

BD BBL CHROMagar ESBL (Biplate)

TILSIGTET BRUG

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) er et selektivt chromogent screeningmedium til isolering af *Enterobacteriaceae* og visse andre Gram-negative stave, der producerer extended-spectrum beta lactamases (ESBL). Relevante præparater indeholder rektale podninger og en række andre kliniske præparater (se **Præparattyper**). Mediet giver desuden mulighed for identifikation af *E. coli* uden yderligere bekræftelsestests og for påvisning af *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia*- og *Proteus-Morganella-Providencia*-gruppen af organismer, hvis isolaterne er resistente over for antibiotika i mediet. Via yderligere tests skal det bekræftes, at isolater indsamlet på dette medium er ESBL-producerende.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Resistens over for bredspektrede beta-laktamer, herunder tredje generation cephalosporiner, formidles via en række resistensmekanismer. Blandt disse er plasmid-formidlet resistens fra extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) den vigtigste mekanisme, da den spredes epidemisk på intensivafdelinger og i andre hospitalsmiljøer. Normalt er ESBL-producerende stammer følsomme over for beta-lactamase-hæmmere (f.eks. clavulansyre), cephamyciner (f.eks. cefoxitin) og carbapenemer.^{1,5} For nyligt er det påvist, at stammer, der udviser resistens over for carbapenemer (carbapenemaseproducenter), også udviser resistens for tredje generation cephalosporiner (med undtagelse af enkelte OXA-48-producenter).²

Disse typer af beta-lactamase-enzym er fundet i *Klebsiella*, *Escherichia coli* og, i sjældne tilfælde, i andre slægter af *Enterobacteriaceae*.

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) er baseret på **BBL CHROMagar Orientation**, der oprindeligt blev udviklet af A. Rambach, CHROMagar, Paris, Frankrig. BD har under en licensaftale optimeret denne formulering ved brug af navnebeskyttet åndelig ejendom anvendt ved fremstilling af det præparerede medium **BBL CHROMagar Orientation**. I **BBL CHROMagar Orientation Medium** leverer specielt udvalgte peptoner næringsstofferne.

Chromogenblandingen består af kunstige substrater (chromogener), som frigiver forskelligt farvede stoffer efter nedbrydning fra specifikke mikrobielle enzymer, og sikrer således den direkte differentiering af visse arter eller påvisningen af visse organismegrupper med blot et minimum af bekræftende tests. Via udvikling af de forskellige farver giver de chromogene medier i **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** mulighed for nem påvisning af blandede kulturer af Gram-negative og identifikation af *E. coli* (rosa til grållilla) uden yderligere bekræftelsestests og påvisning af *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* (blågrøn til blå) og *Proteus-Morganella-Providencia* (farveløs til gyldenbrun med brune haloer i mediet) samt andre Gram-negative stammer (vises med deres naturlige farve), hvis isolaterne er resistente over for cephalosporiner med udvidet spektrum i medierne.

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) består af to medier, der udfyldes på en dobbeltplade. De to medier indeholder forskellige tredjegenations cephalosporin i en passende koncentration, der giver mulighed for påvisning af resistens, samt andre selektive stoffer til hæmning af medfølgende flora, der er til stede i præparatet. Medium 2 indeholder desuden titandioxid for at muliggøre nem visuel differentiering af de to medier. Begge medier skal inokuleres med samme præparat eller isolat. Gram-negative-bakterier som f.eks. *Enterobacteriaceae* og visse non-fermentorer producerer vækst på mediet, hvis de er resistente over for de inkluderede antimikrobielle stoffer.

Med traditionelle metoder skal de præparater, der forventes at indeholde ESBL-producenter, først lægges på pladen på standardiseringsmedier for at der kan opnås rene kulturer. Efter inkubation skal de testes for følsomhed. Testprocessen for isolerings og følsomhed tager mindre

end 48 timer. Da kun en relativt lille procentdel af præparater indeholder ESBL-producenter, er dette tidskrævende og dyrt.

