

BD BBL™ CHROMagar™ CPE

TILSIGTET BRUG

BD BBL CHROMagar CPE er et selektivt chromogent screeningmedium til påvisning af carbapenemase-producerende *Enterobacteriaceae* (CPE). Relevante præparater omfatter rektale og perianale 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. Via yderligere tests skal det bekræftes, at isolater indsamlet på dette medium er carbapenemase-producenter.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Carbapenem-resistens i gram-negative bakterier er et stigende problem ved nosokomielle infektioner. Denne type resistens kan have flere årsager, men den mest almindelige er den verdensomspændende spredning af bakterieproducerende carbapenemaser, som ikke kun er i stand til at hydrolyserer carbapenemer, men også andre beta-lactam-antibiotika. Gener, der koder carbapenemaser, findes typisk på plasmider, hvor de også kan overføres til andre arter. Diagnostiseringsproceduren er kompleks, og det er derfor vigtigt at forkorte og forenkle påvisningen af disse carbapenem-resistente bakterier.¹⁻³

BBL CHROMagar CPE er baseret på **BBL CHROMagar Orientation** (BBL CHROMagar-orientering), der oprindeligt blev udviklet af A. Rambach, CHROMagar, Paris, Frankrig. BD har under en licensaftale optimeret denne formulering ved brug af navnebeskyttet immateriel ejendom anvendt ved fremstilling af det præparerede plademedium **BBL CHROMagar Orientation**. I **BBL CHROMagar Orientation** Medium leveres næringsstofferne af specielt udvalgte peptoner. 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 det chromogene medium i **BBL CHROMagar CPE** 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* (blå til blågrøn) og *Proteus-Morganella-Providencia* (farveløs til gyldenbrun og gyldenbrune til blege blå kolonier omgivet af brune haloer) og andre slægter (vises med deres naturlige farve).

Derudover indeholder **BBL CHROMagar CPE** et carbapenem 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. *Enterobacteriaceae* og non-fermentorer producerer vækst på mediet, hvis de er resistente over for de inkluderede antimikrobielle stoffer. Almindelig fænotypepåvisning af carbapenemase-producerende patigoner kræver isolering af sammen i ren dyrkning af ikke-selektivt medium efterfulgt af flere følsomhedstests med henblik på at påvise resistenstypen, hvilket er tidkrævende og omkostningsfuldt.

Ved brug af **BBL CHROMagar CPE** udstryges præparatet på mediet. Efter inkubation (18-24 timer) natten over er vækst af et isolat på mediet et meget kraftigt tegn på tilstedeværelsen af *Enterobacteriaceae*. Bekræftelse via følsomhedstests, molekylærmetoder eller phenotypiske metoder er nødvendig. Ved sammenligning med ikke-selektiv isolering efterfulgt af følsomhedstests reducerer brugen af dette produkt arbejdsbyrden og sikrer hurtigere påvisning af CPE.

REAGENSER

BBL CHROMagar CPE

Formel* pr. liter oprenset vand

Chromopepton	16,1 g
Kromogenblanding	1,3
Selektive stoffer	0,23
Agar	15,0
pH 6,8 ± 0,2	

*Justeret og/eller suppleret efter behov for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

IVD

Kun til professionel brug. 

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

Se 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 mediet (se **Præparattyper** og **Testprocedure** for at få flere oplysninger). Inkuber pladerne i omvendt position ved 35–37 °C aerobt i 18–24 timer.

Stammer	Vækstresultater
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 (KPC-producent)	Vækst moderat til fortræffelig; kolonier blå til blågrønne
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13443 (NDM-1-producent)	Vækst moderat til fortræffelig; kolonier blå til blågrønne
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13476 (IMP-producent)	Vækst moderat til fortræffelig, kolonier rosa til grålilla
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Hæmning fuldstændig
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Hæmning fuldstændig
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Hæmning fuldstændig
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Hæmning fuldstændig
Ikke-inokuleret	Farveløs til meget let ravgul, transparent (kan indeholde op til et moderat antal små partikler)

PROCEDURE

Vedlagte materialer

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

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpekulturmedium, reagenser og laboratorieudstyr.

