



Інструкції до використання

ChromArt**ХРОМОГЕННЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ СЕЧІ (CUA)**

Зневоднене живильне середовище



Змішана культура патогенів ІМК: *E. Coli* (рожево-пурпурно-червоні колонії), *K. pneumoniae* (темно-сині колонії), *Enterococcus sp.* (бірюзово-сині колонії), *S. aureus* (білі колонії), *Proteus sp.* (світло-коричневі з коричневим ореолом).

1 - Використання за призначенням

Для діагностики *In vitro*. Хромогенне живильне середовище для виділення, підрахунку і передбачуваної швидкої ідентифікації мікроорганізмів з сечі.

2 – Склад – типова формула * (після відновлення з 1 л води)

Пептони і стимулятори росту	24,0 г
Хромогенна суміш	0,4 г
З'єднання-непрозорі агенти	10,0 г
Агар	15,0 г

* формула може бути скоригована та/або доповнена відповідно до необхідних критеріїв ефективності.

3 - ПРИНЦИП МЕТОДУ І ПОЯСНЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

За останні 25 років хромогенні поживні середовища знайшли широке застосування в діагностичній клінічній мікробіології. У 1997 році компанія Biolife запропонувала хромогенне та флуорогенне середовище для діагностики інфекцій сечовивідних шляхів під назвою ХРОМОГЕННЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ СЕЧІ, в якому бактеріальне диференціювання було отримано шляхом виявлення β -глюкуронідази, β -глюкозидази та β -силозидази. Цей перше середовище піддавалося поступовим поліпшенням протягом багатьох років, і були розроблені нові покоління середовищ. Останнє з них, яке було запропоновано Biolife для Бактеріології сечі - це ХРОМОГЕННЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ СЕЧІ, діагностичне середовище, призначене для виділення, підрахунку і передбачуваної швидкої ідентифікації патогенів сечовивідних шляхів, таких як *E.coli*, *Enterobacter-Klebsiella-Serratia*, *Proteus-Morganella-Providencia*, *Enterococci*, *Staphylococci*, дріжджі.

Диференціація між мікробними видами або родами досягається через:

- Хромогенний субстрат для β -галактозидази (GAL), який розщеплюється *E.coli* з виділенням нерозчинного рожево-червоного хромофору.
 - Хромогенне похідне глюкпіранозиду для β -глюкозидази (GLU), яке розщеплюється *Enterococci* з утворенням нерозчинного синьо-зеленого барвника.
 - Триптофан для виявлення триптофандезамінази (ТДА) і для проведення швидкого проби на індол.
- Бактерії, що продукують обидва ферменти (GAL і GLU), такі як група *Klebsiella/Enterobacter / Serratia* (KES), дають темно-сині або фіолетові колонії. Триптофан присутній в середовищі для виявлення членів групи *Proteus*, які генерують дифузне коричневе забарвлення в результаті активності триптофан-дезамінази.

E.coli може бути підтверджена точковою пробою на індол шляхом додавання краплі реагенту Ковача до ізольованих колоній.

Основними характеристиками і перевагами CUA IV є: дуже хороша продуктивність, отримана з добірними і стандартизованими пептонами, оптимізована концентрація агару для інгібування скупчення *Proteus spp.*, посилена візуальна диференціація колоній за рахунок сильних хроматичних реакцій, сірого непрозорого контрастного фону і специфічних ферментативних реакцій для передбачуваної ідентифікації як грамположитивних, так і грамнегативних патогенів.

4- ВКАЗІВКИ З ПРИГОТУВАННЯ СЕРЕДОВИЩА

Суспендуйте 49,4 г в 1000 мл холодної очищеної води. Нагрійте до кипіння при частому перемішуванні і стерилізуйте в автоклаві при температурі 121 °C протягом 15 хвилин. Підготовлені планшети повинні бути використані протягом десяти днів з дня приготування. Для тривалого зберігання в попередньо налиті планшети додають кінську сироватку: охолоджують автоклавне середовище до 47-50 °C і додають в асептичних умовах 20 мл/л кінської сироватки. Добре перемішайте і розподіліть по стерильним чашках Петрі.

