

## BD BBL CHROMagar MRSA\*

### ÚČEL POUŽITÍ

**BBL CHROMagar MRSA** je selektivní a diferenciační médium používané primárně pro kvalitativní přímou detekci tvorby kolonií methicillin rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) za účelem prevence a potírání MRSA infekcí na poli zdravotní péče. Rozbor se provádí z tamponových výtěrů z přední části nosu u pacientů a zdravotnických pacientů k vyšetření na kolonizaci MRSA. Médium **CHROMagar MRSA** není určeno k diagnostice infekce MRSA, ani k vedení nebo sledování léčby infekcí.

### ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda.

MRSA jsou hlavní příčinou nozokomiálních a život ohrožujících infekcí. Infekce MRSA jsou spojovány se signifikantně vyšší morbiditou, mortalitou a náklady než methicillin-senzitivní *S. aureus* (MSSA).<sup>1</sup>

Prevalence infekce způsobené MRSA v léčebných zařízeních dramaticky vzrostla, stoupá rovněž nosičství MRSA v populaci.<sup>2</sup> Nejnovější publikace naznačují, že celkově se míra kolonizace *S. aureus* v populaci pohybuje mezi 25 a 30 %.<sup>3</sup>

Během posledních patnácti let se trvale zvyšuje míra rezistence a poslední údaje z národní kontroly nozokomiálních infekcí NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) uvádějí, že v zařízeních intenzivní péče činil v roce 2003 poměr MRSA mezi stafylokokovými infekcemi *S. aureus* 60 %.<sup>4</sup>

Americká společnost pro epidemiologii (Society for Healthcare Epidemiology of America, SHEA) doporučila směrnice pro kontrolu přenosu MRSA, které zahrnují aktivní dohledový program, pomocí něhož by měla být zajištěna identifikace potenciálních zdrojů nákazy, a přísný program kontroly infekce, který by mapoval rozšíření MRSA.<sup>1</sup>

Médium **BBL CHROMagar** umožňuje přímou detekci a identifikaci MRSA prostřednictvím kombinace specifických chromogenních substrátů a cefoxitinu. Kmeny MRSA budou v přítomnosti cefoxitinu růst<sup>5</sup> a výsledkem hydrolyzy chromogenního substrátu bude tvorba růžových až světle fialových kolonií. Pro potlačení gram-negativních organismů, kvasinek a některých gram-pozitivních koků jsou přidány další selektivní přísady. Baktérie jiné než MRSA mohou využít ostatní chromogenní substráty v médiu, což povede k tvorbě modře až modrozeleně zbarvených kolonií; pokud nedojde k utilizaci žádného chromogenního substrátu, mohou být kolonie i bílé či bezbarvé.

Médium **BBL CHROMagar MRSA** vyvinul A. Rambach a společnost BD. Tento produkt využívá média **BBL CHROMagar Staph aureus**, které vyvinul A. Rambach a které společnost BD prodává na základě licenční smlouvy se společností CHROMagar, Paříž, Francie.

### ČINIDLA

#### **BBL CHROMagar MRSA**

Vzorec\* na jeden litr purifikované vody

Chromopepton	40,0 g
Chlorid sodný	25,0
Směs chromogenů	0,5
Inhibitory	0,07
Cefoxitin	0,006
Agar	14,0

pH 6,8 ± 0,3

\*Upraveno a/nebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

\* Patent USA v řízení

## BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

**IVD** . Pouze k odbornému použití.

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zbarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy včetně virů hepatitidy a viru lidské imunodeficiencie (HIV). Dodržujte proto při práci s veškerým materiálem kontaminovaným krví a jinými tělními tekutinami „Standardní bezpečnostní opatření“<sup>6-9</sup> a předpisy svého zdravotnického zařízení. Připravené misky, kontejnery se vzorky a další kontaminované materiály je nutné po použití nejprve sterilizovat v autoklávu a poté zlikvidovat.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologických rizik a pokyny k likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

## SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí až do doby bezprostředně před použitím skladujte misky v původním obalu a kartonu na tmavém místě při teplotě 2 až 8 °C. Před inkubací a během ní chraňte produkt před mrazem, přehřátím a působením světla, neboť světlo může zničit chromogeny. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace. Misky z otevřených sad po 10 kusech lze použít po dobu jednoho týdne, pokud je uložíte v čistém a tmavém prostředí při teplotě 2 až 8 °C.

