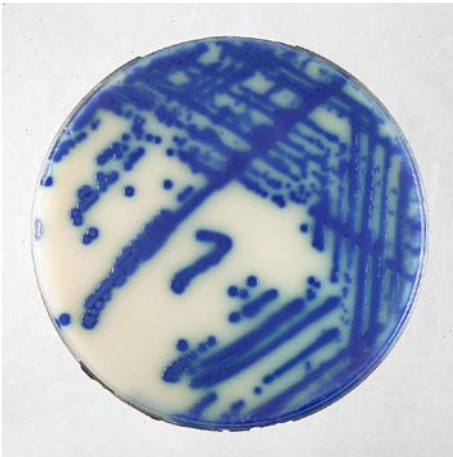


**ANVÄNDNINGSANVISNING**

# ChromArt

# CRE

## Färdiga plattor



Chromart CRE: karbapenemresistent  
*Klebsiella pneumoniae*

### 1 – AVSEDD ANVÄNDNING

*In vitro*-diagnostisk produkt. Kromogent medium för preliminär detektion av karbapenemresistenta *Enterobacteriaceae* (CRE) i kliniska prover.

### 2 – SAMMANSÄTTNING – TYPISK FORMEL \*

Peptoner	16,00 g
Tillväxtfaktorer	5,00 g
Opacifierande förening	10,00 g
Tryptofan	2,00 g
Kromogen blandning	0,40 g
Blandning av antimikrobiella ämnen	0,21 g
Agar	16,00 g
Renat vatten	1000 ml

\*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

### 3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Mekanismerna för karbapenemresistens hos gramnegativa organismer är heterogena men kan huvudsakligen delas in i två breda kategorier: karbapenemasproducerande och icke-karbapenemasproducerande mekanismer. För den senare medieras karbapenemresistensen av porinmutationer eller effluxpumpar eller en kombination av dessa med ESBL- och/eller AmpC-produktion beroende på den gramnegativa organismen.<sup>1</sup> Produktionen av karbapenemas är den primära mekanismen som medverkar till ökad karbapenemresistens hos gramnegativa bakterier.<sup>1</sup> Karbapenemaser är  $\beta$ -laktamaser som hydrolyserar penicilliner, i de flesta fall cefalosporiner, och i varierande grad karbapenemer och monobaktamer (de senare hydrolyseras inte av metall- $\beta$ -laktamaser).<sup>2</sup> Kolonisering av karbapenemresistenta organismer i mag-tarmkanalen är en viktig källa för överföring av dessa kritiska patogener i sjukhusmiljö.<sup>1</sup> Infektioner orsakade av karbapenemresistenta gramnegativa bakterier är ett allvarligt problem världen över på grund av dessa mikroorganismers höga spridningsförmåga, de begränsade behandlingsalternativen och den höga dödligheten. Tidig identifiering i kliniska prover är en avgörande faktor för att förebygga eller begränsa spridningen och bevara karbapenemernas terapeutiska effekt. Kromogena odlingsmedier rekommenderas för påvisning av kolonisering av karbapenemresistenta organismer i mag-tarmkanalen.<sup>1,3,4</sup> ChromArt CRE är ett kromogent och selektivt screeningmedium för isolering och differentiering av karbapenemresistenta *Enterobacteriaceae* (CRE). Mediets selektivitet beror på förekomsten av en hämmande blandning av antibiotika mot grampositiva bakterier, svampar och gramnegativa bakterier som är känsliga för karbapenemer. Bakteriedifferentiering uppnås med en blandning av kromogena föreningar som är utformade för att detektera specifika enzymatiska aktiviteter ( $\beta$ -galaktosidas,  $\beta$ -glukosidas, tryptofanase) hos *E. coli*, bakterier i KESC-gruppen (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) och Proteus-Morganella-Providencia-gruppen. Mediets grå och ogenomskinliga bakgrund möjliggör bättre observation och färgavläsning av kolonierna.

