



## BD BBL™ CHROMagar™ MRSA\*

### ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το **BBL CHROMagar MRSA** είναι ένα εκλεκτικό και διαφορικό υλικό για την ποιοτική άμεση ανίχνευση του αποικισμού από τον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA) με στόχο τη συνδρομή στην πρόληψη και τον έλεγχο των λοιμώξεων λόγω MRSA σε υγειονομικά περιβάλλοντα. Η εξέταση πραγματοποιείται σε δείγματα που λαμβάνονται με μπαντονέτα από το άνω τμήμα των ρωθώνων από ασθενείς και υπαλληλικό προσωπικό νοσοκομειακών χώρων για έλεγχο ύπαρξης αποικισμών MRSA. Το **BBL CHROMagar MRSA** δεν προορίζεται για διάγνωση μολύνσεων MRSA ούτε και ως οδηγός ή παρακολούθηση θεραπείας μολύνσεων.

### ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Οι μικροοργανισμοί MRSA αποτελούν μείζονα αιτία νοσοκομειακών και απειλητικών για τη ζωή λοιμώξεων. Οι λοιμώξεις από MRSA έχουν συσχετιστεί με σημαντικά υψηλότερη νοσηρότητα, θνησιμότητα και κόστος από ό,τι αυτές που προκαλούνται από τον ευαίσθητο στη μεθικιλίνη *S. aureus* (MSSA).<sup>1</sup>

Ο επιπολασμός της λοίμωξης από MRSA έχει αυξηθεί σημαντικά σε περιβάλλοντα ιατρικών ιδρυμάτων, και η ταχύτητα μεταφοράς του MRSA αυξάνεται στην κοινότητα.<sup>2</sup> Πρόσφατες δημοσιεύσεις υποδηλώνουν ότι ο ευρύτερος πληθυσμός έχει ποσοστά αποικισμού του *S. aureus* που κυμαίνονται μεταξύ 25 και 30%.<sup>3</sup>

Οι ρυθμοί ανθεκτικότητας έχουν αυξηθεί σταθερά τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια, και πρόσφατα δεδομένα του NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) υποδεικνύουν ότι, στο περιβάλλον της εντατικής, η αναλογία MRSA μεταξύ των λοιμώξεων από *S. aureus* έφτανε το 60% κατά το 2003.<sup>4</sup>

Για έλεγχο της μετάδοσης του MRSA, η εταιρεία Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) έχει προτείνει οδηγίες, στις οποίες περιλαμβάνεται ένα πρόγραμμα ενεργής παρακολούθησης ώστε να προσδιοριστούν οι δυνητικοί ξενιστές, και ένα πρόγραμμα αυστηρού ελέγχου των λοιμώξεων ώστε να ελέγχεται η εξάπλωση του MRSA.<sup>1</sup>

Το **BBL CHROMagar** επιτρέπει την άμεση ανίχνευση και ταυτοποίηση του MRSA μέσω της ενσωμάτωσης συγκεκριμένων χρωμογόνων υποστρωμάτων και της κεφοξιτίνης. Τα στελέχη MRSA αναπτύσσονται παρουσία της κεφοξιτίνης<sup>5</sup> και παράγουν ρόδινες έως μοβ αποικίες που προκύπτουν από την υδρόλυση του χρωμογόνου υποστρώματος. Πρόσθετοι εκλεκτικοί παράγοντες ενσωματώνονται για την καταστολή gram-αρνητικών οργανισμών, ζυμομυκήτων και ορισμένων gram-θετικών κόκκων. Βακτηρίδια εκτός του MRSA ενδέχεται να χρησιμοποιούν άλλα χρωμογόνα υποστρώματα στο υλικό με αποτέλεσμα την εμφάνιση κυανών έως κυανοπράσινων αποικιών ή, εάν δεν χρησιμοποιηθεί κανένα χρωμογόνο υπόστρωμα, οι αποικίες εμφανίζονται λευκές ή άχρωμες.

Το υλικό **BBL CHROMagar MRSA** αναπτύχθηκε από τον A. Rambach και την BD. Το προϊόν αυτό χρησιμοποιεί **BBL CHROMagar Staph aureus**, το οποίο αναπτύχθηκε από τον A. Rambach και πωλείται από την BD βάσει συμφωνητικού αδειοδότησης με την CHROMagar, Παρίσι, Γαλλία.

\* Εκκρεμεί δίπλωμα ευρεσιτεχνίας ΗΠΑ

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

### BBL CHROMagar MRSA

Σύνθεση\* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Χρωμοπεπτόνη	40,0 g
Χλωριούχο νάτριο	25,0
Μείγμα χρωμογόνων	0,5
Ανασταλτικοί παράγοντες	0,07
Κεφοξίτινη	0,006
Άγαρ	14,0

pH 6,8 ± 0,3

\*Ρυθμισμένα ή/και συμπληρωμένα όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

**IVD** . Για επαγγελματική χρήση μόνον.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα, ρωγμές ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Σε κλινικά δείγματα ενδέχεται να υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ιών της ηπατίτιδας και του ιού της ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV). Στο χειρισμό όλων των ειδών που είναι μολυσμένα με αίμα και άλλα σωματικά υγρά θα πρέπει να ακολουθούνται οι "Τυπικές προφυλάξεις"<sup>6-9</sup> και οι κατευθυντήριες οδηγίες των ιδρυμάτων. Μετά τη χρήση, τα παρασκευασμένα τρυβλία, τα δοχεία δείγματος και άλλα μολυσμένα υλικά πρέπει να αποστειρώνονται σε αυτόκαυστο πριν από την απόρριψη.

Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** για λεπτομέρειες σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

## ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία στο σκοτάδι στους 2 έως 8°C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφεύγετε την κατάψυξη, την υπερθέρμανση και την έκθεση στο φως πριν και κατά τη διάρκεια της επώασης, καθώς το φως ενδέχεται να καταστρέψει τα χρωμογόνα. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης.

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες 10 τρυβλίων επί μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο σε θερμοκρασία 2-8°C στο σκοτάδι.

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Εξετάστε τα τρυβλία για τυχόν ενδείξεις αλλοίωσης, όπως περιγράφεται στην ενότητα **ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**. Ελέγξτε την απόδοση ενοφθαλμίζοντας ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα τρυβλίων με καθαρές καλλιέργειες σταθερών μικροοργανισμών ελέγχου, οι οποίες δίνουν γνωστές επιθυμητές αντιδράσεις. Για προσδιορισμό της ανασταλτικής ικανότητας του υλικού, πρέπει να ενοφθαλμιστεί *S. aureus* ATCC 25923 σε συγκέντρωση 10<sup>4</sup>- 10<sup>5</sup> CFU/τρυβλίο.<sup>10</sup> Για προσδιορισμό της θρεπτικής ικανότητας του υλικού, πρέπει να ενοφθαλμιστεί *S. aureus* ATCC 43300 σε συγκέντρωση 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU/τρυβλίο.<sup>10</sup>

Επωάστε σε αερόβιες συνθήκες στους 35-37 C επί **24 ± 4 ώρες**. Μην επωάζετε σε περιβάλλον συμπληρωμένο με διοξείδιο του άνθρακα.

Στελέχη	Αποτελέσματα ανάπτυξης
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Απουσία ανάπτυξης
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Ανάπτυξη με μεσαίου μεγέθους ρόδινες έως μοβ αποικίες
Μη ενοφθαλμισμένο	Ανοικτό μπεζ, διαφανής

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### Παρεχόμενα υλικά

**BBL CHROMagar MRSA** (τρυβλία **Stacker** των 90 mm). Μικροβιολογικά ελεγμένα.

### Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια εξέτασης κοαγκουλάσης, μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου και λοιπός εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

### Τύποι δειγμάτων

Το μέσο αυτό έχει εκτιμηθεί ως προς την αποδοτικότητά του με δείγματα άνω ρωθώνων. Μέχρι τώρα έχει δοκιμαστεί μόνο ένας περιορισμένος αριθμός δειγμάτων από διάφορα μέρη του σώματος (βλέπε **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**). Συνιστάται η χρήση συσκευών μεταφοράς εγκεκριμένων για τη συλλογή τέτοιων δειγμάτων. Ακολουθείτε τις συνιστώμενες διαδικασίες του κατασκευαστή της συσκευής μεταφοράς. Ο χρήστης μπορεί επίσης να ανατρέξει στα κατάλληλα κείμενα για λεπτομέρειες σχετικά με τις διαδικασίες συλλογής και χειρισμού των δειγμάτων.<sup>11,12</sup>

### Διαδικασία εξέτασης

Όσο δυνατόν γρηγορότερα μετά τη λήψη στο εργαστήριο, επαλείψτε το δείγμα σε ένα δισκίο **BBL CHROMagar MRSA** και σύρετε για απομόνωση, σε σχήμα βρόχου.

Επώαστε τα δισκία αεροβικά σε 35–37°C για **24 ± 4 ώρες** σε αναποδογυρισμένη θέση. Αν δεν δημιουργηθούν ροζ προς μοβ αποικίες, επώαστε για 24 ώρες ακόμα. Μην επωάζετε σε περιβάλλον με πρόσθετο διοξείδιο του άνθρακα. Αποφύγετε την έκθεση σε φως κατά την επώαση (> 4 ώρες) καθώς το φως μπορεί να καταστρέψει τα χρωμογονίδια. Επιτρέπεται να εκθέσετε σε φως αφού δημιουργηθεί το χρώμα του αποικισμού.