5 – ФІЗИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Зовнішній вигляд зневодненого середовища
Вигляд розчину і підготовлених планшетів
Кінцевий рН при 20-25 °C

сірий, дрібний, однорідний, сипучий порошок
сіруваті, непрозорі
7.2 ± 0.2

6 – Надані матеріали - пакування

Продукт	Тип	REF	Пакування
Хромогенне середовище для сечі CND: W0104010101; EDMA:14.01.01.01; RDM: 1858125/R	Дегідратоване середовище	409810G2	500 г (10.1 л)

7 – ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, АЛЕ ТАКІ, ЩО НЕ НАДАЮТЬСЯ

Автоклав, водяна баня, стерильні петлі і тампони, інкубатор і лабораторне обладнання в міру необхідності, чашки Петрі, колби Ерленмейера, допоміжні поживні середовища та реагенти для ідентифікації колоній, кінська сироватка.





8 - Зразки

Хромогенне середовище для сечі (CUA IV) призначене для мікробіологічної обробки клінічних зразків, таких як сеча. По можливості, збирайте зразки перед антимікробною терапією. Слід застосовувати належну лабораторну практику збору, транспортування та зберігання клінічних зразків.^{1,2}

9- Процедура тестування

Дайте планшетам нагрітися до кімнатної температури і висушіть поверхню середовища. Обережно перемішайте сечу, щоб уникнути утворення піни. Опустіть кінець стерильної каліброваної петлі (наприклад, 1 мкл або 10 мкл) в сечу трохи нижче поверхні і видаліть вертикально, намагаючись не переносити її на стойку. Використовуйте це для інокуляції планшета з CUA IV зверху вниз по вертикальній лінії і знову зверху вниз перпендикулярно цій лінії ззад-вперед. Інокуляція сечі розподіляють по всій поверхні агару, щоб спростити підрахунок колоній після зростання. Інкубують при температурі 35-37 °C на повітрі протягом 24-48 годин. Хоча більшість патогенів сечовивідних шляхів легко ростуть, повільно зростаючі патогени і ті, які інгібуються присутністю антимікробних препаратів в зразку пацієнта, можуть не з'явитися після нічної інкубації (16 год). Виконайте тести на лейкоцитарну естеразу і нітрит, щоб визначити, які культури інкубуються протягом повних 48 годин. Культури сечі, які є негативними після нічної інкубації, але мали один або обидва позитивних ферментних тести, повинні бути інкубовані протягом додаткового дня або повторно інокульовані на планшет кров'яного агару.¹

10 - Зняття показників та ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

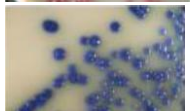
Після інкубації спостерігають за зростанням бактерій, підраховують кількість колоній (КУО) на планшеті і записують специфічні морфологічні, хроматичні характеристики колоній. Якщо використовується петля 1 мкл, то одна колонія дорівнює 1000 КУО/мл, якщо використовується петля 10 мкл, то одна колонія дорівнює 100 КУО/мл. Дослідження, проведені в 1950-х роках, залишаються основою для інтерпретації результатів посіву сечі, і показують, що кількість бактерій $\geq 10^5$ КУО/мл вказує на інфекцію, а кількість нижче цього показника зазвичай вказує на забруднення.²

У конкретних групах пацієнтів числа між 10^5 КУО / мл і 10^2 КУО/мл може бути значною; чистий ізолят з числами між 10^4 і 10^5 КУО/мл повинен бути оцінений на основі клінічної інформації або підтверджений повторною культурою.² Для сечі, зібраної при пункції надлобкового міхура, будь-яка виявлена КУО вказує на інфекцію.² Зверніться до відповідних посилань для отримання повних критеріїв інтерпретації мікробного числа.^{1,2}

Типова колоніальна морфологія та інтерпретація кольорів на Хромогенне середовище для сечі наступні:



Escherichia coli: рожеві колонії (β-галактозидаза позитивна, β-глюкозидаза негативна) на індол позитивна: *E.coli*
Проба на індол негативна: переходьте до ідентифікації звичайними методами.



Klebsiella-Enterobacter-Serratia (KES): сині / синьо-фіолетові колонії:
(β-галактозидаза позитивна, β-глюкозидаза позитивна)
Мікроскопічне дослідження: грамнегативні бацили
Для ідентифікації роду/виду використовуйте звичайні методи ідентифікації.



Enterococcus spp.: від зелених до бірюзово-синіх колоній (β-галактозидаза негат., β-глюкозидаза позит.) Мікроскопічне дослідження: грампозитивні коки.



