

BD BBL™ CHROMagar™ MRSA***HASZNÁLATI JAVASLAT**

BBL CHROMagar MRSA egy szelektáló és differenciáló táptalaj, amelyet eredetileg a meticillinrezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) közvetlen kvalitatív kimutatására használnak az egészségügyi intézményekben az MRSA-fertőzések megelőzésére és ellenőrzésére. A vizsgálatot az alsó orrjáratból vett tampon mintákon végzik, és céljuk a betegek és egészségügyi dolgozók szűrése MRSA telepek szempontjából. **BBL CHROMagar MRSA** nem az MRSA fertőzés diagnosztizálására, sem a kezelés vagy fertőzések monitorozására nem szolgál.

AZ ELJÁRÁS ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

Az MRSA a nosocomiális és az életveszélyes fertőzések elsődleges oka. Az MRSA-fertőzésekhez jelentősen nagyobb esetszám, halálozási ráta és költségek kapcsolódnak, mint a meticillinérzékeny *S. aureus*hoz (MSSA).¹

Az MRSA-fertőzések száma drasztikusan emelkedett az egészségügyi intézményekben, és a népességben folyamatosan növekszik az MRSA-hordozók száma is.² A legújabb tanulmányok szerint *S. aureus*ra nézve a populáció 25–30%-a kolonizálódott.³

Az elmúlt tizenöt évben a rezisztenciaszint jelentősen emelkedett, és a legutóbbi NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance = Amerikai kórházi fertőzési felügyelet) jelentés szerint az intenzív ápolási osztályokon 2003-ban az *S. aureus* fertőzések 60%-át MRSA okozta.

Az MRSA terjedésének ellenőrzésére a Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) irányelveket dolgozott ki, amelyek tartalmazznak egy folyamatos monitorozási programot a reservoirok felderítésére, valamint egy szigorú fertőzés-felügyeleti rendszert az MRSA terjedésének megállítására.¹

A **BBL CHROMagar** a benne található specifikus kromogén anyagoknak és cefoxitinnek köszönhetően lehetővé teszi az MRSA közvetlen detektálását és azonosítását. Az MRSA törzsek szaporodnak cefotixin jelenlétében⁵, és a kromogén szubsztrát hidrolízise következtében rózsaszínű, mályvaszínű telepeket fejlesztenek. Ezenkívül a táptalaj szelektáló anyagokat is tartalmaz a gram-negatív mikroorganizmusok, az élesztőgombák és egyes gram-pozitív coccusok gátlására. A nem MRSA baktériumok a táptalaj más kromogén szubsztrátjait használják fel, így a fejlődő telepek kékek vagy kékeszöldek, míg ha nem használnak fel kromogént, a telepek fehérek vagy színtelenek.

A **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt A. Rambach és a BD fejlesztette ki. Ebben a termékben felhasználásra került a **BBL CHROMagar Staph aureus** táptalaj, amelyet A. Rambach fejlesztett ki, és a BD forgalmazza a CHROMagarral (Párizs, Franciaország) kötött licencszerződés alapján.

REAGENSEK**BBL CHROMagar MRSA**

1 liter szűrt vízre vonatkoztatva*

Kromopepton	40,0 g
Nátrium-klorid	25,0
Kromogén keverék	0,5
Gátló anyagok	0,07
Cefoxitin	0,006
Agar	14,0

pH 6,8±0,3

*Úgy beállítva és/vagy kiegészítve, hogy megfeleljen a végrehajtási követelményeknek.

** Függőben lévő szabadalom az Egyesült Államokban

FIGYELMEZTETÉS

IVD . Használata szakértelmet igényel.

