



BD BBL™ CHROMagar™ CPE

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BD BBL CHROMagar CPE представлява селективна хромогенна скринингова среда за разпознаването на карбапенемаза-продуциращи *Enterobacteriaceae* (CPE). Подходящите проби включват ректални и перианални натривки и различни други клинични проби (вижте **Видове проби**). Също така средата предоставя възможност за идентифицирането на *E. coli* без допълнителни потвърдителни тестове, както и за детекцията на групите организми *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* и *Proteus-Morganella-Providencia*. Изолатите, получени на тази среда, трябва да бъдат потвърдени като продуценти на карбапенемаза чрез допълнителни тестове.

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Резистентността към карбапеними при грам-отрицателни бактерии е нарастващ проблем сред нозокомиалните инфекции. Резистентността може да има различни причини, но най-честата е световното разпространение на бактерии, продуциращи карбапенемази, които могат да хидролизират не само карбапенемите, но и други бета-лактамни антибиотици. Гените, кодиращи карбапенемазите, обикновено са локализирани на плазмиди, които могат да бъдат прехвърлени и на други видове. Диагностичната процедура е комплексна и следователно е важно да се скъси и опрости разпознаването на тези бактерии, резистентни на карбапеними.¹⁻³

BBL CHROMagar CPE се основава на **BBL CHROMagar Orientation** (BBL хром-агар ориентация), първоначална разработка на A. Rambach, CHROMagar, Париж, Франция. BD, по лицензионно споразумение, оптимизира тази формула чрез патентована интелектуална собственост, използвана при производството на готова среда в петрита **BBL CHROMagar Orientation**. В средата **BBL CHROMagar Orientation** хранителни вещества се доставят от специално избрани пептони. Хромогенната смес се състои от изкуствени субстрати (хромогени), които освобождават различно оцветени съединения при разграждането от специфични микробни ензими, гарантирайки с това непосредственото диференциране на определени видове или детекция на определени групи организми с минимален брой потвърдителни тестове. Чрез развитието на различни цветове хромогенната среда, предоставена в **BBL CHROMagar CPE**, предоставя възможност за лесното разпознаване на смесени култури от грам-отрицателни бактерии и определянето на *E. coli* (розови до розово-лилави) без допълнителни потвърдителни тестове, както и за разпознаването на *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* (синьо-зелени до сини) и *Proteus-Morganella-Providencia* (безцветни до жълто-кафяви с кафяв ореол, простиращ се в средата) и други родове (проявяващи се в своя естествен цвят). В допълнение **BBL CHROMagar CPE** съдържа карбапенем в подходяща концентрация, за да предостави възможност за разпознаването на резистентност, заедно с други селективни агенти, за да инхибира съпътстващата флора, присъстваща в пробата. Грам-отрицателни бактерии, като например *Enterobacteriaceae* и неферментиращите бактерии, ако са резистентни към включените антимикуробни агенти, ще доведат до растеж на средата.

Конвенционалното фенотипно разпознаване на карбапенемаза-продуциращи патогени изисква изолирането на щам в чиста култура на неселективна среда, последвано от няколко теста за чувствителност, за да се определи типът на резистентност, което е времеемко и скъпо.

При **BBL CHROMagar CPE** пробата се посява с щрих на средата. След инкубиране през нощта (18 – 24 часа) растежът на изолат на средата е силно заключителен за наличието на *Enterobacteriaceae*. Необходимо е потвърждение чрез тестове за чувствителност, молекулярни или фенотипни методи.

В сравнение с неселективно изолиране, последвано от изследване на чувствителността, употребата на този продукт понижава работното натоварване и ускорява времето за разпознаване на CPE.

РЕАГЕНТИ

BBL CHROMagar CPE

Формула* на литър пречистена вода

Хромопептон	16,1 g
Хромогенна смес	1,3
Селективни агенти	0,23
Агар	15,0
pH 6,8 ± 0,2	

*Коригирана и/или допълнена според нуждите, за да съответства на критериите за работни характеристики.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

IVD Само за професионална употреба. 

Не използвайте петритата, ако има признаци на микробно замърсяване, обезцветяване, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане.

Разгледайте документа **ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА** относно асептичните манипулационни процедури, биологичните опасности и изхвърлянето на използвания продукт.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

След получаване съхранявайте петритата **на тъмно**, при температура от 2 до 8 °C, в оригиналната им маншетна опаковка до момента на непосредствената им употреба. Избягвайте замразяване и прегряване. Петритата могат да бъдат инокулирани до изтичане на срока на годност (вижте етикета на опаковката) и инкубирани според препоръчаните инкубационни периоди.

