



BBL™ CHROMagar MRSA II*

НАЗНАЧЕНИЕ

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSAII) представляет собой селективную дифференциальную среду для прямого качественного обнаружения в клинических образцах *Staphylococcus aureus*, устойчивого к метициллину (MRSA). Испытания могут выполняться с использованием образцов, полученных из дыхательных путей, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи и из ран, а также смывов из ноздрей для скрининга колонизации в ноздрях как средство контроля и профилактики инфекций, вызванных MRSA, в медицинских учреждениях, а также с использованием флаконов с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.

КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Золотистый стафилококк, устойчивый к метициллину (MRSA), является основной причиной внутрибольничных инфекций, представляющих угрозу для жизни. Инфекции, вызванные MRSA, приводят к существенно более высокой заболеваемости, летальности и затратам по сравнению с инфекциями, вызванными *S. aureus*, чувствительным к метициллину (MSSA).¹ Эти микроорганизмы были наиболее широко распространены в условиях медицинских учреждений, однако распространенность MRSA также возросла и во внебольничных условиях.^{2, 3}

Для предотвращения передачи MRSA Американское общество эпидемиологии и здравоохранения (SHEA) опубликовало рекомендации, которые включают программу активных наблюдений в целях идентификации потенциальных резервуаров возбудителей инфекции и программу тщательного инфекционного контроля для предотвращения распространения MRSA.¹

BBL CHROMagar MRSA II — селективная дифференциальная среда, содержащая цефокситин для обнаружения MRSA в образцах, полученных из дыхательных путей (например, из ноздрей, гортани и образцов мокроты), нижнего желудочно-кишечного тракта (например, из прямой кишки и образцов кала), с кожи (например, в паховой или подмышечной области, в промежности и перианальной области), из ран и флаконов с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.

BBL CHROMagar MRSA II представляет собой модифицированную версию существующей рецептуры CHROMagar MRSA, разработанной А. Рамбахом (A. Rambach) совместно с компанией BD, и поставляется компанией BD в соответствии с лицензионным соглашением с компанией CHROMagar, г. Париж, Франция.

* Патентные заявки рассматриваются в Европе, США и Канаде

ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод

Среда **BBL CHROMagar MRSA II** позволяет выполнять непосредственное обнаружение и идентификацию MRSA за счет использования специфических хромогенных субстратов и цефокситина. Рост штаммов MRSA происходит в присутствии цефокситина⁴ с образованием колоний розовато-лилового цвета в результате гидролиза хромогенного субстрата. Для подавления грамотрицательных микроорганизмов, дрожжей и некоторых других грамположительных кокков используются дополнительные селективные агенты. Бактерии, отличные от MRSA, могут использовать другие хромогенные субстраты, присутствующие в среде, образуя колонии от голубого до голубовато-зеленого цвета; если хромогенные субстраты не используются, образуются колонии белого цвета или бесцветные колонии.

РЕАГЕНТЫ

BBL CHROMagar MRSA II

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Хромопептон	35,0 г
Смесь хромогенных субстратов	0,5 г
Натрия хлорид	17,5 г
Ингибиторы	7,52 г
Цефокситин	5,2 мг
Агар	14,0 г

pH: 7,0 +/-0,2 при 25 °C

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD Только для профессионального применения. ⓧ

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирусы гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми предметами, загрязненными кровью и другими биологическими жидкостями, соблюдайте правила, принятые в учреждении, а также стандартные меры предосторожности.⁵⁻⁸ После использования стерилизуйте в автоклаве подготовленные чашки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы перед утилизацией. Подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**.

Разложение продукта. Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Перед первым использованием чашек **BBL CHROMagar MRSA II** рекомендуется ознакомиться с типичным видом колоний определенных штаммов MRSA, например штаммов, указанных в разделе **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения следует хранить чашки в оригинальной упаковке и коробке при температуре 2 – 8 °C до момента посева. Необходимо ограничить до минимума (<4 ч.) воздействие света на чашки **BBL CHROMagar MRSA II** до инкубации и в процессе инкубации, поскольку продолжительное воздействие света может привести к снижению эффективности выделения и (или) окрашиванию изолятов. Следует избегать замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. маркировку на чашке или этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации. Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре 2 – 8 °C в темноте.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА*

Проверьте чашки на наличие признаков разложения в соответствии с описанием в разделе «Разложение продукта».