Ne használja a lemezeket, ha azon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást és betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

A klinikai mintákban patogén mikroorganizmusok, pl. Hepatitis és HIV vírusok lehetnek jelen. Minden vérrel, illetve más testnedvvel fertőzött tételt a „Standard Precautions”⁶⁻⁹ előírásai szerint, illetve az intézet irányelvei szerint kell kezelni. Használat után a lemezeket, a tárolóedényeket és az egyéb fertőzött anyagokat kidobás előtt autoklávozással fertőtleníteni kell. A steril munkával, a biológiai veszélyekkel és a használt termékek kidobásával kapcsolatos tudnivalókat olvassa el az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓBAN**.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Kézhez vétel után a lemezeket felhasználásig sötét helyen, 2–8°C-on tárolja, az eredeti lezárt tasakban és kartondobozban. Ügyeljen arra, hogy a termék ne fagyjon meg, ne melegedjen túl, és hogy az inkubáció előtt és alatt ne érje fény, mivel az tönkretelheti a kromogéneket. A lemezeket a lejáratú időn belül kell inokulálni (lásd a csomagolás címkéjét), és az előírt inkubációs időt be kell tartani.

A felbontott 10-es csomagolás lemezeit tiszta, sötét helyen, 2-8°C-on kell tárolni, és egy héten belül fel kell használni.

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Ellenőrizze a lemezeket minőségromlás szempontjából a „**FIGYELMEZTETÉS**” fejezetben leírtak szerint. A teljesítmény ellenőrzéséhez inokuláljon lemezeket stabil kontroll-mikroorganizmusok tiszta tenyészetével, hogy az ismert, várt eredményeket kapja. A táptalaj gátló hatásának megállapítására, az *S. aureus* 25923 10^4 – 10^5 CFU/lemez koncentrációjú szuszpenziójával kell az inokulálást elvégezni.¹⁰ A táptalaj tápanyag-ellátási képességének meghatározására az *S. aureus* 43300 10^3 – 10^4 CFU/lemez koncentrációjú szuszpenziójával kell az inokulálást elvégezni.

Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között $35 \pm 37^\circ\text{C}$ -on **24±4 órán át**. A lemezeket ne inkubálja szén-dioxiddal dúsított körülmények között.

Törzsek	Szaporodási eredmény
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Nincs szaporodás
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Szaporodás mérsékelt méretű rózsaszínes-lila telepekkel
Nem inokulált	Enyhén drapp, áttetsző

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD CHROMagar Salmonella MRSA (90 mm-es **Stacker** lemezek) Mikrobiológiailag ellenőrzött.

Szükséges, de nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, koagulázteszt-reagensok, a minőség-ellenőrzéshez szükséges mikroorganizmusok és más laboratóriumi eszközök, az előírásoknak megfelelően.

Minták típusa

A táptalaj teljesítményét az alsó orrjáratból vett mintákkal értékelték. Mindeddig, csak korlátozott számú klinikai mintát vizsgáltak különböző testrészekből (lásd **TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLATAI**). Az ilyen minták esetében tanácsos a mintavételi eljárás szerint jóváhagyott szállítóeszközt használni. Kövesse a szállítóeszköz-gyártó által javasolt eljárásokat. Ezenkívül tanulmányozza a mintavételről és -kezelésről szóló szakirodalmat.^{11,12}

A teszt kivitelezése

Lehetőség szerint a mintákat a laboratóriumba érkezésük után azonnal inokulálja egy kacs segítségével egy **BBL CHROMagar MRSA** lemezen.

Inkubálja a lemezeket aerob körülmények között 35–37°C hőmérsékleten **24 ± 4 h** keresztül megfordított helyzetben. Amennyiben nem jelennek meg rózsaszínű-lila telepek, további 24 h inkubálja a lemezeket. A lemezeket ne inkubálja szén-dioxiddal dúsított körülmények között. Az inkubáció alatt (> 4 h) a lemezeket óvja a fénytől, mivel az tönkretelheti a kromogéneket. Miután a telepek elszíneződtek, már érheti fény a lemezeket.

