



BD BBL™ CHROMagar™ CPE

AVSEDD ANVÄNDNING

BD BBL CHROMagar CPE är ett selektivt kromogent screeningmedium för detektion karbapenemasproducerande *Enterobacteriaceae* (CPE). Lämpliga provtyper innefattar rektala och perianala pinnprover och en rad andra kliniska prover (se **Provtyper**). Mediet möjliggör även identifiering av *E. coli* utan ytterligare bekräftande tester och detektion av organismgrupperna *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* och *Proteus-Morganella-Providencia*. Isolat som erhålls med detta medium måste bekräftas som karbapenemasproducerande genom ytterligare test.

FÖRKLARING OCH PRINCIPER FÖR METODEN

Karbapenemresistens hos gramnegativa bakterier är ett växande problem bland nosokomiala infektioner. Resistensen kan ha olika orsaker, men den vanligaste är den globala spridningen av bakterier som producerar karbapenemaser som har förmåga att hydrolysera inte bara karbapenemer, utan också andra beta-laktamantibiotika. Gener som kodar för karbapenemaser sitter ofta på plasmider som också kan överföras till andra arter. Det diagnostiska förfarandet är komplicerat, och det är därför viktigt att korta ned och förenkla detektionen av dessa karbapenemresistenta bakterier.¹⁻³

BBL CHROMagar CPE bygger på **BBL CHROMagar Orientation** (BBL CHROMagar-orientering) som ursprungligen utvecklades av A. Rambach, CHROMagar i Paris, Frankrike. BD har, under licensavtal, utvecklat denna formulering genom dra nytta av immateriell egendom som används vid tillverkningen av **BBL CHROMagar Orientation** preparerat plattmedium. Speciellt utvalda peptoner utgör näringskälla i **BBL CHROMagar Orientation** Medium (mediet). Kromogenblandningen består av artificiella substrat (kromogener) som frisätter olikfärgade föreningar när de bryts ned av specifika mikrobiella enzymer. Detta möjliggör direkt differentiering av vissa species, eller påvisning av vissa organismgrupper, med minimalt behov av bekräftande tester. Det kromogena mediet i **BBL CHROMagar CPE** gör det möjligt genom utveckling av olika färger att enkelt detektera blandkulturer av gramnegativa bakterier och identifiera *E. coli* (rosa till ljuslila) utan ytterligare bekräftande test och att detektera *Klebsiella-Enterobacter-Citrobacter-Serratia* (blåa till blågröna) och *Proteus-Morganella-Providencia* (färglösa till bruna och bruna till ljusblåa kolonier omgivna av bruna halos) och andra gener (som uppträder i sin naturliga färg).

Dessutom innehåller **BBL CHROMagar CPE** ett karbapenem i en koncentration som möjliggör detektion av resistens tillsammans med andra selektiva agens som hämmar den åtföljande flora som förekommer i provet. Gramnegativa bakterier som *Enterobacteriaceae* och vissa icke-fermenterare ger växt på mediet om de är resistenta mot de antimikrobiella agens som ingår i mediet.

För detektion av karbapenemasproducerande patogener genom konventionell fenotypning krävs isolering av stammen i ren kultur på icke-selektivt medium följt av flera resistensbestämningar för att fastställa typen av resistens, vilket är både tidskrävande och kostsamt.

Med **BBL CHROMagar CPE** stryks provet ut på mediet. Efter inkubering över natten (18 – 24 timmar) påvisar eventuell växt av isolat på mediet högst konklusiv förekomst av *Enterobacteriaceae*. Resultatet måste bekräftas med resistensbestämning, molekylära metoder eller fenotypning.

Användning av den här produkten minskar arbetsbelastningen och påskyndar detektionen av CPE, jämfört med icke-selektiv isolering följt av resistensbestämning.

REAGENSER

BBL CHROMagar CPE

Sammansättning* per liter aqua purif.