Проверьте эффективность путем засева репрезентативных образцов разведениями культур, как описано далее:

1. Засейте образцы в чашке штрихами для изоляции. Для видов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 применяйте прямое засеивание.⁹
2. Инкубируйте чашки при 35 – 37 °С в аэробной атмосфере.
3. Для неселективного контроля всех микроорганизмов используйте колумбийский агар с добавлением 5 % овечьей крови.
4. Через 20 – 26 ч. проверьте в чашках выделение, размер колоний и окрашивание. Ожидаемые результаты см. в таблице:

Тестовый штамм	Ожидаемые результаты
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Рост колоний розовато-лилового цвета
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Отсутствие роста

* Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным, федеральным либо государственным законодательством, требованиями аккредитации и (или) методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Надлежащие процедуры контроля качества описаны в рекомендациях Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI).

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BBL CHROMagar MRSA II (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

Необходимые, но непоставляемые материалы

Подтверждающий тест, например реагенты для испытания на коагулазу или латекс-агглютинации *Staphylococcus* (например, **Staphyloslide**), микроорганизмы для контроля качества, вспомогательные питательные среды и другое лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов

Среда может использоваться для испытаний образцов, полученных из дыхательных путей (например, из гортани и образцов мокроты), нижнего желудочно-кишечного тракта (например, из прямой кишки и образцов кала), с кожи (например, в паховой или подмышечной области, в промежности и перианальной области), из ноздрей, ран, а также флаконов с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.

Взятие и обработка образцов

Рекомендуется использовать устройства для транспортировки, предназначенные для взятия клинических микробиологических образцов. Следуйте рекомендованным методикам производителя устройства для транспортировки.

Дополнительную информацию о методиках взятия и обработки образцов см. в соответствующих документах.^{10, 11}

Методика тестирования

Соблюдайте асептическую методику работы. Поверхность агара должна быть гладкой и влажной, но без избытка влаги. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

- **Образцы смывов из ноздрей.** Как можно скорее после поступления в лабораторию выполните посев образца в чашке **BBL CHROMagar MRSA II** штрихом для выделения. Инкубируйте чашки в аэробных условиях при 35 – 37 °С в течение 20 – 26 ч. в перевернутом положении.
- **Флаконы с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.** Как только флакон с гемокультурой будет признан положительным и окрашивание по Граму подтвердит присутствие грамположительных

кокков, отберите аликвоту и засейте чашку **BBL CHROMagar MRSA II** штрихами для выделения. Инкубируйте чашки в аэробных условиях при 35 – 37 °С в течение 18 – 28 ч. в перевернутом положении. Инкубация дольше 18 – 28 ч. не требуется.

- **Все прочие образцы (из горла, мокроты, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи и из ран).** Как можно скорее после поступления в лабораторию выполните посев в чашке **BBL CHROMagar MRSA II** штрихом для выделения. Инкубируйте чашки в аэробных условиях при 35 – 37 °С в течение 18 – 28 ч. в перевернутом положении. При отсутствии колоний розовато-лилового цвета инкубируйте повторно до общей продолжительности 36 – 52 ч.

Не инкубируйте чашки в атмосфере, обогащенной диоксидом углерода. Необходимо ограничить до минимума (<4 ч.) воздействие света на чашки **BBL CHROMagar MRSA II** до инкубации и в процессе инкубации, поскольку продолжительное воздействие света может привести к снижению эффективности выделения и (или) окрашиванию изолятов. Воздействие света допускается после проявления окраски колоний.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После надлежащей инкубации исследуйте чашки на белом фоне. Колонии MRSA на среде **BBL CHROMagar MRSA II** будут иметь розовато-лиловый цвет. Рост других микроорганизмов (не MRSA) будет подавляться либо они образуют колонии от голубого до голубовато-зеленого, белого цвета или бесцветные колонии. Для интерпретации результатов используйте таблицы 1 – 3.