**BBL CHROMagar MRSA** ως προς τη λήψη αποτελεσμάτων μετά από ανάγνωση των τρυβλίων επί 1 ημέρα. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας η διατήρηση της θερμοκρασίας επώασης στην ιδανική τιμή των 36° C (αποδεκτό εύρος τιμών: 35–37° C) καθόλη τη διάρκεια της επώασης (όχι μικρότερη από 20 ώρες, με ιδανική διάρκεια επώασης τις 22 ώρες για την ανάγνωση των αποτελεσμάτων της πρώτης ημέρας). Το επανειλημμένο άνοιγμα των θυρών του θαλάμου επώασης προκαλεί μείωση της πραγματικής του θερμοκρασίας. Για τον λόγο αυτό συνιστάται να αποφεύγεται και να συντομεύεται κατά το μέγιστο δυνατό το άνοιγμα των θυρών του θαλάμου επώασης. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό, συνιστάται η επώαση του **BBL CHROMagar MRSA** σε ειδικό για τον σκοπό αυτό θάλαμο επώασης.

### Αποτελέσματα

Για την ανάγνωση των τρυβλίων χρησιμοποιήστε λευκό φόντο. Οι αποικίες MRSA θα εμφανίζονται ρόδινες έως μοβ στο υλικό **BBL CHROMagar MRSA**. Άλλοι μικροοργανισμοί (μη MRSA) θα αναστέλλονται ή θα παράγουν άχρωμες, λευκές, κυανές ή κυανές/πράσινες αποικίες. Ανατρέξτε στον Πίνακα 1 για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 1

Επώαση 24 ωρών		Ερμηνεία/Συνιστώμενη δράση
Ρόδινες έως μοβ αποικίες που παρουσιάζουν μορφολογική ομοιότητα με τους σταφυλόκοκκους*		Ανιχνεύτηκε MRSA. Αναφέρετε ρινικό αποικισμό MRSA
Απουσία ρόδινων έως μοβ αποικιών		Δεν υπάρχει διαθέσιμο αποτέλεσμα. Επαναλάβετε την επώαση για επιπλέον διάστημα 24 ωρών.
Επώαση 48 ωρών	Συνιστώμενη δράση	Ερμηνεία
Ρόδινες έως μοβ αποικίες	Εκτέλεση εξέτασης κοαγκουλάσης	Εάν το αποτέλεσμα είναι θετικό στην κοαγκουλάση – ανίχνευση MRSA και αναφορά MRSA. Εάν το αποτέλεσμα είναι αρνητικό στην κοαγκουλάση – αναφέρετε ότι δεν ανιχνεύτηκε MRSA
Απουσία ρόδινων έως μοβ αποικιών	M/Δ	Αναφέρετε ότι δεν ανιχνεύτηκε MRSA

\*Οι σταφυλόκοκκοι συνήθως παράγουν μεσαίου μεγέθους, ομαλές, ρόδινες έως μοβ αποικίες σε υλικό καλλιέργειας **BBL CHROMagar MRSA**. Οι μοβ αποικίες που είναι πολύ μικρές για να εντοπιστούν με ακρίβεια είναι συχνότερα gram-θετικά ραβδία, συνήθως κορυνοβακτηρίδια. Εάν η μορφολογία είναι ασαφής, μπορεί να χρησιμοποιηθούν εξετάσεις επιβεβαίωσης (π.χ. εξέταση κοαγκουλάσης) για επιβεβαίωση της ταυτοποίησης σε 48 ώρες.

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BBL CHROMagar MRSA** χρησιμοποιείται για την ποιοτική, άμεση ανίχνευση, απομόνωση και ταυτοποίηση του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA) από ρινικά δείγματα σε 24 ώρες επώασης χωρίς επιβεβαιωτική εξέταση ή σε 48 ώρες επώασης με επιβεβαιωτική εξέταση κοαγκουλάσης (βλέπε **Περιορισμοί της διαδικασίας**).