Ved brug af **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** udstryges præparatet på begge medier på pladen. Efter inkubation natten over i 18 til 28 timer (det optimale er 20-22 timer) indikerer vækst på et isolat på ét eller begge medier tilstedeværelsen af en potentiel ESBL-producent.

Bekræftelse via følsomhedstests eller molekylærmetoder er nødvendig.

Ved sammenligning med ikke-selektiv isolering efterfulgt af følsomhedstest reducerer brugen af dette produkt arbejdsbyrden og giver mulighed for hurtigere påvisning af ESBL.

REAGENSER

BBL CHROMagar ESBL (Biplate)

Formel* pr. liter oprenset vand

Medium 1 (klar)		Medium 2 (uklar)	
Chromopepton	16,1 g	Chromopepton	16,1 g
Kromogenblanding	1,3	Kromogenblanding	1,3
Selektive stoffer	0,24	Selektive stoffer	0,24
Agar	15,0	Titanoxid (uopløseligt)	0,35
		Agar	15,0
pH 6,8 +/- 0,2			

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

IVD Kun til professionel brug. ②

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologiske farer og bortskaffelse af brugte produkter.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i **mørke** ved 2 til 8 °C i deres originale hylsterindpakning indtil umiddelbart inden ibrugtagning. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i én uge, når de opbevares i et rent område ved 2 til 8 °C i mørke. **Sørg for at mindske udsættelse for lys før og efter inkubation, da lys kan ødelægge chromogenerne.**

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokuler repræsentative prøver med de følgende stammer på hvert medium (se **Præparattyper** og **Testprocedure** for flere oplysninger). Inkubér pladerne i omvendt position ved 35 til 37 °C aerobt i 20 - 22 timer.

Stammer	Vækstresultater (begge medier)
<i>E. coli</i> DSM 22314 (ESBL-producent)	Medium 1 (klar): Vækst moderat til fortrinlig, kolonier rosa til grållilla. Medium 2 (uklar): Ingen vækst eller moderat vækst, kolonier rosa til grållilla.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (ESBL-producent)	Begge medier: Vækst moderat til fortræffelig; kolonier blå til blågrønne.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (ikke-ESBL-producent)	Begge medier: Hæmning fuldstændig
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Begge medier: Hæmning fuldstændig

<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Begge medier: Hæmning fuldstændig
Ikke-inokuleret	Medium 1 (klar): Gennemsigtig, farveløse til meget lysegule (kan indeholde op til et moderat antal små partikler) Medium 2 (uklar): Ugennemsigtig, hvid til cremefarvet

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) (90 mm **Stacker**-dobbeltplader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpekulturbedier, reagenser og laboratorieudstyr.

Præparattyper

Dette produkt bruges hovedsagligt til påvisning af kolonisering med ESBL-producerende stammer for hjælp til forebyggelse og kontrol af ESBL-infektioner i sundhedsvæsenet, særligt på intensivafdelinger. Anvendes primært med rektale podninger, men kan anvendes med kliniske præparater fra andre kropsområder (f.eks. podninger fra næse, sår, hals, urethral og lyske), der mistænkes for at indeholde extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producerende *Enterobacteriaceae* eller andre Gram-negative, aerobt voksende stammer med høj resistens over for extended spectrum beta lactams. Det anbefales at bruge transportanordninger, som er godkendt til indsamling af mikrobiologiske kliniske prøver. Følg de anbefalede procedurer fra fabrikanten af transportanordningen.

Brugeren kan også se relevante referencer for at få oplysninger procedurer for prøveindsamling og håndtering.^{3,4}

Kan også bruges til videredyrkning af potentielle ESBL-producerende stammer fra andre medier. Direkte inokulation med koloner frarådes. For at undgå overinokulation skal kolonierne først opslæmmes i saltvand (se **Testprocedure**), og en podenål fuld skal udstryges på hvert medie.

Testprocedure

CHROMagar ESBL skal inokuleres direkte fra podningen uden præ-berigelse eller fra en isoleret koloni, der er opslæmmet i saltvand, så der opnås 0,5 McFarland-uklarhed. Direkte inokulering fra isolerede kolonier anbefales ikke, da det høje inokulumniveau i sjældne tilfælde kan give falske positive resultater.

