

CHROMagar™ C3G^R

Instructions For Use

Available in several languages

NT-EXT-074

Version 4.0

ENGLISH

English Version

FRANCAIS

Version Française

ESPAÑOL

Version Español

DEUTSCH

Deutsch Version



MEDIUM PURPOSE

Chromogenic medium for overnight detection of gram-negative bacteria producing beta-lactamase.

β-Lactamase production (ESBL, AmpC,...) is the most common mechanism of β-lactam drug resistance in gram-negative bacteria. Many clinical laboratories currently screen for ESBLs but do not screen for AmpC β-lactamases; though bacteria (mostly *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* and *Proteus*) producing plasmid-mediated AmpC β-lactamases have been responsible for nosocomial outbreaks. Therefore, it is crucial to ensure that proper surveillance is in place to help establish appropriate guidelines and policies for infection control. Rapid detection of bacteria producing these enzymes also allows for de-escalation to more targeted therapy, to conserve carbapenem antibiotics for more serious infections.

COMPOSITION

The product is composed of a powder base (CHROMagar Orientation) and 1 supplement (CHROMagar C3G^R supplement).

Product	=	Base (RT)	+	Supplement (CG)
Total g/L		33.0 g/L		0.37 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone and yeast extract 17.0 Chromogenic mix 1.0		Selective mix 0.37
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

- 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.

Advice 1: For enhanced growth, add 0.5g/L of Tween 80 to the previous preparation mix.

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).

Step 2

Autoclave

- 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 C3G^R
supplement

- Weight 370 mg of the required supplement powder.
- Add 10ml of purified sterile water to this powder to make a supplement solution.

Warning 1: This step may require several minutes of stirring to obtain a good and homogenous suspension: **opaque yellowish appearance.**

Warning 2: Reconstituted supplement solution must be used the same day.

Warning 3: Do not store and re-use a supplement solution.

Final Media	HELPING CALCULATION
5 L	Rehydrate 1,85 g into 50 ml of purified water
25L	Rehydrate 9,25 g into 250 ml of purified water

Step 4

Integrate the supplement to the melted base

- Vortex this supplement to homogenize and add this supplement solution to melted CHROMagar™ Orientation cooled at 45/50°C.
- Stir to homogenize.

Step 5

Pouring

- Pour into sterile Petri dishes.
- Let it solidify and dry.

Storage

- 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

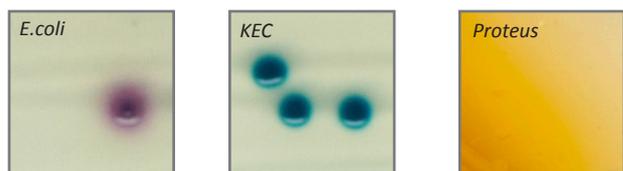
Direct streaking
or spreading technique

CHROMagar™ C3G^R

INTERPRETATION

Microorganism	Typical colony appearance
C3G ^R <i>E.coli</i>	→ dark pink to reddish
C3G ^R KEC (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ metallic blue (+/- reddish halo)
C3G ^R <i>Proteus</i>	→ brown halo
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.

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
C3G ^R <i>E.coli</i> CIP 103982	→ reddish, small colonies
C3G ^R <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	→ bleu métallique (+/- halo rougeâtre)
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibited
<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 (CG)
5000 ml 250 Tests of 20ml	CGRT2	RT412 Weight: 165gr	+ CG632 Weight: 1,85gr
25 L 1250 Tests of 20ml	CGRT3-25	RT413-25 Weight: 825gr	+ CG633-25 Weight: 9,25gr

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-074 V4.0 / 08-Aug-16

OBJECTIF DU MILIEU

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

La production de β-lactamases (BLSE, AmpC, ...) est le mécanisme le plus commun de la résistance aux médicaments β-lactamines chez les bactéries gram-négatives. De nombreux laboratoires cliniques cherchent actuellement BLSE, mais ne permettent pas de dépister β-lactamases type AmpC; Même les bactéries (principalement Klebsiella pneumoniae, E. coli, Enterobacter et Proteus) ayant une résistance AmpC plasmidique ont été responsables d'épidémies nosocomiales. Par conséquent, il est crucial de veiller à ce que la surveillance soit en place pour aider à établir des recommandations appropriées pour contrôler ces infections. La détection rapide des bactéries produisant ces enzymes permet également d'avoir la thérapie plus ciblée, pour n'utiliser les antibiotiques de la classe des carbapénèmes que pour des infections plus graves.

COMPOSITION

Ce produit est composé d'une base (CHROMagar Orientation) et d'un supplément (CHROMagar C3G^R Supplément).