### Χαρακτηριστικά απόδοσης<sup>13</sup>

#### Αξιολογήσεις απόδοσης

1. Το **BBL CHROMagar MRSA** αξιολογήθηκε σε τέσσερα γεωγραφικά διαφορετικά νοσοκομεία στις ΗΠΑ με νωπά, προοπτικά δείγματα παρακολούθησης των πρόσθιων ρωθώνων. Αξιολογήθηκαν συνολικά 1974 δείγματα παρακολούθησης ρωθώνων, συγκρίνοντας την ανάκτηση MRSA σε τρυβλία αναφοράς **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** με τρυβλία **CHROMagar MRSA**. Οι μικροοργανισμοί *S. aureus* που ανακτήθηκαν σε TSA II υποβλήθηκαν σε εξέταση με χρήση μεθόδου μικροζωμού αραίωσης Oxacillin MIC, και μιας μεθόδου Oxacillin Screen Agar, καθώς και τριών πρόσθετων μεθόδων εξέτασης ευαισθησίας (βλ. επόμενη ενότητα). Τα αποτελέσματα της μεθόδου Oxacillin MIC ακολούθησαν τα ερμηνευτικά κριτήρια NCCLS, με MSSA  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$  και MRSA  $\geq 4$   $\mu\text{g/ml}$ . Η μέθοδος Oxacillin Screen Agar ερμηνεύτηκε με χρήση των οδηγιών του κατασκευαστή, οι οποίες περιλάμβαναν την παρουσία οποιασδήποτε ανάπτυξης αποικίας ως αντιπροσωπευτικής του MRSA. Τα τρυβλία **CHROMagar MRSA** αξιολογήθηκαν ως θετικά για MRSA έπειτα από 24 ώρες με βάση την ανίχνευση μοβ χρώματος αποικίας (και μόνον), ή έπειτα από 48 ώρες με βάση την ανίχνευση μοβ αποικιών με επιβεβαίωση ως *S. aureus* μέσω εξέτασης κοαγκουλάσης. Η συνολική ανάκτηση MRSA σε υλικό **CHROMagar MRSA** ήταν υψηλότερη, στο 95% (126), σε σύγκριση με την ανάκτηση 89% (117) σε υλικό TSA II. Η ορθότητα ταυτοποίησης του MRSA συγκρίθηκε με τη μέθοδο μικροζωμού αραίωσης Oxacillin MIC και τη μέθοδο Oxacillin Screen Agar. Κατά την ανάγνωση των 24 ωρών, υπήρχαν 6 ψευδώς θετικά αποτελέσματα στα οποία παρατηρήθηκαν μοβ αποικίες σε υλικό καλλιέργειας **CHROMagar MRSA** (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* και 2 *Corynebacterium*). Με χρήση μόνο του χρώματος αποικίας κατά την ανάγνωση 24 ωρών για το υλικό **CHROMagar MRSA**, και με επιβεβαίωση όλων των μοβ αποικιών με την κοαγκουλάση κατά την ανάγνωση 48 ωρών, το συνολικό ποσοστό συμφωνίας της εξέτασης **CHROMagar MRSA** με την εξέταση Oxacillin MIC ήταν 96% (312/325). Η συνολική συμφωνία κατηγορίας της μεθόδου **CHROMagar MRSA** με τη μέθοδο Oxacillin Screen Agar ήταν 96% (312/325). Το θετικό ποσοστό συμφωνίας MRSA και το αρνητικό ποσοστό συμφωνίας MSSA της μεθόδου **CHROMagar MRSA** σε σύγκριση με αυτές τις μεθόδους αναφοράς παρουσιάζεται στους παρακάτω πίνακες 2 έως 5:

**Πίνακας 2: Η απόδοση του BBL CHROMagar MRSA (24 ώρες μοβ / 48 ώρες με τελικό αποτέλεσμα συνδυασμένο με κοαγκουλάση) έναντι του αποτελέσματος αναφοράς Oxacillin MIC:**

Αποτέλεσμα CHROMagar MRSA	Ταυτοποίηση MRSA	Αποτέλεσμα TSA II		Απουσία ανάπτυξης <i>S. aureus</i>	Σύνολο
		Ανάπτυξη <i>S. aureus</i>			
		Αποτέλεσμα αναφοράς Oxacillin MIC			
		MRSA	MSSA		
Μοβ	Μοβ στις 24 ώρες ή μοβ και θετικό στην κοαγκουλάση στις 48 ώρες	111	7	21*	139
	Αρνητικό στην κοαγκουλάση σε 48 ώρες	0	3	68**	71

Μη μοβ / απουσία ανάπτυξης	M/Δ	6	198	1560	1764
Σύνολο		117	208	1649	1974

\*Από 21 δείγματα όπου δεν ανακτήθηκαν *S. aureus* σε υλικό TSA II, ενώ ανακτήθηκαν μοβ απομονωμένα στελέχη σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA**: 15 επιβεβαιώθηκαν ως MRSA από τα θετικά αποτελέσματα εξέτασης λάτεξ PBP2', 4 ήταν αρνητικοί στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι, και 2 ήταν gram-θετικά ραβδία.

\*\* Από 68 δείγματα όπου δεν ανακτήθηκαν *S. aureus* σε υλικό TSA II, ενώ ανακτήθηκαν μοβ απομονωμένα στελέχη σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA** μετά από 48 ώρες: 45 επιβεβαιώθηκαν ως αρνητικοί στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι, και 23 ήταν gram-θετικά ραβδία και άλλοι μικροοργανισμοί.

**Πίνακας 3**

<b>CHROMagar MRSA έναντι Oxacillin MIC</b>	
<b>Ευαισθησία (95%CI)</b>	<b>Ειδικότητα (95%CI)</b>
94,9% (111/117) (89,3%; 98,1%)	96,6% (201/208) (93,2%; 98,6%)

**Πίνακας 4: Η απόδοση του BBL CHROMagar MRSA (24 ώρες μοβ / 48 ώρες με τελικό αποτέλεσμα συνδυασμένο με κοαγκουλάση) έναντι του αποτελέσματος αναφοράς Oxacillin Screen Agar:**

Αποτέλεσμα CHROMagar MRSA	Ταυτοποίηση MRSA	Αποτέλεσμα TSA II			Σύνολο
		Ανάπτυξη <i>S. aureus</i>		Απουσία ανάπτυξης <i>S. aureus</i>	
		Αποτέλεσμα αναφοράς Oxacillin Screen Agar			
		MRSA	MSSA		
Μοβ	Μοβ στις 24 ώρες ή μοβ και θετικό στην κοαγκουλάση στις 48 ώρες	110	7	21*	138
	Αρνητικό στην κοαγκουλάση σε 48 ώρες	0	3	68**	71
Μη μοβ / απουσία ανάπτυξης	M/Δ	6	199	1560	1765
Σύνολο		116	209	1649	1974

