



Chromatic Colistin

Chromogenic medium for detection of colistin-resistant organisms from clinical specimens and other materials.

DESCRIPTION

Chromatic Colistin is a selective chromogenic medium used for the isolation and differentiation of Colistin-resistant Gram-negative bacteria.

The medium is intended for screening of faecal samples and can also be used to confirm colistin resistance of isolates from non-selective and non-chromogenic culture media.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Meat Peptone	14.0
Casein Peptone	6.0
Yeast Extract	3.0
Sodium Chloride	5.0
Chromogenic and Selective Mix	14.0
Agar	15.0

Final pH 7.3 ± 0.2 at 25°C

METHOD PRINCIPLE

Peptones provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of group B. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Chromogenic and selective mix allows to identify microorganisms on the basis of the color and morphology of the colonies while inhibiting most of Gram-positive bacteria, yeasts and moulds as well as Gram-negative bacteria that are sensitive to colistin. Agar is the solidifying agent.

TEST PROCEDURE

For screening use, inoculate the medium with rectal swabs or fresh stools (1 g solid sample or 50 µl liquid) by spread plating technique (100 µl inoculum) after selective enrichment in appropriate media. For example, place a Colistin sulfate 10 µg disc (ref. 9023) into a 9 ml tube of Brain Heart Infusion broth (ref. 24480), inoculate with the sample and incubate at 35 ± 2°C for 4-5 hours.

For confirmation of resistance detection, inoculate by streaking a pure strain obtained by isolation on a non-selective and non-chromogenic plate.

Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours. An additional 24 h incubation may be required.

INTERPRETING RESULTS

After incubation observe the color and the morphology of the colonies and interpret the results as indicated in the ID table.

ID Table.

Microorganism	Typical colony appearance
<i>E. coli</i>	Pink-reddish-mauve
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> spp.	Green-blue
<i>Pseudomonas</i> spp.	Yellowish-green
Other colistin-resistant organisms	Colourless

See pictures in Appendix I.

NOTES:

- Only colistin-resistant Gram-negative microorganisms may develop on this medium, including bacteria naturally resistant to colistin such as *Serratia marcescens* and *Proteus mirabilis*. Gram-positive bacteria, yeasts, moulds and other Colistin-sensitive microorganisms are inhibited.
- Isolates obtained on this medium should be confirmed for colistin resistance by additional tests, such as through broth microdilution method with ComASP Colistin (ref. 75001).

APPEARANCE

Slightly opalescent, light amber.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

4 months.

QUALITY CONTROL

The plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU.

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU.

Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth	Colony color
<i>Escherichia coli</i> (MCR-1 pos)	NCTC 13846	Good	Pink-reddish-mauve
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inhibited	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inhibited	---

PERFORMANCE

The sensitivity of the medium was evaluated using stool specimens spiked with colistin resistant target organisms, i.e. 16 *E. coli* and 2 *Salmonella* spp. The specificity was evaluated using 50 fresh clinical samples. The medium demonstrated an overall sensitivity of 85% and a specificity of 100%. The limit of detection (LoD) was 10³-10⁴ CFU.

A total of 67 characterised pure strains (from clinical origin) were tested on both Chromatic Colistin and ComASP Colistin, which was considered as MIC testing reference method. The tested strains included 34 strains resistant to colistin, including 12 *mcr-1* positive strains, and 33 strains susceptible to colistin. These were the results: 97%(65/67) category agreement with 5.8%(2/34) very major discrepancy rate. The two very major discrepancies (false susceptible on Chromatic Colistin) were observed to *S. marcescens* with MIC of 16 and 8 µg/l. No major discrepancies (false resistant on Chromatic Colistin) were found.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE








Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

- Zackery P, Bulman et al. (2017) Polymyxin Combinations Combat *Escherichia coli* Harboring *mcr-1* and *bla*_{NDM-5}: Preparation for a Postantibiotic Era. *mBio*. 8(4): e00540-17.
- Liu YY., Wang Y., Walsh TR. et al. (2016) Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*, 16(2): 161-8.
- Merlino J. et al. (1996) Evaluation of Colorex Orientation for differentiation and presumptive identification of Gram-negative bacilli and *Enterococcus* species. *J. Clin. Microbiol.* 34: 1788-1793.

PRESENTATION	Format	Packaging	Ref
Chromatic Colistin	90 mm Plate	20 plates	11640

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





Chromatic Colistin

Terreno cromogenico per la ricerca di microrganismi colistina-resistenti da campioni clinici ed altri materiali.

DESCRIZIONE

Chromatic Colistin è un terreno cromogenico selettivo utilizzato per l'isolamento e la differenziazione di batteri Gram-negativi resistenti alla colistina.