Kromopepton	16,1 g
Kromogenblandning	1,3
Selektiva medel	0,23
Agar	15,0
pH 6,8 ± 0,2	

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterier.

FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

IVD

Endast för professionellt bruk. 

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller andra brister.

Se dokumentet **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och kassering av använda produkter.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna **mörkt** vid 2 till 8 °C i originalförpackningen fram till dess de ska användas. Undvik överhettning och nedfrysning. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkuberingstid.

Plattor från öppnade 10-plattsförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren och mörk miljö vid 2 – 8 °C. **Eftersom ljus kan förstöra kromogenerna ska exponering för ljus minimeras före och under inkubering.**

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar på mediet (se ytterligare information i dokumentet **Provtyper** och **Testförfarande**). Inkubera plattorna, helst upp- och nedvända, aerobt vid 35 – 37 °C i 18 – 24 timmar.

Stammar	Växtresultat
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 (KPC-producent)	Måttlig till utmärkt växt, blå till blågröna kolonier
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13443 (NDM-1-producent)	Måttlig till utmärkt växt, blå till blågröna kolonier
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13476 (IMP-producent)	Måttlig till utmärkt växt, rosa till ljuslila kolonier
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Fullständig inhibering
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Fullständig inhibering
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Fullständig inhibering
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Fullständig inhibering
Oinokulerade	Färglös till mycket ljust brungul, transparent (kan innehålla en måttlig mängd små partiklar)

FÖRFARANDE

Tillhandahållet material

BBL CHROMagar CPE (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som krävs men ej medföljer

Extra odlingsmedium, reagenser och laboratorieutrustning.

Provtyper

Denna produkt används huvudsakligen för detektion av kolonisering av karbapenemasproducerande stammar för att bidra till förebyggande och kontroll av CPE-infektioner i vårdmiljöer, i synnerhet på intensivvårdsavdelningar. Den används primärt med rektala och perianala pinnprover men kan användas med prover från andra ställen på kroppen som misstänks innehålla karbapenemasproducerande *Enterobacteriaceae*. Användning av transportbehållare som godkänts för insamling av mikrobiologiska, kliniska prover rekommenderas. Följ de förfaringssätt som rekommenderas av tillverkaren av transportbehållaren.^{4,5}

Den kan även användas för fortsatt odling av potentiella CPE-stammar från annat medium. Direkt inokulering med kolonier rekommenderas inte. Undvik överinokulering genom att först suspendera kolonierna i koksaltlösning (se **Testförfarande**) och sedan stryka ut en mängd som motsvarar en full ögla på varje medium.

Testförfarande

BBL CHROMagar CPE måste inokuleras direkt från provpinnen, utan förberikning, eller från en isolerad koloni som suspenderats i koksaltlösning så att den matchar en McFarland 0,5-standard för grumlighet. Direkt inokulering från isolerade kolonier rekommenderas inte eftersom den höga halten av inokulat i sällsynta fall kan ge falskt positiva resultat.

Inokulera provet med en provpinne eller ögla på **BBL CHROMagar CPE**-mediet, och stryk för isolering med en ögla. Följande förfarande för inokulering måste följas noggrant för att erhålla isolerade kolonier med deras karakteristiska utseende. Otillräcklig inokulering eller inokulering av hela medietan med endast provpinnar (utan att använda öglor för isoleringsstryk) kan ge felaktiga resultat eller göra plattan oavläsningsbar. Inokulera inte mer än ett prov per platta.