\*Από 21 δείγματα όπου δεν ανακτήθηκαν *S. aureus* σε υλικό TSA II, ενώ ανακτήθηκαν μοβ απομονωμένα στελέχη σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA**: 15 επιβεβαιώθηκαν ως MRSA από τα θετικά αποτελέσματα εξέτασης λάτεξ PBP2', 4 ήταν αρνητικοί στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι, και 2 ήταν gram-θετικά ραβδία.

\*\* Από 68 δείγματα όπου δεν ανακτήθηκαν *S. aureus* σε υλικό TSA II, ενώ ανακτήθηκαν μοβ απομονωμένα στελέχη σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA** μετά από 48 ώρες: 45 επιβεβαιώθηκαν ως αρνητικοί στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι, και 23 ήταν gram-θετικά ραβδία και άλλοι μικροοργανισμοί.

**Πίνακας 5**

<b>CHROMagar MRSA έναντι Oxacillin Screen Agar</b>	
<b>Ευαισθησία (95%CI)</b>	<b>Ειδικότητα (95%CI)</b>
94.8% (110/116) (89.1%; 98.1%)	96.7% (202/209) (93.2%; 98.6%)

Οι μελέτες αυτές σύγκριναν επίσης τη μέθοδο **BBL CHROMagar MRSA** με άλλες μεθόδους εξέτασης για την ταυτοποίηση του MRSA: την εξέταση συγκόλλησης σε λάτεξ PBP 2', μια εξέταση κεφοξιδίνης (30 μg) με διάχυση δίσκου (disk diffusion), και ανίχνευση PCR του γονιδίου *mecA*. Η εξέταση κεφοξιδίνης με διάχυση δίσκου (disk diffusion) ακολούθησε τα πρόσφατα ερμηνευτικά κριτήρια της NCCLS (μέγεθος ζώνης  $\leq 19$  mm ως MRSA, ή  $\geq 20$  mm ως MSSA).<sup>5</sup> Οι μέθοδοι PBP 2' και PCR ακολούθησαν της οδηγίες σήμανσης για την ερμηνεία. Το ποσοστό συμφωνίας σε σύγκριση με αυτές τις πρόσθετες μεθόδους εμφανίζεται στον Πίνακα 6 για τα απομονωμένα στελέχη MRSA και MSSA. Ο συνολικός αριθμός των εξετασθέντων απομονωμένων στελεχών διαφέρει μεταξύ των μεθόδων λόγω διαφορών στους συντελεστές ολοκλήρωσης μεμονωμένης μεθόδου ή συμμόρφωσης/δυνατότητας αξιολόγησης.

Πίνακας 6

CHROMagar MRSA έναντι διάχυσης σε δίσκο με κεφοζιτίνη		CHROMagar MRSA έναντι συγκόλλησης σε λάτεξ PBP 2'		CHROMagar MRSA έναντι PCR ( <i>mecA</i> )	
Ποσοστό συμφωνίας του MRSA	Ποσοστό συμφωνίας του MSSA	Ποσοστό συμφωνίας του MRSA	Ποσοστό συμφωνίας του MSSA	Ποσοστό συμφωνίας του MRSA	Ποσοστό συμφωνίας του MSSA
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. Σε μια ευρωπαϊκή μελέτη, εξετάστηκαν δείγματα παρακολούθησης και άλλα κλινικά δείγματα. Για εργαστηριακή διερεύνηση ρουτίνας της ανίχνευσης MRSA, τα δείγματα καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία με χρήση υλικού καλλιέργειας Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, και τα δείγματα που ήταν ύποπτα για *S. aureus* υποβλήθηκαν σε PCR για *S. aureus* και MRSA. Τα δείγματα διατηρήθηκαν στο ψυγείο μετά την επεξεργασία. Αμέσως μόλις ήταν διαθέσιμο το αποτέλεσμα PCR, καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία με χρήση υλικού **CHROMagar MRSA** και σε Columbia CNA with 5% Sheep Blood. Τα τρυβλία επωάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες, σε θερμοκρασία 36 +/- 1° C, και διαβάστηκαν μετά από 22-24 ώρες επώασης. Στην περίπτωση απουσίας ανάπτυξης αποικιών ύποπτων για *S. aureus* στο ένα ή και τα δύο υλικά, επαναλήφθηκε η επώαση τρυβλίων για επιπλέον 20-24 ώρες. Για επιβεβαίωση, ρόδινες έως μοβ αποικίες από το **CHROMagar MRSA** και αποικίες ύποπτες για *S. aureus* σε υλικό Columbia CNA Agar υποβλήθηκαν σε εξέταση κοαγκουλάσης σε σωληνάριο και εξετάστηκαν για την ανάπτυξη σε υλικό Oxacillin Screen Agar και για την ανθεκτικότητα στην κεφοζιτίνη με μια εξέταση διάχυσης σε δίσκο, με χρήση των κριτηρίων NCCLS (μεγέθη ζωνών <= 19 mm υποδεικνύουν MRSA).<sup>5</sup> Τα θετικά κατά PCR δείγματα παρακολούθησης (n= 50) περιελάμβαναν: 37 ρινικά επιχρίσματα, 1 φαρυγγικό/ρινικό επίχρισμα, 9 φαρυγγικά επιχρίσματα, και 3 αποσπογγίσεις δέρματος. Άλλα δείγματα θετικά κατά PCR (n= 30) περιελάμβαναν 2 δείγματα αποστήματος και 3 δείγματα χειρουργικής, 23 αποσπογγίσεις τραυμάτων, and 2 δείγματα έλκους. Τα αρνητικά κατά PCR δείγματα (n= 55) περιελάμβαναν 3 δείγματα αποστήματος, 9 αποσπογγίσεις δέρματος, 1 αποσπόγγιση κατάκλισης, 15 ρινικά επιχρίσματα, 10 φαρυγγικά επιχρίσματα, 5 περινεϊκά επιχρίσματα, 1 δείγμα παρακέντησης, 3 αποσπογγίσεις καθετήρα, 1 δείγμα τραχειακών εκκρίσεων, και 7 αποσπογγίσεις τραυμάτων. Συνολικά, εξετάστηκαν 135 δείγματα.

