

# CHROMagar ESB

## NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊT À L'EMPLOI

### 1. Utilisation

La gélose CHROMagar ESB est un milieu chromogène sélectif pour la détection qualitative et l'isolement des bactéries à Gram négatif produisant des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) dans les échantillons cliniques humains et d'autres échantillons.

La fonction du milieu CHROMagar ESB est d'aider au diagnostic chez les patients présentant des symptômes indiquant une infection causée par des bactéries à Gram négatif, en particulier de l'ordre des *Enterobacterales*, ainsi qu'au dépistage, à la prédiction de la présence d'un mécanisme de résistance et à la prédiction de la réponse ou de la réaction au traitement.

La résistance microbienne aux médicaments est un problème croissant pour la médecine moderne. Les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes qui interviennent dans la résistance bactérienne aux pénicillines, aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et aux monobactames. Ces enzymes sont produites par des bactéries à Gram négatif, principalement de l'ordre des *Enterobacterales*, qui font partie du microbiome gastro-intestinal humain. Les premières souches d'*entérobactéries* possédant une BLSE ont été découvertes dans les années 1980. Aujourd'hui, cette enzyme est largement répandue dans ce groupe de bactéries et joue un rôle de plus en plus important non seulement dans la propagation des infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires. Cela est dû à la facilité de transfert des plasmides sur lesquels les BLSE sont codées. Les BLSE peuvent également être présentes chez certains bacilles non fermentaires, principalement *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*. Les bacilles Gram négatif BLSE(+) les plus fréquemment isolés à partir de divers échantillons cliniques sont *Escherichia coli* et *Klebsiella*, mais *Enterobacter* et *Proteus* peuvent également être détectés. Les bactéries présentant un phénotype BLSE(+) peuvent être à l'origine de pneumonies et d'infections urinaires potentiellement mortelles. Elles sont isolées chez des patients souffrant d'infections nosocomiales, y compris d'infections multimicrobiennes intra-abdominales, ainsi que chez des patients souffrant d'infections communautaires. Les infections à bacilles Gram négatif BLSE(+) peuvent être endogènes, lorsque l'agent étiologique de l'infection est un micro-organisme naturellement présent dans l'organisme, ou exogènes, lorsque l'agent pathogène pénètre dans l'organisme à partir de l'extérieur. L'identification rapide des infections à bacilles BLSE+ ou de leurs porteurs est très importante pour des raisons épidémiologiques et pour la prévention de la propagation des infections nosocomiales, ainsi que pour la sélection d'une thérapie antimicrobienne appropriée.

Référence	Type de milieu :	Emballage :
201470 201470-1	Boîte de gélose précoulée	2 x 10 pcs (90 mm) 10 x 10 pcs (90 mm)

### 2. Principe de la procédure

La peptone et l'extrait de levure contenus dans le milieu apportent de l'azote, des vitamines et du carbone. Le complément sélectif inhibe la croissance de la plupart des bactéries présentes dans l'échantillon testé, autres que les bacilles à Gram négatif possédant des enzymes BLSE.

Le mélange chromogène permet de détecter et de différencier les bactéries Gram-négatives isolées qui produisent des bêta-lactamases à spectre étendu.

### 3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	Suppléments/litre de milieu :	
Mélange chromogène	1,0 g	Mélange sélectif 0,57 g
Peptone et extrait de levure	17,0 g	
Agar	15,0 g	

pH 7,0  $\pm$  0,2 à 25° C

Aspect du milieu - Clair, paille clair.

### 4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Amener le milieu à température ambiante immédiatement avant utilisation.

## 5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire microbiologique standard nécessaire à la réalisation des tests, y compris un incubateur.

## 6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale qui peuvent être associés à la présence d'agents biologiques pathogènes et doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation des matières biologiques potentiellement infectieuses.
- Ne pas utiliser le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser de boîtes après la date de péremption.
- La réincubation de boîtes déjà ensemencées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

## 7. Stockage

Conserver les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

## 8. Péremption

Le milieu stocké à 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de fabrication.

