



BBL™ CHROMagar MRSA II*

POUŽITIE

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** (CMRSAII) je selektívna a diferenčná pôda na priamu kvalitatívnu detekciu baktérií *Staphylococcus aureus* rezistentných na meticilín (MRSA) v klinických vzorkách. Test možno vykonať na vzorkách z respiračného traktu, dolnej časti gastrointestinálneho (GI) traktu, kože a rán, na vzorkách z nozdier na skrining kolonizácie sliznice nosa ako pomoc pri prevencii a kontrole infekcií spôsobených MRSA v zdravotníckych zariadeniach aj vo fľaškách s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahujú gram-pozitívne koky.

ZHRNUTIE A VYSVETLENIE

Baktérie MRSA sú hlavnou príčinou nozokomiálnych a život ohrozujúcich infekcií. Infekcie vyvolané baktériami MRSA sa v porovnaní s infekciami spôsobenými baktériami *S. aureus* citlivými na meticilín (MSSA) vyznačujú výrazne vyššou chorobnosťou, úmrtnosťou a vyššími nákladmi.¹ Tieto organizmy sa najčastejšie vyskytujú v zdravotníckych zariadeniach, pričom však súčasne vzrástol aj výskyt baktérií MRSA v celej spoločnosti.^{2,3}

Americká spoločnosť pre epidemiológiu v zdravotníctve (SHEA) vydala usmernenia zamerané na kontrolu prenosu MRSA, ktoré zahŕňajú program aktívneho dohľadu nad identifikáciou možných zdrojov infekcií a prísny program kontroly infekcií orientovaný na kontrolu šírenia MRSA.¹

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** je selektívna a diferenčná pôda, ktorá obsahuje cefoxitín určený na detekciu baktérií MRSA vo vzorkách z respiračného traktu (napríklad z nosa, hrdla a hlienu), dolnej časti gastrointestinálneho (GI) traktu (napríklad z konečníka a stolice), kože (napríklad zo slabiny/axily a perinea/perianálnej oblasti) i rán aj vo fľaškách s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahujú gram-pozitívne koky.

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** je modifikovanou verziou existujúcej pôdy CHROMagar MRSA, ktorú vyvinuli A. Rambach a spoločnosť BD, a ktorú spoločnosť BD predáva na základe licenčnej dohody so spoločnosťou CHROMagar Paríž, Francúzsko.

PRINCÍP METÓDY

Mikrobiologická metóda

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** umožňuje priamu detekciu a identifikáciu baktérií MRSA v dôsledku pridania špecifických chromogénnych substrátov a cefoxitínu. Kmene MRSA rastú za prítomnosti cefoxitínu⁴ a v dôsledku hydrolýzy chromogénneho substrátu vytvárajú svetlofialové kolónie. Pridávajú sa aj iné selektívne látky slúžiace na potlačenie gram-negatívnych organizmov, kvasiniek a niektorých ďalších gram-pozitívnych kokov. Baktérie iné ako MRSA môžu využiť iné chromogénne substráty v pôde a vytvárať modré až modrozelené kolónie. Ak sa chromogénne substráty nevyužijú, vytvárajú sa biele alebo bezfarebné kolónie.

*Patenty v štádiu schvaľovania v Európe, USA a Kanade

ZLOŽENIE

BBL CHROMagar MRSA II

Približné zloženie* na liter purifikovanej vody

Chromopeptón	35,0 g
Chromogénová zmes	0,5 g
Chlorid sodný	17,5 g
Inhibičné činidlá	7,52 g
Cefoxitín	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 pri 25 °C

*Upravené a/alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli splnené analytické parametre.

VAROVANIA A UPOZORNENIA

IVD Len na profesionálne použitie. 

V klinických vzorkách sa môžu nachádzať patogénne mikroorganizmy vrátane vírusov hepatitídy a HIV. Pri práci so všetkými materiálmi kontaminovanými krvou a inými telesnými tekutinami dodržiavajte štandardné pracovné postupy⁵⁻⁸ a smernice príslušných inštitúcií. Všetky misky, nádoby so vzorkami a iné kontaminované materiály sa po použití musia sterilizovať v autokláve a až potom sa môžu zlikvidovať. Podrobnosti nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

Znehodnotenie produktu: nepoužívajte misky s pôdou, ak sú na nich viditeľné známky mikrobiálnej kontaminácie, zmena farby, vysušenie, prasknutie alebo iné známky poškodenia.