Produit	=	Base (RT)	+ Supplément (CG)
Total g/L		33.0 g/L	0.37 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone et extraits de levure 17.0 Mix Chromogénique 1.0	Mix Sélectif 0.37
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 C3G ^R Supplément	<ul style="list-style-type: none"> Peser 370 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>
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 homogénéiser.
Étape 5 Coulage des boîtes	<ul style="list-style-type: none"> Couler dans des boîtes de Petri stériles. Laisser solidifier et sécher.

Milieu final	AIDE AUX CALCULS
5 L	Réhydrater 1,85 g dans 50 ml d'eau purifiée
25L	Réhydrater 9,25 g dans 250 ml d'eau purifiée

STOCKAGE

- 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

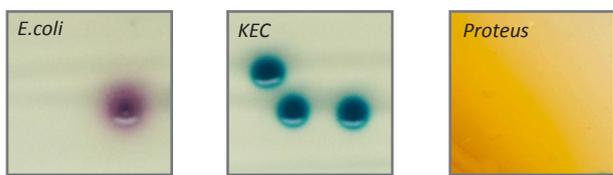
Techniques d'isolement
ou d'étalement

CHROMagar™ C3G^R

INTERPRÉTATION

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>E.coli</i> C3G ^R	→ rose foncé à rougeâtre
KEC C3G ^R (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ bleu métallique (+/- halo rougeâtre)
<i>Proteus</i> C3G ^R	→ halo marron
<i>Acinetobacter</i>	→ crème
<i>Pseudomonas</i>	→ translucide, (+/- pigmentation naturelle crème à vert)
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.

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> C3G ^R CIP 103982	→ rougeâtre, petites colonies
<i>K. pneumoniae</i> C3G ^R ATCC® 700603	→ bleu métallique
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibé
<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 (CG)
5000 ml	CGRT2	RT412 Poids: 165gr	CG632 Poids: 1,85gr
25 L	CGRT3-25	RT413-25 Poids: 825gr	CG633-25 Poids: 9,25gr

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-074 V4.0 / FR 08-Aug-16

FINALIDAD DEL MEDIO

Medio cromogénico para la detección tras solo una noche de bacterias gram-negativas productoras de beta-lactamasa.

La producción de β-Lactamasas (ESBL, AmpC, ...) es el mecanismo más común de resistencia a los fármacos β-lactámicos en bacterias gram-negativas. Muchos laboratorios clínicos en la actualidad hacen monitoreos para BLEE pero no para β-lactamasas AmpC, a pesar de que las bacterias productoras de β-lactamasas AmpC mediadas por plásmidos (principalmente Klebsiella pneumoniae, E. coli, Enterobacter y Proteus) han sido responsables de brotes nosocomiales. Por lo tanto, es crucial asegurar la vigilancia adecuada para ayudar a establecer directrices y políticas apropiadas para el control de infecciones. La detección rápida de bacterias productoras de estas enzimas también permite la adecuación a una terapia más específica, para conservar los antibióticos carbapenem para infecciones más graves.

COMPOSICIÓN

El producto está compuesto de una base de polvo (CHROMagar Orientation) y 1 suplemento (CHROMagar C3G^R suplemento).

Producto	=	Base (RT)	+	Suplemento (CG)
Total g/L		33.0 g/L		0.37 g/L
Composición g/L		Agar 15,0 Extracto de peptonas y levadura 17,0 Mezcla cromogénica 1,0		Mezcla selectiva 0.37
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 C3G^R

- Pesar 370 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

5 l	Rehidratar 1,85 g en 50 ml de agua purificada
25 l	Rehidratar 9,25 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 homogeneizar.

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

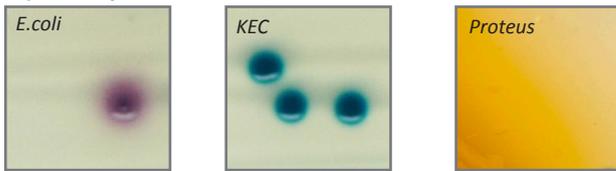
Siembra directa en estrías o en extensión

CHROMagar™ C3G^R

INTERPRETACIÓN

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>E.coli</i> C3G ^R	→ rosa oscuro a rojizo
KEC C3G ^R (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i>)	→ azul metálico (+/- halo rojizo)
<i>Proteus</i> C3G ^R	→ halo de color marrón
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.