## KONTROLA JAKOSTI UŽIVATELEM

Zkontrolujte, zda misky nevykazují známky poškození (viz část **BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**). Inokulací reprezentativního vzorku misek čistými kulturami stabilních kontrolních organismů, které vykazují známé požadované reakce, zkontrolujte účinnost. Pro stanovení inhibiční kapacity média je třeba *S. aureus* ATCC 25923 inokulovat v koncentraci  $10^4$ – $10^5$  CFU/misku.<sup>10</sup> Pro stanovení nutriční kapacity média je třeba *S. aureus* ATCC 43300 inokulovat v koncentraci  $10^3$ – $10^4$  CFU/misku.<sup>10</sup>

Inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 až 37 °C po dobu **24 hodin (± 4 hodiny)**. Neinkubujte v atmosféře obohacené oxidem uhličitým.

Kmeny	Výsledky růstu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Žádný růst
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Růst růžových až světle fialových kolonií střední velikosti
Slepý vzorek	Světle béžové, průhledné

## POSTUP

### Dodaný materiál

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

### Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla pro test na koagulázu, organismy pro kontrolu jakosti a další laboratorní vybavení nutné pro tento postup.

### Typy vzorků

Hodnocení tohoto média bylo provedeno na základě vzorků výtěrů z přední části nosu. Až dosud bylo otestováno omezené množství klinických vzorků z různých míst na těle (viz **SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A POSTUPU**). K transportu je doporučeno používat zařízení schválených pro odběr takovýchto vzorků. Dodržujte postupy doporučené výrobcem transportního zařízení. Podrobné informace o odběru vzorků a manipulaci s nimi naleznete rovněž v příslušných příručkách.<sup>11,12</sup>

### Postup testování

Co nejdříve po převzetí vzorku v laboratoři jej inokulujte na misku s médiem **BBL CHROMagar MRSA** a za použití kličky proveďte nátěr k izolaci.

Obrácené misky inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35–37 °C po dobu **24 h ± 4 h**. Pokud nejsou izolovány žádné růžové až světle fialové kolonie, inkubujte dalších 24 h. Neinkubujte v atmosféře obohacené oxidem uhličitým. Během inkubace (> 4 h) chraňte před světlem, neboť světlo může zničit chromogeny. Vystavení působení světla je přípustné až poté, co se rozvine zabarvení kolonií.

**Důležité upozornění:** Bylo zjištěno, že nízké inkubační teploty (<35 °C) popř. krátké inkubační časy (<20 hodin) mohou významně snížit citlivost testu **BBL CHROMagar MRSA** při odečítání výsledků z desek po 1 dni. Proto je důležité zajistit ideální inkubační teplotu 36 °C (přijatelný rozsah 35 až 37 °C) po celou dobu inkubace (ne kratší než 20 hodin; ideální pro odečet výsledků po prvním dni je 22 hodin). Opakované otevírání dveří inkubátoru snižuje jeho reálnou teplotu. Doporučujeme proto omezit otevírání dveří na minimum a maximálně zkrátit dobu, po kterou zůstanou otevřené. Pokud toto nelze zajistit, doporučujeme test **BBL CHROMagar MRSA** inkubovat v samostatném inkubátoru.

## Výsledky

Odečtěte misky proti bílému pozadí. Kolonie MRSA se budou na médiu **BBL CHROMagar MRSA** jevit růžové až světle fialové. Jiné organismy (jiné než MRSA) budou potlačeny nebo budou vytvářet bezbarvé, bílé, modré nebo modrozelené kolonie. K interpretaci výsledků použijte Tabulku 1.