Pred prvým použitím pôdy **BBL CHROMagar MRSA II** odporúčame vyskúšať ju na potvrdených kmeňoch MRSA s typickým vzhľadom kolónií, napríklad na kmeňoch uvedených v časti **KONTROLA KVALITY POUŽÍVATEĽOM**.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Dodané misky s pôdou uchovávajúte až do času očkovania v pôvodnom obale a škatuli pri teplote 2 – 8 °C. Pred inkubáciou i počas nej minimalizujte (< 4 hodiny) pôsobenie svetla na pôdu **BBL CHROMagar MRSA II**, pretože dlhšie pôsobenie svetla môže spôsobiť redukcii množenia mikroorganizmov a/alebo ovplyvniť sfarbenie izolátov. Pôdu nezmrazujte ani nevystavujte nadmerným teplotám. Pôda sa môže použiť na očkovanie až do dňa expirácie (uvedeného na miske alebo na obale) a môže sa inkubovať podľa odporúčania. Misky z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň, ak sú uskladnené na čistom a tmavom mieste pri teplote 2 – 8 °C.

KONTROLA KVALITY POUŽÍVATEĽOM*

Skontrolujte, či na miskách nie sú viditeľné známky poškodenia podľa opisu v časti

Znehodnotenie produktu.

Skontrolujte účinnosť pôdy naočkovaním reprezentatívnych vzoriek zriedenými kultúrami podľa opisu uvedeného nižšie:

1. Naočkujte misky. V prípade baktérií *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 použite priame očkovanie.⁹
2. Misky inkubujte pri teplote 35 – 37 °C v aeróbnom prostredí.
3. Ako neselektívne kontrolné médium pre všetky organizmy použite misky s 5 % agarom z ovčej krvi Columbia Agar.
4. Po 20 až 26 hodinách skontrolujte zmnoženie, veľkosť kolónií a ich sfarbenie. Očakávané výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Testovaný kmeň	Očakávané výsledky
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Rast svetlofialových kolónií
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Žiadny rast

* Požiadavky na kontrolu kvality sa musia plniť v súlade s platnými miestnymi, štátnymi alebo federálnymi predpismi, akreditačnými požiadavkami a/alebo štandardnými laboratórnymi postupmi kontroly kvality. Informácie o príslušných postupoch kontroly kvality nájdete v usmerneniach Inštitútu pre klinické a laboratórne normy (CLSI).

POSTUP

Dodávaný materiál

BBL CHROMagar MRSA II (90 mm misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolované.

Potrebný materiál, ktorý nie je súčasťou dodávky

Potvrdzujúci test, napríklad činidlá na koagulázový test alebo na testovanie prítomnosti baktérií *Staphylococcus* na základe latexovej aglutinácie (napríklad **Staphyloslide**), mikroorganizmy určené na kontrolu kvality, pomocné kultivačné pôdy a ďalšie laboratórne vybavenie podľa potreby.

Typy vzoriek

Pôdu možno použiť na vzorky z respiračného traktu (napríklad z hrdla a hlienu), dolnej časti gastrointestinálneho (GI) traktu (napríklad z konečníka a stolice), kože (napríklad zo slabiny/axily a perinea/perianálnej oblasti), nosa i rán aj vo fľaškách s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahujú gram-pozitívne koky.

Odber vzoriek a manipulácia s nimi

Odporúčame použiť prepravné zariadenie schválené na odber mikrobiologických klinických vzoriek. Postupujte podľa odporúčaní výrobcu prepravného zariadenia.

Podrobné informácie o odbere vzoriek a manipulácii s nimi nájdete aj v príslušnej literatúre.^{10, 11}

Postup testu

Dodržiavajte aseptické postupy. Povrch agaru má byť vlhký a rovný, ale bez prílišnej vlhkosti. Pred očkovaním zohrejte pôdu na izbovú teplotu.