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
<i>E.coli</i> C3G ^R CIP 103982	→ rojizas, pequeñas colonias
<i>K. pneumoniae</i> C3G ^R ATCC® 700603	→ azul metálico
<i>E.faecalis</i> ATCC® 29212	→ inhibidas
<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

Tamaño del envase

5000 ml

250 pruebas de 20 ml

Referencias para pedidos

CGRT2

Base (RT)

RT412
Peso: 165 gr

+

Suplemento (CG)

CG632
Peso: 1,85 gr

25 L

1250 pruebas de 20 ml

CGRT3-25

RT413-25
Peso: 825 gr

+

CG633-25
Peso: 9,25 gr

¿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)

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-074 V4.0 / SPA 08-Aug-16

CHROMagar
The Chromogenic Media Pioneer

CHROMagar 4 place du 18 juin 1940
75006 París - Francia
Correo electrónico: CHROMagar@CHROMagar.com
Tel.: +33 (0)1.45.48.05.05. Sitio web: www.CHROMagar.com

IVD

CE

VERWENDUNGSZWECK

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

Die Produktion von β -Laktamasen (ESBL, AmpC,...) ist die häufigste Ursache für eine Resistenz gegenüber β -Laktam-Antibiotika in Gram negativen Bakterien. Während zurzeit in den meisten klinischen Laboren primär nach ESBL-Produzenten gescreent wird, werden β -Laktamasen des Typs AmpC häufig vernachlässigt. Allerdings waren in der Vergangenheit häufig gerade die plasmid-vermittelten AmpC β -Laktamasen in Bakterien (häufig *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* und *Proteus*) mit verantwortlich für viele nosokomiale Infektionen. Gerade vor diesem Hintergrund ist die Sicherstellung einer umfassenden Diagnostik und Überwachung der Resistenzsituation zur Bewertung entsprechender Maßnahmen und Verabschiedung von Richtlinien zur Infektionskontrolle essentiell. Die schnelle und gezielte Identifizierung dieser Erreger ermöglicht eine deeskalierende und zielgerichtete Therapie, die den Einsatz von Reserveantibiotika wie z.B. Carbapenemen minimieren kann.

ZUSAMMENSETZUNG

Das Produkt besteht aus einer Base (CHROMagar Orientation) und einem Supplement (CHROMagar C3G^R Supplement).

Produkt	=	Base (RT)	+	Supplement (CG)
Gesamt g/L		33,0 g/L		0,37 g/L
Zusammensetzung g/L		Agar 15,0 Pepton und Hefe-Extrakt 17,0 Chromogenmischung 1,0		Selektive Mischung 0,37
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 eine homogene Lösung entsteht.
 - Unter regelmäßigem Schwenken oder Rühren erhitzen und zum Kochen (100 °C) bringen.
- Hinweis 1:** Durch Zugabe von 0,5 g/L TWEEN 80 zu dem Basismedium kann ein verbessertes Wachstum erreicht werden
- Hinweis 2:** Das Erhitzen auf 100°C kann in der Mikrowelle erfolgen (Gefäßdeckel zwecks Überdruck nur lose auflegen). Nach kurzem Aufkochen Gefäß aus der Mikrowelle nehmen und vorsichtig rühren. Anschließend in mehreren kurzen Hitzestößen erneut in der Mikrowelle erhitzen bis der Agar vollständig gelöst ist.

Schritt 2

Autoklavieren

- Bei 121°C für 15 min autoklavieren.
- Im Wasserbad auf 45-50°C unter vorsichtigem Rühren abkühlen lassen.

Schritt 3

Zubereitung des CHROMagar ESBL Supplements

- 0,37 g des Supplements abwiegen.
 - Herstellung einer Supplement-Lösung durch Lösen der 0,37 g Supplement in 10 ml gereinigtem Wasser
- Warnung 1:** Zur Herstellung einer homogener Lösung mehrere Minuten rühren: gelblich opake Erscheinung
- Warnung 2:** Hergestellte Supplement-Lösung noch am gleichen Tag verwenden
- Warnung 3:** Supplementlösung nicht lagern und wiederverwenden.

End-medium	RECHENBEISPIEL
5 l	1,85 g in 50 ml gereinigtem Wasser lösen
25 l	9,25 g in 250 ml gereinigtem Wasser lösen

Schritt 4

Supplement zur geschmolzenen Base geben

- Supplement zum homogenisieren vortexen und zum abgekühlten Basismedium (45/50°C) CHROMagar™ Orientation zugeben
- Rühren bis eine homogene Lösung entsteht.

Schritt 5

Plattenguss

- Medium in sterile Petrischalen gießen.
- Medium erstarren und trocknen lassen.