**Tabulka 1**

24hodinová inkubace		Interpretace/Doporučený krok
Růžové až světle fialové kolonie morfologicky se podobající stafylokokům*		Detekován MRSA, nahlase nazální kolonizaci MRSA.
Žádné růžové až světle fialové kolonie		Nejsou k dispozici žádné výsledky, inkubujte znovu dalších 24 hodin.
48hodinová inkubace	Doporučený krok	Interpretace
Růžové až světle fialové kolonie	Proveďte test na koagulázu.	Pokud byl zjištěn koaguláza-pozitivní MRSA, nahlase MRSA. Pokud je organismus koaguláza-negativní, nahlase, že nebyl zjištěn MRSA.
Žádné růžové až světle fialové kolonie	Žádný	Nahlase, že nebyl zjištěn MRSA.

\*Stafylokoky vytvářejí na médiu **BBL CHROMagar MRSA** typicky růžové až světle fialové kolonie střední velikosti. Světle fialové kolonie, které jsou k přesnému určení velmi malé, jsou nejčastěji gram-pozitivní tyčky, obvykle korynebakterie. Pokud je morfologie nejasná, je možno k potvrzení identifikace po 48 hodinách použít potvrzující testy, například test na koagulázu.

## SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

**Médium BBL CHROMagar MRSA** se používá ke kvalitativní přímé detekci, izolaci a identifikaci methicillin rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA) z nazálních kontrolních vzorků; inkubace probíhá 24 h bez potvrzujících testů nebo 48 h s potvrzujícím testem na koagulázu (viz **Omezení postupu**).

### Specifické vlastnosti účinnosti<sup>13</sup>

#### Hodnocení účinnosti

- Médium **BBL CHROMagar MRSA** bylo hodnoceno ve čtyřech nemocnicích v různých částech Spojených států na čerstvých prospektivních kontrolních vzorcích z přední části nosu. Celkem bylo hodnoceno 1974 vzorků z nosu; nález MRSA byl srovnán na referenčních miskách s **tryptikáza-sójovým agarem s 5% ovčí krve (TSA II)** a miskách s médiem **CHROMagar MRSA**. *S. aureus* zachycený na TSA II byl otestován metodou minimální inhibiční koncentrace (MIC) oxacilinu s roztokem řídkého bujónu, metodou na agaru s oxacilinovou clonou a třemi dodatkovými testy citlivosti (viz další část). Výsledky MIC oxacilinu odpovídaly interpretačním kritériím NCCLS, kde MSSA ≤ 2 µg/ml a MRSA ≥ 4 µg/ml. Výsledky na agaru s oxacilinovou clonou byly interpretovány podle pokynů výrobce, kde průkazný pro MRSA je růst kolonií. Výsledek na médiu **CHROMagar MRSA** byl po 24

hodinách interpretován jako MRSA-positivní na základě detekce kolonií světle fialové barvy (výhradně) nebo po 48 hodinách, jestliže byly zjištěny světle fialové kolonie a *S. aureus* byl potvrzen testem na koagulázu. Celkem bylo na médiu **CHROMagar MRSA** izolováno více než 95 % (126) MRSA ve srovnání s 89 % (117) na TSA II. Přesnost identifikace MRSA byla srovnána s metodou MIC oxacilinu s roztokem řídkého bujónu a metodou agarů s oxacilinovou clonou. Při odečítání po 24 hodinách bylo zjištěno 6 falešně pozitivních výsledků, kde na médiu **CHROMagar MRSA** byly pozorovány světle fialové kolonie (2x *S. epidermidis*, 2x *S. haemolyticus* a 2x *Corynebacterium*). Při odečítání na médiu **CHROMagar MRSA** po 24 hodinách výhradně podle barvy kolonií a při potvrzení všech světle fialových kolonií při odečítání po 48 hodinách pomocí testu na koagulázu byla celková shoda testu na médiu **CHROMagar MRSA** s testem MIC oxacilinu 96 % (312/325). Celková shoda média **CHROMagar MRSA** a agarů s oxacilinovou clonou ve skupině byla 96 % (312/325). Pozitivní procentuální shoda MRSA a negativní procentuální shoda MSSA média **CHROMagar MRSA** ve srovnání s těmito referenčními metodami je uvedena v Tabulkách 2 až 5:

**Výsledek srovnání účinnosti média BBL CHROMagar MRSA (kombinovaný konečný výsledek po 24 hodinách se světle fialovými koloniemi / po 48 hodinách s testem na koagulázu) a referenčního testu MIC oxacilinu:**

**Tabulka 2**

Výsledek média CHROMagar MRSA	Identifikace MRSA	Výsledek TSA II		Žádný růst <i>S. aureus</i>	Celkem
		Růst <i>S. aureus</i>			
		Referenční výsledek MIC oxacilinu			
		MRSA	MSSA		
Světle fialové zbarvení	Světle fialové zbarvení po 24 hodinách nebo světle fialové zbarvení a koaguláza-positivní test po 48 hodinách	111	7	21*	139
	Koaguláza-negativní test po 48 hodinách	0	3	68**	71
Bez světle fialového zbarvení / žádný růst	Žádná	6	198	1560	1764
<b>Celkem</b>		<b>117</b>	<b>208</b>	<b>1649</b>	<b>1974</b>

\*Z 21 vzorků, kde na TSA II nebyl izolován *S. aureus* a na médiu **BBL CHROMagar MRSA** byly izolovány světle fialové kolonie: Pozitivní výsledky latexového testu PBP2' potvrdily 15 kmenů jako MRSA pozitivní; 4 kmeny byly koaguláza-negativní stafylokoky a 2 byly gram-positivní tyčky.

\*\* Z 68 vzorků, kde na TSA II nebyl izolován *S. aureus* a na médiu **BBL CHROMagar MRSA** byly po 48 hodinách izolovány světle fialové kolonie: 45 kmenů bylo určeno jako koaguláza-negativní stafylokoky; 23 kmenů byly gram-positivní tyčky nebo jiné organismy.

**Tabulka 3**

CHROMagar MRSA vs. MIC oxacilinu	
Citlivost (95%CI)	Specificita (95%CI)
94,9 % (111/117) (89,3 %; 98,1 %)	96,6 % (201/208) (93,2 %; 98,6 %)

**Tabulka 4: Výsledek srovnání účinnosti média BBL CHROMagar MRSA (kombinovaný konečný výsledek po 24 hodinách se světle fialovými koloniemi / po 48 hodinách s testem na koagulázu) a referenčního testu na agaru s oxacilinovou clonou:**

Výsledek média CHROMagar MRSA	Identifikace MRSA	Výsledek TSA II			Celkem
		Růst <i>S. aureus</i>			
		Referenční výsledek na agaru s oxacilinovou clonou			
		MRSA	MSSA	Žádný růst <i>S. aureus</i>	
Světle fialové zbarvení	Světle fialové zbarvení po 24 hodinách nebo světle fialové zbarvení a koaguláza-pozitivní test po 48 hodinách	110	7	21*	138
	Koaguláza-negativní test po 48 hodinách	0	3	68**	71
Bez světle fialového zbarvení / žádný růst	Žádná	6	199	1560	1765
<b>Celkem</b>		<b>116</b>	<b>209</b>	<b>1649</b>	<b>1974</b>

\*Z 21 vzorků, kde na TSA II nebyl izolován *S. aureus* a na médiu **BBL CHROMagar MRSA** byly izolovány světle fialové kolonie: Pozitivní výsledky latexového testu PBP2' potvrdily 15 kmenů jako MRSA pozitivní; 4 kmeny byly koaguláza-negativní stafylokoky a 2 byly gram-pozitivní tyčky.

\*\* Z 68 vzorků, kde na TSA II nebyl izolován *S. aureus* a na médiu **BBL CHROMagar MRSA** byly po 48 hodinách izolovány světle fialové kolonie: 45 kmenů bylo určeno jako koaguláza-negativní stafylokoky; 23 kmenů byly gram-pozitivní tyčky nebo jiné organismy.