- **Vzorky z nozdier:** Bezprostredne po prijatí do laboratória naočkujte vzorku na miskú s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II** a vytvorte na povrchu agaru pásy. Misky inkubujte aeróbne pri teplote 35 – 37 °C počas 20 až 26 hodín v obrátenej polohe.
- **Fľašky s pozitívnymi krvnými kultúrami obsahujúce gram-pozitívne koky:** Po stanovení pozitivity fľašky s krvnou kultúrou a potvrdení prítomnosti gram-pozitívnych kokov na základe Gramovho farbenia odoberte alikvotnú časť, naočkujte vzorku na miskú s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II** a vytvorte na povrchu agaru pásy. Misky inkubujte aeróbne pri teplote 35 – 37 °C počas 18 až 28 hodín v obrátenej polohe. Nie je potrebné inkubovať dlhšie ako 18 – 28 hodín.
- **Všetky ostatné vzorky (vzorky z hrdla, hlienov, dolného GI traktu, kože a rán):** Bezprostredne po prijatí do laboratória naočkujte vzorku na miskú s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II** a vytvorte na povrchu agaru pásy. Misky inkubujte aeróbne pri teplote 35 – 37 °C počas 18 až 28 hodín v obrátenej polohe. Ak sa neobjavia žiadne svetlofialové kolónie, zopakujte inkubáciu tak, aby jej celková dĺžka dosiahla 36 – 52 hodín.

Neinkubujte v prostredí obohatenom oxidom uhličitým. Pred inkubáciu i počas nej minimalizujte (< 4 hodiny) pôsobenie svetla na pôdu **BBL CHROMagar MRSA II**, pretože dlhšie pôsobenie svetla môže spôsobiť redukciu množenia mikroorganizmov a/alebo ovplyvniť sfarbenie izolátov. Vystavenie svetlu je prípustné až po sfarbení kolónií.

VÝSLEDKY

Po správnej inkubácii vyhodnoťte misky oproti bielemu pozadiu. Kolónie baktérií MRSA budú na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** svetlofialové. Iné organizmy (nie MRSA) budú inhibované alebo vytvoria modré až modrozelené, biele prípadne bezfarebné kolónie. Interpretácie výsledkov sú uvedené v Tabuľkách 1 – 3.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov získaných zo vzoriek z nozdier

Inkubácia 20 – 26 hodín	Interpretácia/odporúčaný postup
Svetlofialové kolónie morfológicky pripomínajúce stafylokoky*	Pozitívne – zistená prítomnosť baktérií MRSA
Nebola zistená prítomnosť svetlofialových kolónií	Negatívne – nebola zistená prítomnosť baktérií MRSA
Žiadny rast	Negatívne – nebola zistená prítomnosť baktérií MRSA

* Pozrite časť OBMEDZENIA POSTUPU.

Tabuľka 2: Interpretácia výsledkov v prípade fliaš s pozitívnymi krvnými kultúrami obsahujúcimi gram-pozitívne koky

Inkubácia 18 – 28 hodín	Interpretácia/odporúčaný postup
Svetlofialové kolónie morfológicky pripomínajúce stafylokoky*	Pozitívne – zistená prítomnosť baktérií MRSA
Žiadne svetlofialové kolónie	Negatívne – nebola zistená prítomnosť baktérií MRSA

* Pozrite časť OBMEDZENIA POSTUPU.

Tabuľka 3: Interpretácia výsledkov zo vzoriek z hrdla, hlienu, dolného GI traktu, kože a rán

Inkubácia 18 – 28 hodín	Interpretácia/odporúčaný postup	
Svetlofialové kolónie morfológicky pripomínajúce stafylokoky*	Zistená prítomnosť baktérií MRSA	
Žiadne svetlofialové kolónie	Opakovane inkubujte ďalších 18 až 24 hodín tak, aby celkový čas inkubácie dosiahol 36 až 52 hodín)	
Inkubácia 36 – 52 hodín	Odporúčaný postup	Interpretácia
Svetlofialové kolónie*	Urobte priamy potvrdzujúci test (napríklad koagulázový test alebo latexovú aglutináciu na určenie prítomnosti baktérií <i>Staphylococcus</i>)	Ak je koagulázový test alebo test latexovej aglutinácie na detekciu prítomnosti baktérií <i>Staphylococcus</i> pozitívny – bola zistená prítomnosť baktérií MRSA Ak je koagulázový test alebo test latexovej aglutinácie na detekciu prítomnosti baktérií <i>Staphylococcus</i> negatívny – nebola zistená prítomnosť baktérií MRSA
Žiadne svetlofialové kolónie	-	Nebola zistená prítomnosť baktérií MRSA

* Pozrite časť OBMEDZENIA POSTUPU.

