

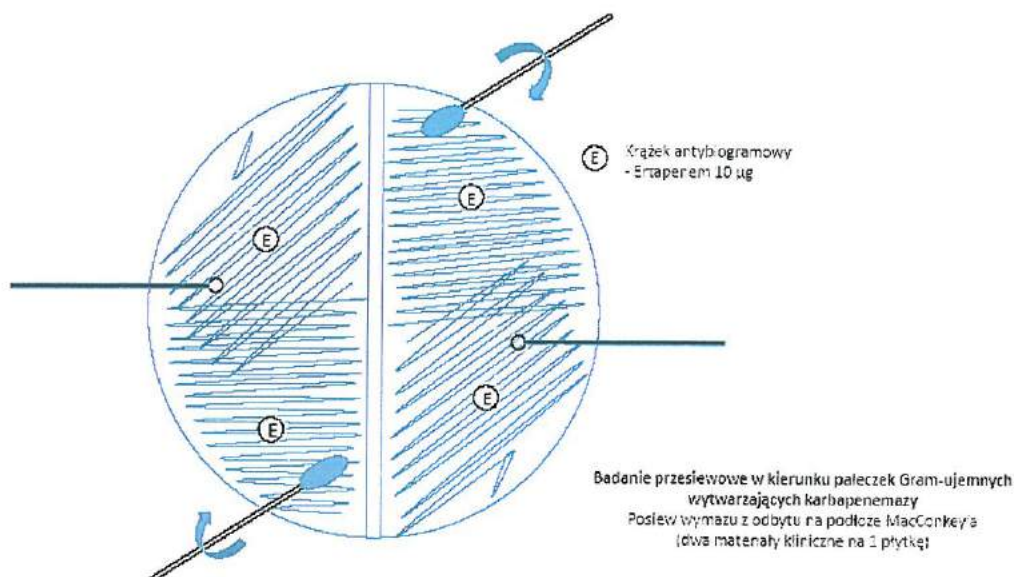
PROCEDURA BADANIA PRZESIEWOWEGO w ognisku epidemicznym w kierunku pałeczek *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy

(opracowała: Elżbieta Stefaniuk, dr. n.med.; Narodowy Instytut Leków, Warszawa; na podstawie: Lorans K. *et al.* JCM 2010, 48: 836-841; Simner P.J. *et al.* JCM 2015, 53: 105-112; instrukcja testu ChromID CARBA oraz Rekomendacje Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów - KORLD: www.korld.edu.pl)

- I. **Materiał do badania:**
 - wymaz z odbytu - na wymazówce powinien być widoczny ślad kału
- II. **Postępowanie:**

DZIEŃ I Posiew materiałów

1. **Pobrany materiał posiać na:**
 - ½ płytki z podłożem MacConkey'a - w I części pola na płytce Petriego wykonać gęsty posiew wymazówką, którą był pobierany materiał wymaz z odbytu, obracając wymazówkę dookoła osi. W cz. II pola posiany materiał rozprowadzić gęsto jałową eżą (patrz: Rys. 1);
 - ¼ płytki z podłożem ChromID CARBA (bioMérieux)* – posiew redukcyjny.
2. Na podłożu MacConkey'a na linii posiewu materiału położyć 2 krążki antybiogramowe z ertapenemem 10 µg (E), zgodnie z Rys. 1:



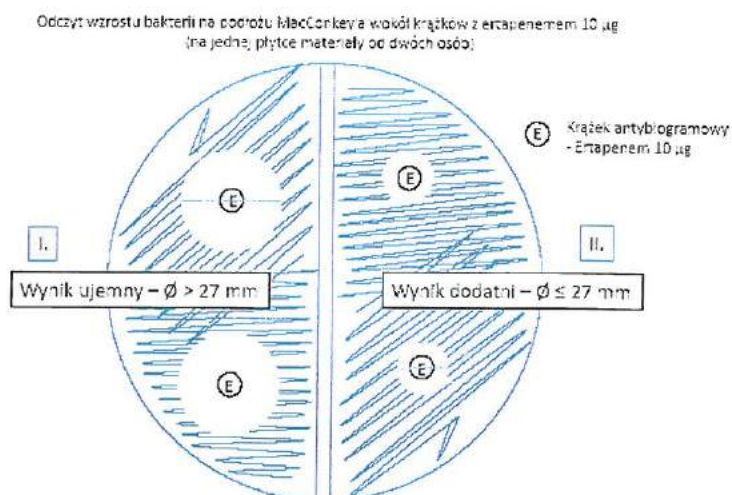
3. Płytki umieścić w ciepłarni (denkami do góry) i inkubować 18-24 godz. w temp. 35±2°C.

DZIEŃ II (24 godz. od posiewu) Odczyt posiewów

1. Na podłożu ChromID CARBA poszukujemy wzrostu kolonii o charakterystycznym zabarwieniu*:
 - kolonie koloru od różowego do burgunda lub kolonie przezroczyste ze środkiem w kolorze różowym do burgunda (*E. coli*)
 - kolonie koloru niebieskozielonego do niebieskoszarego (pałeczki z grupy KESC – *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*)

**PROCEDURA BADANIA PRZESIEWOWEGO w ognisku epidemicznym
w kierunku pałeczek *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy**

2. Na podłożu **MacConkey'a** poszukujemy wzrostu charakterystycznych kolonii (laktozo-dodatnich) wokół krążków z ertapenemem w strefie zahamowania wzrostu o $\varnothing \leq 27$ mm (Rys.2).