Fontos megjegyzés: Meghatározták, hogy az alacsony inkubációs hőmérséklet (<35 °C) és/vagy rövid inkubációs idő (<20 óra) számottevően csökkentheti a **BBL CHROMagar MRSA** érzékenységét arra, hogy 1 nappal a lemezek leolvasása után eredményeket lehessen kapni. Ennek következtében fontos, hogy a 36 °C ideális inkubációs hőmérsékletet (elfogadható tartomány: 35–37 °C) megőrizték az inkubáció teljes ideje alatt (nem kevesebb, mint 20 óráig; ideális a 22 óra az első napi eredmények leolvasásához). Az inkubátor ajtajának ismételt kinyitása, csökkenti az inkubátor hőmérsékletét. Ennek következtében, tanácsos az inkubátor ajtónyitásának a minimálisra csökkentését és a nyitási idő a lehető legrövidebb kell legyen. Amennyiben ez nem teljesíthető, tanácsos a **BBL CHROMagar MRSA** inkubálását, erre a célra rendelt inkubátorban végezni.

Eredmények

A lemezeket fekete háttér előtt értékelje. Az MRSA telepei a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon rózsaszínűek-mályvaszínűek. A többi (nem MRSA) mikroorganizmus nem képes szaporodni, illetve színtelen, fehér, kék vagy kékeszöld telepeket fejleszt. Az eredmények értelmezéséhez lásd az 1. táblázatot.

1. táblázat

24 órás inkubálás		Értelmezés/Teendő
Rózsaszínű, mályvaszínű, morfológiailag staphylococcusokhoz hasonlító telepek*		Detektált MRSA; jelentés MRSA nasalis kolonizációjáról
Nincsenek rózsaszínű, mályvaszínű telepek		Nincs értékelhető eredmény; újrainkubálás további 24 órára
48 órás inkubálás	Teendő	Értelmezés
Rózsaszínű, mályvaszínű telepek	Koagulázteszt elvégzése	Ha koaguláz pozitív – detektált MRSA; MRSA jelentése Ha koaguláz negatív – jelentés nem detektált MRSA-ról
Nincsenek rózsaszínű, mályvaszínű telepek	N/A	Jelentés nem detektált MRSA-ról

*A staphylococcus telepek a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon jellegzetesen kisméretűek, halvány rózsaszínűek, mályvaszínűek. A nagyon kis méretű, pontszerű mályvaszínű telepek gyakran gram-negatív pálcák, általában corynebaktériumok. Amennyiben a morfológia nem egyértelmű, az azonosításhoz 48 órán belül további megerősítő tesztek, például koagulázteszt, elvégzése szükséges.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt az orrjárat meticillinrezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) folyamatos monitorozásból származó vagy klinikai minták 24 h inkubációja utáni kvalitatív, közvetlen detektálásához, izolálásához és azonosításához használják külön megerősítő tesztek nélkül, illetve 48 h inkubáció után koagulázteszttel megerősítve (lásd: **Az eljárás korlátai**).

Teljesítményjellemzők¹³

Teljesítményértékelés

1. A **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt négy, eltérő földrajzi helyzetű, egyesült államokbeli kórházban vizsgálták friss, várhatóan a folyamatos monitorozásra jellemző, alsó orrjáratból vett mintákkal. A vizsgálatba összesen 1974, a monitorozásból származó orrjáratmintát vontak be az MRSA-nak **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** (Triptikáz szójaagar 5% juhvérrel) referencialemezekén és **CHROMagar MRSA** lemezekén való kimutatásának összehasonlítására. A TSA II táptalajon kimutatott *S. aureus* mikrotápleveses oxacillin MIC módszerrel és egy Oxacillin Screen Agar módszerrel, valamint három kiegészítő gyógyszer-érzékenységi teszt módszerrel (lásd a következő szakaszt)

