες (κατά μέσο όρο, 13 CFU).

Ανίχνευση ανθεκτικότητας

Στο **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** ανιχνεύτηκαν στελέχη των παρακάτω τύπων ανθεκτικότητας:

Είδος	Τύποι ανθεκτικότητας	Είδος	Τύποι ανθεκτικότητας
<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	<i>Eiδος Salmonella</i>	SHV
	TEM, CTX-M, SHV		TEM
	TEM, SHV, KPC	<i>Serratia marcescens</i>	TEM, CTX-M, OXA-2
	TEM, SHV, OXA-1, KPC	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
	TEM-50	Μικροοργανισμοί που δεν ανήκουν στα <i>Enterobacteriaceae</i>	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP
	VIM		VIM
	CTX-M, SHV		VIM-1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	KPC	<i>Acinetobacter baumannii</i>	OXA-23
	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		

Αυτός ο κατάλογος περιλαμβάνει τα στελέχη που παράγουν καρμπαπενεμάσις² που αναπτύχθηκαν στο υλικό με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό χρώμα αποικίας. Έχετε υπόψη ότι πρέπει να εφαρμοστούν εξετάσεις για την επιβεβαίωση της παραγωγής καρμπαπενεμασών.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Έχετε υπόψη ότι και οι δύο πλευρές του διπλού τρυβλίου πρέπει να ενοφθαλμιστούν με το ίδιο δείγμα. Μην επιχειρήσετε να ενοφθαλμίσετε περισσότερα από ένα δείγματα ανά τρυβλίο!

Ενώ η βιοχημική ταυτοποίηση στο επίπεδο είδους ή ομάδας (με βάση τις χρωμογόνες αντιδράσεις του υλικού) είναι οριστική, η ανθεκτικότητα πρέπει να επιβεβαιώνεται με εγκεκριμένες μεθόδους εξέτασης της ευαισθησίας.

Πρέπει να πραγματοποιείται ταυτοποίηση των κυανών, κυανοπράσινων και άγχρωμων απομονωμένων στελεχών στο επίπεδο είδους με τη χρήση βιοχημικών εξετάσεων.

Ορισμένα gram θετικά βακτήρια μπορεί να είναι ανθεκτικά στους αναστολείς και να αναπτυχθούν στα υλικά καλλιέργειας.

Καθώς η απομόνωση των στελεχών που παράγουν ESBL εξαρτάται από τον αριθμό των μικροοργανισμών στο δείγμα, η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την κατάλληλη συλλογή, χειρισμό και αποθήκευση του δείγματος (ανατρέξτε στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ – Τύποι δειγμάτων**).

Μεγάλο βακτηριακό φορτίο και/ή συστατικά ορισμένων δειγμάτων ενδέχεται να παράγουν μη συγκεκριμένο χρωματισμό της πρωτεύουσας περιοχής γραμμωτής επίστρωσης των υλικών. Κάτι τέτοιο θα είχε ως αποτέλεσμα το υλικό να παρουσιάζει μοβ, πορφυρό, πράσινο ή μπλε χρωματισμό ή μια ελαφριά θόλωση, στο επάνω μέρος του υλικού, που δεν υφίσταται στις διακριτές αποικίες. Αυτό πρέπει να ερμηνεύεται ως αρνητικό αποτέλεσμα.

Μην επωάζετε για λιγότερο από 18 ώρες, καθώς οι αποικίες μπορεί να είναι μικρές ή / και ο χρωματισμός των αποικιών να είναι ασθενής. Ο ιδανικός χρόνος επώασης είναι 20 έως 22 ώρες. Η επώαση δεν πρέπει να διαρκεί περισσότερο από 28 ώρες. Σε περίπτωση μεικτών καλλιιεργειών, ο μεγαλύτερος χρόνος επώασης μπορεί να οδηγήσει σε συνενωμένες αποικίες που είναι δύσκολο να αναγνωριστούν και να καθαριστούν.

Σπανίως, τα στελέχη του *Proteus* spp. που παράγουν ESBL έχουν ασθενή ανάπτυξη σε αυτό το υλικό, ιδιαίτερα όταν υπάρχουν σε χαμηλές τιμές CFU.

Δεν συνιστάται η παράβλεψη των απομονωμένων στελεχών με άγχρωμες αποικίες κατά τον προληπτικό έλεγχο για στελέχη που παράγουν ESBL σε αυτό το υλικό. Πραγματοποιήστε μια εξέταση οξειδάσης από αυτά τα απομονωμένα στελέχη. Αν αυτή η εξέταση είναι αρνητική, διεξάγετε πλήρη βιοχημική ταυτοποίηση του απομονωμένου στελέχους.

Παρόλο που στο υλικό έχει προστεθεί ένας αναστολέας για τα στελέχη που υπερπαράγουν ampC/ κεφαλοσπορινάσες, αναπτύσσεται ένα ορισμένο ποσοστό τέτοιων στελεχών. Κατά συνέπεια, το **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** θεωρείται κατάλληλο για τον **προληπτικό έλεγχο** και **όχι για την οριστική ταυτοποίηση** των στελεχών που παράγουν ESBL. Απαιτούνται ειδικές εξετάσεις ευαισθησίας ή μοριακές μέθοδοι για τον προσδιορισμό του ακριβούς τύπου της ανθεκτικότητας που εκφράζεται από τα απομονωμένα στελέχη.

Πριν χρησιμοποιήσετε το **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** για πρώτη φορά, συνιστάται η εκπαίδευση στην τυπική εμφάνιση των αποικιών με προσδιορισμένα στελέχη, π.χ. τα στελέχη που αναφέρονται στην ενότητα **ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ**.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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. Krisner, 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 b-lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev. 18: 657-686.
6. Αρχαιοθετημένα στοιχεία. Becton Dickinson GmbH.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ / ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD BBL CHROMagar ESBL (Biplate)

Αρ. κατ.

Περιγραφή



257606

Υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία έτοιμα για χρήση, 20 τρυβλία

ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +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.