

# chromID<sup>®</sup> CARBA SMART-agar (CARB/OXA)

MEDIER

 Selektivt kromogent medium til screening av karbapenemaseproduserende *Enterobacteriaceae* (CPE).

## SAMMENDRAG OG FORKLARING

chromID<sup>®</sup> CARBA SMART-agar består av to kromogene kulturmedier dispensert i en petriskål som inneholder separate rom (CARB/OXA).

chromID CARBA SMART-agar brukes til screening av karbapenemaseproduserende *Enterobacteriaceae* (CPE) hos pasienter som er kroniske bærere, eller hos pasienter i risikogruppen (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Denne agaren erstatter ikke konvensjonelle mottakelighets-testmetoder.

CPE er særdeles multiresistente bakterier som kan forårsake nosokomiale infeksjoner og sykehusepidemier (8, 9, 10, 11). Påvisningen av CPE-bærere er spesielt viktig for forebygging og epidemiologisk overvåking av disse infeksjonene. I denne sammenhengen bidrar bruk av chromID CARBA SMART-agar til en aktiv overvåking av CPE.

## PRINSIPP

chromID CARBA SMART-agar (patentanmeldt) består av en ernæringsrik base som kombinerer ulike peptoner. Den inneholder:

- en blanding av antibiotika, som gjør det mulig for selektiv vekst av:
  - hovedsakelig KPC og metall-karbapenemase-type CPE for CARB-mediet.
  - OXA-48-type CPE for OXA-mediet.
- Tre kromogene substrater som gjør det mulig å identifisere den hyppigst isolerte CPE:
  - *Escherichia coli*: spontan farging (rosa til burgunder) av stammer som produserer  $\beta$ -glukuronidase ( $\beta$ -GUR) og/eller  $\beta$ -galaktosidase ( $\beta$ -GAL) (12).
  - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC): spontan blåaktig-grønn til blåaktig-grå eller lilla farging av stammer som produserer  $\beta$ -glukosidase ( $\beta$ -GLU).

## SETTETS INNHOLD

<b>Medier klare til bruk.</b>
<b>REF 414685</b> Pakke med 20 plater (90 mm) <b>CARB/OXA *</b>

\* trykt på hver enkelt plate

- **CARB** identifiserer rommet på platen som inneholder chromID CARBA-agar
- **OXA** identifiserer rommet på platen som inneholder chromID OXA-48-agar

## SAMMENSETNING

### Teoretisk sammensetning:

Dette mediet kan justeres og/eller suppleres i henhold til de ønskede ytelseskriteriene:

### CARB-medium

Kaseinpepton (bovint).....	5 g
Soyapepton.....	5 g
Kjøttpepton (bovint eller porcint).....	8 g
Karbohydrater.....	1 g
L-tryptofan.....	0,9 g
Fosfatbuffer.....	1 g
Kromogen blanding.....	1,4 g
Næringsblanding.....	2,8 g
Selektiv CARB-blanding.....	0,3 g
Agar.....	18 g
Renset vann.....	1 l

pH 7,4

### OXA-medium

Kaseinpepton (bovint).....	5 g
Soyapepton.....	5 g
Kjøttpepton (bovint eller porcint).....	8 g
Karbohydrater.....	1 g
L-tryptofan.....	0,9 g
Fosfatbuffer.....	1 g
Kromogen blanding.....	1,4 g
Næringsblanding.....	2,8 g
Selektiv OXA-blanding.....	0,88 g
Agar.....	18 g
Renset vann.....	1 l

pH 7,4

## NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE ER INKLUDERT

- Bakteriologisk inkubator.

## MULIGE EKSTRA REAGENSER

- Etest<sup>®</sup>-strimler.
- ATCC<sup>®</sup>-kvalitetskontrollstammer (se liste over LyfoCults<sup>®</sup> Plus-stammer)

## ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- **Kun til *in vitro*-diagnostisk bruk.**
- **Kun til profesjonell bruk.**
- Dette settet inneholder produkter av animalsk opprinnelse. Sertifisert kunnskap om opprinnelsen og/eller helsemessig status for dyrene kan ikke fullstendig garantere at overførbare patogener agenser ikke er til stede. Vi anbefaler derfor at disse produktene behandles som potensielt smittefarlige og håndteres i henhold til vanlige sikkerhetsregler (skal ikke inntas eller inhaleres).