## 9. Type d'échantillon

Échantillons de milieu clinique humain, tels que les écouvillons des muqueuses nasales, inguinales et anales, ainsi que l'urine. Prélever les échantillons à tester conformément aux lignes directrices en vigueur. Conserver les échantillons à tester jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément aux lignes directrices relatives au stockage et au transport du matériel biologique. Conserver les écouvillons collectés dans des milieux de transport à température ambiante, conformément aux recommandations du fabricant. Pour les échantillons de selles, conserver-les dans un réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8°C. Inoculez les échantillons dès que possible après la livraison de l'échantillon au laboratoire.

## 10. Procédure de test

1. Le milieu doit être amené à température ambiante avant d'être utilisé.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est recueilli sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste sur les bords de la boîte, puis prélever l'échantillon par la méthode des stries à l'aide d'une anse stérile.
4. Incuber les boîtes inoculées dans des conditions aérobies à 35±2 °C.
5. Examiner la croissance sur les boîtes après 18-24 heures d'incubation.

## 11. Lecture et interprétation

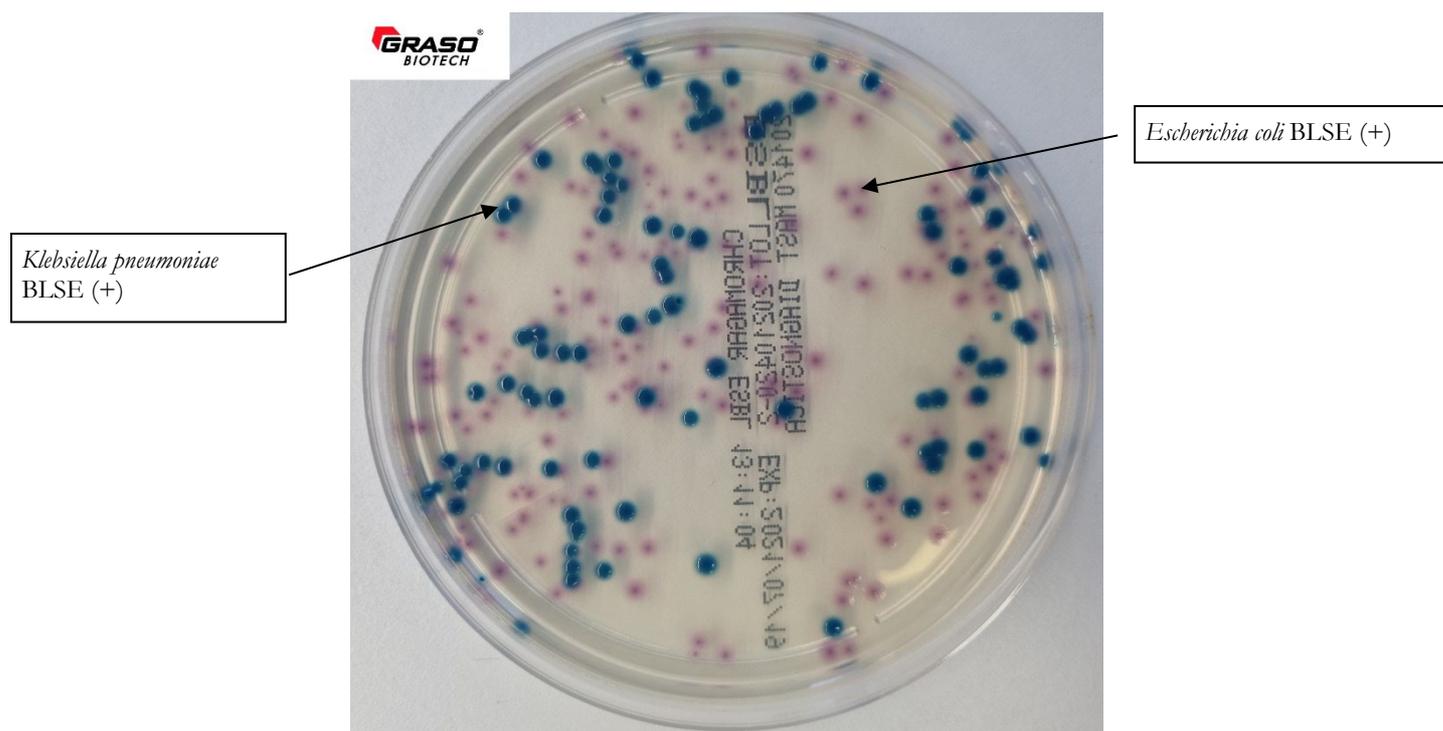
Après incubation, observer :

- la présence de la croissance,
- la morphologie de la colonie,
- la coloration des colonies.