Отворените комплекти от 10 петрита могат да се използват в продължение на една седмица при съхранение на чисто и тъмно място при температура от 2 до 8 °C. **Сведете до минимум излагането на светлина преди и по време на инкубация, тъй като светлината може да разруши хромогените.**

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Инокулирайте представителни проби със следните щамове на средата (за подробности вижте **Видове проби** и **Тестова процедура**). Инкубирайте петритата, за предпочитане в обърната позиция, при температура от 35 до 37 °C аеробно за 18 – 24 часа.

Щамове	Резултати на растежа
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 (KPC продуцент)	Умерен до отличен растеж; сини до синьозелени колонии
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13443 (NDM-1 продуцент)	Умерен до отличен растеж; сини до синьозелени колонии
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13476 (IMP продуцент)	Умерен до отличен растеж; розови до розоволилави колонии
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Пълно инхибиране
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Пълно инхибиране
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Пълно инхибиране
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Пълно инхибиране
Без инокулат	Безцветни до много светложелатинни, прозрачни (може да съдържат до умерено

ПРОЦЕДУРА

Предоставени материали

BBL CHROMagar CPE (90 mm **Stacker** двойни петриев панички). Микробиологично проверени.

Необходими, но непредоставени материали

Допълнителна културална среда, реагенти и лабораторно оборудване.

Видове проби

Този продукт се използва основно за разпознаване на колонизирането от карбапенемаза-продуциращи щамове в помощ на превенцията и контрола на CPE инфекции в болнични среди, особено в клиники по интензивно лечение. Той се използва основно с ректални и перианални натривки, но може да бъде използван с проби от други телесни части, суспектни за съдържание на карбапенемаза-продуциращи *Enterobacteriaceae*. Използването на транспортни устройства, одобрени за събиране на клинични микробиологични материали, е препоръчително. Спазвайте препоръчителните процедури на производителя на транспортното устройство.^{4,5}

Той може също така да бъде използван за субкултивационен потенциал на CPE щамове от друга среда. Директно инокулиране с колонии не е препоръчително. За да се избегне прекомерно инокулиране, coloniите трябва първо да се разтворят във физиологичен разтвор (вижте **Тестова процедура**) и на всяка среда трябва да се нанесе с щрих количеството от едно йозе.

Тестова процедура

BBL CHROMagar CPE трябва да се инокулира директно от натривката без предварително обогатяване или от изолирана колония, разтворена във физиологичен разтвор, за да съответства на приблизително 0,5 мътност по McFarland. Директното инокулиране от изолирани колонии не е препоръчително, тъй като високото ниво инокулум може в редки случаи доведе до фалшиво положителни резултати.

Инокулирайте пробата чрез тампон за натривка или йозе и на среда **BBL CHROMagar CPE** и щриховайте чрез йозе за изолиране на единични колонии. Следната процедура за инокулация трябва да се приложи стриктно, за да се получат изолирани колонии с техния типичен външен вид. Недостатъчно инокулиране или инокулиране на цялата повърхност от средата само чрез тампони за натривка (без употребата на йозе за щриховане за изолиране на единични колонии) може да доведе до грешни резултати или да доведе до петри, невъзможно за разчитане. Не инокулирайте повече от една проба на петри.

Процедура на инокулиране и инкубиране:

1. Докоснете леко тампона за натривка върху малка област от средата **BBL CHROMagar CPE**: Не прилагайте прекомерно инокулиране! Отстранете тампона от средата и върнете тампона в неговата епруветка за проба.
2. Чрез йозета довършете щриховането на петрито. Нанесете щрих за изолиране на единични колонии! Първо приключете първата област на щриховане и щриховайте втората и третата област от средата.
3. Инкубирайте аеробно при температура от 35 до 37 °C за 18 до 24 часа за предпочитане в обърната с дъното нагоре позиция (със страната със среда нагоре). Не инкубирайте за по-дълго време и не инкубирайте в атмосфера, обогатена с въглероден диоксид.
Избягвайте излагане на светлина по време на инкубацията, тъй като това може да разруши хромогените. След развиване на цвета на coloniите излагането на светлина се допуска.
4. Отчетете петритата според описаното в **Резултати и интерпретиране**.