Il terreno è indicato per lo screening di campioni fecali e può essere utilizzato anche per la conferma di isolati batterici resistenti alla colistina provenienti da terreni di coltura non selettivi e non cromogenici.

FORMULA TIPICA (g/l)

Peptone di Carne	14.0
Peptone di Caseina	6.0
Estratto di Lievito	3.0
Sodio Cloruro	5.0
Miscela Cromogenica e Selettiva	14.0
Agar	15.0

pH Finale 7.3 ± 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL METODO

I peptoni forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. La miscela cromogenica e selettiva permette di identificare i microrganismi sulla base del colore e della morfologia delle colonie inibendo al tempo stesso la maggior parte dei Gram-positivi, lieviti e muffe nonché i batteri Gram-negativi sensibili alla colistina. L'agar è l'agente solidificante.

PROCEDURA DEL TEST

Per l'uso come screening, inoculare il terreno con tamponi rettali o feci fresche (1 g campione solido or 50 μl liquido) per spatolamento (100 μl inoculo) dopo arricchimento selettivo su terreni appropriati. Per esempio, inserire un disco da 10 μg di Colistina sulfato (ref. 9023) in una provetta da 9 ml di Brain Heart Infusion broth (ref. 24480), inoculare con il campione ed incubare a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ per 4-5 ore.

Per la conferma della ricerca delle resistenze, inoculare strisciando un ceppo puro ottenuto su una piastra non selettiva e non cromogenica.

Incubare a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ per 18-24 ore in atmosfera aerobica. Può essere necessario prolungare l'incubazione per ulteriori 24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione osservare il colore delle colonie ed interpretare i risultati come indicato nella tabella ID.

Tabella ID.

Microrganismo	Aspetto colone tipiche
<i>E. coli</i>	Rosa-rossastro-malva
<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i> spp.	Verde-blu
<i>Pseudomonas</i> spp	Giallastro-verde
Altri microrganismi resistenti alla colistina	Incolore

Consultare le figure nell'Appendice I.

NOTE:

- Solo i microrganismi Gram-negativi resistenti alla colistina possono svilupparsi su questo terreno, incluso i batteri naturalmente resistenti alla colistina come *Serratia marcescens* e *Proteus mirabilis*. Batteri Gram-positivi, lieviti, muffe ed altri microrganismi sensibili alla colistina vengono inibiti.
- Gli isolati ottenuti su questo terreno dovrebbero essere confermati per la resistenza alla colistina con test aggiuntivi, come ad esempio attraverso il metodo della microdiluzione in brodo con ComASP Colistin (ref. 75001).

ASPETTO

Ambra chiaro, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

4 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Escherichia coli</i> (MCR-1 pos.)	NCTC 13486	Buona	Colonie rosa-rossastro-malva
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inibita	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inibita	---

PERFORMANCE

La sensibilità del terreno è stata valutata utilizzando campioni di feci contaminati artificialmente con organismi target resistenti alla colistina: 16 *E. coli* e 2 *Salmonella* spp. La specificità è stata valutata utilizzando 50 campioni clinici freschi. Il terreno ha dimostrato una sensibilità totale dell'85% ed una specificità del 100%. Limite di ricerca di 10³-10⁴ UFC.

Un totale di 67 ceppi puri caratterizzati (provenienti da campioni clinici) sono stati testati su Chromatic Colistin e ComASP Colistin, quest'ultimo considerato come metodo di riferimento per la determinazione della MIC. I microrganismi testati includevano 34 ceppi resistenti alla colistina, compreso 12 ceppi mcr-1 positivi, e 33 ceppi sensibili. Risultati: Concordanza di categoria (category agreement) al 97%(65/67) con un tasso del 5.8%(2/34) di differenze davvero significative (very major discrepancy). Le due discrepanze (falsi sensibili su Chromatic Colistin) sono state osservate per *S. marcescens* con MIC di 16 ed 8 µg/l. Non sono emerse altre discrepanze significative (falsi resistenti su Chromatic Colistin).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso esclusivo in ambito professionale e deve essere utilizzato da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.








BIBLIOGRAFIA

- Zackery P. Bulman et al. (2017) Polymyxin Combinations Combat *Escherichia coli* Harboring mcr-1 and bla_{NDM-5}: Preparation for a Postantibiotic Era. mBio. 8(4): e00540-17.
- Liu YY., Wang Y., Walsh TR. et al. (2016) Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis, 16(2): 161-8.
- Merlino J. et al. (1996) Evaluation of Colorex Orientation for differentiation and presumptive identification of Gram-negative bacilli and *Enterococcus* species. J. Clin. Microbiol. 34: 1788-1793.

PRESENTAZIONE

Formato	Confezionamento	Ref.	
Chromatic Colistin	Piastre 90 mm	20 piastre	11640

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>In Vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com