N/A = neaplikuje sa

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Výskyt infekcií spôsobených baktériami MRSA sa v medicínskych zariadeniach dramaticky zvýšil a zvyšuje sa aj rýchlosť prenosu MRSA v spoločnosti. V najnovších publikáciách sa uvádza, že v období od roku 1999 do roku 2005 vzrástol počet hospitalizácií pri ochoreniach spôsobených baktériou *S. aureus* o 62 % a odhadovaný počet hospitalizácií pri ochoreniach spôsobených baktériou *S. aureus* rezistentnou na meticilín stúpol viac ako dvojnásobne.¹² Podľa údajov NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System = Národný systém sledovania nozokomiálnych infekcií) vzrástol u pacientov s intenzívnou starostlivosťou podiel MRSA na infekciách baktériou *S. aureus* na 59,5 – 64,4 %. Bol zistený výrazný nárast výskytu infekcií mäkkých tkanív a kože, ktorý naznačuje zvýšený počet hospitalizácií v dôsledku šírenia baktérií MRSA v spoločnosti.^{12,13}

VLASTNOSTI POSTUPU

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** je selektívna a diferenčná pôda na priamu kvalitatívnu detekciu baktérií *Staphylococcus aureus* rezistentných na meticilín (MRSA) v klinických vzorkách. Test možno vykonať na vzorkách z respiračného traktu, dolnej časti gastrointestinálneho (GI) traktu, kože a rán po 18 až 52 hodinách inkubácie. Test možno vykonať aj na vzorkách z nozdier na skrýning kolonizácie sliznice nosa ako pomoc pri prevencii

a kontrole infekcií spôsobených MRSA v zdravotníckych zariadeniach po 20 až 26 hodinách inkubácie i vo fľaškách s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahujú gram-pozitívne koky, po 18 až 28 hodinách inkubácie.

Externé hodnotenia účinnosti

Vykonali sa dve externé hodnotenia účinnosti:

- Pri prvom hodnotení sa pôda **BBL CHROMagar MRSA II** hodnotila v štyroch rôznych klinických laboratóriách na základe zbytkových perspektívnych vzoriek z respiračného traktu (napríklad z nozdier, hrdla a hlienu), dolnej časti gastrointestinálneho (GI) traktu (napríklad z konečníka a stolice), kože (napríklad zo slabiny/axily a perinea/perianálnej oblasti), z rán i vo fľaškách s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahujú gram-pozitívne koky (Tabuľka 4 a 5).¹⁴ Vzorky sa hodnotili na základe porovnania izolácie kolónií baktérií MRSA na tradičnej kultivačnej pôde (napríklad sójový agar Tryptic s 5 % ovčej krvi, agar Columbia s 5 % ovčej krvi alebo agar CNA (agar s kolistínom a kyselinou nalidixovou) v závislosti od typu vzoriek) i na miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Baktérie *S. aureus* izolované na tradičnej kultivačnej pôde sa testovali metódou difúzneho testu pomocou cefoxitínových diskov. Výsledky difúzneho testu pomocou cefoxitínových diskov zodpovedali kritériám inštitútu CLSI na stanovenie rezistencie (R) a citlivosti (S) voči meticilínu ($R \leq 21$ mm a $S \geq 22$ mm).^{4, 15} Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** sa interpretovala ako pozitívna na baktérie MRSA pri dĺžke inkubácie 18 – 28 hodín na základe zistenia prítomnosti svetlofialových kolónií alebo pri dĺžke inkubácie 36 – 52 hodín na základe výskytu svetlofialových kolónií a potvrdenia prítomnosti baktérií *S. aureus*.

Celkový výskyt baktérií MRSA izolovaných z pôdy **BBL CHROMagar MRSA II** bol 15 % (778/5051) prípadne približne 65,6 % (778/1186) všetkých druhov baktérií *S. aureus*. V prípade misky s tradičnou kultivačnou pôdou (napríklad sójovým agarom Tryptic s 5 % ovčej krvi, agarom Columbia s 5 % ovčej krvi alebo agarom CNA) bol rozsah izolácie baktérií MRSA 79,8 % (621/778), pričom v prípade pôdy **BBL CHROMagar MRSA II** bol rozsah izolácie baktérií MRSA 95,6 % (744/778).