В зависимост от вида и целта на пробата може да се инокулира и друга среда, за да се предостави възможност за цялостно разпознаване на всички съдържими патогени. Такава среда съдържа поне неселективно петри с кръвен агар.

Резултати и интерпретиране

След инкубиране ще прораснат проби, съдържащи изолати, които са резистентни на инхибиторите, включени в средата. Петритата трябва да покажат изолирани колонии в областите с подходящо разреждане на инокулата. За да се потвърди присъствието на CPE изолати, трябва да се проведат подходящи тестове за чувствителност, молекулярни или фенотипни методи.

Липса на растеж на средата сочи, че пробата не съдържа щамове, резистентни на антимикробните агенти, включени в средата.

Обърнете внимание, че обезцветяването на средата без видими колонии (което може да се случи, ако средата е била инокулирана прекомерно с фекални проби или с прекалено високи бактериални натоварвания) се счита за отрицателен резултат (вижте също

Ограничения на процедурата).

Диференциране и/или идентифициране на изолата/ите според цвета и външния вид на колонията

Розови до пурпурни (розоволилави) колонии: *Escherichia coli*; незадължителен индолов тест чрез **BD BBL DMACA Indole Reagent Droppers** (Индолови капкови реагенти BD BBL) (кат. No 261187) може да бъде проведен на филтърна хартия за потвърждаване на *E. coli* (индол положителни). Не прилагайте индоловия реагент на повърхността на средата!

Забележка: определени щамове *Citrobacter freundii* продуцират виолетови и лилави колонии на **BBL CHROMagar CPE**. За такива щамове е препоръчително биохимично идентифициране.

Сини до синьозелени колонии, които могат да са заобиколени от розова до розоволилава зона: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* или други. За идентифициране са необходими допълнителни тестове. За подробна информация вижте инструкциите за употреба на **BBL CHROMagar Orientation** (вижте: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Безцветни до жълтокафяви и жълтокафяви до светлосини колонии с кафеникав ореол, простиращ се в средата: щамове *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. За цялостно идентифициране са необходими допълнителни тестове. За подробна информация вижте инструкциите за употреба на **BBL CHROMagar Orientation** (вижте: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

В редки случаи *Pseudomonas aeruginosa* може да произведе разтворим кафяв пигмент, наподобявайки *Proteus*. За диференциране може да се проведе оксидазен тест (вижте по-долу).

Безцветни колонии: Проведете оксидазен тест: Ако е положителен и се долови типичният плодов аромат и/или зеленикава, синкава или кафеникава пигментация (поради собствения пигмент на организма) → *Pseudomonas aeruginosa*. За този тест се препоръчва употребата на **BD Oxidase Reagent Droppers** (Оксидазни капкови реагенти BD) (кат. No 261181). Проведете оксидазния тест на филтърна хартия според описаното в инструкциите за употреба на този тест, но не върху колонии в петрито. Препоръчително е потвърждение чрез допълнителни тестове.

За да се определи техният точен модел на резистентност, всички изолати от *P. aeruginosa* от тази среда трябва да бъдат изследвани за чувствителност чрез одобрени методи. Ако оксидазният тест е отрицателен или неопределен, проведете пълно биохимично идентифициране. Безцветни, отрицателни за оксидаза колонии могат да включват неферментиращи бактерии, като например *Acinetobacter* или *Enterobacteriaceae*, които не метаболизират никой от включените хромогени, като например *Salmonella*.

Смесени култури на петрито BBL CHROMagar CPE: те обикновено могат да бъдат лесно разпознати и диференцирани една от друга чрез различния цвят на колонииите. Като пример смесена култура на *Klebsiella* и *E. coli* ще покаже сини колонии (*Klebsiella*) и розови до розоволилави колонии (*E. coli*).

Инспектирайте петрито за присъствие на различни видове и цветове колонии.

Субкултури на **BBL CHROMagar CPE** са препоръчителни, ако на петрито се откриват повече от два различни вида или цвята колонии.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

BBL CHROMagar CPE представлява селективна хромогенна скринингова среда за директно разпознаване и диференциране на карбапенемаза-продуциращи *Enterobacteriaceae*. Средата предоставя възможност за директно биохимично идентифициране на резистентни *E. coli* и диференциране на други *Enterobacteriaceae* според цвета на колонииите. Грам-положителните бактерии и дрождите обикновено се инхибират.⁶

Изолатите, получени на тази среда, трябва да бъдат потвърдени за производство на карбапенемаза чрез допълнителни тестове.