Præparattyper

Dette produkt bruges hovedsagligt til påvisning af kolonisering med carbapenemas-producerende stammer for hjælp til forebyggelse og kontrol af CPE-infektioner i sundhedsvæsenet, særligt på intensivafdelinger. Anvendes primært med rektale og perianale podninger, men kan anvendes med kliniske præparater fra andre kropsområder, der mistænkes for at indeholde carbapenemase-producerende *Enterobacteriaceae*. Det anbefales at bruge transportanordninger, som er godkendt til indsamling af mikrobiologiske kliniske præparater. Følg de anbefalede procedurer fra fabrikanten af transportanordningen.^{4,5}

Kan også bruges til videredyrkning af potentielle CPE-stammer fra andet medium. 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

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

Inokuler præparatet med en podedind eller podenål på **BBL CHROMagar CPE**-mediet 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 podedinde (uden brug af podenåle til isolationsudstrykning) kan udløse forkerte resultater eller kan gøre pladen ulæselig. Undgå at inokulere mere end ét præparat pr. plade.

Procedure for inokulation og inkubation:

1. Dup podedinden på et lille område af **BBL CHROMagar CPE**-mediet: Undgå at overinokulere! Tag forsigtigt podedinden ud fra mediet, og returner podedinden til dets præparatrør.
2. Brug podenålene til at udføre udstrykning på pladen. Udstryk til isolering! Færdiggør først det første udstrykningsområde, og udstryk derefter andet og tredje område på mediet.
3. Inkuber aerobt ved 35 – 37 °C i 18 – 24 timer og helst i en omvendt position (siden med mediet op). 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.
4. Læs pladerne som beskrevet i **Resultater og tolkning**.

Afhængigt af typen af og formålet med i præparatet, skal andet medium også inokuleres for at muliggøre komplet påvisning af alle indeholdte patogener. Sådant medium 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. Pladerne bør vise isolerede kolonier i de områder, hvor podestoffet blev fortyndet korrekt. Der skal bruges relevante følsomhedstests, molekylærmeter eller phenotypiske metoder for at bekræfte tilstedeværelsen af CPE-isolater. Manglende vækst på mediet indikerer, at præparatet ikke indeholder stammer, som er resistente over for de antimikrobielle stoffer, der findes på mediet.

Bemærk, at misfarvning af mediet uden synlige kolonier (der kan forekomme, hvis mediet er blevet overinokuleret med fæcespræparater eller med for høje bakterieniveauer) betragtes som et negativt resultat (se også **Procedures 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** (kat. nr. 261187) kan udføres på filterpapir for bekræftelse af *E. coli* (indol-positiv). Undgå, at der kommer indol-reagens på mediets overflade!

Bemærk: Visse *Citrobacter freundii*-stammer har vist sig at producere violette til lilla kolonier på **BBL CHROMagar CPE**. 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 og gyldenbruge til blege blå 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** (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.

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*.

Blandede kulturer på BBL CHROMagar CPE-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 CPE** anbefales, hvis der findes mere end to forskellige kolonityper eller -farver på pladen.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BBL CHROMagar CPE er et selektivt chromogent screeningmedium til direkte identifikation og differentiering af carbapenemase-producerende *Enterobacteriaceae*. 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.⁶ Via yderligere tests skal det bekræftes, at isolater indsamlet på dette medium er carbapenemase-produktion.

Ekstern evaluering af funktion

I en ekstern effektivitetsevaluering blev 227 kliniske præparater testet (bestående af 174 rektale og 6 perianale podninger, 10 orale/svælgpodninger, 9 næsepodninger og 28 diverse præparater) på mediet ved udstrykning af podninger fra præparattransportmedie direkte på mediet. Af disse 227 præparater, blev 21 fundet at være positive for CPE, og 206 var negative som påvist i en intern metode (phenotypiske metoder og molekylærmeter). På **BBL CHROMagar CPE** blev der påvist en følsomhed på 100 % og en specificitet på 94 %.⁷

Intern evaluering af effektivitet

274 velkarakteriserede stammer fra diverse geografiske områder blev testet i en intern validering. Disse bestod af 183 CPE-stammer (inklusive Ambler-klasse A: 57 KPC, 2 SME; Ambler-klasse B: 39 NDM, 14 VIM, 11 IMP; Ambler-klasse D: 53 OXA-48, 1 OXA-162, 2 OXA-163, 4 OXA-181) og 91 ikke-CPE-stammer (69 ESBL, 2 porin-defekter, 12 AmpC, 1 OXY-1, 7 vildtype). **BBL CHROMagar CPE** påviste en samlet sensitivitet på 94,5 % og en specificitet på 92,3 %. De individuelle følsomheder for Ambler-klasse A-, B- og D-carbapenemaser var hhv. 96,6 %, 90,6 % og 96,7 %. Mediet detekterede på korrekt vis alle testede OXA-48-producenter (Ambler-klasse D).⁸