tesztelték. Az Oxacillin MIC eredmények – MSSA ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ és MRSA ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ – az NCCLS kötelező érvényű kritériumainak megfelelően alakultak. Az Oxacillin Screen Agar eredményeit a gyártó utasításai szerint értékelték, amik magukban foglalták az összes MRSA-ként fejlődött telep jelenlétét is. A **CHROMagar MRSA** táptalajt akkor tekintették MRSA-pozitívnak, ha 24 óra után (egyedül) mályvaszínű telepek fejlődtek, vagy ha 48 óra után koaguláztesztel megerősítve mályvaszínű telepek voltak észlelhetők. Az MRSA általános kimutatási szintje a **CHROMagar MRSA** táptalajon 95%-kal (126) magasabb volt, mint a TSA II 89%-os (117) szintje. Az MRSA azonosításának pontosságát az Oxacillin MIC mikrotápléves-hígítós módszerrel és az Oxacillin Screen Agar módszerrel hasonlították össze. A 24 órás értékelésnél 6 fals pozitív mályvaszínű telepet figyeltek meg a **CHROMagar MRSA** táptalajon (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* és 2 *Corynebacterium*). A **CHROMagar MRSA** táptalajnak a csak a 24 órás telepek színét alapul vevő értékelésekor és a 48 órás értékelésekor az összes mályvaszínű telep koaguláztesztel való megerősítése után a **CHROMagar MRSA** teszt és az Oxacillin MIC teszt általános egyezése 96%-os volt (312/325). A **CHROMagar MRSA** és az Oxacillin Screen Agar általános kategóriaegyezése 96%-os volt (312/325). Az **CHROMagar MRSA** táptalaj ehhez a két referenciamódszerhez viszonyítva észlelhető pozitív és negatív eltéréseit a következő táblázatok (2–5. táblázat) mutatják be.

2. táblázat: A BBL CHROMagar MRSA (24 órás mályvaszínű / 48 órás koaguláztesztel kombinált végső eredmény) az Oxacillin MIC referenciaeredményekhez képest:

CHROMagar MRSA eredménye	MRSA azonosítása	TSA II eredménye		Nincs <i>S. aureus</i> szaporodás	Összesen
		<i>S. aureus</i> szaporodása			
		Oxacillin MIC referenciaeredménye			
		MRSA	MSSA		
Mályvaszínű	Mályvasz. 24 óra után és koag. poz. 48 óra után	111	7	21*	139
	Koag. neg. 48 óra után	0	3	68**	71
Nem mályvasz. / nincs szaporodás	Nem alkalmazható	6	198	1560	1764
Összesen		117	208	1649	1974

*21 mintából a TSA II nem mutatott ki *S. aureus*-t, és a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon mályvaszínű telepek fejlődtek: 15 minta MRSA-pozitívként került megerősítésre PBP2 latextesztel; közülük 4 koaguláz-negatív staphylococcus, 2 pedig gram-pozitív pálca volt.

68 mintából a TSA II nem mutatott ki *S. aureus*-t, és a **BBL CHROMagar MRSA táptalajon 48 óra után mályvaszínű telepek fejlődtek: 45 minta koaguláz-negatív staphylococcus volt; 23 gram-pozitív pálca és egyéb mikroorganizmus volt.

3. táblázat

CHROMagar MRSA és Oxacillin MIC összehasonlítása	
Érzékenység (95% konf. int.)	Specifitás (95% konf. int.)
94,9% (111/117) (89,3%; 98,1%)	96,6% (201/208) (93,2%; 98,6%)

4. táblázat: A BBL CHROMagar MRSA (24 órás mályvaszínű / 48 órás koagulázteszttel kombinált végeredmény) az Oxacillin Screen Agar referenciaeredményeihez képest:

CHROMagar MRSA eredménye	MRSA azonosítása	TSA II eredménye			Összesen
		MRSA	MSSA	Nincs <i>S. aureus</i> szaporodás	
Mályvaszínű	Mályvasz. 24 óra után és koag. poz. 48 óra után	110	7	21*	138
	Koag. neg. 48 óra után	0	3	68**	71
Nem mályvasz. / nincs szaporodás	Nem alkalmazható	6	199	1560	1765
Összesen		116	209	1649	1974