Proteus-Morganella-Providencia: (коричневі колонії: триптофандезаміназа позитивна, β-галактозидаза негативна, β-глюкозидаза негативна)
Проба на індол - негативна: *Proteus mirabilis*, повинен бути підтверджений оксидазним тестом, який є негативним.
Проба на індол - позитивна: *Providencia* або *Morganella* або *Proteus spp.* indole + (переходьте до ідентифікації)



Стафілококи і дріжджі: білі колонії (β-галактозидаза негативна, β-глюкозидаза негативна)
Мікроскопічне дослідження: грампозитивні коки або дріжджі
Переходьте до ідентифікації за допомогою звичайних методів.

11 - КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ КОРИСТУВАЧА

Всі вироблені партії продукції випускаються в продаж після проведення Контролю якості на відповідність технічним умовам. Однак, кінцевий користувач несе відповідальність за проведення випробувань з контролю якості відповідно до місцевих застосованих нормативних актів, відповідно до вимог акредитації та досвіду лабораторії. Нижче наведено деякі тестові штами, корисні для контролю якості.³

Контрольні штами	Інкубація T° / T / ATM	Очікувані результати
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	хороший ріст, рожеві колонії
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C / 18-24H / A	хороший ріст, зелені колонії
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A	хороший ріст, білі колонії
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	35-37°C / 18-24H / A	хороший ріст, темно-сині колонії
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12453	35-37°C / 18-24H / A	хороший ріст, блакитні колонії без скупчення

A: аеробна інкубація; ATCC є торговою маркою Американської колекції типових культур

12- ЕКСПЛУАТАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Перед випуском у продаж репрезентативний зразок всіх партій дегідратованого Хромогенного середовища для сечі тестують на продуктивність шляхом порівняння результатів з раніше схваленою еталонною партією і з Триптон-соєвим агаром.

Продуктивність перевіряють кількісним тестом з цільовим штамом *S. aureus* ATCC 25922; Хромогенне середовище для сечі і планшети TSA інокулюють десятковими розведеннями у фізіологічному розчині суспензії колоній і інкубують при температурі 35-37 °C протягом 18-24 годин. Колонії перераховуються на планшетах CUA IV і TSA, і обчислюється коефіцієнт продуктивності ($Pr = CFU_{CUA IV} / CFU_{TSA}$). При $Pr \geq 0,5$ і типовій морфології і забарвленні колоній (білі колонії), результати вважаються прийнятними і відповідають технічним вимогам. Крім того, характеристики продуктивності тестуються напівкількісним екометричним методом з





наступними штамми: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *P. mirabilis* ATCC 10005, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 8909, *C. diversus* ATCC 40738, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. epidermidis* ATCC 12228, *C. albicans* ATCC 10231. Після інкубації оцінюють і реєструють забарвлення колоній і кількість зростання. Всі штамми показують хороший ріст з типовими кольорами, відповідно до специфікації.

13 – Обмеження методу

- Фарбування по Граму рекомендується для підтвердження будь-яких сумнівних кольорних реакцій.
- *Citrobacter spp.* може бути імовірно ідентифікований як *E. coli*, оскільки деякі штамми є позитивними по β-галактозидазі і негативними по β-глюкозидазі. Використання даних про чутливість або виявлення піролідоніл амінопептидази (pyr-тест) може сприяти диференціюванню рожевих колоній *Citrobacter spp.* від *E. coli*.⁵
- Між групою *Proteus-Morganella-Providencia*, *P. mirabilis* є індол-негативним і може бути легко розпізнаний.
- Біохімічна ідентифікація необхідна для ідентифікації роду/виду в групі *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*.
- Для диференціювання ентерококів від *S. agalactiae* може знадобитися піролідоніл амінопептидаза (PYR-тест).
- *S. saprophyticus* і *S. xylosus* виробляють невеликі рожеві колонії.
- Навіть якщо мікробні колонії на планшетах диференціюються на основі морфологічних і хроматичних характеристик, проби на індол або морфологію по Граму, рекомендується проводити біохімічне, імунологічне, молекулярне або мас-спектрометричні тестування ізолятів з чистої культури для повної ідентифікації. При необхідності і доцільності, проведіть тестування на чутливість до протимікробних препаратів.
- Дане живильне середовище призначено для допомоги в діагностиці інфекційних захворювань; інтерпретація результатів повинна проводитися з урахуванням клінічного анамнезу пацієнта, походження зразка і результатів інших діагностичних тестів.