**Tabulka 5**

<b>CHROMagar MRSA vs. agar s oxacilinovou clonou</b>	
<b>Citlivost (95%CI)</b>	<b>Specifická (95%CI)</b>
94,8 % (110/116) (89,1 %; 98,1 %)	96,7 % (202/209) (93,2 %; 98,6 %)

Tyto studie rovněž srovnávaly médium **BBL CHROMagar MRSA** s jinými metodami identifikace MRSA: latex-aglutinačním testem PBP 2', cefoxitinovým (30 µg) diskovým difúzním testem a PCR detekcí genu *mecA*. Cefoxitinový diskový difúzní test odpovídal současným interpretačním kritériím NCCLS (velikost zóny ≤ 19 mm u MRSA nebo ≥ 20 mm u MSSA).<sup>5</sup> Metody PBP 2' a PCR odpovídaly pokynům pro interpretaci uvedeným na štítku. Procentuální shoda ve srovnání s těmito doplňkovými metodami je pro izoláty MRSA a MSSA uvedena v Tabulce 6. Celkový počet testovaných izolátů se u jednotlivých metod liší kvůli rozdílům v provedení jednotlivých metod, respektive poměru shody a vyhodnocení.

**Tabulka 6**

<b>CHROMagar MRSA vs. disková difúze cefoxitinu</b>		<b>CHROMagar MRSA vs. latexová aglutinace PBP 2'</b>		<b>CHROMagar MRSA vs. PCR (<i>mecA</i>)</b>	
<b>Procentuální shoda MRSA</b>	<b>Procentuální shoda MSSA</b>	<b>Procentuální shoda MRSA</b>	<b>Procentuální shoda MSSA</b>	<b>Procentuální shoda MRSA</b>	<b>Procentuální shoda MSSA</b>
94,9 % (112/118) (89,3 %; 98,1 %)	98 % (200/204) (95,1 %; 99,5 %)	93,5 % (115/123) (87,6 %; 97,2 %)	98,5 % (198/201) (95,7 %; 99,7 %)	95,7 % (111/116) (90,2 %; 98,6 %)	97 % (196/202) (93,6 %; 98,9 %)

2. Kontrolní vzorky a další klinické vzorky byly otestovány v evropské studii. Pro rutinní laboratorní vyšetření MRSA byly vzorky nanášeny na agar s 5 % ovčí krve (Columbia CNA Agar) a vzorky podezřelé na přítomnost *S. aureus* byly podrobeny PCR na *S. aureus* a

MRSA. Po zpracování byly vzorky uchovány v chladu. Okamžitě po získání výsledku PCR byly vzorky nanášeny na médium **CHROMagar MRSA** a na agar s 5 % ovčí krve (Columbia CNA). Misky byly inkubovány v aerobních podmínkách při teplotě 36 °C (+/- 1 °C) a odečteny po 22 až 24 hodinách inkubace. V případě, že na jednom nebo obou médiích nevyrostly žádné kolonie podezřelé na přítomnost *S. aureus*, byly misky inkubovány dalších 20 až 24 hodin.

Pro potvrzení byly růžové až světle fialové kolonie z média **CHROMagar MRSA** a kolonie podezřelé na přítomnost *S. aureus* z agaru Columbia CNA podrobeny testu na koagulázu ve zkumavce a byly otestovány z hlediska růstu na agaru s oxacilinovou clonou a z hlediska rezistence na cefoxitin pomocí diskového difúzního testu, přičemž bylo použito kritérií NCCLS (velikosti zón  $\leq 19$  mm poukazují na MRSA).<sup>5</sup>

PCR-pozitivní kontrolní vzorky (n = 50) zahrnovaly: 37 výtěrů z nosu, 1 výtěr z krku/nosu, 9 výtěrů z krku a 3 stěry z kůže.

Ostatní PCR-pozitivní vzorky (n = 30) zahrnovaly 2 vzorky z abscesu a 3 vzorky odebrané při chirurgickém zákroku, 23 stěrů z rány a 2 vzorky z vředu.