Tabuľka 4 Izolácia baktérií MRSA: **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s tradičnou kultúrou

		Izolácia baktérií MRSA	
Kategória vzoriek	Čas odčítania ¹	Tradičná kultúra	CMRSAII
Respiračný trakt	24 hodín	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 hodín	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
Dolný GI trakt	24 hodín	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 hodín	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Koža	24 hodín	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 hodín	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Rana	24 hodín	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)
	48 hodín	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Krvná kultúra ²	24 hodín	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Kombinovaná vzorka ³	24 hodín	83,1 % (621/747)	89,8 % (671/747)
	48 hodín	79,8 % (621/778)	95,6 % (744/778)

¹) 24-hodinový interval predstavuje rozsah odčítania 18 – 28 hodín bez potreby potvrdzujúceho testu a 48-hodinový interval predstavuje rozsah odčítania 36 – 52 hodín s potvrdzujúcim testom.

²) Pozitívna krvná kultúra obsahujúca gram-pozitívne koky.

³) Zahŕňa všetky typy vzoriek (respiračný trakt, dolný GI trakt, kožu, rany a krvné kultúry).

Tabuľka 5: Účinnosť BBL CHROMagar MRSA II v porovnaní s tradičnou kultúrou a cefoxitínovým diskom podľa typu vzorky

Kategória vzoriek	Čas odčítania ¹⁾	Cefoxitínový disk	
		Citlivosť (95 % interval spoľahlivosti)*	Špecifickosť (95 % interval spoľahlivosti)*
Respiračný trakt	24 hodín	85,5 % (195/228) (80,3 %,89,8 %)	99,8 % (1216/1218) (99,4 %,100 %)
	48 hodín	92,4 % (219/237) (88,3 %,95,4 %)	99,8 % (1207/1209) (99,4 %,100 %)
Dolný GI trakt	24 hodín	87,9 % (94/107) (80,1 %,93,4 %)	100 % (587/587) (99,4 %,100 %)
	48 hodín	98,3 % (118/120) (94,1 %,99,8 %)	100 % (574/574) (99,4 %,100 %)
Koža	24 hodín	88,4 % (152/172) (82,6 %,92,8 %)	100 % (1103/1103) (99,7 %,100 %)
	48 hodín	96,1 % (171/178) (92,1 %,98,4 %)	100 % (1097/1097) (99,7 %,100 %)
Rana	24 hodín	92,1 % (117/127) (86 %,96,2 %)	100 % (821/821) (99,6 %,100 %)
	48 hodín	94,6 % (123/130) (89,2 %,97,8 %)	100 % (818/818) (99,6 %,100 %)
Krvná kultúra ²⁾	24 hodín	100 % (113/113) (96,8 %,100 %)	100 % (575/575) (99,4 %,100 %)
Kombinovaná vzorka ³⁾	24 hodín	89,8 % (671/747) (87,4 %,91,9 %)	100 % (4302/4304) (99,8 %,100 %)
	48 hodín	95,6 % (744/778) (93,9 %,97 %)	100 % (4271/4273) (99,8 %,100 %)

* CI = interval spoľahlivosti

¹⁾ 24-hodinový interval predstavuje rozsah odčítania 18 – 28 hodín bez potreby potvrdzujúceho testu a 48-hodinový interval predstavuje rozsah odčítania 36 – 52 hodín s potvrdzujúcim testom.

²⁾ Pozitívna krvná kultúra obsahujúca gram-pozitívne koky.

³⁾ Zahŕňa všetky typy vzoriek (respiračný trakt, dolný GI trakt, kožu, rany a krvné kultúry).

Vzorky z respiračného traktu:

Celkovo sa hodnotilo 1 446 vzoriek z respiračného traktu, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola vyššia, pričom dosiahla hodnotu 92,4 % (219/237) v porovnaní so 76,8 % izoláciou (182/237) v prípade misiek s tradičnou kultivačnou pôdou pri odčítaní po 48 hodinách. Pri odčítaní po 18 – 28 hodinách sa zistili dva falošne pozitívne výsledky na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** s hodnotou špecificity 99,8 % (1216/1218). Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií potvrdzujúcim testom po 36 – 52 hodinách bola celková zhoda testov na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pri vzorkách z respiračného traktu 98,6 % (1426/1446).

Vzorky z dolného GI traktu:

Celkovo sa hodnotilo 694 vzoriek z dolného GI traktu, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola vyššia, pričom dosiahla hodnotu 98,3 % (118/120) v porovnaní so 77,5 % (93/120) v prípade misiek s tradičnou kultivačnou pôdou pri odčítaní po 48 hodinách. Na pôde **48 CHROMagar MRSA II** sa nezistili žiadne falošne pozitívne výsledky. Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií potvrdzujúcim testom po 36 – 52 hodinách bola celková zhoda testov na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pri vzorkách z dolného GI traktu 99,7 % (692/694).