*21 mintából a TSA II nem mutatott ki *S. aureus*-t, és a BBL CHROMagar MRSA táptalajon mályvaszínű telepek fejlődtek: 15 minta MRSA-pozitívként került megerősítésre PBP2 latexteszttel; közülük 4 koaguláz-negatív staphylococcus, 2 pedig gram-pozitív pálca volt.

**68 mintából a TSA II nem mutatott ki *S. aureus*-t, és a BBL CHROMagar MRSA táptalajon 48 óra után mályvaszínű telepek fejlődtek: 45 minta koaguláz-negatív staphylococcus volt; 23 gram-pozitív pálca és egyéb mikroorganizmus volt.

5. táblázat

CHROMagar MRSA és Oxacillin Screen Agar összehasonlítása	
Érzékenység (95% konf. int.)	Specifitás (95% konf. int.)
94,8% (110/116) (89,1%; 98,1%)	96,7% (202/209) (93,2%; 98,6%)

A vizsgálatokban a BBL CHROMagar MRSA táptalajt az MRSA azonosítására szolgáló más tesztmódszerekkel is összehasonlították: A PBP 2 latexagglutinációs teszttel, a cefoxitin (30 µg) korongdiffúziós teszttel és a *mecA* gén PCR-es kimutatásával. A cefoxitin korongdiffúziós teszt megfelelt az NCCLS kötelező érvényű kritériumainak (a gátlási zóna ≤19 mm MRSA esetén, vagy ≥ 20 mm MSSA esetén).⁵ A PBP 2 és a PCR módszer az értelmezés során követte a jelölési utasításokat. Az ehhez a két további módszerhez képest mérhető százalékos egyezést az MRSA- és az MSSA-izolátumok esetében a 6. táblázat tartalmazza. Az összes vizsgált izolátum száma a tesztek kivitelezésének eltérő módszerei, illetve azok megbízhatósági/értékelhetőségi arányai miatt tesztenként eltérhet.

6. táblázat

CHROMagar MRSA és Oxacillin korongdiffúzió összehasonlítása		CHROMagar MRSA és PBP 2' latexagglutinációs teszt összehasonlítása		CHROMagar MRSA és PCR (<i>mecA</i>) összehasonlítása	
MRSA %-os egyezése	MSSA %-os egyezése	MRSA %-os egyezése	MSSA %-os egyezése	MRSA %-os egyezése	MSSA %-os egyezése
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%)

- Egy európai vizsgálat során folyamatos monitorozásból származó, valamint más eredetű klinikai mintákat teszteltek. Az MRSA rutinszerű laboratóriumi kimutatásánál a mintákat Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA agar 5% juhvérrel) táptalajon szélesztették, és az *S. aureus*-gyanús mintákat PCR-rel különítették el *S. aureus*-ra és MRSA-ra. A mintákat feldolgozás után fagyaszttva tárolták. Közvetlenül a PCR-eredmények megszületése után a mintákat CHROMagar MRSA és Columbia CNA with 5% Sheep Blood (Columbia CNA 5% juhvérrel) táptalajokon szélesztették. A lemezeket aerob körülmények között 36 +/- 1 C° hőmérsékleten inkubálták 22–24 óráig. Amennyiben egyik táptalajon sem tapasztaltak *S. aureus*-szaporodást, a lemezeket további 20–24 órára újrainkubálták.