### 4 – FYSISKA EGENSKAPER

Mediets utseende	Grå, ogenomskinlig
Slutligt pH vid 20–25 °C	7,2 ± 0,2

### 5 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
ChromArt CRE	Färdiga plattor	548015	2 x 10 plattor, $\varnothing$ 90 mm primärförpackning: 2 cellofanpåsar sekundärförpackning: kartong

### 6 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE INGÅR

Sterila öglor och svabbpinnar, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

### 7 – PROVER

Alla typer av prover kan användas, men avföring och rektalprov är de mest känsliga för att upptäcka CRE-kolonisering. Om ett rektalprov inte är möjligt eller acceptabelt är alla kliniska prover, såsom blod, sårprov eller urin, lämpliga.<sup>3</sup> God laboratoriepraxis för insamling, transport och förvaring av de kliniska proverna bör tillämpas; samla in prover före antimikrobiell behandling där så är möjligt.

### 8- TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna nå rumstemperatur. Inokulera och stryk ut provet med en ögla över plattans fyra kvadranter för att få väl isolerade kolonier, och se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra. Alternativt, om materialet odlas direkt från en svabb, rulla svabben över ett litet område av ytan vid kanten; stryk sedan ut från detta inokulerade område.

Inkubera i luft vid 35–37 °C i 18–24 timmar.





**9 – AVLÄSNING OCH TOLKNING**

Efter inkubation observerar man bakterietillväxten och noterar koloniernas specifika morfologiska och kromatiska egenskaper.

CRE-isolat uppvisar följande karakteristiska kolonier:

Rosa/röd-magenta kolonier: *E. coli*

Blå/grönblå/blåviolettera/gråviolettera kolonier: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*

Bruna kolonier med brun halo: *Proteus-Morganella-Providencia*

CRE-isolat ska genomgå bekräftande tester. Se de angivna referenserna.<sup>1-3</sup>

**10 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL**

Alla tillverkade partier av produkten släpps för försäljning efter att kvalitetskontroll har utförts för att kontrollera att de uppfyller specifikationerna. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga föreskrifter, i överensstämmelse med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/TID/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>K. pneumoniae</i> ATCC BAA-1705	35–37 °C / 18–24 timmar / A	tillväxt, blå kolonier
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35–37 °C / 18–24 timmar / A	hämmad
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	35–37 °C / 18–24 timmar / A	hämmad

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

**11- PRESTANDAEGENSKAPER**

Prestandan hos ChromArt CRE utvärderades i en klinisk studie utförd av ett kliniskt mikrobiologilaboratorium i norra Italien<sup>5</sup> på 110 stammar av karbapenemresistenta gramnegativa bakterier, 50 stammar av tredje generationens cefalosporinresistenta enterobakterier eller ESBL-producerande bakterier.

Resultaten sammanfattas i tabellerna nedan. Tabellerna 1, 2, 3 och 4 avser 92 *Enterobacteriaceae* och 18 gramnegativa icke-laktosfermenterande bakterier som är resistenta mot karbapenemer genom olika resistensmekanismer (inklusive 13 resistenta stammar på grund av porinförlust) samt 40 karbapenemkänsliga men betalaktamresistenta *Enterobacteriaceae* (AmpC- och ESBL-stammar).

Tab. 1: sammanfattning av resultaten för karbapenemasproducerande stammar (Ambler-klass A, B, D).

Resistensmekanism	Antal stammar	Tillväxt på ChromArt CRE*	Tillväxt på tryptisk sojabönagar*
KPC	60	60	60
KPC +ESBL	1	1	1
OXA	12	12	12
VIM	15	15	15
NDM	3	3	3
IMP	4	4	4
MBL	2	2	2
<b>TOTALT</b>	<b>97</b>	<b>97</b>	<b>97</b>

\*Inokulation av 100 µl bakteriesuspensioner med cirka 1,5 x 10<sup>8</sup> och 1,5 x 10<sup>7</sup> CFU

Tab. 2: Sammanfattning av resultaten avseende karbapenemresistenta stammar vad gäller membranimpermeabilitet.