Vzorky z kože:

Celkovo sa hodnotilo 1 275 vzoriek z kože, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola vyššia, pričom dosiahla hodnotu 96,1 % (171/178) v porovnaní so 66,3 % izoláciou (118/178) v prípade misiek s tradičnou kultivačnou pôdou pri odčítaní po 48 hodinách. Na pôde **48 CHROMagar MRSA II** sa nezistili žiadne falošne pozitívne výsledky. Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií potvrdzujúcim testom po 36 – 52 hodinách bola celková zhoda testov na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pri vzorkách z kože 99,5 % (1268/1275).

Vzorky z rán:

Celkovo sa hodnotilo 948 vzoriek z rán, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola vyššia, pričom dosiahla hodnotu 94,6 % (123/130) v porovnaní s 88,5 % izoláciou (115/130) v prípade misiek s tradičnou kultivačnou pôdou pri odčítaní po 48 hodinách. Na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** sa nezistili žiadne falošne pozitívne výsledky. Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií potvrdzujúcim testom po 36 – 52 hodinách bola celková zhoda testov na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pri vzorkách z kože 99,3 % (941/948).

Fľašky s pozitívnymi krvnými kultúrami obsahujúce gram-pozitívne koky:

Celkovo sa hodnotilo 688 fľašiek s pozitívnymi krvnými kultúrami, ktoré obsahovali gram-pozitívne koky, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a na miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a miskách s tradičnou kultivačnou pôdou bola rovnaká a dosiahla hodnotu 100 % (113/113) pri odčítaní po 18 – 28 hodinách. Na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** sa nezistili žiadne falošne pozitívne výsledky. Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola celková zhoda testov na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pri fľaškách s pozitívnou krvnou kultúrou 100 % (688/688).

Kombinované typy vzoriek:

Celkovo sa hodnotilo 5 051 kombinovaných vzoriek, pričom sa porovnávala izolácia baktérií MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. Celková izolácia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** bola u všetkých typov kombinovaných vzoriek (respiračný trakt, dolný GI trakt, koža, rany a fľašky s pozitívnymi krvnými kultúrami obsahujúce gram-pozitívne koky) vyššia, pričom dosiahla 95,6 % (744/778) v porovnaní so 79,8 % (621/778) v prípade misiek s tradičnou kultivačnou

pôdou. Pri odčítaní po 18 – 28 hodinách sa zistili dve falošne pozitívne svetlofialové kolónie na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** so špecificitou 99,9 % (4271/4273). Pri odčítaní na základe farby kolónií po 18 – 28 hodinách na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií potvrdzujúcim testom po 36 – 52 hodinách bola celková zhoda testov kombinovaných vzoriek na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov pre všetky typy vzoriek 99,3 % (5015/5051).

Stimulačné testovanie

Testovanie dvadsiatich (20) stimulačných kmeňov baktérie *S. aureus* sa uskutočnilo v troch klinických zariadeniach. Testovanie zahŕňalo 14 kmeňov baktérií MRSA a 6 kmeňov baktérií MSSA. Zhoda testov v rámci zariadení a medzi jednotlivými zariadeniami dosiahla hodnotu 100 %.

- Pri druhom hodnotení sa pôda **BBL CHROMagar MRSA II** hodnotila v troch geograficky rozdielnych klinických laboratóriách, pričom sa použili kontrolné vzorky z nozdier. Vzorky sa hodnotili na základe porovnania izolácie baktérií MRSA na miskách so sójovým agarom Trypticase s 5 % ovčej krvi (TSA II) pomocou bežných postupov, ktoré využívajú jednotlivé laboratória na identifikáciu baktérií *S. aureus* (tradičná kultivačná pôda), a misiek s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II**. (Bežný postup v dvoch laboratóriách zahŕňal test pomocou latexovej aglutinácie na potvrdenie prítomnosti baktérií *Staphylococcus* a tretie pracovisko použilo metódu koagulázového testovania.) Všetky izolované baktérie *S. aureus* sa testovali na potvrdenie rezistencie voči oxacilínu v dôsledku akvizície *mecA* génu difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov. Výsledky difúzneho testu pomocou cefoxitínových diskov (30µg) zodpovedali metódam inštitútu CLSI a interpretačným kritériám.^{4, 15} Na základe výskytu svetlofialových kolónií sa pôda **BBL CHROMagar MRSA II** interpretovala ako pozitívna na baktérie MRSA pri dĺžke inkubácie 20 – 26 hodín.