Таблица 1. Интерпретация результатов для образцов смывов из ноздрей

Инкубация в течение 20 – 26 ч.	Интерпретация и рекомендуемые действия
Колонии розовато-лилового цвета, морфологически напоминающие стафилококки*	Положительные — MRSA обнаружен.
Обнаружены колонии не розовато-лилового цвета	Отрицательные — MRSA не обнаружен.
Отсутствие роста	Отрицательные — MRSA не обнаружен.

* См. раздел ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Таблица 2. Интерпретация результатов для положительных флаконов с гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.

Инкубация в течение 18 – 28 ч.	Интерпретация и рекомендуемые действия
Колонии розовато-лилового цвета, морфологически напоминающие стафилококки*	Положительные — MRSA обнаружен.
Колонии розовато-лилового цвета отсутствуют	Отрицательные — MRSA не обнаружен.

* См. раздел ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Таблица 3. Интерпретация результатов для образцов, полученных из горла, мокроты, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи и из ран.

Инкубация в течение 18 – 28 ч.		Интерпретация и рекомендуемые действия
Колонии розовато-лилового цвета, морфологически напоминающие стафилококки*		Обнаружен MRSA.
Колонии розовато-лилового цвета отсутствуют		Инкубируйте дополнительно в течение 18 – 24 ч., чтобы общее время инкубации составило 36 – 52 ч.
Инкубация в течение 36 – 52 ч.	Рекомендуемые действия	Интерпретация
Колонии розовато-лилового цвета*	Выполните прямой подтверждающий тест (например, на коагулазу или латекс-агглютинацию <i>Staphylococcus</i>).	Если тест на коагулазу или латекс-агглютинацию <i>Staphylococcus</i> положителен — MRSA обнаружен. Если тест на коагулазу или латекс-агглютинацию <i>Staphylococcus</i> отрицателен — MRSA не обнаружен.
Колонии розовато-лилового цвета отсутствуют	НП	MRSA не обнаружен.

- См. раздел ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ
- НП = Не Применяется

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Распространенность инфекции, вызванной MRSA, существенно возросла в условиях медицинских учреждений; число носителей MRSA вне больниц также увеличивается. Недавние публикации показывают увеличение числа госпитализаций, связанных с *S. aureus*, на 62 %, и предполагаемое увеличение числа госпитализаций, обусловленных устойчивым к метициллину *S. aureus*, более чем в два раза за период с 1999 по 2005 г.¹² Данные Национальной системы наблюдения за внутрибольничными инфекциями США (NNIS) показывают, что в условиях отделений интенсивной терапии доля MRSA в общем числе инфекций *S. aureus* возросла до 59,5 – 64,4 %. Отмечается значительное увеличение частоты случаев инфекций мягких тканей и кожи, что позволяет предположить распространение MRSA бытового происхождения в больницах.^{12, 13}

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

BBL CHROMagar MRSA II представляет собой селективную дифференциальную среду для прямого качественного обнаружения в клинических образцах *Staphylococcus aureus*, устойчивого к метициллину (MRSA). Испытания могут выполняться с использованием образцов, полученных из дыхательных путей, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи и из ран после 18 – 52 ч. инкубации. Кроме того, испытания могут выполняться с использованием образцов смывов из ноздрей для скрининга колонизации в ноздрях как средство контроля и профилактики инфекций, вызванных MRSA, в медицинских учреждениях, после 20 – 26 ч. инкубации, а также с использованием флаконов с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки, после 18 – 28 ч. инкубации.

Независимые оценки качества диагностики

Были проведены две независимые оценки качества диагностики.