A megerősítéshez a **CHROMagar MRSA** táptalajon fejlődött, rózsaszínűtől mályvaszínűig terjedő telepeket, és a Columbia CNA Agar táptalajon fejlődött *S. aureus*-gyanús telepeket koagulázteszttel is tesztelték, valamint a szaporodásukat Oxacillin Screen Agar táptalajon is vizsgálták, cefotixin-rezisztenciájukat pedig korongdiffúziós módszerrel, az NCCLS kötelező érvényű kritériumai (≤ 19 mm gátlási zóna MRSA jelenlétére utal) szerint ellenőrizték.⁵

A folyamatos monitorozásból származó PCR-pozitív minták (n=50) a következőkből álltak: 37 orrtampon, 1 torok/orr tampon, 9 toroktampon és 3 bőrtampon.

A többi PCR-pozitív minta (n=30) 2 tályogminta és 3 sebészeti minta, 23 sebtampon és 2 kelésből származó minta volt.

A PCR-negatív minták (n=55) összetétele: 3 tályogminta, 9 bőrtampon, 1 felfekvéses fekélytampon, 15 orrtampon, 10 toroktampon, 5 gáttampon, 1 felszúrásból származó minta, 3 katétertampon, 1 tüdőváladék-minta és 7 sebtampon.

Összesen 135 mintát teszteltek.

Mind a 80 PCR-pozitív minta rózsaszínűtől mályvaszínűig terjedő telepeket eredményezett a **CHROMagar MRSA** táptalajon, az *S. aureus*-gyanús minták pedig Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar 5% juhvérrel) táptalajon 22–24 órás inkubáció után adtak telepeket, míg az 55 PCR-negatív minta egyike sem eredményezett telepeket egyik táptalajon sem 22–24, illetve 42–48 óra után sem. Két egyik PCR-negatív minta, ami Columbia CNA táptalajon szaporodott, de a **CHROMagar MRSA** táptalajon nem, a pozitív koagulázteszt után *S. aureus*nak bizonyult; ez két izolátum nem szaporodott az Oxacillin Screen Agar táptalajon, cefotixinérzékeny volt (a gátlási zóna mérete 30 mm), és nem fejlesztett rózsaszínűtől mályvaszínűig terjedő telepeket a **CHROMagar MRSA** táptalajon. Egy másik PCR-negatív minta a **CHROMagar MRSA** táptalajon lila telepeket adott, azonban ezek a színük alapján megkülönböztethetőek voltak az *S. aureus* rózsaszínűtől mályvaszínűig terjedő telepeitől.

A **CHROMagar MRSA** és a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar 5% juhvérrel) táptalajon szaporodó mind a 80 MRSA-pozitív minta szaporodott az Oxacillin Screen Agar táptalajon is.

A cefotixin-korongdiffúziós teszt során két izolátum mutatott érzékenységet, amikor mindkettőt **CHROMagar MRSA** és Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar 5% juhvérrel) táptalajokon szubkultúrában tenyésztették, és négy törzs mutatott rezisztenciát a **CHROMagar MRSA** táptalajról származó szubkultúrában, ám érzékenységet a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Columbia CNA Agar 5% juhvérrel) táptalajról származó szubkultúrában. Az összes többi izolátum a CHROMagar MRSA és a Columbia CNA Agar esetében is rezisztensnek bizonyult.

Az érzékenység és a specifitás a PCR-hez és az Oxacillin Screen Agar teszthez képest 100%-os volt. Az érzékenység a cefotixin-korongdiffúziós teszthez képest 91,4%-os volt.

Challenge teszt:

Hús (20) *S. aureus* challenge törzset teszteltek három egyesült államokbeli klinikán. Ebben a panelben 9 heterogén rezisztens MRSA törzs, 5 homogén rezisztens MRSA törzs és 6 MRSA törzs volt. Az egyes vizsgálati helyszínek és az összes helyszín egyesített érzékenysége 100% volt, míg az egyedi és összesített specifitás 100% volt.