Förfarande för inokulering och inkubering:

1. Tryck provpinnen lätt mot ett litet område på **BBL CHROMagar CPE**-mediet: Överinokulera inte! Avlägsna provpinnen från mediet och sätt tillbaka den i provröret.
2. Använd öglor och slutför utstryket på plattan. Stryk för isolering! Slutför först det första utstryksområdet och stryk sedan mediets andra och tredje område.
3. Inkubera aerobt vid 35 – 37 °C i 18 till 24 timmar, helst upp- och nedvända (med mediesidan uppåt). Inkubera inte längre tid än vad som angetts och inkubera inte i en koldioxidberikad miljö.
Eftersom ljus kan förstöra kromogenerna ska exponering för ljus minimeras under inkuberingen. När koloniernas färger väl har utvecklats har skett kan de utsättas för ljus.
4. Avläs plattorna enligt beskrivningen i **Resultat och tolkning**.

Beroende på provets typ och syfte måste annat medium också inokuleras så att det blir möjligt att detektera samtliga patogener i provet. Sådant medium ska inkludera minst en icke-selektiv blodagarplatta.

Resultat och tolkning

Efter inkuberingen kommer prover som innehåller isolat som är resistent mot inhibitorer som finns i mediet att växa. Plattorna ska uppvisa isolerade kolonier i de områden där inokulatet varit korrekt spätt. Lämplig resistensbestämning, molekylära metoder eller fenotypning måste utföras för att bekräfta förekomsten av CPE-isolat.

Frånvaro av växt på mediet indikerar att provet inte innehåller stammar som är resistent mot de antimikrobiella agens som ingår i mediet.

Observera att missfärgning av mediet utan synliga kolonier (vilket kan inträffa om mediet har överinokulerats med avföringsprover eller överdrivet höga bakteriehalter) anses som ett negativt resultat (se även **Procedurans begränsningar**).

Differentiering och/eller identifiering av isolat utifrån färg och utseende på koloni

Ljusrosa till rosa (ljuslila) kolonier: *Escherichia coli*, ett valfritt indoltest med **BD BBL DMACA Indole Reagent Droppers** (indolreagenspipetter) (kat. nr. 261187) kan utföras på filterpapper för att bekräfta *E. coli* (indolpositiv). Tillsätt inte indolreagensen till mediets yta! **Obs!** vissa stammar av *Citrobacter freundii* har visat sig producera violetta till lila kolonier på **BBL CHROMagar CPE**. Biokemisk identifiering rekommenderas för sådana stammar.

Blå till blågröna kolonier, som eventuellt omringas av ett rosa till ljuslila område: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* eller annat. Ytterligare tester är nödvändiga för identifiering. För mer information, se instruktioner för användning av **BBL CHROMagar Orientation** (orientering) (se: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>).

Färglösa till bruna och bruna till ljusblåa kolonier med brunaktiga halos som sträcker sig in i mediet: *Proteus*-, *Morganella*-, *Providencia*-stammar. Ytterligare tester är nödvändiga för fullständig identifiering. För mer information, se instruktioner för användning av **BBL CHROMagar Orientation** (se: <http://www.bd.com/europe/regulatory/documents.asp#IFU>). I sällsynta fall kan *Pseudomonas aeruginosa* producera diffusivt brunt pigment, vilket påminner om *Proteus*. För differentiering kan ett oxidastest utföras (se nedan).

Färglösa kolonier: Utför ett oxidastest: om positivt och den typiska fruktiga doften och/eller grönaktiga, blåaktiga eller brunaktiga pigmenteringen (som beror på organismens eget pigment) kan uppfattas → *Pseudomonas aeruginosa*. Det är rekommenderat att använda **BD Oxidase Reagent Droppers** (oxidasreagenspipetter) (kat. nr. 261181) för detta test. Utför oxidastestet på filterpapper enligt beskrivningen i Allmänna instruktioner för användning för testet, men inte på kolonierna på plattan. Bekräftelse genom ytterligare test rekommenderas. För att fastställa deras exakta resistensmönster bör alla isolat av *P. aeruginosa* från detta medium resistensbestämmas med godkända metoder. Om oxidastestet är negativt eller tvetydigt, utför fullständig biokemisk identifiering. Färglösa oxidasnegativa kolonier kan innefatta icke-fermenterare som *Acinetobacter* eller *Enterobacteriaceae* som inte metaboliserar några av de kromogener som ingår, till exempel *Salmonella*.