Resistensmekanism	Antal stammar	Tillväxt på ChromArt CRE*	Tillväxt på tryptisk sojabagare*
Förlust av AmpC-porin	5	3	5
ESBL + porinförlust	8	8	8
<b>TOTALT</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>13</b>

\*Inokulation av 100 µl bakteriesuspensioner med cirka 1,5 x 10<sup>8</sup> och 1,5 x 10<sup>7</sup> CFU

Tabell 3: Sammanfattning av resultaten avseende karbapenemkänsliga stammar.

Resistensmekanism	Antal stammar	Tillväxt på ChromArt CRE*	Tillväxt på tryptisk sojabagare*
AmpC	10	0	10
ESBL	40	0	40
<b>TOTALT</b>	<b>50</b>	<b>0</b>	<b>50</b>

\*Inokulation av 100 µl bakteriesuspensioner med cirka 1,5 x 10<sup>7</sup> CFU

Tabell 4: Sensitivitet och specificitet i förhållande till målen.

	Mål: karbapenemresistenta stammar	Tillväxt på ChromArt CRE*	Mål: karbapenemasproducerande stammar	Tillväxt på ChromArt CRE*
Sann positiv	110	108	97	97
Sann negativ	50	50	63	11
Falskt negativt		2		0
Falskt positivt		0		11
Känslighet	98,2 %		100 %	
Specificitet	100		85,1	





Data visar att ChromArt CRE-mediet detekterar karbapenemresistenta gramnegativa bakterier med hög känslighet, samtidigt som det inte tillåter tillväxt av karbapenemkänsliga organismer som har andra mekanismer som kan orsaka resistens mot betalaktamantibiotika, såsom ESBL eller överproduktion av AmpC. Om forskningsmålet är att identifiera karbapenemasproducerande stammar minskar specificiteten, eftersom mediet tillåter tillväxt av karbapenemresistenta stammar som orsakas av membranimpermeabilitet på grund av porinförlust.

Innan produkten släpps ut på marknaden ska ett representativt urval av alla partier av färdiga Chromart CRE-plattor samt av de råvaror som används för tillverkning av de färdiga plattorna (torkad Chromart CRE-ESBL Base REF 408025, kompletterad med Chromart CRE Supplement REF 4240082) testas med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten testas med en semikvantitativ ekometrisk teknik med följande målstammar: *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705, karbapenemresistenta kliniska isolat av *E. cloacae*, *A. baumannii* och *P. aeruginosa*. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar uppvisar alla målstammar god tillväxt med typiska kromatiska egenskaper.

Selektiviteten utvärderas med hjälp av en semikvantitativ ekometrisk teknik genom att plattorna inokuleras med lämpliga decimalutspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målorganismerna *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231, *S. aureus* (MR) ATCC 43300, , ESBL-producerande *K. pneumoniae* ATCC 700603 samt ett kliniskt isolat av AmpC-producerande *E. cloacae*. Efter inkubation vid 35–37 °C i 18–24 timmar är tillväxten av *P. aeruginosa* och *S. aureus* helt hämmad, medan tillväxten av andra icke-målstammar är delvis hämmad.

## 12 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Vissa gramnegativa bakterier som är resistenta mot karbapenem på grund av membranimpermeabilitetsmekanismer kan växa på mediet.
- Multiresistenta gramnegativa bakterier andra än karbapenemresistenta *Enterobacteriaceae* (*Acinetobacter* och *Pseudomonas*) kan växa på mediet.
- Det finns mycket få belägg för att förlängd inkubation ökar känsligheten hos kromogena medier för CRE, men det finns belägg för att specificiteten minskar.<sup>1</sup>
- Screening för intestinal bärarskap av CRE är av stor betydelse för utvecklingen av strategier för infektionskontroll. Den optimala screeningmetoden återstår dock att fastställa för varje plats och för varje specifikt syfte.<sup>6</sup>
- Odlingsbaserade metoder är kanske inte optimala för att upptäcka låg nivå av karbapenemasproduktion, vilket är viktigt för epidemiologiska ändamål.<sup>6</sup>
- Agarbaserade procedurer kräver alltid bekräftande tester för att detektera vilken typ av bla-gen som finns när ett potentiellt resistent isolat har upptäckts.
- Tillväxt på mediet beror på de metaboliska kraven hos varje mikroorganism och på resistensen mot de antimikrobiella medlen som finns; vissa målstammar kanske inte kan växa på mediet eller kan uppvisa en fördröjd tillväxt.
- Även om mikroorganismkolonierna på odlingsplattorna kan särskiljas utifrån sina morfologiska och färgmässiga egenskaper, rekommenderas det att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska analyser utförs på isolat från renodlade kulturer för fullständig identifiering. Utför antibiotikakänslighetsbestämning på isolaten.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar; tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens sjukdomshistoria, provets ursprung och resultaten av mikroskopiska och/eller andra diagnostiska tester.