Rezisztencia kifejezése:

A **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt a heterogén és homogén törzsek detektálóképességére vizsgálták. Az MRSA homogén és heterogén módon lehet rezisztens. A heterogén törzsek esetében minden 1 milliomodik sejt rezisztens, ami megnehezíti a hagyományos antimikrobiális érzékenységi tesztek elvégzését.¹⁴ Tizenöt tesztelt törzset, köztük 10 heterogén és 5 homogén MRSA törzset vizsgáltak meg kimutatás és telepszámlálás alapján **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon, nem szelektáló TSA II 5% sheep blood táptalajjal való összehasonlításban. A **BBL CHROMagar MRSA** és a TSA II egyaránt kimutatta mind a 15 törzset. A **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon a telepszámlálás eredménye a TSA II táptalajhoz képest a heterogén törzsek esetében 64–69%, míg a homogén törzsek esetében 71–100% volt. Ez az eredmény alátámasztja, hogy a **BBL CHROMagar MRSA** táptalaj alkalmas mind a homogén, mind a heterogén törzsek kimutatására.¹⁴

Interferenciavizsgálat:

Nyolc, a gyógyászatban gyakran használt anyagot, emberi vért, illetve ötféle mintaszállító eszközt vontak be a vizsgálatba, hogy kideríthessék, reakcióba lépnek-e a **BBL CHROMagar MRSA** táptalaj kromogén szubsztrátjával. 10%-os töménységben egy fenilefrin-hidroklorid tartalmú orr-spray antibakteriális aktivitást mutatott mind a **BBL CHROMagar MRSA**, mind a nem szelektáló kontroll TSA II with 5% sheep blood táptalajon. A többi vizsgált anyag, illetve eszköz nem mutatott interferenciát a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajjal.¹³

Várt értékek

A **CHROMagar MRSA** táptalaj egy külső vizsgálatában (lásd: **Teljesítményjellemzők**) a *S. aureus* kolonizációjának általános gyakorisága 17,2% volt (340/1974), amit vagy **CHROMagar MRSA** lemezeken, vagy **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** lemezeken mutattak ki. Az MRSA-pozitív minták általános előfordulása (nem ismétlődő betegek esetében) 6,7% (132/1974) volt, illetve 39% (132/340) volt az összes *S. aureus*-pozitív mintára nézve. A TSA II lemezek MRSA-kolonizációra vonatkozó kimutatási rátája 6,5% (117/1974) volt, míg a **CHROMagar MRSA** lemezek MRSA-kolonizációra vonatkozó kimutatási rátája 7,0% (126/1974) volt. A kolonizációs ráta országonként és populációként eltérő lehet.^{3,4}

Az eljárás korlátai

Az inkubáció előtt és alatt csökkentse minimálisra a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt érő fényhatást, mivel a fény tönkretelheti a kromogéneket. A tárolás teljes időtartamára hagyja a lemezeket az eredeti zacskójukban és kartondobozukban.

A folyamatos monitorozáshoz tartozó tesztelés megállapítja az adott időszakra a kolonizációs státust, és a következők függvényében változhat: a beteg kezelése (például dekolonizációs kezelés), a beteg státusa (például nem üríti aktívan az MRSA-t), nagy rizikójú környezet (például kontaktus MRSA-hordozóval, elnyúló hospitalizáció). A kolonizációs státus monitorozását a kórházi előírásoknak megfelelően kell elvégezni.

A **CHROMagar MRSA** révén kapott eredmények kiegészítő adatként felhasználhatók nosocomialis fertőzések ellenőrzéséhez, a különleges elővigyázatosságot igénylő betegek kiszűrése érdekében végzett tevékenység részeként.

Ezzel a táptalajjal mód nyílik az elkülönítendő, illetve az elkülönítést már nem igénylő betegek meghatározására, így kézben tartható az MRSA nosocomialis terjedése. Egy korábbi pozitív teszt után a **CHROMagar MRSA** táptalajjal kapott negatív eredmény a kezelés eredményességét (sikeres eradikációt), illetve az ürítés átmeneti szünetelését jelentheti.

