

Agar chromID® OXA-48 (OXA)

Podłoże chromogenne do badań przesiewowych w kierunku *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy (CPE) typu OXA-48.

WPROWADZENIE

Agar chromID® OXA-48 jest wybiórczym podłożem chromogennym do badań przesiewowych *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy (CPE) typu OXA-48 (1) u chronicznych nosicieli lub pacjentów z grup ryzyka (2).

Podłoże to nie zastępuje konwencjonalnych metod oznaczania lekowrażliwości.

CPE OXA-48 są wieloopornymi bakteriami, odpowiedzialnymi za zakażenia szpitalne i epidemie szpitalne (3, 4). Wykrywanie nosicieli CPE OXA-48 ma szczególne znaczenie dla zapobiegania i epidemiologicznego monitorowania takich zakażeń.

W tym kontekście stosowanie agaru chromID™ OXA-48 jest elementem aktywnego nadzoru nad CPE.

ZASADA DZIAŁANIA

Agar chromID® OXA-48 (patent w trakcie rejestracji) opiera się na różnych, bogatych w substancje odżywcze peptonach. Zawiera on:

- mieszaninę antybiotyków umożliwiającą wybiórczy wzrost CPE OXA-48.
- Trzy substraty chromogenne umożliwiające identyfikację najczęściej izolowanych CPE:
 - *Escherichia coli*: spontaniczne zabarwienie (różowe do burgunda) szczepów wytwarzających β -glukuronidazę (β -GUR) oraz/lub β -galaktozydazę (β -GAL) (5).
 - *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* (KESC): spontaniczne zielone, brązowo-zielone lub niebieskie zabarwienie szczepów wykazujących ekspresję β -glukozydazy (β -GLU).

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU**Podłoże gotowe do użycia:**

REF 414011

Opakowanie na 20 płytek (90 mm)

OXA *

* wydrukowano na każdej płytce

SKŁAD**Teoretyczna zawartość składników.**

Podłoże to może być dostosowywane i/lub uzupełniane zgodnie z wymaganymi kryteriami:

Pepton kazeinowy (wołowy).....	5 g
Pepton sojowy	5 g
Pepton mięsny (wołowy lub wieprzowy).....	8 g
Węglowodany	1 g
L-Tryptofan	0,9 g
Bufor fosforanowy.....	1 g
Mieszanina chromogenna.....	1,4 g
Mieszanina odżywcza.....	2,8 g
Mieszanina wybiórcza.....	0,88 g
Agar.....	18 g
Oczyszczona woda.....	1 l

pH 7,4

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

- Inkubator bakteriologiczny

MOŻLIWE DODATKOWE ODCZYNNIKI

- Paski Etest®.
- Szczep do kontroli jakości ATCC® LyfoCults® PLUS.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Nie używać płytek po upływie daty ważności.
- Nie używać podłoża, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać przerośniętych lub wyschniętych płytek.
- Osoby z zaburzeniami percepcji kolorów mogą mieć problemy ze stosowaniem podłoża.
- Na jednej płytce należy posiewać tylko jeden materiał.
- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.

PRZECHOWYWANIE

- Płytki przechowywać w pudełku w temperaturze 2-8°C do upłynięcia daty ważności.
- Jeśli nie są w pudełku, płytki mogą być przechowywane przez 2 tygodnie w temperaturze 2-8°C w opakowaniach celofanowych w ciemności.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Można badać różne typy materiałów: kał i wymazy z odbytu. Należy posiewać je bezpośrednio na płytkę, bez uprzedniego namnażania.

Należy respektować zasady dobrej praktyki laboratoryjnej dotyczące pobierania i transportu materiału dostosowując je do jego typu.

SPOSÓB WYKONANIA

1. **Doprowadzić płytki do temperatury pokojowej.**
2. Materiał posiać bezpośrednio na agar chromID® OXA-48.
3. Inkubować w $35 \pm 2^\circ\text{C}$ przykrywką do dołu, w warunkach tlenowych. Hodowle są na ogół oceniane po 18-24 godzinach inkubacji.

Użytkownik jest odpowiedzialny za wybór właściwej temperatury inkubacji, zgodnie z zamierzeniami i obowiązującymi standardami.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Po inkubacji, obserwować wzrost bakterii i wygląd kolonii.

CPE OXA-48 dają następujące charakterystyczne kolory:

- Kolonie **różowe do burgunda** lub przezroczyste kolonie ze środkiem w kolorze różowym do burgunda: gatunek ***E. coli***.
- Kolonie niebieskozielone do niebieskoszarych lub purpurowe: **grupa KESC**.
Identyfikację mikroorganizmu do poziomu gatunku należy przeprowadzić przy użyciu testów biochemicznych.