- Первая оценка среды **BBL CHROMagar MRSA II** выполнялась в четырех различных клинических лабораториях с остаточными проспективными образцами, полученными из дыхательных путей (например, из ноздрей, гортани и образцов мокроты), нижнего желудочно-кишечного тракта (например, из прямой кишки и образцов кала), с кожи (например, в паховой или подмышечной области, в промежности и перианальной области), из ран, а также флаконов с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки (таблицы 4 и 5).¹⁴

Оценка образцов выполнялась путем сравнения выделения MRSA на обычной питательной среде (например, на триптическом соевом агаре с 5 % овечьей крови, колумбийском агаре с 5 % овечьей крови или на среде CNA (агар с колистином и налидиксовой кислотой), в зависимости от типа образца) и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. *S. aureus*, выделенный на обычной питательной среде, подвергали испытанию методом диффузии с использованием дисков с цефокситином. К результатам испытаний методом диффузии с дисками с цефокситином применялись критерии интерпретации Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) для определения устойчивости к метициллину (R) и чувствительности к метициллину (S) ($R \leq 21$ мм и $S \geq 22$ мм).^{4, 15} Результаты в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** интерпретировались как положительные в отношении MRSA через 18 – 28 ч. на основании обнаружения колоний розовато-лилового цвета или через 36 – 52 ч. на основании обнаружения колоний розовато-лилового цвета с подтверждением присутствия *S. aureus*.

Общая распространенность MRSA по результатам тестов в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** составила 15 % (778/5051) или около 65,6 % (778/1186) всех *S. aureus*. Для чашек с обычной питательной средой (например, триптический соевый агар с 5 % овечьей крови, колумбийский агар с 5 % овечьей крови и CNA) степень выделения MRSA составила 79,8 % (621/778), тогда как для чашек **BBL CHROMagar MRSA II** степень выделения MRSA составила 95,6 % (744/778).

Таблица 4 Выделение MRSA: сравнение BBL CHROMagar MRSA II и обычной культуры.

		Выделение MRSA	
Категория образца	Время считывания ¹⁾	Обычная культура	CMRSAII
Дыхательные пути	24 ч.	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 ч.	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
Нижний желудочно-кишечный тракт	24 ч.	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 ч.	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Кожа	24 ч.	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 ч.	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Рана	24 ч.	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)
	48 ч.	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Кровяная среда ²⁾	24 ч.	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Объединенные результаты ³⁾	24 ч.	83,1 % (621/747)	89,8 % (671/747)
	48 ч.	79,8% (621/778)	95,6% (744/778)

¹⁾ Значение 24 ч. соответствует интервалу считывания 18 – 28 ч. без необходимости подтверждающего теста, а значение 48 ч. соответствует интервалу считывания 36 – 52 ч. с подтверждающим тестом.

²⁾ Положительная гемокультура, содержащая грамположительные кокки.

³⁾ Включают все типы образцов (из дыхательных путей, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи, из ран и гемокультур).

Таблица 5. Эффективность среды BBL CHROMagar MRSA II по сравнению с обычной культурой и дисками с цефокситином для образцов различных типов.

		Диски с цефокситином	
Категория образца	Время считывания ¹⁾	Чувствительность (ДИ* 95 %)	Специфичность (ДИ* 95 %)
Дыхательные пути	24 ч.	85,5 % (195/228) (80,3 %; 89,8 %)	99,8 % (1216/1218) (99,4 %; 100 %)
	48 ч.	92,4 % (219/237) (88,3 %; 95,4 %)	99,8 % (1207/1209) (99,4 %; 100 %)
Нижний желудочно-кишечный тракт	24 ч.	87,9 % (94/107) (80,1 %; 93,4 %)	100 % (587/587) (99,4 %; 100 %)
	48 ч.	98,3 % (118/120) (94,1 %; 99,8 %)	100 % (574/574) (99,4 %; 100 %)
Кожа	24 ч.	88,4 % (152/172) (82,6 %; 92,8 %)	100 % (1103/1103) (99,7 %; 100 %)
	48 ч.	96,1 % (171/178) (92,1 %; 98,4 %)	100% (1097/1097) (99,7%; 100%)
Рана	24 ч.	92,1 % (117/127) (86 %; 96,2 %)	100 % (821/821) (99,6 %; 100 %)