Και τα 80 θετικά κατά PCR δείγματα παρουσίασαν ανάπτυξη ρόδινων έως μοβ αποικιών σε υλικό **CHROMagar MRSA** και αποικιών ύποπτων για *S. aureus* σε υλικό Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood μετά από 22-24 ώρες, ενώ τα 55 αρνητικά κατά PCR δείγματα δεν εμφάνισαν την αντίστοιχη ανάπτυξη στα δύο υλικά μετά από 22-24 ώρες και μετά από 42-48 ώρες. Δυο απομονωμένοι στέλεχοι από τα αρνητικά κατά PCR δείγματα που ελήφθησαν σε υλικό Columbia CNA αλλά όχι σε **CHROMagar MRSA** επιβεβαιώθηκε ως *S. aureus* από θετική εξέταση κοαγκουλάσης. Οί συγκεκριμένοι απομονωμένοι στέλεχοι δεν αναπτύχθηκαν σε Oxacillin Screen Agar ενώ ήταν ευαίσθητο στην κεφοζιτίνη (μέγεθος ζώνης 30 mm) και δεν παρήγαγε ρόδινες έως μοβ αποικίες σε **CHROMagar MRSA**. Ένα άλλο απομονωμένο στέλεχος από αρνητικό κατά PCR δείγμα παρήγαγε βιολετί αποικίες σε **CHROMagar MRSA** που θα μπορούσαν να διαφοροποιηθούν βάσει του χρώματος αποικίας από τη ρόδινη έως μοβ χρώση του *S. aureus*.

Και τα 80 θετικά κατά MRSA δείγματα παρουσίασαν ανάπτυξη σε Oxacillin Screen Agar τόσο από **CHROMagar MRSA** όσο και από Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Στην εξέταση κεφοζιτίνης σε δίσκο, δύο απομονωμένα στελέχη παρουσίασαν ευαισθησία τόσο κατά την ανακαλλιέργεια από **CHROMagar MRSA** όσο και από Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, και τέσσερα στελέχη παρουσίασαν ανθεκτικότητα κατά την ανακαλλιέργεια από **CHROMagar MRSA**, αλλά ευαισθησία κατά την ανακαλλιέργεια από Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Όλα τα υπόλοιπα απομονωμένα στελέχη

παρουσίασαν ανθεκτικότητα τόσο από CHROMagar MRSA όσο και από Columbia CNA Agar.

Η ευαισθησία και η ειδικότητα σε σύγκριση με τις μεθόδους PCR και Oxacillin Screen Agar ήταν 100%. Η ευαισθησία σε σύγκριση με την εξέταση κεφοξιτίνης σε δίσκο ήταν 91,4%.

#### Εξέταση πρόκλησης

Εξετάσεις είκοσι (20) στελεχών πρόκλησης του *S. aureus* διενεργήθηκαν σε τρεις από τους κλινικούς χώρους των ΗΠΑ. Σε αυτή την ομάδα, 9 ήταν ετερογενώς ανθεκτικοί MRSA, 5 ήταν ομοιογενώς ανθεκτικοί MRSA, και 6 ήταν MSSA. Οι τιμές ευαισθησίας μεμονωμένων χώρων και συνδυασμών χώρων ήταν όλες 100%, και η ειδικότητα των χώρων καθώς και η συνολική ειδικότητα ήταν 100%.