Lagerung

- Vor Gebrauch dunkel lagern.
- Gegossene Platten können einen Tag bei Raumtemperatur gelagert werden.
- Langzeitlagerung der Platten bis zu 1 Monate im Kühlschrank (2-8 °C) bei entsprechendem Schutz vor Licht und Austrocknung möglich.

BEIMPEN

Entsprechendes Probenmaterial kann direkt auf der Agarplatte ausgestrichen werden

- Kühl gelagerte Agarplatten vor dem Beimpfen auf Raumtemperatur bringen.
- Probe auf der Platte austreichen.
- 18-24 h unter aeroben Bedingungen bei 37 °C inkubieren.

Probenmaterial

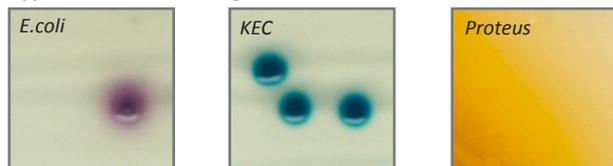
z. B. Stuhl, Urin

Direkte Ausstrichverfahren

INTERPRETATION

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
C3G ^R E.coli	→ dunkelpinkfarben bis rötlich
C3G ^R KEC (Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter)	→ metallisch blau (+/- rötlicher Hof)
C3G ^R Proteus	→ brauner Hof
Gram (+) Stämme	→ inhibiert
Nicht-resistente andere Gram (-) Stämme	→ inhibiert
Hefen	→ Meist inhibiert

Typisches Erscheinungsbild der Kolonien



Die gezeigten Fotos sind unverbindlich.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Einige Pseudomonas spp und Acinetobacter spp, bei denen häufig eine Multiresistenz vorliegt, können auf dem Medium mit den typischen Kolonieerscheinungsformen 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.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrolle ist je nach Gebrauch des Mediums und gemäß nationaler Qualitätskontrollvorschriften und -normen durchzuführen. Die Qualität der hergestellten Agarplatten kann anhand der Kultivierung der folgenden ATCC®-Stämme überprüft werden:

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
C3G ^R E. coli CIP 103982	→ rötlich, kleine Kolonien
C3G ^R K. pneumoniae ATCC® 700603	→ metallisch blau (+/- rötlicher Hof)
P. aeruginosa ATCC® 10145	→ inhibiert
E. coli ATCC® 25922	→ inhibiert
C. albicans ATCC® 60193	→ inhibiert
S. aureus ATCC® 25923	→ inhibiert

WARNHINWEISE

- Platten nicht verwenden, wenn diese Anzeichen von Kontamination oder Beschädigungen aufweisen.
- Produkt nicht verwenden, wenn das Haltbarkeitsdatum überschritten ist oder das Produkt Anzeichen von Kontamination oder Beschädigungen aufweist
- Nur zur in-vitro Diagnostik. Dieses Produkt darf nur von geschultem Laborpersonal 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 Produktes beeinträchtigen
- Unsachgemäße Lagerung kann sich auf die Haltbarkeit des Produkts auswirken
- Die Behälter müssen nach jeder Präparation wieder fest verschlossen und an einem trockenen, lichtgeschützten Ort aufbewahrt werden
- Zur Gewährleistung eines guten Wachstums der Mikroorganismen müssen die Probenahme und der -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 in Übereinstimmung mit den lokalen Vorschriften entsorgt werden. Durch mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C können Keime auf den Platten 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

Packungsgröße	Artikelnummern	Base (RT)	Supplement (CG)
5000 ml 250 Tests zu je 20 ml	CGRT2	RT412 Gewicht: 165 g	CG632 Gewicht: 1,85 g
25 L 1250 Tests zu je 20 ml	CGRT3-25	RT413-25 Gewicht: 825 g	CG633-25 Gewicht: 9,25 g

Technische Dokumente:

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

Die Marken CHROMagar™ und Rambach™ wurden von Dr. A. Rambach entwickelt.
 ATCC® ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection
 NT-EXT-074 V4.0 / GER 08-Aug-2016

CHROMagar™ ESBL

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

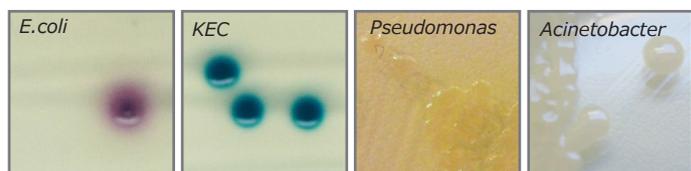
直接塗抹あるいは塗布法

CHROMagar™ ESBL

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 (+/- 赤っぽい輪)
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 (+/- 赤っぽい輪)
<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-074 V4.0 / JAP 08-Aug-16