PCR-negativní vzorky (n = 55) zahrnovaly 3 vzorky z abscesu, 9 stěrů z kůže, 1 stěr z dekubitu, 15 výtěrů z nosu, 10 výtěrů z krku, 5 stěrů z perinea, 1 vzorek z punkce, 3 vzorky z katétru, 1 vzorek tracheální sekrece a 7 stěrů z rány.

Celkem bylo otestováno 135 vzorků.

Všech 80 PCR-pozitivních vzorků vykazovalo po 22 až 24 hodinách růst růžových až světle fialových kolonií na médiu **CHROMagar MRSA** a kolonií podezřelých na přítomnost *S. aureus* na agaru s 5 % ovčí krve (Columbia CNA Agar); žádný z 55 PCR-negativních vzorků nevykazoval po 22 až 24 hodinách ani po 42 až 48 hodinách na těchto dvou médiích náležitý růst. Dva izoláty z PCR-negativních vzorků, který byl získán z agaru Columbia CNA, avšak ne z média **CHROMagar MRSA**, byl určen jako *S. aureus* pozitivním testem na koagulázu; tato izoláty nerostl na agaru s oxacilinovou clonou, byl citlivý na cefoxitin (velikost zóny 30 mm) a nevytvářel růžové až světle fialové kolonie na médiu **CHROMagar MRSA**. Jiný izolát z PCR-negativního vzorku vytvářel na médiu **CHROMagar MRSA** fialové kolonie, které však bylo možné odlišit od růžového až světle fialového zabarvení kolonií *S. aureus*.

Všech 80 MRSA-pozitivních vzorků, a to jak z média **CHROMagar MRSA**, tak z agaru s 5 % ovčí krve (Columbia CNA Agar), vykazovalo růst na agaru s oxacilinovou clonou.

Při cefoxitinovém diskovém testu vykazovaly dva izoláty citlivost při subkultivaci z média **CHROMagar MRSA** i z agaru s 5 % ovčí krve (Columbia CNA Agar) a čtyři kmeny vykazovaly rezistenci při subkultivaci na médiu **CHROMagar MRSA** a citlivost při subkultivaci z agaru s 5 % ovčí krve (Columbia CNA Agar). Všechny ostatní izoláty vykazovaly rezistenci z média **CHROMagar MRSA** i z agaru Columbia CNA.

Citlivost a specifita byly ve srovnání s PCR a agarem s oxacilinovou clonou 100%. Citlivost ve srovnání s cefoxitinovým diskovým testem byla 91,4%.

#### Challenge testy

Na třech klinických pracovištích ve Spojených státech bylo otestováno dvacet (20) kmenů *S. aureus*. Z tohoto počtu bylo 9 heterogenně rezistentních MRSA, 5 homogenně rezistentních MRSA a 6 MSSA. Citlivost z jediné lokality i z kombinace lokalit byla 100%; specifita lokální i všeobecná byla rovněž 100%.

#### Interpretace rezistence

Médium **BBL CHROMagar MRSA** bylo vyhodnoceno z hlediska schopnosti detekovat heterogenní a homogenní kmeny. MRSA může být homogenně nebo heterogenně rezistentní. U heterogenních kmenů může vykazovat rezistenci pouze 1 z jednoho miliónu buněk, čímž se detekce pomocí tradičních antimikrobiálních testů citlivosti stává obtížnější.<sup>14</sup> Patnáct testovacích kmenů (10 heterogenních a 5 homogenních MRSA) bylo vyhodnoceno z hlediska izolace a počtu kolonií, které narostly na médiu **BBL CHROMagar MRSA**, ve srovnání s neselektivním médiem TSA II s 5 % ovčí krve. Z obou médií, **BBL CHROMagar MRSA** i TSA II, bylo izolováno všech 15 kmenů. Počet kolonií na médiu **BBL CHROMagar MRSA** se pohyboval v rozmezí 64–99 % pro heterogenní kmeny a 71–100 % pro homogenní kmeny (ve

srovnání s TSA II). Tyto výsledky dokládají, že médium **BBL CHROMagar MRSA** je schopno detekovat homogenní i heterogenní kmeny.<sup>14</sup>