		Диски с цефокситином	
Категория образца	Время считывания ¹⁾	Чувствительность (ДИ* 95 %)	Специфичность (ДИ* 95 %)
	48 ч.	94,6 % (123/130) (89,2 %; 97,8 %)	100 % (818/818) (99,6 %; 100 %)
Кровяная среда ²⁾	24 ч.	100 % (113/113) (96,8 %; 100 %)	100 % (575/575) (99,4 %; 100 %)
Объединенные результаты ³⁾	24 ч.	89,8 % (671/747) (87,4 %; 91,9 %)	100 % (4302/4304) (99,8 %; 100 %)
	48 ч.	95,6 % (744/778) (93,9 %; 97 %)	100 % (4271/4273) (99,8 %; 100 %)

* ДИ= доверительный интервал

¹⁾ Значение 24 ч. соответствует интервалу считывания 18 – 28 ч. без необходимости подтверждающего теста, а значение 48 ч. соответствует интервалу считывания 36 – 52 ч. с подтверждающим тестом.

²⁾ Положительная гемокультура, содержащая грамположительные кокки.

³⁾ Включают все типы образцов (из дыхательных путей, нижнего желудочно-кишечного тракта, с кожи, из ран и гемокультур).

Образцы, полученные из дыхательных путей.

Была выполнена оценка 1446 образцов, полученных из дыхательных путей, для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** составила 92,4 % (219/237) и была выше степени выделения в чашках с обычной питательной средой, которая составила 76,8 % (182/237) в течение 48 ч. При считывании через 18 – 28 ч. наблюдалось два ложных положительных результата для **BBL CHROMagar MRSA II**, что соответствует специфичности 99,8 % (1216/1218). На основании окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. и подтверждения всех колоний розовато-лилового цвета при помощи подтверждающего теста при считывании через 36 – 52 ч., общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для образцов, полученных из дыхательных путей, составила 98,6 % (1426/1446).

Образцы, полученные из нижних отделов желудочно-кишечного тракта.

Была выполнена оценка 694 образцов, полученных из нижних отделов желудочно-кишечного тракта, для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** составила 98,3 % (118/120) и была выше степени выделения в чашках с обычной питательной средой, которая составила 77,5 % (93/120) в течение 48 ч. Не было отмечено ложноположительных результатов на **BBL CHROMagar MRSA II**. На основании окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. и подтверждения всех колоний розовато-лилового цвета при помощи подтверждающего теста при считывании через 36 – 52 ч., общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для образцов, полученных из нижних отделов желудочно-кишечного тракта, составила 99,7 % (692/694).

Образцы, полученные с кожи.

Была выполнена оценка в общей сложности 1275 образцов, полученных с кожи, для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** составила 96,1 % (171/178) и была выше степени выделения в чашках с обычной питательной средой, которая составила 66,3 % (118/178) в течение 48 ч. Не было отмечено ложноположительных результатов на **BBL CHROMagar MRSA II**. На основании окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. и подтверждения всех колоний розовато-лилового цвета при помощи подтверждающего теста при считывании через 36 – 52 ч., общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для образцов, полученных с кожи, составила 99,5 % (1268/1275).

Образцы, полученные из ран.

Была выполнена оценка в общей сложности 948 образцов, полученных из ран, для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** составила 94,6 % (123/130) и была выше степени выделения в чашках с обычной питательной средой, которая составила 88,5 % (115/130) в течение 48 ч. Не было отмечено ложноположительных результатов на **BBL CHROMagar MRSA II**. На основании окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. и подтверждения всех колоний розовато-лилового цвета при помощи подтверждающего теста при считывании через 36 – 52 ч., общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для образцов, полученных из ран, составила 99,3 % (941/948).

Флаконы с положительными гемокультурами, содержащими грамположительные кокки.