Podłoże ChromID CARBA*	Podłoże MacConkey'a	Dalsze postępowanie	Interpretacja
brak wzrostu kolonii o charakterystycznym zabarwieniu	brak wzrostu kolonii wokół krążka z ertapenemem - strefa zahamowania wzrostu >27 mm (Rys. 2 I.)	Koniec badania	WYNIK UJEMNY <i>Nie wyhodowano Gram-ujemnych pałeczek wytwarzających nabyte karbapenemazy</i>
wzrost kolonii o charakterystycznym zabarwieniu (rodzina <i>Enterobacteriaceae</i>): 1. kolonie koloru od różowego do burgunda lub kolonie przezroczyste ze środkiem w kolorze różowym do burgunda (<i>E. coli</i>) lub 2. kolonie koloru niebieskozielonego do niebieskoszarego (pałeczki z grupy KESC – <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i>)	obecność kolonii laktozo-dodatnich wokół krążka z ertapenemem - strefa zahamowania wzrostu ≤ 27 mm (Rys. 2 II.)	<p>1. Z kolonii na podłożu ChromID o charakterystycznym zabarwieniu wykonać test CARBA NP – zgodnie z procedurą KORLD (www.korld.edu.pl) lub inny komercyjny test CARBA NP** - odczyt testu CARBA NP – po 2 godz. → wynik ujemny – postąpić zgodnie z zaleceniami KORLD → przesiew na podłoże krwawe - ponowne oznaczenie na III DZIEŃ</p> <p>2. Wykonać testy fenotypowe identyfikujących karbapenemazy – KPC, MBL, OXA-48 (zgodnie z procedurą KORLD (www.korld.edu.pl)) – odczyt po 24 godz. – wynik - III DZIEŃ</p> <p>3. Dalsza identyfikacja do poziomu gatunku (met. biochemiczna lub met. spektrometrii masowej) - odczyt po 30 min. – 24 godz. w zależności od metody (II lub III DZIEŃ)***</p> <p>4. Przesłać szczepy dodatnie do KORLD do potwierdzenia</p>	WYNIK DODATNI <i>Wyhodowano Gram-ujemne pałeczki <i>Enterobacteriaceae</i> wytwarzające nabyte karbapenemazy (podejrzenie karbapenemazy typu ...)</i>

**PROCEDURA BADANIA PRZESIEWOWEGO w ognisku epidemicznym
w kierunku pałeczek *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy**

*Jeśli Laboratorium stosuje inne, niż wskazane w niniejszej procedurze, podłoże chromogenne wykrywające pałeczki wytwarzające karbapenemazy, barwę kolonii należy oceniać zgodnie z instrukcją producenta podłoża

** test CARBA NP może być wykonywany z podłoża chromogennego; w sytuacji, gdy kolonii przeznaczonych do dalszej diagnostyki jest zbyt mało, należy namnożyć kolonie na podłożu agarowym z krwią baranią

***identyfikację biochemiczną należy prowadzić z kolonii wyrosłych na podłożu MacConkey'a lub namnożonych na podłożu krwawym; identyfikacja met. spektrometrii masowej może być przeprowadzona z kolonii rosnących na podłożu MacConkey'a, podłoża chromogennego i podłoża krwawego

DZIEŃ III (48 godz. od posiewu)

odczyt wyników testów identyfikacyjnych i testów fenotypowych w kierunku typu karbapenemaz

Szczepę dodatkowo – przesłać do Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów w celu potwierdzenia mechanizmu oporności

DODATNI WYNIK KOŃCOWY

Wychodowano Gram-ujemne pałeczki (gatunek) wytwarzające nabyte karbapenemazy typu

PODSUMOWANIE

KOSZT ODCZYNNIKOWY BADANIA 1 MATERIAŁU (BRUTTO):

Etap posiewu: podłoże MacConkey'a (1/2 płytki)	- ok. 1,50 PLN
krążki antybiogramowe (2 szt.)	- ok. 1,00 PLN
podłoże ChromID CARBA (1/4 płytki)	- ok. 2,50 PLN
Razem (maks.)	- ok. 5,00 PLN
Etap identyfikacji karbapenemaz (1 izolat):	
Test CARBA NP (wg Procedury KORLD)	- ok. 3,00 PLN
Test fenotypowy	- ok. 7,00 PLN

Uwaga: cena testu próbawkowego CARBA NP. (wg Procedury KORLD) uwzględnia koszty zakupu poszczególnych odczynników (wyliczone na ok. 1000-1200 próbek)

Identyfikacja gatunkowa – w zależności od metody stosowanej w Laboratorium – 2 - 20 PLN

Potwierdzenie typu karbapenemazy – KORLD (finansowanie w ramach narodowego Programu Ochrony Antybiotyków)

KONSULTANT KRAJOWY
w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej

Prof. dr hab. n. med. Waleria Hryniewicz

Przewodnicząca
Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków

Warszawa, 15 grudnia 2015r.