Wytwarzanie karbapenemazy musi być potwierdzone w każdym przypadku.

Uwaga: Badanie lekowrażliwości prowadzone przy użyciu karty VITEK® 2 AST lub paska rapid ATB™ E 4, należy wykonywać na koloniach uzyskanych po przesianiu na podłoże konwencjonalne.

KONTROLA JAKOŚCI

Protokół:

Właściwości odżywcze i wybiórczość podłoża można sprawdzać przy użyciu następujących szczepów:

W celu uzyskania inokulum, po wyhodowaniu na podłożu agarowym, należy przygotować zawiesinę 0,5 McF a następnie rozcieńczyć jałowym roztworem soli:

- 10^4 CFU:
dla *Klebsiella pneumoniae* NCTC® 13442
- 10^5 CFU:
dla *Klebsiella pneumoniae* ATCC® BAA-1705™

Zakres spodziewanych wyników:

Szczep	Wyniki w 33-37°C	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC® 13442	Wzrost po 24 godzinach	Niebieskozielone kolonie po 24 godzinach
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® BAA-1705™	Brak wzrostu po 24 godzinach	

Uwaga:

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura i czas inkubacji itd.).

OGRANICZENIA TESTU

- Wzrost zależy od indywidualnych wymagań każdego mikroorganizmu. Może zdarzyć się, że jakiś szczep o specyficznych wymaganiach (substrat, temperatura, warunki inkubacji, itd.) nie wyrośnie.

OCENA

Ocenę przeprowadzono w narodowym ośrodku referencyjnym do badania lekooporności drobnoustrojów przy użyciu materiałów klinicznych (kał i wymazy z odbytu) oraz scharakteryzowanych szczepów.

Na płytce posiewano materiał bezpośrednio lub zawiesinę bakteryjną o znanej gęstości. Odczyty wykonywano po 18-24 godzinach inkubacji w $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w warunkach tlenowych.

Czułość (współczynnik ufności 95%)

Czułość oceniano przy użyciu 54 szczepów *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy typu OXA-48 (lub podobnych do OXA-48) nanosząc na płytkę inokulum 10^3 CFU.

Otrzymana czułość: **94,4% [84,9-98,1]**

Specyficzność (współczynnik ufności 95%)

- Specyficzność oznaczana dla szczepów

Specyficzność oceniano przy użyciu 60 szczepów *Enterobacteriaceae* posiadających następujące mechanizmy oporności: karbapenemazy inne niż OXA-48, ESBL, nadprodukcja AmpC lub brak przepuszczalności osłon komórkowych dla karbapenemów.

Na płytkę nanoszono inokulum 10^7 CFU.

Otrzymana specyficzność: **100% [94,0-100]**

- Specyficzność oznaczana dla materiałów

Na agar chromID OXA-48 posiano 150 materiałów (kał i wymazy z odbytu).

Nie zanotowano wyników fałszywie dodatnich, więc testy potwierdzenia nie były wymagane.

Otrzymana specyficzność: **100% [97,6-100]**

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Niezużyte odczynniki należy traktować jak niestanowiące zagrożenia i zgodnie z tym utylizować.










Zużytych odczynników, jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od ich typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

PIŚMIENNICTWO

1. DEVIGNE L., BOURGUIGNON M.P., COURBIERE E. et al. First evaluation of chromID® OXA-48, a new chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing OXA-48 – Poster 273 – RICA 2012.
2. SCHWABER M. J., KLARFELD-LIDJI S., NAVON-VENEZIA S. et al. - Predictors of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Acquisition among Hospitalized Adults and Effect of Acquisition on Mortality - *J Antimicrob. Agents and Chemotherapy* - Mar. 2008, Vol. 52, No. 3, p. 1028–1033.
3. NORDMANN P., CUZON G., NAAS T. - The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infectious Disease*, 2009, 9: 228-236.
4. POIREL L., POTRON A., NORDMANN P. – OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. – *J. Antimicrobial Chemother*, 2012, 67:1597-1606.
5. ORENGA S., JAMES A.L., PERRY J.D., PINCUS D.H. (2009). Enzymatic substrates in microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 79: 139-155.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Chronić przed światłem

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX, ATB, CHROMID, ETEST, LYFOCULTS oraz VITEK są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

Znak towarowy ATCC i nazwa handlowa oraz wszelkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Wszelkie inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.