Pri obidvoch externých hodnoteniach sa hodnotilo celkom 1 613 vyhovujúcich vzoriek z nozdier porovnávaním izolácie MRSA na miskách s tradičnou kultivačnou pôdou a miskách s pôdou **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 hodinách inkubácie (Tabuľka 6). Pozitívna percentuálna zhoda pri MRSA a negatívna percentuálna zhoda pri MSSA pri pôde **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 hodinách v porovnaní s miskami s tradičnou kultivačnou pôdou dosiahla hodnoty 87,9 % a 98,6 %. Citlivosť a špecifickosť dosiahli v porovnaní s difúznym testom pomocou cefoxitínových diskov hodnoty 88,8 % a 99,8 %.

Tabuľka 6: Účinnosť BBL CHROMagar MRSA II v porovnaní s tradičnou kultúrou a cefoxitínovým diskom u vzoriek z nozdier

Tradičná kultúra			
Typ vzorky	Čas odčítania	Pozitívna percentuálna zhoda (95 % interval spoľahlivosti)	Negatívna percentuálna zhoda (95 % interval spoľahlivosti)
Vzorky z nozdier	24 hodín ¹	87,9 % (181/206) (82,6 %, 92,0 %)	98,6 % (1387/1407) (97,8 %, 99,1 %)

Difúzny test pomocou cefoxitínových diskov (CLSI)			
Typ vzorky	Čas odčítania	Citlivosť (95 % interval spoľahlivosti)	Špecifickosť (95 % interval spoľahlivosti)
Vzorky z nozdier	24 hodín ¹	88,8 % (198/223) (83,9 %, 92,6 %)	99,8 % (1387/1390) (99,4 %, 100 %)

¹⁾ 24-hodinový interval predstavuje rozsah odčítania 20 – 26 hodín bez potreby potvrdzujúceho testu.

Interné hodnotenie účinnosti

Detekčný limit

Pôda **BBL CHROMagar MRSA II** sa hodnotila z hľadiska stanovenia detekčného limitu pri izolácii baktérií *S. aureus* rezistentných na meticilín. Štyri testované kmene predstavujúce dva heterogénne a 2 homogénne kmene MRSA sa hodnotili z hľadiska izolácie na pôde **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁶ Na stanovenie koncentrácie mikroorganizmov vyjadrenej jednotkou CFU (Colony Forming Units = jednotky tvoriace kolónie) sa pre všetky roztoky použili misky s neselektívnym agarom Columbia s 5 % ovčej krvi. Detekčný limit pre pôdu **BBL CHROMagar MRSA II** sa pohyboval v rozpätí 4 – 116 CFU pri 24 hodinách a 4 – 24 CFU pri 48 hodinách¹⁷.

Štúdia interferencie

Hodnotila sa prípadná interferencia a inhibícia baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** v prípade 30 materiálov vrátane bežne používaných zdravotníckych materiálov, prepravných zariadení, obohatenej živnej pôdy a krvnej kultivačnej pôdy. Izoláciu baktérií MRSA môžu redukovať niektoré ústne vody, kvapky do hrdla, kyselina acetylsalicylová, lubrikačné gély a ibuprofén. Antibakteriálna aktivita sa preukázala v prípade nosných sprejov obsahujúcich fluticason propionát, hydrochlorid azelasínu, hydrochlorid fenylefrínu a oxymetazolin hydrochloridu aj u voľne predajných kvapiek do hrdla s obsahom mentolu. Žiadne iné testované materiály, zariadenia ani pôdy nemali vplyv na izoláciu baktérií MRSA na pôde **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