Påvisningsgrænser (Limit of Detection, LOD)

BBL CHROMagar CPE blev evalueret for at påvise detektionsgrænsen (LOD) for carbapenemase-producerende stammer. Fire stammer (*K. pneumoniae* NCTC 13438, *K. pneumoniae* NCTC 13443, *E. coli* NCTC 13476 og *E. coli* ENF 18034) blev evalueret for bedring på **BBL CHROMagar CPE**. Plader med non-selektiv Columbia Agar med 5 % fåreblod blev brugt til at bestemme organismekonzentrationen udtrykt i kolonidannende enheder (Colony Forming Units, CFU) for hver fortynding. Detektionsgrænsen for **BBL CHROMagar CPE** lå fra 16–31 CFU/mL (gennemsnitlig 23,5 CFU/mL) efter inkubation i 24 t.⁸

Påvisning af resistens

Stammer af følgende resistenstyper er påvist på **BBL CHROMagar CPE**⁶:

Tabel 1: Testede stammer og resistenstyper er påvist på BD BBL CHROMagar CPE.

Stamme	Carbapenemase-klasse (Ambler-klasse)	Carbapenemase (Carbapenemase-enzym) [β-Lactamase-indhold]
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Klasse B	NDM-1, NDM-2 VIM IMP-1 SIM-1
	Klasse 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>	Klasse B	VIM-4
<i>Acinetobacter junii</i>	Klasse B	IMP-1
<i>Citrobacter freundii</i>	Klasse A	KPC-2, KPC-3
	Klasse B	NDM-4 IMP-4
	Klasse D	OXA-48, OXA-181
<i>Citrobacter koseri</i>	Klasse D	OXA-48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Klasse A	KPC, KPC-1, KPC-2, KPC-3
	Klasse B	NDM, NDM-1 VIM, VIM-1, VIM-4, VIM-19 IMP-1, IMP-4, IMP-8
	Klasse D	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Klasse A	KPC-2, KPC-3 VIM, VIM-4
	Klasse B	
<i>Escherichia coli</i>	Klasse A	KPC, KPC-2, KPC-3, KPC-4, KPC-5

	Klasse B	NDM, NDM-1, NDM-4 VIM, VIM-4, VIM-19 IMP, IMP-1, IMP-8
	Klasse D	OXA-48
<i>Enterobacter asburiae</i>	Klasse A	IMI-2
<i>Enterobacter cloacae</i>	Klasse A	KPC, KPC-2, KPC-3, KPC-4
	Klasse B	NDM, NDM-1, NDM-4 VIM-4 IMP-8
	Klasse D	OXA-48, OXA-163
<i>Enterobacter sp.</i>	Klasse B	NDM
<i>Proteus mirabilis</i>	Klasse B	NDM-1
<i>Providencia rettgeri</i>	Klasse B	NDM, NDM-1
	Klasse D	OXA-48, OXA-181
<i>Providencia stuartii</i>	Klasse B	NDM-1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Klasse A	KPC-2, KPC-5
	Klasse B	VIM-1, VIM-2, VIM-4, VIM-13 IMP-7
<i>Salmonella spp.</i>	Klasse B	IMP-4
<i>Serratia marcescens</i>	Klasse A	KPC, KPC-2 SME-1, SME-2
	Klasse B	IMP-1
	Klasse D	OXA-48

Procedurens begrænsninger

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 metoder. 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 mediet.

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

Der kan vokse ikke-enterobakterielle, carbapenem-resistente gram-negative stave (dvs. *Acinetobacter* spp. og *Pseudomonas* spp.) (vises med deres naturlige farve). Det frarådes at ignorere isolater med farveløse kolonier ved screening for carbapenem-resistente organismer på dette medium. Udfør en oxidase-test ud fra disse isolater. Hvis testen er negativ, skal der udføres komplet biokemisk identifikation af isolatet. Der kan ses oplysninger om yderligere differentiering i **PROCEDURE – Resultater og tolkning**.

Da isolationen af CPE-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 udstrygningsområde på mediet. Dette kan resultere i, at mediet udviser grållilla, lilla, grøn eller blå farvning eller et let sløret udseende på overfladen 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 18 til 24 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.

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

LITTERATUR

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.

EMBALLERING/BESTILLING

BD BBL CHROMagar CPE

Kat. nr.	Beskrivelse
REF 257681	Plademedium klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD-repræsentant angående yderligere oplysninger.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8–12

69126 Heidelberg/Tyskland

Telefon: +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.

PA-257681.03

Side 7 af 7