- Alle prøver, mikrobielle kulturer og inokulerte produkter må betraktes som smittefarlige og håndteres deretter. Aseptisk teknikk og vanlige forholdsregler for håndtering av den undersøkte bakteriekulturen, må følges i denne prosedyren. Se "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline" (Beskyttelse av laboratoriearbeidere mot yrkeserhvervede infeksjoner, godkjente retningslinjer) – gjeldende revisjon. Flere forholdsregler for håndtering finnes i "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH" (Biologisk sikkerhet i mikrobiologiske og biomedisinske laboratorier – CDC/NIH) – siste utgave, eller gjeldende bestemmelser i brukslandet.
- Reagensene må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Reagensene må ikke brukes hvis pakningen er skadet.
- Plater som er kontaminert, eller som avgir fukt, må ikke brukes.
- Bruken av dette mediet kan være vanskelig for personer som har problemer med å gjenkjenne farger.
- Bruk kun én prøve per plate.
- Vedlagte ytelsesdata ble funnet ved hjelp av prosedyren som er angitt i dette pakningsvedlegget. Forandring eller endring av prosedyren kan påvirke resultatene.
- Tolkningen av testresultatene skal også ta hensyn til pasientens sykehistorie, kolonimessig og mikroskopisk morfologi og hvis nødvendig, resultatene fra eventuelle andre utførte tester.

#### OPPBEVARING

- **Platene oppbevares ved 2–8 °C i esken inntil utløpsdatoen som er angitt på esken.**
- Hvis platene ikke oppbevares i esken, kan de oppbevares i cellofanposen i 2 uker ved 2–8 °C på et mørkt sted.

#### PRØVEMATERIALER

Ulike prøvetyper kan brukes: avføring og rektalprøvepinner. De inokuleres direkte på agaren uten berikning. God laboratoriepraksis for innsamling og transport skal brukes og tilpasses til hver type prøvemateriale.

#### BRUKSANVISNING

1. **La platene nå romtemperatur.**
2. Inokuler prøven direkte på chromID® CARBA SMART-agar.  
Det er anbefalt å inokulere CARB-rommet først, etterfulgt av OXA-rommet, med samme vattpinne.
3. Inkuber de inverterte platene ved 35 ± 2 °C under aerobe betingelser. Kulturene undersøkes vanligvis etter 18–24 timers inkubasjon.

Brukeren er ansvarlig for valg av riktig temperatur for tilsiktet bruk og i overensstemmelse med gjeldende standarder.

#### AVLESNING OG TOLKING

Etter inkubasjonen observeres bakterieveksten og kolonienes utseende.

CPE produserer følgende karakteristiske farger:

- Kolonier som er **rosa til burgunder** eller gjennomskinnelige kolonier som er rosa til burgunder i midten: ***E. coli***-arter.
- Blågrønne til blågrå eller lilla kolonier: **KESC-gruppen**. Identifisering av mikroorganismer må etterfølges av ekstra tester.
- Forekomst av typiske kolonier i CARB-rommet: mistanke om CPE.
- Forekomst av typiske kolonier i OXA-rommet: mistanke om OXA-48-type CPE.

#### Merk:

Den antimikrobielle mottakelighetstesten med et VITEK® 2 AST-kort eller en hurtig ATB™ E 4-strimmel må utføres ved hjelp av en underkultur oppnådd på et konvensjonelt medium.

**Karbapenemaseproduksjon må bekreftes med godkjent metode.**

#### KVALITETSKONTROLL

##### Protokoll:

Mediets ernæringskapasitet og selektivitet kan testes ved hjelp av følgende stammer.

Klargjør en suspensjon som er kalibrert til 0,5 McF, og fortynn denne i steril saltvannsløsning for å oppnå et inokulum, etter isolasjon på agarplaten:

- av 104 CFU for CARB og 106 CFU for OXA:  
*Klebsiella pneumoniae* ATCC® BAA-1705™
- av 106 CFU for CARB og OXA:  
*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603
- av 104 CFU for OXA:  
*Escherichia coli* ATCC BAA-2523

##### Forventede verdier:

Stamme	Resultater ved 35 ± 2 °C	
	CARB	OXA
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 (KPC)	Grønne kolonier innen 24 timer	Ingen vekst innen 24 timer
<i>Escherichia coli</i> ATCC BAA-2523 (OXA-48)	Ikke relevant	Kolonier som blir rosa til burgunder i løpet av 24 timer
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Ingen vekst innen 24 timer	Ingen vekst innen 24 timer

#### Merk:

Det er brukerens ansvar å gjennomføre kvalitetskontroll der det er tatt hensyn til den tiltenkte bruken av mediet, og i overensstemmelse med eventuelle lokalt gjeldende bestemmelser (frekvens, antall stammer, inkubasjonstemperatur og inkubasjonstid osv.).