## Morphologie typique des colonies cultivées sur le milieu CHROMagar ESBL

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Escherichia coli</i> BLSE	Colonies de couleur rose foncé à rougeâtre
KEC BLSE ( <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> )	Colonies bleu métallique, éventuellement avec ou sans halo rougeâtre -.
<i>Proteus</i> BLSE	Colonies avec halo brun
<i>Acinetobacter</i> BLSE	Colonies crème
<i>Pseudomonas</i> BLSE	Colonies translucides, éventuellement avec ou sans pigmentation naturelle de couleur crème à verte
<i>Stenotrophomonas</i>	Colonies incolores
Bactéries Gram-positives	Pas de croissance
Autres souches sensibles de bactéries Gram négatif	Pas de croissance
Levure	Pas de croissance pour la plupart

Pour l'identification définitive des micro-organismes cultivés, des tests supplémentaires et/ou des tests de confirmation doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées dans le laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance de *Klebsiella pneumoniae* BLSE (+) et *Escherichia coli* BLSE (+) sur CHROMagar ESBL

## 12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué à l'aide de cultures pures de 18 à 24 heures de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Pour effectuer le contrôle de qualité du milieu, utiliser les souches de référence suivantes :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Bonne croissance	Bleu métallique
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	Pas de croissance	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bonne croissance	Rose foncé
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13351	Pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du contrôle qualité du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et des lignes directrices/recommandations applicables.

### 13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu CHROMagar ESB.L.
- Certaines souches de *Pseudomonas* spp. et d'*Acinetobacter* spp. connues pour être fréquemment résistantes à plusieurs antibiotiques (Multi Drug Resistant) peuvent se développer sur le milieu CHROMagar ESB.L en présentant une morphologie typique du milieu CHROMagar Orientation.
- Bien que la plupart des bactéries productrices d'AmpC ne se développent pas sur ce milieu, certaines peuvent apparaître.

### 14. Caractéristiques de la méthode

Les BLSE ( $\beta$ -lactamases à spectre étendu) sont des enzymes produites par des bactéries à Gram négatif, principalement de l'ordre des *Enterobacteriales*. Lors des tests de sensibilité aux médicaments de routine, ces bactéries peuvent passer inaperçues, ce qui peut conduire à un traitement inapproprié et à un manque d'efficacité. Le phénotype de résistance aux BLSE(+) étant de plus en plus courant, il constitue un problème épidémiologique et thérapeutique important. Par conséquent, la détection précoce des porteurs de bactéries productrices de BLSE est de la plus haute importance, car elle contribue à minimiser la propagation des infections et permet de préparer un traitement approprié pour chaque patient.

La gélose CHROMagar ESB.L permet de détecter les bactéries BLSE(+) tout en inhibant la croissance d'autres bactéries, y compris celles qui présentent une résistance de type AmpC. Bien que la résistance de type AmpC ait une importance épidémiologique moindre, la présence de bactéries dotées de ce mécanisme de résistance dans un échantillon de test entraîne souvent des résultats faussement positifs pour les BLSE dans les méthodes de test standard, d'où l'importance des propriétés inhibitrices du milieu. Grâce aux propriétés chromogéniques de ce milieu, il est possible non seulement de détecter, mais aussi de différencier les espèces de bactéries Gram-négatives BLSE(+). Le milieu CHROMagar ESB.L a été développé sur la base du milieu CHROMagar Orientation, enrichi d'un supplément qui favorise spécifiquement la croissance des bactéries BLSE(+). Une étude comparative menée par G. Klyasov et ses collègues indique la sensibilité et la spécificité élevées du milieu CHROMagar ESB.L. Pour cette étude, 1552 écouvillons rectaux et oropharyngés ont été utilisés. Après une incubation de 18 à 24 heures des échantillons sur le milieu CHROMagar ESB.L, 394 résultats positifs ont été obtenus. Le même nombre de résultats positifs a été obtenu pour la méthode de référence, seulement après 24-48 heures d'incubation.