Была выполнена оценка в общей сложности 688 положительных флаконов с гемокультурами, содержащими грамположительные кокки, для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** и в чашках с обычной питательной средой была одинаковой и составила 100 % (113/113) через 18 – 28 ч. Не было отмечено ложноположительных результатов на **BBL CHROMagar MRSA II**. На основе окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для положительных флаконов с гемокультурами составила 100 % (688/688).

Объединенные результаты для всех типов образцов.

Была выполнена оценка в общей сложности 5051 образца для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. Общая степень выделения MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** составила 95,6 % (744/778) и была выше степени выделения в чашках с обычной питательной средой, которая составила 79,8 % (621/778) для всех типов образцов (из дыхательных путей, нижнего отдела желудочно-кишечного тракта, кожи, ран и положительных флаконов с гемокультурами, содержащими грамположительные кокки). При считывании через 18 – 28 ч. были обнаружены 2 ложноположительные колонии розовато-лилового цвета на **BBL CHROMagar MRSA II**, что соответствует специфичности 99,9 % (4271/4273). На основании окраски колоний при считывании **BBL CHROMagar MRSA II** через 18 – 28 ч. и подтверждения всех колоний розовато-лилового цвета при помощи подтверждающего теста при считывании через 36 – 52 ч., общая согласованность результатов **BBL CHROMagar MRSA II** в сравнении с результатами метода диффузии с дисками с цефокситином для всех типов образцов составила 99,3 % (5015/5051).

Тест с нагрузкой

Тестирование 20 (двадцати) экспериментальных штаммов *S. aureus* было выполнено в трех клинических учреждениях. Панель включала 14 штаммов MRSA и 6 штаммов MSSA. Согласованность для отдельных учреждений и общая согласованность между учреждениями составила 100 %.

- Вторая оценка BBL CHROMagar MRSA II выполнялась в трех географически распределенных клинических лабораториях путем контроля образцов смывов из ноздрей. Оценка образцов выполнялась путем сравнения выделения MRSA в чашках триптиказо-соевого агара с добавлением 5 % овечьей крови (TSA II) с использованием принятой в каждом учреждении стандартной процедуры идентификации *S. aureus* (в обычной питательной среде) и выделения в чашках **BBL CHROMagar MRSA II**. (В первых двух учреждениях стандартная процедура включала в себя тесты на латекс-агглютинацию стафилококков, а в третьем учреждении — тесты на коагулазу. Все выделенные *S. aureus* подвергали испытанию на *mec-A*-опосредованную устойчивость к оксациллину методом диффузии с использованием дисков с цефокситином.) К результатам испытаний методом диффузии с дисками с цефокситином (30 мкг) применялись методы и критерии интерпретации Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI).^{4, 15} Результаты в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** интерпретировались как положительные в отношении MRSA через 20 – 26 ч. на основании обнаружения колоний розовато-лилового цвета.

В обоих внешних исследованиях была выполнена оценка в общей сложности 1613 подходящих образцов смывов из ноздрей для сравнения выделения MRSA в чашках с обычной питательной средой и в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** через 20 – 26 ч. инкубации (таблица 6). Согласованность положительных результатов в процентах и согласованность отрицательных результатов в процентах при сравнении чашек **BBL CHROMagar MRSA II** через 20 – 26 ч. и чашек с обычной питательной средой составила соответственно 87,9 и 98,6 %. Чувствительность и специфичность по сравнению с методом диффузии с использованием дисков с цефокситином составила соответственно 88,8 и 99,8 %.

Таблица 6. Эффективность среды BBL CHROMagar MRSA II по сравнению с обычной питательной средой и дисками с цефокситином для образцов смывов из ноздрей.

Обычная культура			
Тип образца	Время считывания	Согласованность положительных результатов в процентах (ДИ 95 %)	Согласованность отрицательных результатов в процентах (ДИ 95 %)
Ноздри	24 ч. ¹	87,9 % (181/206) (82,6 %; 92,0 %)	98,6 % (1387/1407) (97,8 %; 99,1 %)

Испытания методом диффузии с дисками с цефокситином (CLSI)			
Тип образца	Время считывания	Чувствительность (ДИ 95 %)	Специфичность (ДИ 95 %)
Ноздри	24 ч. ¹	88,8 % (198/223) (83,9 %; 92,6 %)	99,8 % (1387/1390) (99,4 %; 100 %)

¹Значение 24 ч. соответствует интервалу считывания 20 – 26 ч. без необходимости подтверждающего теста.