Inokulér præparatet med en podelpind eller podenål på begge medier på en **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**-plade, og udstryk for isolering ved hjælp af en podenål. Følgende procedure for inokulation skal følges nøje for at der opnås isolerede kolonier med typisk udseende.

Utilstrækkelig inokulation eller inokulation af hele medieoverfladen udelukkende med podelpinde (uden brug af podenåle til isolationsudstrygning) kan udløse forkerte resultater eller kan gøre pladen ulæselig. Undgå at inokulere mere end ét præparat pr. plade. Begge sider af denne dobbeltplade skal inokuleres med samme præparat.

Procedure for inokulation og inkubation:

1. Dup podelpinden på et lille område af det første **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**-medie: Undgå at overinokulere! Fjern podelpinden fra det medie, der netop er blevet inokuleret.
2. Drej podelpinden let, og inokulér det andet **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**-medie: dup podelpinden på det første udstrygningsområde fra det første medie. Undgå at overinokulere!

Bemærk, at inokulationsrækkefølgen ikke har nogen indflydelse på resultatet.

3. Sæt podelpinden tilbage i prøverøret.
4. Brug podenålene til at udføre udstrygning på pladerne. Udstryk til isolering! Færdiggør først de første udstrygningsområder, og udstryk derefter andet og tredje udstrygningsområde på begge medier. Det anbefales at bruge en frisk podenål til hver side af testproduktet.

5. Inkubér aerobt ved 35 til 37° C i 18 til 28 timer (det optimale er 20-22 timer), i omvendt position (mediumsiden opad). Undgå at inkubere i længere tid, og undgå at inkubere i en atmosfære, der er beriget med kuldioxid. Undgå udsættelse for lys under inkubation, da dette kan ødelægge chromogenerne. Så snart koloniernes farver har vist sig, er udsættelse for lys tilladeligt.

6. Læs pladerne som beskrevet i **Resultater og tolkning**.

Afhængigt af typen af og formålet med præparatet, skal andre medier også inokuleres for at muliggøre komplet påvisning af alle indeholdte patogener. Sådanne medier omfatter som minimum en ikke-selektiv blodagarplade.

Resultater og tolkning

Efter inkubation vil præparater, der indeholder isolater, som er resistente over for de hæmmere, der er inkluderet i mediet, vokse. Selvom de fleste ESBL-producerende stammer vil vokse på begge medier på en dobbeltplade, findes der stammer med en in-vitro-følsomhed over for ét af de antimikrobielle stoffer, og som derfor kun vil vokse på ét af medierne. Pladerne bør vise isolerede kolonier i de områder, hvor podestoffet blev fortyndet korrekt. Der skal udføres relevante følsomhedstests og molekylærmeter for at bekræfte tilstedeværelsen af ESBL-producerende isolater.

Manglende vækst på **begge** medier indikerer, at præparatet ikke indeholder stammer, som er resistente over for de antimikrobielle stoffer, der findes på mediet.

Bemærk, at misfarvning af medier uden synlige kolonier (der kan forekomme, hvis medier er blevet overinokulerede med fæcespræparater eller med for høje bakterieniveauer) betragtes som et negativt resultat (se også **Procedurens begrænsninger**).

Differentiering og/eller identifikation af isolater efter kolonifarve og udseende

Rosa til pink (grållilla) kolonier: *Escherichia coli*; en valgfri indoltest med **BD BBL DMACA Indole Reagent Droppers** (BD BBL DMACA-pipetter til indolreagens) (kat. nr. 261187) kan udføres på filterpapir for bekræftelse af *E. coli* (indol-positiv). Undgå, at der kommer indolreagens på mediets overflade!

Bemærk: visse *Citrobacter*-stammer, f.eks. *Citrobacter braakii*, har vist sig at producere violette til lilla kolonier på **BBL CHROMagar Orientation**, og, hvis de er resistente over for de angivne antibiotika, på **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**. Biokemisk identifikation anbefales i forbindelse med sådanne stammer.