La sensibilité diagnostique du milieu CHROMagar ESB.L était de 98 %, tandis que celle du milieu de référence MacConkey était de 69 %.

	CHROMagar BLSE	Méthode de référence (Gélose MacConkey)
Sensibilité	98% *	69%
Spécificité	97% *	--

\* Données obtenues à partir de l'étude "Detection of Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase producing Enterobacteriaceae" par G. Klyasova et al, ECCMID 2016

### 15. Élimination des milieux usagés

Les milieux usagés et non utilisés doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

## 16. Déclaration d'événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

## 17. Références

1. Aurélie Clément, Lauren Chaubron, Patrice Laudat, Laboratoire Arnaud SFM Congrès National Marseille, June 2010, Rapid detection with producing extended spectrum betalactamase Enterobacteriaceae culture (EBLSE) on chromogenic medium: Colorex Orientation/ESBL (CHROMagar, Paris France).
2. Aurélie Clément, Lauren Chaubron, Patrice Laudat, Laboratoire Arnaud SFM Congrès National Marseille, Juin 2010, Détection rapide par culture des entérobactéries productrices de Bétalactamase à spectre étendue (EBLSE) sur milieu chromogène: Colorex Orientation/ESBL (CHROMagar, Paris France)
3. R.Saito. University of Tokyo hospital and Tokyo Medical & Dental University - Tokyo - Japan Letters in Applied Microbiology ISSN 0266 8254, 51, 704-706 ABSTRACT ONLY 2010, Evaluation of a chromogenic agar medium for the detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae
4. Philippe Lagacé-Wiens et al. University of Manitoba, Canada. ECCMID Poster 2010, Evaluation of a chromogenic medium for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae.
5. M. Jones, A. Sweeney, E. Stoeppler, M. Miller, and P. Gilligan Clinical Microbiology-Immunology Laboratories UNC Hospitals 2011, Comparison of three selective media for the recovery of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae
6. Sara J. Blosser, Wendy B. Bishop, John P. Dekker, Karen M. Franck and Anna F. Lau National Institute of Health, 2013, Phenotypic screen for ESBL-producing Enterobacteriaceae in the US hospital setting: validation of CHROMagar ESBL versus HardyCHROM ESBL
7. Michael Hornsey, Lynette Phee, Neil Woodford, Jane Turton, Daniele Meunier, Claire Thomas, David W Wareham, 2013, Evaluation of three selective chromogenic media, CHROMagar ESBL, CHROMagar CTX-M and CHROMagar KPC, for the detection of Klebsiella pneumoniae producing OXA-48 carbapenemase
8. Hoda Hassa, Baha Abdalhamid Hassan et al, 2013, Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a Saudi Arabia tertiary hospital
9. Antimicrobial Original Research Paper Hugo Edgardo Villar, Victoria Aubert, Marisa Noemí Baserni, Monica Beatriz Jugo Department of Clinical Bacteriology, Laboratorio Hidalgo, Buenos Aires, Argentina 2013 Edizioni Scientifiche per l'Informazione su Farmaci e, 2013, Maternal carriage of extended-spectrum betalactamase-producing Escherichia coli isolates in Argentina
10. hiroi et al. Vet. Med. Sci. 74(12): 1635-1637 2012 doi 10.1292/jvms.11-0479, Factors for occurrence of extended spectrum beta lactamase producing escherichia coli in broilers
11. Enas Sh. Khater and Hammouda W. Sherif, 2014, Rapid detection of extended spectrum B-lactamase (ESBL) producing strain of Escherichia coli in urinary tract infection patients in Benha University Hospital, Egypt
12. Hugo Edgardo Villar, Marisa Noemí Baserni, Monica Beatriz Jugo Department of Clinical Bacteriology, Laboratorio Hidalgo, Buenos Aires, Argentina J Infect Dev Ctries 2013, Faecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in community settings
13. Thorsten Schauss, Stefanie P. Glaeser - Institut für Angewandte Mikrobiologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Germany, 2015, Improved Detection of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli in Input and Output Samples of German Biogas Plants by a Selective Pre-Enrichment Procedure
14. Korobova AG, Frolova LN, Kliasova GA. Klin Lab Diagn. 2015 Nov;60(11):53-7. Russian, The application of selective chromogenic agar for detecting Enterobacteria with production of beta-lactamases.
15. A. Farra et Al. - Institut Pasteur, Unit of Bacteriology, Bangui, Central African Republic, 2016, High rate of faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy children in Bangui, Central African Republic.
16. Asami Nakayama et al. Gifu University Hospital, 2016, Accuracy and Cost-Effectiveness of the CHROMagar Orientation/ ESBL medium for Identification and Detection of Extended-Spectrum B-Lactamase (ESBL)-Producing Gram-Negative Bacilli in comparison to conventional methodology and Mass Spectrometry
17. A. Nakayama - Division of Clinical Laboratory, Gifu University Hospital, Gifu, JAPAN, 2016, Rapid and efficient approach to urine culture screening using CHROMagar Orientation/ESBL medium.
18. G. Klyasova, A. Korobova, I. Frolova National Research Center for Hematology, Moscow, Russia Poster ECCMID 2016, Detection of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae by Chromogenic ESBL Selective Medium.
19. Y. Rajapaksha, M. Sniatynski, D. Parker, J.E. Rubin University of Saskatchewan, 2017, Escherichia coli colonizing Crows as a sentinel of Antimicrobial resistance in Saskatoon, Canada
20. T. Sadahira, K. Wada, M. Araki, A. Ishii, T. Watanabe, Y. Nasu, M. Tsugawa, T. Takenaka, Y. Nasu, H. Kumon - International Journal of Urology, September 2017, Impact of selective media for detecting fluoroquinolone-insusceptible/ extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli before transrectal prostate **biopsy**
21. Randall LP et al. - Animal and Plant Health Agency (Weybridge), New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UK, 2017, Evaluation of meat, fruit and vegetables from retail stores in five United Kingdom regions as sources of extended-

- spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing and carbapenem-resistant *Escherichia coli*.
22. H. Janson, V. Wretström, O. Ekelund Clinical Microbiology, Kronoberg County, Sweden ECCMID 2018, Addition of disk diffusion-based screening on chromogenic Mueller-Hinton agar adds value to traditional cephalosporin-based screening for multiresistant Gram-negative bacteria.
  23. M. Gaskin, D. Yamamura, J. Korver Hamilton Regional Laboratory Medicine Program ECCMID Madrid April 2018, Validation of Colorex™ ESBL/mSuperCARBA™ bi-plate on WASP®/WASPLab® to screen for ESBL and CPE
  24. M. Nguyen-Tra Le, S. Kayama, M. Yoshikawa, T. Hara, S. Kashiya, J. Hisatsune, K. Tsuruda, M. Onodera, H. Ohge, K. Tsuga and M. Segai Antimicrobial Resistance and Infection Control Hiroshima University 2020, Oral colonization by antimicrobial-resistant Gram negative bacteria among long-term care facility residents: prevalence, risk factors and molecular epidemiology.
  25. A-S. Valentin, S. Dos Santos, F. Goube, R. Gimenes, M. Decalonne, L. Mereghetti, C. Daniau, N. Van der Mee-Marquet Clinical Microbiology and Infection February 27, 2021, A prospective multicentre surveillance study to investigate the risk associated with contaminated sinks in the intensive care unit

#### Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
20/02/2023	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

## NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8




Graso Zenon Sobiecki  
Krag 4A ; 83200 Starogard Gdański  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)

Département de la production  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jabłowo