Внутренняя оценка качества диагностики

Пределы обнаружения (LOD)

Была выполнена оценка **BBL CHROMagar MRSA II** для определения предела обнаружения (LOD) при выделении *S. aureus*, устойчивого к метициллину. Была проведена оценка выделения четырех тестовых штаммов, представляющих два гетерогенных и два гомогенных MRSA, на **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁶ Для определения концентрации микроорганизмов, выраженной в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) для каждого разведения, использовались чашки с неселективным колумбийским агаром с добавлением 5 % овечьей крови. Предел обнаружения (LOD) для **BBL CHROMagar MRSA II** находился в диапазоне от 4 – 116 КОЕ в течение 24 ч. до 4 – 24 КОЕ в течение 48 ч.¹⁷

Исследование мешающих факторов

Исследование потенциального влияния на результаты и ингибирования MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II** было выполнено с участием в общей сложности 30 веществ, включая распространенные медицинские препараты, устройства для транспортировки, питательные добавки и среды для гемокультур. Некоторые жидкости для полоскания рта, капли для горла, ацетилсалициловая кислота, индивидуальные смазки и ибупрофен могут снижать выделение MRSA. Аэрозоли для носа, содержащие флутиказона пропионат, азеластина гидрохлорид, фенилэфрина гидрохлорид и оксиметазолина гидрохлорид, а также отпускаемые без рецепта капли для горла с ментолом проявляют противомикробную активность.

Никакие другие испытанные вещества, устройства или среды не влияют на выделение MRSA на **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

- Необходимо ограничить до минимума (<4 ч.) воздействие света на чашки **BBL CHROMagar MRSA II** до инкубации и в процессе инкубации, поскольку продолжительное воздействие света может привести к снижению эффективности выделения и (или) окрашиванию изолятов.
- Инкубация в атмосфере CO₂ не рекомендуется и может привести к ложным отрицательным культурам.
- Не рекомендуется инкубация чашек дольше 36 – 52 ч.
- Для образцов смывов из ноздрей эффективность чашек **BBL CHROMagar MRSA II** оптимизирована для условий инкубации при 35 – 37 °C в течение 20 – 26 ч. Низкая температура инкубации (<35 °C) и (или) сокращение продолжительности инкубации (<20 ч.) могут привести к снижению чувствительности чашек **BBL CHROMagar MRSA II**. Имейте в виду, что при частом открытии дверей инкубатора температура в нем снижается. Поэтому рекомендуется свести к минимуму открытие дверей и держать двери открытыми как можно меньше.
- После 24-часовой или более длительной инкубации некоторые штаммы *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* и *Bacillus cereus* могут создавать колонии розовато-лилового цвета. При необходимости может выполняться окрашивание по Граму.
- В редких случаях после 24-часовой или более длительной инкубации штаммы *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* и чувствительного к метициллину *Staphylococcus aureus* также могут создавать колонии розовато-лилового цвета. При отсутствии подозрения на MRSA можно выполнить тест на коагулазу или тестирование антибактериальной чувствительности (AST).
- Для редких штаммов MRSA была обнаружена чувствительность к основе среды **BBL CHROMagar MRSA II**. Эта чувствительность не связана с устойчивостью к метициллину, а вызвана компонентом основы среды. В результате эти штаммы могут быть неправильно охарактеризованы как чувствительные к метициллину.