Външна оценка на работата

При външно оценяване на работните характеристики 227 клинични проби (състоящи се от 174 ректални и 6 перианални натривки, 10 орални/гърлени натривки, 9 назални натривки и 28 случайни проби) бяха изследвани на средата чрез щриховане на натривките от транспортната среда на пробата директно на средата. От тези 227 проби 21 са дали положителен резултат за CPE, а 206 са били отрицателни, определени чрез локалния метод (фенотипен и молекулярен методи). На **BBL CHROMagar CPE** бяха определени чувствителност от 100% и специфичност от 94%.⁷

Вътрешна оценка на работната характеристика

274 добре характеризирани щама от различни географски региони са били изследвани във вътрешна оценка. Те са се състояли от 183 CPE щама (включително клас A по Ambler: 57 KPC, 2 SME; клас B по Ambler: 39 NDM, 14 VIM, 11 IMP; клас D по Ambler: 53 OXA-48, 1 OXA-162, 2 OXA-163, 4 OXA-181) и 91 щама без CPE (69 ESBL, 2 с дефицит на порини, 12 AmpC, 1 OXY-1, 7 тип Wild). **BBL CHROMagar CPE** е показал цялостна чувствителност от 94,5% и специфичност от 92,3%. Индивидуалните чувствителности за карбапенемази от класове A, B и D по Ambler са били съответно 96,6%, 90,6% и 96,7%. Средата правилно е засякла всички изследвани продуценти на OXA-48 (клас D по Ambler).⁸

раници на откриване (Limit of Detection, LOD)

BBL CHROMagar CPE беше оценена за определяне на границата на откриване (LOD) на карбапенемаза-продуциращи щамове. Четири щама (*K. pneumoniae* NCTC 13438, *K. pneumoniae* NCTC 13443, *E. coli* NCTC 13476 и *E. coli* ENF 18034) бяха оценени за прорастване на **BBL CHROMagar CPE**. Използвани са петрита с неселективен Columbia Agar с 5% овча кръв за определяне на концентрацията на микроорганизми, изразена чрез колонии, образуващи единици (CFU) за всяко разреждане. LOD за **BBL CHROMagar CPE** беше в обхвата от 16 до 31 CFU/мл (средно 23,5 CFU/мл) след 24 часа инкубация.⁸

Разпознаване на резистентност

Щамове от следните резистентни видове бяха разпознати на **BBL CHROMagar CPE⁶**:

Таблица 1: Изследвани щамове и резистентни типове, разпознати на BD BBL CHROMagar CPE.

Щам	Клас карбапенемаза (клас по Ambler)	Карбапенемаза (карбапенемазни ензими) [β-лактамазно съдържание]
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Клас B	NDM-1, NDM-2 VIM IMP-1 SIM-1
	Клас D	OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-51, OXA-58, OXA-64, OXA-72, OXA-91, OXA-97, OXA-143
<i>Acinetobacter sp.</i>	Клас B	VIM-4
<i>Acinetobacter junii</i>	Клас B	IMP-1
<i>Citrobacter freundii</i>	Клас A	KPC-2, KPC-3
	Клас B	NDM-4 IMP-4
	Клас D	OXA-48, OXA-181
<i>Citrobacter koseri</i>	Клас D	OXA-48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Клас A	KPC, KPC-1, KPC-2, KPC-3
	Клас B	NDM, NDM-1 VIM, VIM-1, VIM-4, VIM-19 IMP-1, IMP-4, IMP-8
	Клас D	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Клас A	KPC-2, KPC-3
	Клас B	VIM, VIM-4
<i>Escherichia coli</i>	Клас A	KPC, KPC-2, KPC-3, KPC-4, KPC-5
	Клас B	NDM, NDM-1, NDM-4 VIM, VIM-4, VIM-19 IMP, IMP-1, IMP-8
	Клас D	OXA-48
<i>Enterobacter asburiae</i>	Клас A	IMI-2
<i>Enterobacter cloacae</i>	Клас A	KPC, KPC-2, KPC-3, KPC-4
	Клас B	NDM, NDM-1, NDM-4 VIM-4 IMP-8
	Клас D	OXA-48, OXA-163
<i>Enterobacter sp.</i>	Клас B	NDM
<i>Proteus mirabilis</i>	Клас B	NDM-1
<i>Providencia rettgeri</i>	Клас B	NDM, NDM-1
	Клас D	OXA-48, OXA-181
<i>Providencia stuartii</i>	Клас B	NDM-1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Клас A	KPC-2, KPC-5
	Клас B	VIM-1, VIM-2, VIM-4, VIM-13 IMP-7

<i>Salmonella</i> spp.	Клас В	IMP-4
<i>Serratia marcescens</i>	Клас А	KPC, KPC-2
		SME-1, SME-2
	Клас В	IMP-1
	Клас D	OXA-48

Ограничения на процедурата

Не се опитвайте да инокулирате повече от една проба на петри!