## 13 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Denna produkt är ett kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt medel, endast för professionellt bruk; den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, med iakttagande av godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Denna produkt är inte klassificerad som farlig enligt gällande europeisk lagstiftning.
- Detta odlingsmedium innehåller råvaror av animaliskt ursprung. Kontrollera av djuren *före* och *efter slakt* samt under råvarornas produktions- och distributionscykel kan inte helt garantera att produkten inte innehåller några överförbara patogener. Därför rekommenderas att de färdiga plattorna behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras med iakttagande av de vanliga specifika försiktighetsåtgärderna: svälj inte, andas inte in och låt inte produkten komma i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it), där de åtgärder beskrivs som Biolife Italiana har vidtagit för att minska risken i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika kontaminanter såsom odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Varje platta med detta odlingsmedium är endast avsedd för engångsbruk.
- Färdiga plattor ska inte betraktas som en "steril produkt" eftersom de inte genomgår slutlig sterilisering, utan som en produkt med kontrollerad biologisk kontaminering, inom gränserna för de definierade specifikationer som anges i kvalitetskontrollcertifikatet.
- Sterilisera allt biologiskt farligt avfall före bortskaffande. Kassera det oanvända mediet och de steriliserade plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Informationen i detta dokument har sammanställts efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten, men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som samlats in från mänskliga och djuriska organiska distrikt, för miljöprover och för produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att vår produkt är lämplig för det avsedda ändamålet.

## 14 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET











Vid mottagandet ska plattorna förvaras i sin originalförpackning vid 2–8 °C, skyddade från direkt ljus. Om de förvaras på rätt sätt kan plattorna användas fram till utgångsdatumet. Använd inte plattorna efter detta datum. Plattor från öppnade plastpåsar kan användas i 7 dagar om de förvaras i en ren miljö vid 2–8 °C. Använd inte plattorna om plastpåsen är skadad eller om skålen är trasig. Använd inte plattorna om de visar tecken på försämring (t.ex. mikrobiell kontaminering, uttorkning, krympning eller sprickbildning i mediet, onormal färg, överdriven fuktighet).



**15 – REFERENSER**

1. Simner PJ, Humphries R. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. *In* Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
2. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 2.01, July 2017.
3. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations (SMI) B 60: detection of bacteria with carbapenem hydrolysing  $\beta$ -lactamases (carbapenemases); September 2020.
4. Perry JD. A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in an Era of Molecular Diagnostics. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 30:449-479.
5. Bracco S, Mauri C, Meroni E, Principe L, Pini B, Luzzaro F. Valutazione del terreno ChromArt CRE (Biolife) per la rilevazione di batteri Gram-negativi resistenti ai carbapenemi.. XLIII Congresso AMCLI, Sezione Poster, 2014.
6. Viau R, Frank KM, Jacobs MR, Wilson B, Kaye K, Donskey CJ, Perez F, Endimiani A, Bonomo RA. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29:1-27.

**TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER**

 REF Katalognummer	eller REF	 LOT Partikod	 IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	 Tillverkare	 Använd före
 Temperaturbegränsning		 Innehållet räcker till <n> tester	 Se bruksanvisningen	 Endast för engångsbruk	 Ömtåligt, hanteras med försiktighet

**REVISIONSHISTORIK**

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Bruksanvisning (IFU) – Revision 0	Första utgåvan (i enlighet med IVDR 2017/746)	2020/12
Bruksanvisning (IFU) – Revision 1	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/03

Obs: mindre typografiska, grammatiska och formateringsmässiga ändringar ingår inte i revisionshistoriken.