- Существуют редкие штаммы MRSA, которые могут создавать в чашках **BBL CHROMagar MRSA II** колонии не розовато-лилового цвета. При подозрении на MRSA пересейте культуры не розовато-лилового цвета для дальнейшей идентификации и проверки чувствительности, если это необходимо.
- Сильное микробиологическое загрязнение и (или) некоторые образцы могут приводить к неспецифическому окрашиванию основного квадранта среды. Это может приводить к окрашиванию среды в розовато-лиловый, пурпурный, зеленый или голубой цвет или к легкому помутнению верхнего слоя среды при отсутствии выраженных колоний. Неспецифическое окрашивание среды следует интерпретировать как отрицательный результат.
- Возможен рост *mecA*-отрицательных *S. aureus*, если минимальные ингибирующие концентрации оксациллина или цефокситина находятся на уровне или около контрольной точки устойчивости.
- Тщательная оценка механизмов устойчивости, не связанных с *mecA* (например, пограничного устойчивого к оксациллину *Staphylococcus aureus*-BORSA и модифицированного *Staphylococcus aureus*-MODSA), при использовании CMRSA II не выполнялась, поэтому эффективность CMRSA II при таких механизмах устойчивости неизвестна.
- Поскольку изоляция MRSA зависит от числа микроорганизмов, присутствующих в образце, достоверность результатов зависит от правильности взятия, обработки и хранения образцов.
- Один отрицательный результат нельзя считать достаточным основанием для постановки диагноза, выбора метода лечения и принятия других решений в отношении дальнейших действий. Для идентификации микроорганизмов, проверки чувствительности и эпидемиологической типизации может потребоваться исследовать сопутствующие культуры.

Перед первым использованием чашек **BBL CHROMagar MRSA II** рекомендуется ознакомиться с типичным видом колоний определенных штаммов MRSA, например штаммов, указанных в разделе **Контроль качества**.

НАЛИЧИЕ

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (среда в чашках, готовая к использованию), 20 шт.

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (среда в чашках, готовая к использованию), 120 шт.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Calfee, D. P., C. D. Salgado, D. Classen, K.M. Arias, K. Podgorny, D.J. Anderson, H. Burstin, S. E. Coffin, E. R. Dubberke, V. Fraser, D. N. Gerding, F. A. Griffin, P. Gross, K.S. Kaye, M. Klompas, E. Lo, J. Marschall, L. A. Mermel, L. Nicolle, D. A. Pegues, T. M. Perl, S. Saint, R. A. Weinstein, R. Wise, D. S. Yokoe. 2008. Supplement Article: SHEA/ IDSA Practice Recommendation Strategies to prevent Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Acute Care Hospitals. *Infect. Control and Hospital Epidemiol.* Oct: 29: supplement 1, 62-80.
2. Bannerman, T. L, and S. J. Peacock. 2007. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci.* *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.
3. Klein E., D. A. Smith, and R. Lazminarayan. 2007. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerging Infectious Diseases*, (12) CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod>
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth Informational Supplement, M100-S18. CLSI, Wayne, PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed., CLSI, Wayne, PA.

6. The Public Health Services, US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings 2007. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl>.
7. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (BMBL) 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. CDC website, <http://www.cdc.gov/print.do?url=http%3A//www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb15/bmb115toc>
8. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Approved Standard M22-A3. Quality control for commercially prepared microbiological culture media, 3rd ed., CLSI, Wayne, PA.
10. 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.
11. 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.
12. Huckabee C.M., W.C. Huskins, and P.R. Murray. 2009. Predicting Clearance of Colonization with Vancomycin- Resistant Enterococci and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by use of weekly surveillance cultures. *J. Clin. Microbiol.*, 47: 1229-1230.
13. Klevens R. M., M. A. Morrison, and J. Nadle et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the US. *JAMA*, 298 (15) 1763-1771 (summary on MRSA – Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.)
14. Wendt C., N. L. Havill, and K. C. Chapin et al. Evaluation of a new selective medium, BD BBL CHROMagar MRSA II, for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in different specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 48: 2223-2227.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved Standard M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9th ed., CLSI, Wayne, PA.
16. Tomasz A., S. Nachman, and H. Leah 1991. Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicro. Agents Chemother*, 35:124-129.
17. Дополнительная литература может быть предоставлена компанией BD Diagnostics.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.