Въпреки че биохимичното идентифициране на видовете или групите нива (според хромогенните реакции на средата) е окончателно, резистентността трябва да бъде потвърдена чрез одобрени методи.

Идентифицирането на сини, синьозелени и безцветни изолати на видово ниво трябва да бъде проведено чрез биохимични тестове.

Някои грам-положителни бактерии могат да са резистентни към инхибиторите и да растат на средата.

Въпреки че към средата е добавен инхибитор на *ampC* продуценти, определен процент от тези щамове ще прорасне. Поради това **BBL CHROMagar CPE** се счита за **скрининг**, а **не за окончателно идентифициране** на карбапенемаза продуценти. За определянето на точния вид резистентност, експресиран от изолатите, са необходими специфични тестове за чувствителност или молекулярни методи.

Неентеробактериални карбапенем-устойчиви грам-отрицателни пръчици (т.е. *Acinetobacter* spp. и *Pseudomonas* spp.) могат да растат (проявявайки се в естествения си цвят). Не е препоръчително да се пренебрегват изолати с безцветни колонии при скрининг за карбапенем-резистентни микроорганизми на тази среда. Проведете оксидазен тест от тези изолати. Ако тестът е отрицателен, проведете пълно биохимично идентифициране на изолата. За допълнителни процедури за диференциране вижте **ПРОЦЕДУРА – Резултати и интерпретиране**.

Тъй като изолирането на CPE щамове зависи от броя на организмите в пробата, надеждността на резултатите зависи от правилното вземане, манипулиране и съхранение на пробата (вижте **ПРОЦЕДУРА – „Видове проби“**).

Голям бактериален товар и/или някои проби могат да доведат до неспецифично оцветяване на основното поле от щриха на средата. Това може да доведе до среда с розоволилаво, пурпурно, зелено или синьо оцветяване или лека мътност на повърхността на средата, но без ясно отграничени колонии. Това трябва да се интерпретира като отрицателен резултат.

Не инкубирайте по-малко от 18 часа, тъй като това може да доведе до малки колонии и/или слабо оцветяване на колонии. Най-доброто инкубационно време е от 18 до 24 часа. Инкубирането не трябва да е по-дълго от 28 часа. В случай на смесени култури по-дългото инкубиране може да доведе до слети колонии, които могат да са трудни за разпознаване и пречистване.

Преди употреба на **BBL CHROMagar CPE** за първи път се препоръчва обучение за типичния вид на колонии с известни щамове, напр. щамовете, посочени в **ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ**.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

1. Akova, M., Daikos, G.L., Tzouveleakis, L. and Y. Carmeli. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012. 18: 439-448.
2. Thomson, K.S. Extended-Spectrum- β -lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. 48: 1019-1025.
3. Nordmann, P., Dortet, L. and L. Poiret. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends in Molecular Medicine*. 2012. 18: 263-272.
4. 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.
5. 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.
6. Data on file. Becton Dickinson GmbH.
7. Eigner, U., Rajtak, U., Betz U., Tauber, C., Holfelder, M. and R. Schwarz. First evaluation of the new selective medium BD BBL™ CHROMagar™ CPE for the detection of carbapenemase-producing bacteria. Poster session (Poster P0297) presented at: 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID); 2017 Apr 22-25; Vienna, Austria.
8. Rajtak, U., Garbe, J., Wesche-Franke, A., Spinath, B., Meyer, A.-K., and G. Babini. Evaluation of the new BD BBL™ CHROMagar™ CPE, a selective chromogenic screening medium for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Poster session (Poster P0386) presented at: 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID); 2017 Apr 22-25; Vienna, Austria.

ОПАКОВКА/НАЛИЧНОСТ

BD BBL CHROMagar CPE

Кат. №

Описание

REF 257681

Готова за употреба, разлята в петрита среда, пакет от 20

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За допълнителна информация, моля, свържете се с местния представител на BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8–12

69126 Heidelberg/Германия

Телефон: +49-62 21-30 50

Факс: +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.