OBMEDZENIA POSTUPU

- Pred inkubáciu i počas nej minimalizujte (< 4 hodiny) pôsobenie svetla na pôdu **BBL CHROMagar MRSA II**, pretože dlhšie pôsobenie svetla môže spôsobiť redukcii množenia mikroorganizmov a/alebo ovplyvniť sfarbenie izolátov.
- Inkubácia v prostredí s CO₂ sa neodporúča a môže viesť k vytvoreniu falošne negatívnych kultúr.
- Neodporúča sa inkubovať dlhšie ako 36 – 52 hodín.
- V prípade vzoriek z nozdier bola účinnosť pôdy **BBL CHROMagar MRSA II** optimalizovaná pre inkubáciu v trvaní 20 – 26 hodín pri 35 – 37 °C. Nižšie inkubačné teploty (<35 °C) a/alebo kratšia inkubačná doba (<20 hodín) môže znížiť citlivosť pôdy **BBL CHROMagar MRSA II**. Poznámka: časté otváranie dvierok inkubátora môže znížiť teplotu v inkubátore. Preto odporúčame obmedziť otváranie dvierok inkubátora na minimum a dvierka otvárať na čo najkratší čas.
- Po 24-hodinovej alebo dlhšej inkubácii môžu niektoré kmene baktérií *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* a *Bacillus cereus* vytvárať svetlofialové kolónie. V prípade potreby možno použiť farbenie podľa Grama.
- Po 24-hodinovej alebo dlhšej inkubácii môžu baktérie *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* a *Staphylococcus aureus* citlivý na meticilín zriedkavo vytvárať aj svetlofialové kolónie. Ak nie je podozrenie na výskyt MRSA, môže sa vykonať koagulázový test a antimikrobiálny test citlivosti (AST).
- Zriedkavé kmene MRSA prejavili citlivosť na základ pôdy **BBL CHROMagar MRSA II**. Táto citlivosť nesúvisí s rezistenciou na meticilín, ale je spôsobená zložkou základu pôdy. Tieto kmene sa preto môžu javiť ako zdanlivo citlivé na meticilín.
- Existujú aj zriedkavé kmene MRSA, ktoré na pôde **BBL CHROMagar MRSA II** môžu vytvárať kolónie nesfarbené na svetlofialovo. V prípade podozrenia na výskyt MRSA podľa potreby vykonajte subkultiváciu kolónií nesfarbených na svetlofialovo na ďalšiu identifikáciu a testovanie citlivosti.
- Vysoká bakteriálna záťaž a/alebo niektoré vzorky môžu spôsobiť nešpecifické sfarbenie základného kvadrantu pôdy. Na povrchu pôdy sa môže vytvoriť svetlofialové, fialové, zelené alebo modré sfarbenie či mierne zakalenie, ale nevytvoria sa zreteľné kolónie. Takéto nešpecifické sfarbenie pôdy možno interpretovať ako negatívne.

- Ak sú hodnoty MIC pri teste citlivosti izolátu na oxacilín alebo cefoxitín na rovnakej úrovni alebo blízke hraničným hodnotám rezistencie, môžu rásť kolónie druhu *S. aureus* negatívneho pri teste *mecA*.
- Mechanizmy rezistencie iné ako *mecA* (napríklad *Staphylococcus aureus*-BORSA, ktorý vykazuje hraničné hodnoty rezistencie, či modifikovaný *Staphylococcus aureus*-MODSA) neboli ešte podrobnejšie hodnotené na pôde CMRSA II, preto účinnosť pôdy CMRSA II pri takýchto mechanizmoch rezistencie nie je známa.
- Izolácia baktérií MRSA závisí od počtu organizmov prítomných vo vzorke a spoľahlivosť výsledkov závisí od správneho odberu vzoriek, manipulácie s nimi aj od ich uskladnenia.
- Jediný negatívny výsledok by sa nemal použiť ako výlučný základ na stanovenie diagnózy, liečby ani na prijímanie organizačných rozhodnutí. Na identifikáciu organizmov, testovanie citlivosti alebo epidemiologickú typizáciu môže byť potrebná súbežná kultivácia.

Pred prvým použitím pôdy **BBL CHROMagar MRSA II** odporúčame vyskúšať ju na potvrdených kmeňoch MRSA s typickým vzhľadom kolónií, napríklad na kmeňoch uvedených v časti **KONTROLA KVALITY POUŽÍVATEĽOM**.

DOSTUPNOSŤ

- REF** 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (hotová pôda v Petriho miskách), 20 ks
- REF** 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (hotová pôda v Petriho miskách), 120 ks

LITERATÚRA

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/bmbl5/bmbl15toc>
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. Krisner, 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. Kleven 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. Nepublikované údaje, BD Diagnostics.

ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ďalšie informácie získate u miestneho zástupcu spoločnosti 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.