Klinikai minták vizsgálata esetén további táptalajokat elsősorban nem szelektáló véresagar lemezeket (pl. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (BD Columbia Agar 5% juhvérrel)), valamint a fertőzésben szerepet játszó gram-pozitív mikroorganizmusok hatékonyabb kivonásához **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (BD Columbia CNA agar 5% juhvérrel) táptalajt is inokuláljon a mintával.

Egyes *Enterococcus* törzsek rezisztensek a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajban található gátló anyagokkal szemben. Ez ritkán a kék, kékes-zöld telepek túlnövéséhez vezethet, amely megnehezítheti az MRSA detektálását. Amennyiben a kékes-zöld telepek túlnövekedése figyelhető meg, tanácsos a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon és a véresagaron tapasztalt szaporodást a *S. aureus* jelenlétére nézve összehasonlítani.

Szigorúan tiszteletben kell tartani **AZ ELJÁRÁS - A teszt kivitelezése** címszó alatt megszabott inkubációs időket és hőmérsékletet.

48 óra elteltével némely esetben a koaguláz-negatív staphylococcus törzsek (mint amilyen a *S. epidermidis*, a *S. cohnii*, a *S. intermedius*, a *S. haemolyticus*, a *S. capitis*, a *S. hominis* és a *S. schleiferi*), valamint a korinebaktériumok és az élesztők mályvaszínű telepeket fejleszthetnek. Ilyenkor az MRSA kimutatásához megerősítő koaguláztesztet kell végezni. Ez sokkal kisebb mértékben 24 órás inkubáció alatt is bekövetkezhet. A folyamatos monitorozás mintáinak klinikai vizsgálata során a 24 órás inkubáció után a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajon detektált mályvaszínű telepek hozzávetőlegesen 5%-a (6/120) koaguláz-negatív staphylococcus és/vagy

korinebaktérium volt. Szükség esetén a specifitás fokozására a 24 órás mályvaszínű telepeket Gram-festéssel és/vagy koaguláztesztel is ellenőrizni kell.

Ha egy izolátum az oxacillin vagy cefotixin MIC során rezisztens, vagy a határpont közelében volt, akkor valószínűleg *mecA*-negatív *S. aureus* szaporodott (borderline resistant *S. aureus* – határvonala rezisztens *S. aureus*, más néven BORSA).

Az 5%-os CO₂-légtérben való inkubáció nem javasolt, mivel fals negatív eredményekhez vezethet.

Az egyes orr-spraykben megtalálható fenilefrin-hidroklorid $\geq 10\%$ koncentrációban gátolja a mikroorganizmusok szaporodását, de ez nem befolyásolja a táptalaj hatékonyságát.

Néhány ritka MRSA törzs érzékeny volt a **BBL CHROMagar MRSA** táptalaj alapjára. Ez az érzékenység nincs összefüggésben a meticillinrezisztenciával, hanem a táptalaj egyik alapanyaga váltja ki. Ennek eredményeként ezek a törzsek fals metcillinérzékenységet mutatnak.

A **CHROMagar MRSA** táptalaj nem használható a nem MRSA *S. aureus*, vagy más *Staphylococcus* fajok kimutatására.

Mielőtt a **BBL CHROMagar MRSA** táptalajt első ízben alkalmazná, ajánlatos a kolóniák jellegzetes megjelenését ismert MRSA törzsekkel, pl. a **FELHASZNÁLÓI MINŐSÉGI ELLENŐRZÉS** részben megadott törzsekkel begyakorolni.

IRODALOMJEGYZÉK

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.
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.

CSOMAGOLÁS/KISZERELÉSEK

BD BBL CHROMagar MRSA

Kat. sz. 257308 Használatra kész táptalajok, 20-as csomag

Kat. sz. 257333 Használatra kész táptalajok, 120-as csomag

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

További információkért forduljon a BD helyi képviselőjéhez.



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