#### Έκφραση ανθεκτικότητας

Το **BBL CHROMagar MRSA** αξιολογήθηκε για την ικανότητά του στην ανίχνευση ετερογενών και ομοιογενών στελεχών. Οι MRSA μπορεί να είναι ομοιογενώς ή ετερογενώς ανθεκτικοί. Τα ετερογενή στελέχη ενδέχεται να έχουν έως και 1 κύτταρο που εκφράζει ανθεκτικότητα από 1 εκατομμύριο κύτταρα, καθιστώντας δύσκολη την ανίχνευση μέσω των συμβατικών εξετάσεων αντιμικροβιακής ευαισθησίας.<sup>14</sup> Δεκαπέντε στελέχη εξέτασης, τα οποία αντιπροσώπευαν 10 ετερογενείς και 5 ομοιογενείς MRSA, αξιολογήθηκαν για την ανάκτηση και τους αριθμούς αποικιών σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA** σε σύγκριση με μη εκλεκτικό υλικό, TSA II με 5% αίμα προβάτου. Τόσο η μέθοδος **BBL CHROMagar MRSA** όσο και η μέθοδος TSA II ανέκτησαν και τα 15 στελέχη. Οι αριθμοί αποικιών σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA** κυμαίνονταν από 64-99% για ετερογενή στελέχη και 71-100% για ομοιογενή στελέχη σε σύγκριση με το TSA II. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν ότι η μέθοδος **BBL CHROMagar MRSA** μπορεί να ανιχνεύσει τόσο τα ομοιογενή όσο και τα ετερογενή στελέχη.<sup>14</sup>

#### Μελέτη παρεμβολής

Οκτώ θεραπευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται συνήθως, ανθρώπινο αίμα και πέντε τύποι συσκευών μεταφοράς δειγμάτων αξιολογήθηκαν για πιθανή παρεμβολή της χρωμογόνου αντίδρασης στο υλικό **BBL CHROMagar MRSA**. Σε συγκέντρωση 10%, ένα σπρέι για τη μύτη με υδροχλωρίδιο phenylephrine επέδειξε αντιβακτηριακή δραστηριότητα σε υλικό **BBL CHROMagar MRSA**, καθώς και στον μη εκλεκτικό μάρτυρα, TSA II με 5% αίμα προβάτου. Καμία άλλη ουσία ή συσκευή που εξετάστηκε δεν παρεμπόδιζε την απόδοση του υλικού καλλιέργειας **BBL CHROMagar MRSA**.<sup>13</sup>

#### Αναμενόμενες τιμές

Στην εξωτερική αξιολόγηση απόδοσης του **CHROMagar MRSA** (βλ. **Χαρακτηριστικά απόδοσης**), ο συνολικός επιπολασμός αποικισμού του *S. aureus* ήταν 17,2% (340/1974), όπως ανιχνεύτηκε είτε με τρυβλία **CHROMagar MRSA** είτε με τρυβλία **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)**. Ο συνολικός επιπολασμός θετικών κατά MRSA δειγμάτων (μη διπλότυπων ασθενών) ήταν 6,7% (132/1974), ή περίπου 39% (132/340) όλων των *S. aureus*. Το ποσοστό ανίχνευσης αποικισμού MRSA σε τρυβλία TSA II ήταν 6,5% (117/1974), ενώ το ποσοστό αποικισμού MRSA σύμφωνα με τη μέθοδο **CHROMagar MRSA** ήταν 7,0% (126/1974). Τα ποσοστά αποικισμού ενδέχεται να ποικίλουν σε διαφορετικές χώρες και πληθυσμιακές ομάδες.<sup>3,4</sup>

#### Περιορισμοί της διαδικασίας

Ελαχιστοποιήστε την έκθεση του **BBL CHROMagar MRSA** στο φως τόσο πριν από την επώαση όσο και κατά τη διάρκεια της επώασης, καθώς το φως ενδέχεται να καταστρέψει τα χρωμογόνα. Διατηρείτε τα τρυβλία στην αρχική συσκευασία τους για ολόκληρη την περίοδο φύλαξης.

Η εξέταση παρακολούθησης καθορίζει την κατάσταση αποικισμού σε δεδομένο χρόνο και ενδέχεται να διαφοροποιείται ανάλογα με τη θεραπεία του ασθενή (π.χ. άρση του αποικισμού), την κατάσταση του ασθενή (π.χ. μη ενεργός αποβολή MRSA) ή την έκθεση σε περιβάλλοντα υψηλού κινδύνου (π.χ. επαφή με φορέα MRSA, παρατεταμένη νοσηλεία). Η παρακολούθηση της κατάστασης αποικισμού θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με την πολιτική κάθε νοσοκομείου.

Τα αποτελέσματα από τη μέθοδο **CHROMagar MRSA** θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν ως προσάρτημα των προσπαθειών ελέγχου νοσοκομειακών λοιμώξεων με στόχο τον προσδιορισμό των ασθενών που χρειάζονται ενισχυμένες προφυλάξεις.