#### Interferenční studie

Z hlediska potenciální interference chromogenní reakce na médium **BBL CHROMagar MRSA** bylo vyhodnoceno osm v medicíně běžně používaných substancí – lidská krev a pět typů transportních médií. Nosní sprej obsahující fenylefrin hydrochlorid v 10% koncentraci vykazoval na médium **BBL CHROMagar MRSA** i na neselektivní kontrole, TSA II s 5 % ovčí krve, antibakteriální aktivitu. Žádná jiná testovaná látka nebo přípravek s účinností média **BBL CHROMagar MRSA** neinterferovaly.<sup>13</sup>

#### **Očekávané hodnoty**

Celková prevalence kolonizace *S. aureus*, ať už detekovaná pomocí média **CHROMagar MRSA** nebo **tryptikáza-sójového agaru s 5 % ovčí krve (TSA II)**, byla v rámci externího hodnocení účinnosti média **CHROMagar MRSA** (viz **Specifické vlastnosti účinnosti**) 17,2 % (340/1974). Celková prevalence (každý pacient je počítán pouze jednou) MRSA-pozitivních vzorků byla 6,7 % (132/1974), respektive přibližně 39 % (132/340) všech *S. aureus*. Míra detekce kolonizace MRSA misek s TSA II byla 6,5 % (117/1974) a míra kolonizace MRSA misek s médiem **CHROMagar MRSA** byla 7,0 % (126/1974). Stupeň kolonizace se může v jednotlivých zemích a populačních skupinách lišit.<sup>3,4</sup>

#### **Omezení postupu**

Před inkubací a během ní minimalizujte působení světla na médium **BBL CHROMagar MRSA**, neboť světlo může zničit chromogeny. Misky po celou dobu skladování uchovávejte v původním obalu a kartonu.

Kontrolní testování určuje stav kolonizace v daném čase a může se měnit v závislosti na léčbě pacienta (například dekolonizační režim), stavu pacienta (například pacient, který aktivně nevyučuje MRSA) nebo expozici prostředí s vysokým stupněm rizika (například kontakt s přenašečem MRSA, prolongovaná hospitalizace). Monitorování stavu kolonizace proveďte v souladu s předpisy nemocnice.

Výsledky testů na médium **CHROMagar MRSA** použijte jako doplňkový zdroj informací v rámci kontroly nozokomiálních infekcí při snaze identifikovat pacienty, kteří vyžadují zvláštní opatření. Toto médium slouží ke kontrole nozokomiálního přenosu MRSA: lze jím identifikovat pacienty, které je nutno izolovat nebo které je naopak nutno z izolace vyřadit. Negativní výsledek na médium **CHROMagar MRSA**, který následuje po předchozím pozitivním výsledku, může signalizovat úspěšnou eradikační léčbu nebo může vzniknout díky intermitentnímu vylučování MRSA.

Při testování klinických vzorků, které se mohou na infekci podílet, je zapotřebí inokulovat těmito vzorky další média, zejména misku s neselektivním krevním agarem (například **agarem s 5 % ovčí krve BD Columbia**), a pro zlepšení izolace gram-pozitivních organismů podílejících se na infekci **agar s 5 % ovčí krve BD Columbia CNA**.

Určité kmeny *Enterococcus* jsou rezistentní na inhibiční látky obsažené v médiu **BBL CHROMagar MRSA**. To může ve vzácných případech vést k nadměrnému růstu modrých až modrozelených kolonií, což znesnadňuje detekci MRSA. Pokud pozorujete silný nárůst modrozelených kolonií, doporučujeme srovnat růst na médiu **BBL CHROMagar MRSA** s růstem na misce s krevním agarem a zvážit přítomnost *S. aureus*.

Dodržujte přesně inkubační časy a teploty uvedené v kapitole **POSTUP - Postup testování**.