14 – Попередження та зауваження

- Цей продукт є якісною діагностикою *in vitro*, призначено тільки для професійного використання; він повинен використовуватися належним чином навченим і кваліфікованим лабораторним персоналом з дотриманням затверджених запобіжних заходів щодо біологічної безпеки і асептичних методів.
- Зневоднені середовища повинні оброблятися з відповідним захистом. Перед використанням зверніться до паспорта безпеки. Це живильне середовище містить сировину тваринного походження. Попередній і посмертний контроль тварин, а також контроль під час циклу виробництва і розподілу сировини не може повністю гарантувати, що цей продукт не містить будь-яких трансмісивних патогенів. Тому рекомендується обробляти живильне середовище як потенційно інфекційне і поводитися з ним з дотриманням звичайних специфічних запобіжних заходів: не ковтати, не вдихати і не допускати контакту зі шкірою, очима, слизовими оболонками. Завантажте заяву TSE з веб-сайту www.biolifeitaliana.it, описуючи заходи, що здійснюються компанією Biolife Italiana для зниження ризику, пов'язаного з інфекційними захворюваннями тварин.
- Всі лабораторні зразки повинні вважатися інфекційними.
- Лабораторна зона повинна контролюватися таким чином, щоб уникнути забруднень, таких як живильне середовище або мікробні агенти.
- Стерилізуйте всі біологічно небезпечні відходи перед утилізацією. Утилізуйте невикористане середовище та стерилізовані планшети, інюльовані зразками або штамми мікроорганізмів, відповідно до чинного місцевого законодавства.
- Не використовуйте живильне середовище як активний інгредієнт для фармацевтичних препаратів або як виробничий матеріал, призначений для споживання людьми та тваринами.
- Сертифікати аналізу та Паспорт безпеки продукту доступні на веб-сайті www.biolifeitaliana.it.
- Інформація, представлена в цьому документі, була визначена в міру наших знань і можливостей, і являє собою керівництво по правильному використанню продукту, але без будь-яких зобов'язань або відповідальності. У всіх випадках повинні дотримуватися існуючі місцеві закони, правила і стандартні процедури для проведення експертизи проб, взятих з органічних районів проживання людини і тварин, проб навколишнього середовища і продуктів, призначених для споживання людиною або тваринами. Наша інформація не звільняє наших клієнтів від відповідальності за перевірку придатності нашого продукту для використання за призначенням.

15 - УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ І ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

При отриманні зберігати при температурі +2°C / + 8°C далеко від прямого світла в сухому місці. При правильному зберіганні продукт може бути використаний до закінчення терміну придатності. Не використовуйте після цієї дати. Не відкривайте контейнер у вологих місцях. Після використання контейнер повинен бути щільно закритий. Викидайте продукт, якщо контейнер і/або кришка були пошкоджені, або в разі явного погіршення якості порошку (зміна кольору, затвердіння, великі грудки).

16 - Посилання

1. Varon EJ, Збір, транспортування та обробка зразків: Бактеріологія. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. Editors Керівництво з клінічної мікробіології, 11-е вид.. Вашингтон, DC: Американське товариство мікробіології; 2015. p.270.
2. Громадське Здоров'я Англія Великобританія Стандарти мікробіологічних досліджень. Дослідження сечі. Бактеріологія, В 41, 2019
3. Методичні рекомендації щодо забезпечення якості медичних мікробіологічних поживних середовищ. Австралійське Товариство Мікробіології, 2-е видання, 2012.
4. Perry JD, Butterworth LA, Nicholson A, Appleby MR, Orr KE. J Clin Pathol 2003; 56(7): 528–531
5. Fallon D, Andrews N, Frodsham D, Gee B, Howe S, Iliffe A, Nye KJ, Warren RE. J Clin Pathol 2002; 55(7): 524–529
- 6.

ТАБЛИЦЯ ЗАСТОСОВНИХ СИМВОЛІВ

REF або REF Номер за каталогом	LOT Код партії	IVD Діагностичний медичний пристрій <i>In vitro</i>	Виробник	Використати до
Температурні обмеження	Зміст, достатній для < N > тестів	Зверніться до Інструкції із застосування	Тримайте подалі від світла	Зберігати в сухому місці

ІСТОРІЯ РЕДАКЦІЙ

Версія	Опис змін	Дата
Редакція 3	Оновлений макет і зміст	2020/05

Примітка: незначні типографські, граматичні та форматуючі зміни не включаються в історію змін.