Το υλικό αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των ασθενών για απομόνωση ή αφαίρεση από την απομόνωση με στόχο τον έλεγχο της νοσοκομειακής μετάδοσης του MRSA. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα **CHROMagar MRSA** μετά από προηγούμενο θετικό αποτέλεσμα εξέτασης ενδέχεται να υποδηλώνει επιτυχία εξάλειψης θεραπείας ή ενδέχεται να οφείλεται σε διαλείπουσα αποβολή.

Εάν η εξέταση περιλαμβάνει κλινικά δείγματα, είναι απαραίτητο να ενοφθαλιστούν συμπληρωματικά υλικά με αυτά τα δείγματα, ιδιαίτερα ένα τρυβλίο μη εκλεκτικού αιματούχου άγαρ (π.χ., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) και, για τη βελτίωση της ανάκτησης gram-θετικών μικροοργανισμών που εμπλέκονται στη λοίμωξη, **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

Ορισμένα στελέχη *Enterococcus* είναι ανθεκτικά στους ανασταλτικούς παράγοντες που περιλαμβάνονται στο υλικό **BBL CHROMagar MRSA**. Σπανίως, αυτό ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική ανάπτυξη κυανών έως κυανοπράσινων αποικιών, δυσχεραίνοντας την ανίχνευση MRSA. Εάν παρατηρηθεί έντονη ανάπτυξη κυανοπράσινων αποικιών, συνιστάται να συγκρίνετε την ανάπτυξη σε **BBL CHROMagar MRSA** με την ανάπτυξη στο τρυβλίο αιματούχου άγαρ για την παρουσία *S. aureus*.

Τηρείτε πιστά τους χρόνους και τις θερμοκρασίες επώασης που υποδεικνύονται στην ενότητα **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ – Διαδικασία της εξέτασης**.

Έπειτα από 48 ώρες περιστασιακά στελέχη αρνητικών στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκων (όπως, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* και *S. schleiferi*), το είδος *Acinetobacter*, τα κορυνοβακτηρίδια και οι ζυμομύκητες είναι πιθανό να παράγουν αποικίες μοβ χρώματος που απαιτούν συμπληρωματική εξέταση κοαγκουλάσης για την επιβεβαίωση του MRSA. Αυτό ενδέχεται επίσης να παρουσιαστεί σε πολύ χαμηλότερο ποσοστό έπειτα από 24 ώρες. Σε κλινικές μελέτες με δείγματα παρακολούθησης, περίπου το 5% (6/120) των αποικιών μοβ χρώματος που ανιχνεύτηκαν στις 24 ώρες ήταν αρνητικοί στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκοι ή/και κορυνοβακτηρίδια σε υλικό καλλιέργειας **BBL CHROMagar MRSA**. Εάν το επιθυμείτε, για αύξηση της ειδικότητας μπορείτε να πραγματοποιήσετε εξέταση χρώσης κατά Gram ή/και κοαγκουλάσης έπειτα από 24 ώρες σε αποικίες μοβ χρώματος.

Εάν οι τιμές MIC οξακιλλίνης ή κεφοξιτίνης ενός απομονωμένου στελέχους είναι στο σημείο μετάπτωσης της ανθεκτικότητας είναι κοντά σε αυτό, ενδέχεται να σημειωθεί ανάπτυξη αρνητικού στο *mecA* *S. aureus* (οριακά ανθεκτικού *S. aureus* ή BORSA).

Η επώαση σε 5% CO<sub>2</sub> δεν συνιστάται καθώς ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα ψευδώς αρνητικές καλλιέργειες.

Η χρήση υδροχλωριδίου phenylephrine, ενός συστατικού ορισμένων σπρέι για τη μύτη, σε συγκέντρωση ≥10% εμφανίζει ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη μικροοργανισμών, η οποία δεν σχετίζεται με την απόδοση του υλικού καλλιέργειας.

Σπάνια στελέχη MRSA έχουν επιδείξει ευαισθησία στη βάση **BBL CHROMagar MRSA**. Η ευαισθησία αυτή δεν σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στη μεθικιλίνη, αλλά οφείλεται σε συγκεκριμένο συστατικό που υπάρχει στη βάση. Κατά συνέπεια, αυτά τα στελέχη ενδέχεται να εμφανίζονται ως ψευδώς ευαίσθητα στη μεθικιλίνη.

Η μέθοδος **CHROMagar MRSA** δεν προορίζεται για ανίχνευση μικροοργανισμών *S. aureus* διαφορετικών του MRSA ή άλλων ειδών *Staphylococcus*.

Πριν χρησιμοποιήσετε το υλικό **BBL CHROMagar MRSA** για πρώτη φορά, συνιστάται η εκπαίδευση στην τυπική εμφάνιση των αποικιών με προσδιορισμένα στελέχη MRSA, π.χ., τα στελέχη που αναφέρονται στην ενότητα **ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ**.



## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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 89/1391/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. Tenover (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.

## ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

### BD BBL CHROMagar MRSA

Αρ. κατ. 257308

Έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία, 20 τρυβλία

Αρ. κατ. 257333

Έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία, 120 τρυβλία

## ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της 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