Nahodilé kmeny koaguláza-negativních stafylokoků (například *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* a *S. schleiferi*), *Acinetobacter* sp., korynebakterie a kvasinky mohou po 48 hodinách vytvářet světle fialové kolonie, což k prokázání MRSA vyžaduje provedení potvrzujícího testu na koagulázu. V mnohem menší míře může k tomuto jevu dojít i po 24 hodinách. V klinických studiích s kontrolními vzorky bylo na médiu **BBL CHROMagar MRSA** přibližně 5 % (6/120) světle fialových kolonií (detekovaných po 24 hodinách) koaguláza-negativních stafylokoků a/nebo korynebakterií. V případě potřeby

můžete kvůli zvýšení specifity po 24 hodinách provést u světla fialových kolonií Gramovo barvení a/nebo test na koagulázu.

V případě, že je MIC oxacilinu nebo cefoxitinu daného izolátu právě v bodě rezistentního breakpointu, případně v jeho blízkosti, může dojít k růstu *mecA*-negativního *S. aureus* (hraničně rezistentní *S. aureus* – BORSA).

Inkubaci v atmosféře s 5 % CO<sub>2</sub> nedoporučujeme, jelikož může vést k falešně negativním kulturám.

Použití fenylefrin hydrochloridu, složky některých nosních sprejů, v koncentraci ≥ 10 % vykazuje na růst organismu inhibiční účinek, který neodpovídá účinnosti média.

Vzácné kmeny MRSA vykazovaly citlivost vůči základním složkám média **BBL CHROMagar MRSA**. Tato citlivost nezávisí na methicillinové rezistenci, ale je způsobena jednou ze základních složek média. Výsledkem může být falešná citlivost těchto kmenů na methicilin. Médium **CHROMagar MRSA** není určeno k detekci jiných *S. aureus* než MRSA nebo jiných druhů *Staphylococcus*.

Před prvním použitím média **BBL CHROMagar MRSA** doporučujeme, abyste si pomocí definovaných kmenů, například pomocí kmenů zmíněných v části **KONTROLA JAKOSTI UŽIVATELEM**, vyzkoušeli, jak vypadá typická kolonie MRSA.

## ODKAZY

1. Muto, C. A., J. A. Jernigan, B. E. Ostrowosky, H. M. Richet, W. R. Jarvis, J. M. Boyce, B. M. Farr. 2003. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control and Hospital Epidemiol.* May 362-386.
2. Bannerman, T. L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (eds.), *Manual of clinical microbiology*. ASM, Washington DC.
3. MRSA - Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.
4. Proportion of *S. aureus* Nosocomial Infections Resistance to Oxacillin (MRSA) Among Intensive Care Unit Patients, 1989 - 2003 (graph). CDC website, [http://www.cdc.gov/ncidod/hip/ARESIST/ICU\\_MRSA.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/hip/ARESIST/ICU_MRSA.pdf).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement, M100- S15., Wayne, PA.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed., NCCLS, Wayne, PA.
7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practice Advisory Committee. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17: 53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. 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 89/139/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045*.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1996. Approved Guideline M22-A2. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media. NCCLS, Wayne, PA.
11. Ramsay-Shea, Y. 1992. Specimen collection and transport. In Isenberg, H.D. (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*. ASM, Washington DC.



12. Miller, J .M., H. T .Holmes, K. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling. In P .R. Murray, E.J. Baron, J .H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenenbaum (eds.), Manual of clinical microbiology. ASM, Washington DC.
13. Data on file, BD Diagnostics.
14. Tomasz A., Nachman S., Leah H. 1991. Stable classes of Phenotypic Expression in Methicillin Resistant Clinical isolates of Staphylococci. Antimicro. Agents Chemother. 35: 124-129.

## **BALENÍ/DOSTUPNOST**

### **BD BBL CHROMagar MRSA**

Kat. č. 257308

Média na misce určená k okamžitému použití, 20 kusů v balení

Kat. č. 257333

Média na misce určená k okamžitému použití, 120 kusů v balení

## **DALŠÍ INFORMACE**

Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti BD.



**Becton Dickinson GmbH**

**BD Diagnostic Systems**

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

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

Reception\_Germany@europe.bd.com

### **BD Diagnostic Systems Europe**

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

BD, BD logo, BBL, Trypticase and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2005 BD