## METODENS BEGRENSNINGER

- Eventuell vekst avhenger av hver enkelt mikroorganismes behov. Det er derfor mulig at enkelte stammer med spesifikke krav (substrat, temperatur, inkubasjonsforhold osv.) ikke vokser.
- Enkelte multiresistente mikroorganismer (andre enn CPE) kan utvikle seg på CARB-mediet og produsere kolonier med en karakteristisk farge: noen vankomycinresistente enterococcus-stammer (spesielt *E. faecium* Van A: små blåturkise kolonier) eller *Enterobacteriaceae* som er resistente overfor karbapenemer på grunn av impermeabilitet.
- Enkelte *Enterobacteriaceae*-stammer med svak karbapenemaseproduserende aktivitet utvikles kanskje ikke på mediet.

## YTELSE

Ytelsen ble evaluert ved et nasjonalt referansesenter for påvisning av antimikrobiell resistens ved bruk av humane kliniske prøver (avføring og rektalprøvepinner) og karakteriserte stammer.

Agarene (chromID® OXA-48 og chromID CARBA) ble inokulert samtidig med prøvene eller kalibrerte bakterielle suspensjoner. Avlesingene ble utført etter 18–24 timers inkubasjon ved 35 ± 2 °C ved aerobe forhold.

### Sensitivitet

Sensitivitet ble evaluert med 54 OXA-48 karbapenemaseproduserende *Enterobacteriaceae* eller OXA-48-lignende varianter (Ambler klasse D) og 20 ikke-OXA-48-karbapenemaseproduserende stammer (Ambler Klasse A og klasse B) inokulert på en plate med et 10<sup>3</sup> CFU-inokulat.

Kombinert sensitivitet for to medier = 95,9 % **[88,6–99,2]**  
eller påvisning av **71 av 74 CPE-stammer**

### Spesifisitet for stammer

Spesifisitet ble evaluert:

- med 20 karbapenemsensitive *Enterobacteriaceae*-stammer som er ESBL-produserer eller AmpC-hyperproduserer
- med 20 *Enterobacteriaceae*-stammer som er middels mottakelige eller resistente overfor karbapenemer på grunn av impermeabilitet

Disse stammene ble inokulert ved hjelp av et sterkt inokulat (10<sup>7</sup> CFU per plate).

chromID CARBA SMART	chromID OXA-48	chromID CARBA	Kombinert spesifisitet
20 karbapenemsensitive stammer	100 % [83,2–100,0] (20/20)	100 % [83,2–100,0] (20/20)	<b>100 %</b> <b>[83,2–100,0]</b> (20/20)
20 stammer som er middels mottakelige eller resistente overfor karbapenemer på grunn av impermeabilitet.	100 % [83,2–100,0] (20/20)	35 % [18,1–56,7] (7/20)	<b>35 %</b> <b>[18,1–56,7]</b> (7/20)

## Spesifisitet for prøver

149 CPE-negative kliniske prøver (rektalprøvepinner og avføring) ble inokulert på CARB- og OXA-agarer. Følgende resultater ble oppnådd etter direkte avlesning av mediet. Identiske resultater ble oppnådd etter gramfarging.

chromID CARBA SMART	chromID OXA-48	chromID CARBA	Kombinert spesifisitet
149 kliniske prøver	100 % [97,6–100] (149/149)	96,6 % [92,3–98,9] (144/149)*	<b>96,6 %</b> <b>[92,3–98,9]</b> <b>(144/149)*</b>

\* 2 gramnegative oksidase-positive bacillus-stammer og 3 *K. pneumoniae*-stammer som viser karbapenemresistens på grunn av impermeabilitet, vokste på mediet og hadde en karakteristisk blåfarge.

## Resultater av tidligere evalueringer som er utført på chromID CARBA-mediet

Ytelsen ble evaluert ved to sentre (Storbritannia og Hellas), etter samme protokoll, ved bruk av humane kliniske prøver (avføring og rektalpinneprøver) fra pasienter i risikogruppen eller kroniske bærere som ble screenet for karbapenemaseproduserende *Enterobacteriaceae*.

Prøvene ble direkte inokulert på agarene. Avlesingene ble utført etter 18–24 timers inkubasjon ved 35 ± 2 °C ved aerobe forhold.

**De to evalueringene (Storbritannia og Hellas)** ble utført med 806 prøver (88 avføringsprøver og 718 rektalpinneprøver). CARB-agar ble sammenlignet med en Mac Conkey-agar + Imipenem (1 mg/l).

Alle koloniene ble bekreftet: Gramfarging, identifisering til artsnivå, karbapenemaseproduksjon.

151 prøver ble funnet positive gjennom minst én av metodene som ble brukt (kulturmedium med bekreftelse av kolonier gjennom PCR og modifisert Hodge-test).

### Sensitivitet (95 % konfidensintervall)

chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem
97,4 % [93,4–99,3]	82,1 % [75,1–87,9]

### Spesifisitet (95 % konfidensintervall)

Uten gramfarging		Med gramfarging	
chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem	chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem
90,7 % [88,2–92,8]	46,6 % [42,7–50,5]	99,7 % [98,9–100,0]	83,8 % [80,8–86,6]

**Ved et av sentrene (Hellas)** ble mediene sammenlignet med CDC-metoden (13) ved bruk av 177 prøver (rektalpinneprøver) inkludert 86 positive prøver.