Blå til blågrønne kolonier, som muligvis er omkranset af en rosa til grållilla zone: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* eller andre. Der skal udføres yderligere tests for identifikation. Der er flere oplysninger i brugsanvisningen til **BBL CHROMagar Orientation** (se: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Farveløse til gyldenbrune kolonier med brunlige haloer i mediet: *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* stammer. Der skal udføres yderligere tests for komplet identifikation. Der er flere oplysninger i brugsanvisningen til **BBL CHROMagar Orientation** (se: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

I sjældne tilfælde kan *Pseudomonas aeruginosa* producere diffunderende, brunt pigment, der efterligner *Proteus*. For differentiering skal der udføres en oxidase-test (se nedenfor).

Farveløse kolonier: Udfør en oxidase-test: hvis positiv, og den typiske frugtagtige luft og/eller grønlig, blålig eller brunlig pigmentering (pga. organismens eget pigment) forekommer → *Pseudomonas aeruginosa*. Det anbefales at bruge **BD Oxidase Reagent Droppers** (BD-pipetter til oxidasereagens) (kat. nr. 261181) til denne test. Udfør oxidase-testen på filterpapir som beskrevet i brugsanvisningen til denne test, men ikke på kolonierne på pladen. Bekræftelse via yderligere tests anbefales.

Pseudomonas aeruginosa vokser ofte på pladens uigennemtsigtige side (=naturlig resistens); stammer med en højere resistens mod antibiotika vokser også på den klare side. For at afgøre det eksakte resistensmønster, skal alle isolater af *P. aeruginosa* fra dette medium testes for følsomhed med de relevante metoder. Hvis oxidase er negativ eller tvetydig, skal der udføres komplet biokemisk identifikation. Farveløse oxidase-negative kolonier kan indeholde non-fermentorer som f.eks. *Acinetobacter* eller *Enterobacteriaceae*, som ikke

metaboliserer nogen af de inkluderede chromogener, f.eks. *Salmonella*. Disse arter kan også udvise resistens over for tredje generations-cephalosporiner og skal ignoreres!

Blandede kulturer på BBL CHROMagar ESBL (Biplate)-pladen: de kan normalt nemt genkendes og differentieres fra hinanden ved forskellige kolonifarver. For eksempel vil en blandet kultur med *Klebsiella* og *E. coli* vise blå kolonier (*Klebsiella*), og rosa til grållilla kolonier (*E. coli*).

Undersøg pladen for tilstedeværelsen af forskellige kolonityper og -farver.

Videredrykninger på **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** anbefales, hvis der findes mere end to forskellige kolonityper eller -farver på pladen.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) er et selektivt chromogent screeningmedium til direkte identifikation og differentiering af *Enterobacteriaceae* og visse andre Gram-negative stave, som er resistente over for extended spectrum beta-lactams, som tillader påvisning af ESBL-producerende stammer. Mediet giver mulighed for direkte biokemisk identifikation af resistente *E. coli* og differentiering af andre *Enterobacteriaceae* efter kolonifarve. Gram-positive bakterier og gær er normalt hæmmede.

Via yderligere tests skal det bekræftes, at isolater indsamlet på dette medium er ESBL-producerende.

Præstationsresultater

I en ekstern effektivitetsevaluering blev 320 kliniske præparater testet (bestående af 277 rektale podninger, 12 orale/svælgpodninger, 11 næsepodninger og 20 diverse præparater) på mediet ved udstrykning af podninger fra præparattransportmedie direkte på medierne. Af disse 320 præparater var 108 positive og 212 negative som påvist i en intern metode (automatiske og manuelle følsomhedstests, herunder CLSI Confirmatory Test for ESBL-producerende isolater på Mueller Hinton II Agar). På **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** blev der påvist en følsomhed på 100 % og en specificitet på 93 %.⁶

Intern evaluering af effektivitet

Påvisningsgrænser (LOD)

BBL CHROMagar ESBL (Biplate) blev evalueret for at påvise detektionsgrænsen for ESBL-producerende stammer. Tre teststammer (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *E. coli* DSM 22664 og *E. coli* ENF 11013 blev evalueret for bedring på **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**. Plader med non-selektiv Columbia Agar med 5 % fåreblod blev brugt til at bestemme organismekoncentrationen udtrykt i kolonidannende enheder (Colony Forming Units, CFU) for hver fortynding. Detektionsgrænsen for **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** lå fra 8-16 CFU ved 24 t (gnsn. 13 CFU).