Blandkulturer på BBL CHROMagar CPE-plattan: dessa känns vanligtvis igen och kan differentieras enkelt genom olika färger på kolonierna. Exempelvis uppvisar en blandkultur av *Klebsiella* och *E. coli* blå kolonier (*Klebsiella*) och rosa till ljuslila kolonier (*E. coli*). Undersök visuellt om det förekommer olika typer av kolonier och färger på plattan. Fortsatt odling på **BBL CHROMagar CPE** rekommenderas om fler än två olika kolonityper eller färger kan urskiljas på plattan.

KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR

BBL CHROMagar CPE är ett selektivt kromogent screeningmedium för direkt identifiering och differentiering av karbapenemasproducerande *Enterobacteriaceae*. Mediet möjliggör direkt biokemisk identifiering av resistent *E. coli* och differentiering av andra *Enterobacteriaceae* utifrån färg på kolonin. Grampositiva bakterier och jäst inhiberas vanligtvis.⁶ Isolat som erhålls med detta medium måste bekräftas för karbapenemasproduktion genom ytterligare test.

Extern prestandautvärdering

I en extern prestandautvärdering testades 227 kliniska prover (varav 174 rektala och 6 perianala pinnprover, 10 pinnprover från mun/svalg, 9 nasala pinnprover och 28 övriga prover) på mediet genom att provpinnarna från transportmediet ströks direkt på mediet. Av dessa 227 prover befanns 21 vara positiva för CPE och 206 var negativa fastställda med den interna metoden (fenotypning och molekyllära metoder). På **BBL CHROMagar CPE** fastställdes en sensitivitet på 100 % och en specificitet på 94 %.⁷

Intern prestandautvärdering

I en intern validering testades 274 välkaraktiserade stammar från olika geografiska regioner. Dessa innefattade 183 CPE-stammar (inklusive Ambler klass A: 57 KPC, 2 SME, Ambler klass B: 39 NDM, 14 VIM, 11 IMP, Ambler klass D: 53 OXA-48, 1 OXA-162, 2 OXA-163, 4 OXA-181) och 91 icke CPE-stammar (69 ESBL, 2 porinbristtillstånd, 12 AmpC, 1 OXY-1, 7 vild typ). **BBL CHROMagar CPE** visade en övergripande sensitivitet på 94,5 % och en specificitet på 92,3 %. De individuella sensitiviteter för Ambler klass A-, B- och D-karbapenemaser var respektive 96,6 %, 90,6 % och 96,7 %. Mediet detekterade korrekt alla testade OXA-48-producenter (Ambler klass D).⁸

Detektionsgränser (Limit of Detection, LOD)

BBL CHROMagar CPE utvärderades för bestämning av detektionsgränsen (LOD) för karbapenemasproducerande stammar. Fyra stammar (*K. pneumoniae* NCTC 13438, *K. pneumoniae* NCTC 13443, *E. coli* NCTC 13476 och *E. coli* ENF 18034) utvärderades för utbyte på **BBL CHROMagar CPE**. Plattor med icke-selektiv Columbia-agar med 5 % fårblod användes för att bestämma organismkoncentrationen uttryckt i kolonibildande enheter (CFU) för varje spädning. LOD för **BBL CHROMagar CPE** varierade från 16–31 CFU/mL (i genomsnitt 23,5 CFU/mL) efter 24 timmars inkubering.⁸

Detektion av resistens

Stammar av följande resistenstyper har detekterats på **BBL CHROMagar CPE**⁶:

Tabell 1: Testade stammar och resistenstyper som detekterades på BD BBL CHROMagar CPE.