**Sensitivitet** (95 % konfidensintervall)

chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem	CDC
96,5 % [90,1–99,3]	89,5 % [81,1–95,1]	98,8 % [93,7–100,0]

**Spesifisitet** (95 % konfidensintervall)

Uten gramfarging			Med gramfarging		
chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem	CDC	chromID CARBA	Mac Conkey + Imipenem	CDC
91,2 % [83,4–96,1]	31,9 % [22,5–42,5]	80,2 % [70,6–87,8]	100,0 % [96,0–100,0]	70,3 % [59,8–79,5]	80,2 % [70,6–87,8]

## AVFALLSHÅNDTERING

Ubrukte reagenser kan betraktes som ufarlig avfall og kasseres deretter. Både brukte og ubrukke reagenser, samt annet smittefarlig engangsutstyr, skal kasseres i samsvar med prosedyrer for håndtering av smittefarlige eller potensielt smittefarlige produkter.










Det er ethvert laboratoriums ansvar å håndtere avfall og avløpsvann i overensstemmelse med typen og risikograden, og å behandle og destruere disse (eller få det behandlet og destruert) i henhold til gjeldende regelverk.

## REFERANSELISTE

1. CDC - Guidance for Control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities - MMWR, 2009, 58(10): 256-260.
2. PERRY J. D., NAQVI Sakeenah Hussain, MIRZA Irfan Ali et al. - Prevalence of faecal carriage of *Enterobacteriaceae* with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. - Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, 66:2288-2294.
3. VRIONI G., DANIIL I., VOULGARI E., RANELLOU K., KOUMAKI V., GHIRARDI S., KIMOULI M., ZAMBARDI G. and TSAKRIS A. - Comparative evaluation of a prototype medium (chromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs. *J. Clin. Microbiol.*, June 2012, in press.
4. BEREKSI N., GIRAUD D., JOYEUX F. and al. - Evaluation of a chromogenic medium, chromID CARBA, for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. - Poster 1718 - London 2012 - 22<sup>nd</sup> ECCMID.

5. VRIONI G., DANIIL J., VOULGARI E. and al. - Evaluation of a novel chromogenic medium for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs - Poster 1717 - London 2012 - 22<sup>nd</sup> ECCMID.
6. WILKINSON K., ARMES A., RAZA M. and PERRY J.D. - Evaluation of various culture media and procedures recommended for isolation of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. - Poster 2316 - London 2012 - 22<sup>nd</sup> ECCMID.
7. DEVIGNE L., PANTEL A., BOURGUIGNON M.P. et al. First evaluation of chromID® OXA-48, a new chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing OXA-48 carbapenemase - Poster 273 - Berlin 2013 - 23<sup>rd</sup> ECCMID.
8. SCHWABER M. J., KLARFELD-LIDJI S., NAVON-VEENZIA S. et al. - Predictors of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Acquisition among Hospitalized Adults and Effect of Acquisition on Mortality - □ Antimicrob. Agents and Chemotherapy - Mar. 2008, Vol. 52, No. 3, p. 1028-1033.
9. WALSH T.R. - Emerging carbapenemases: a global perspective. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, 36S3: 8-14.
10. NORDMANN P., CUZON G., NAAS T. - The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infectious Disease*, 2009, 9: 228-236.
11. POIREL L., POTRON A., NORDMANN P. - OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. - *J. Antimicrobial Chemother.*, 2012, 67:1597-1606.
12. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 79: 139-155.
13. Laboratory protocol for detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Klebsiella* spp. and *E. coli* from rectal swabs - [www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella\\_or\\_Ecoli.pdf](http://www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella_or_Ecoli.pdf)
14. Guidance for control of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) - 2012 CRE Toolkit.

## OVERSIKT OVER SYMBOLER

Symbol	Betydning
	Katalognummer
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr
	Produsent
	Temperaturbegrensning
	Brukes før
	Batchkode
	Se bruksanvisningen
	Inneholder tilstrekkelig til <n> tester
	Beskyttes mot lys

BIOMERIEUX, den blå logo, chromID, LyfoCults, ATB og VITEK er varemerker som enten er i bruk, i påvente av registrering og/eller registrerte varemerker som tilhører bioMérieux eller et av datterselskapene, eller ett av disse foretak.  
 CLSI er et varemerke som tilhører Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.  
 ATCC-varemerket og varenavnet og eventuelle og alle ATCC-katalognumre er varemerker for American Type Culture Collection.  
 Alle andre navn og varemerker tilhører sine respektive eiere.