Påvisning af resistens

Stammer af følgende resistenstyper er påvist på **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)**:

Arter	Resistenstyper	Arter	Resistenstyper
<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>Salmonella species</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	Ikke- <i>Enterobacteriaceae</i>	
	VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP
<i>Klebsiella oxytoca</i>	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		

Denne liste indeholder carbapenemase-producerende stammer², der vokse på mediet med den respektive, karakteristiske kolonifarve. Bemærk, at der skal udføres tests til bekræftelse af carbapenemase-produktion.

Procedures begrensninger

Bemærk, at begge medier på denne dobbeltplade skal inokuleres med samme præparat. Undgå at forsøge at inokulere mere end ét præparat pr. plade!

Den biokemiske identifikation af arter eller gruppeniveau (baseret på chromogeniske reaktioner på mediet) er endelig, men resistens skal bekræftes via godkendte testmetoder for følsomhed. Identifikation af blå, blågrønne og farveløse isolater i præparatniveauer skal udføres med biokemiske tests.

Visse Gram-positive bakterier kan være resistente over for hæmmer og kan vokse på medier.

Da isoleringen af ESBL-producerende stammer afhænger af antallet af organismer, der findes i prøven, afhænger opnåelsen af pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, -håndtering og -opbevaring (se **PROCEDURE – Præparattyper**).

Et højt bakterieniveau og/eller visse præparater kan frembringe uspecifik farvning af det primære udstrykningsområde på mediet. Dette kan resultere i, at mediet udviser gråilla, lilla, grøn eller blå farvning eller et let sløret udseende på toppen af mediet, men uden tydelige kolonier. Dette skal tolkes som negativt.

Undgå at inkubere i mindre end 18 timer, da det kan medføre mindre kolonier og/eller svag kolonifarvning. Den ideelle inkubationstid er 20 til 22 timer. Inkubationen må højst vare i 28 timer. I forbindelse med blandede kulturer kan en længere inkubation resultere i sammenflydende kolonier, der kan være svære at adskille og rendyrke.

I sjældne tilfælde kan ESBL-producerende stammer af *Proteus* spp. producere svag vækst på dette medium, specielt i forbindelse med lav CFU.

Det frarådes at ignorere isolater med farveløse kolonier ved screening for ESBL-producenter på dette medium. Udfør en oxidase-test fra disse isolater. Hvis testen er negativ, skal der udføres komplet biokemisk identifikation af isolatet.

Selvom en hæmmer for ampC/cephalosporinase-hyperproducenter er blevet tilføjet på mediet, vil en vis procentdel af sådanne stammer stadig vokse. Derfor skal **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** anvendes til **screening og ikke til endelig identifikation** af ESBL-producenter. Specifikke følsomhedstests eller molekylære metoder er nødvendige for påvisning af den eksakte type resistens, der udtrykkes af isolatet.

Før **BBL CHROMagar ESBL (Biplate)** bruges for første gang, anbefaler vi at indøve den typiske kolonis udseende af MRSA med definerede stammer, f.eks. de stammer, der er nævnt under **BRUGERKVALITETSKONTROL**.

LITTERATUR

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. Krisher, 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 β -lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev. 18: 657-686.
6. Data i arkiv. Becton Dickinson GmbH.

EMBALLERING/BESTILLING

BD BBL CHROMagar ESB (Biplate)

Kat. Nr.

Beskrivelse



257606

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD-repræsentant angående yderligere oplysninger.



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.