Stam	Karbapenemasklass (Ambler-klass)	Karbapenemas
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Klass B	NDM-1, NDM-2 VIM IMP-1 SIM-1
	Klass D	OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-51, OXA-58, OXA-64, OXA-72, OXA-91, OXA-97, OXA-143
<i>Acinetobacter</i> sp.	Klass B	VIM-4
<i>Acinetobacter junii</i>	Klass B	IMP-1
<i>Citrobacter freundii</i>	Klass A	KPC-2, KPC-3
	Klass B	NDM-4 IMP-4
	Klass D	OXA-48, OXA-181
<i>Citrobacter koseri</i>	Klass D	OXA-48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Klass A	KPC, KPC-1, KPC-2, KPC-3
	Klass B	NDM, NDM-1 VIM, VIM-1, VIM-4, VIM-19 IMP-1, IMP-4, IMP-8
	Klass D	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Klass A	KPC-2, KPC-3
	Klass B	VIM, VIM-4
<i>Escherichia coli</i>	Klass A	KPC, KPC-2, KPC-3, KPC-4, KPC-5
	Klass B	NDM, NDM-1, NDM-4 VIM, VIM-4, VIM-19 IMP, IMP-1, IMP-8

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

Procedures begränsningar

Försök inte att inokulera mer än ett prov per platta!

Medan den biokemiska identifieringen på species- eller grupp-nivå (baserat på de kromogena reaktionerna på mediet) är slutgiltig måste resistensen bekräftas med godkända metoder. Identifiering av blå, blågröna och färglösa isolat på species-nivå måste utföras med hjälp av biokemiska tester.

Vissa grampositiva bakterier kan vara resistenta mot inhibitorerna och kan växa på mediet.

Icke enterobakteriella karbapenemresistenta gramnegativa stavar (dvs. *Acinetobacter* spp. och *Pseudomonas* spp.) kan växa (uppträder i sin naturliga färg). Isolat med färglösa kolonier bör inte förbises vid screening av karbapenemresistenta organismer på detta medium. Utför ett oxidastest på dessa isolat. Om detta test är negativt, utför en fullständig biokemisk identifiering av isolatet. För ytterligare differentiering, se **FÖRFARANDE – Resultat och tolkning**.

Även om en inhibitor för ampC-producenter har lagts till i medierna kommer en viss procentandel av sådana stammar att växa. Därför är **BBL CHROMagar CPE** avsett att användas för **screening**, och **inte för slutgiltig identifiering** av karbapenemasproducenter. Specifika resistensbestämningar eller test med molekylära metoder är nödvändiga för att fastställa den exakta typen av resistens som uppvisas av isolaten.

Eftersom isoleringen av CPE-stammar beror av antalet organismer i provet beror resultatets tillförlitlighet av korrekt insamling, hantering och förvaring av prover (se **FÖRFARANDE – Provtyper**).

Hög bakteriekoncentration och/eller vissa prover kan producera icke-specifik färgning av mediets primära utstryksområde. Det kan medföra att mediet uppvisar ljuslila, lila, grön eller blå färgning eller ett lätt dis på mediets yta, men saknar tydliga kolonier. Detta bör tolkas som negativt.

Inkubera inte i mindre än 18 timmar eftersom detta kan leda till små kolonier och/eller svag kolonifärgning. Den optimala inkuberingstiden är 18 till 24 timmar. Inkuberingen ska inte pågå längre än 28 timmar. Vid blandkulturer kan längre inkubering leda till att kolonier växer samman vilket gör dem svåra att känna igen och renodla.

Innan **BBL CHROMagar CPE** används för första gången rekommenderas att användaren övar sig i att känna igen de typiska koloniutseendena med hjälp av kända stammar, till exempel de stammar som anges under **KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN**.

REFERENSER

1. Akova, M., Daikos, G.L., Tzouvelekis, 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.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD BBL CHROMagar CPE

Kat. nr.	Beskrivning
REF 257681	Färdig odlingsplatta, 20 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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.