

BD BBL™ CHROMagar™ MRSA***NAUDOJIMO PASKIRTIS**

BBL CHROMagar MRSA yra selektyvi ir skiriančioji terpė, skirta kokybiniam kolonijas formuojančioms meticilinui atsparioms *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterijoms nustatyti saugantis MRSA infekcijos sveikatos priežiūros įstaigose ir ją kontroliuojant. Šis tyrimas atliekamas su mėginių iš nosies ir šnervių tamponais, tirti mėginiai paimti iš pacientų ir sveikatos apsaugos sistemos darbuotojų norint nustatyti, ar bus aptikta MRSA kolonijų. **BBL CHROMagar MRSA** nėra skirtas diagnozuoti MRSA infekciją nei koreguoti ar stebėti infekcijų gydymą.

METODIKOS PRINCIPAI IR PAAIŠKINIMAS

Mikrobiologinis metodas.

MRSA bakterijos yra dažniausios hospitalinių pavojingų gyvybei infekcijų sukėlėjos. MRSA sukeltos infekcijos susijusios su kur kas didesniu sergamumu, mirštamumu ir išlaidomis, palyginti su tomis infekcijomis, kurias sukelia meticilinui jautrios *S. aureus* (MSSA).¹

MRSA infekcijos paplitimas labai padidėjo medicinos įstaigose, MRSA pernešimo dažnis didėja ir visuomenėje.² Naujausiais duomenimis, visoje populiacijoje *S. aureus* paplitimas svyruoja nuo 25 iki 30 %.³

Per pastaruosius 15 metų atsparumas nuolatos didėja, o paskutiniiais NNIS (Nacionalinė hospitalinės infekcijų priežiūros institucija) duomenimis, intensyvios terapijos pacientai, 2003 m. užsikrėtę meticilinui atspariomis *S. aureus* bakterijomis, sudarė 60 % nuo visų *S. aureus* sukeltų infekcijų.⁴

Kontroliuodama MRSA infekcijų pernešimą Amerikos epidemiologinės sveikatos priežiūros asociacija (SHEA) pasiūlė rekomendacijas su aktyvia priežiūros programa, skirta potencialiems infekcijos šaltiniams nustatyti, ir griežta infekcijos kontrolės programa, kontroliuojančia MRSA plitimą.¹

BBL CHROMagar terpėje, turinčioje specifinių chromogeninių substratų ir cefoksitino, galima tiesiogiai nustatyti ir identifikuoti MRSA bakterijas. Terpėje esant cefoksitino⁵ auga MRSA kamienai, ir, vykstant chromogeninio substrato hidrolizei, susidaro kolonijos, kurių spalva – nuo rožinės iki rausvai violetinės. Kad neaugtų gramneigiamos bakterijos, mielės ir kai kurie gramteigiami kokai, pridedama papildomų selektyviųjų agentų. Ne MRSA bakterijos gali naudoti kitus terpėje esančius chromogeninius substratus – tada susidarys kolonijos, kurių spalva nuo mėlynos iki mėlynai žalios, o jei chromogeninio substrato nenaudojama, susidaro baltos arba bespalvės kolonijos.

BBL CHROMagar MRSA sukūrė A. Rambach ir BD. Šiam produktui naudojamas A. Rambach sukurtas **BBL CHROMagar Staph aureus**, ir jį parduoda BD pagal CHROMagar (Paryžius, Prancūzija) licenciją.

REAGENTAI**BBL CHROMagar MRSA**

Sudėtis* litre išgryninto vandens

Chromopeptonas	40,0 g
Natrio chloridas	25,0
Chromogenų mišinys	0,5
Inhibitoriai	0,07
Cefoksitinas	0,006
Agaras	14,0

pH 6,8 ± 0,3

*Pakoreguota ir (arba) papildyta pagal poreikį, kad atitiktų veikimo kriterijus.

* laukiama JAV patento

ATSARGUMO PRIEMONĖS

IVD . Tik profesionaliam naudojimui.

Nenaudoti užsiteršusių mikroorganizmais, pakitusios spalvos, išdžiūvusių, suskilusių ar kitokių gedimo požymių turinčių lėkštelių.

Klinikinėje medžiagoje gali būti aptikta patogeninių mikroorganizmų, įskaitant hepatito virusus ir žmogaus imunodeficito virusą. Dirbant su bet kokiomis priemonėmis, kurios užterštos krauju ir kitais organizmo skysčiais, reikia imtis įprastų atsargumo priemonių⁶⁻⁹ ir laikytis įstaigos vidaus taisyklių. Prieš išmetant, panaudotas paruoštas lėkšteles, mėginių indelius ir kitas užterštas medžiagas reikia sterilizuoti autoklave.

Aseptinio naudojimo metodika, biologiniai pavojai ir panaudoto produkto kenksmingumo pašalinimo būdai aprašyti **BENDROSIOSE NAUDOJIMO INSTRUKCIJOSE**.

LAIKYMO SĄLYGOS IR SANDĖLIAVIMO LAIKAS

Gautas lėkšteles iki pat naudojimo pradžios laikykite tamsioje vietoje 2–8 °C temperatūroje movos pavidalo gamintojo pakuotėje ir kartoninėje dėžutėje. Iki inkubacijos ir jos metu jų neužšaldykite, neperkaitinkite, nelaikykite šviesoje, nes šviesa gali suardyti chromogenus. Lėkšteles galima užsėti iki pat galiojimo laiko pabaigos (žr. etiketėje ant pakuotės), o jas inkubuoti – atsižvelgiant į rekomenduojamą inkubavimo laiką.

Atidarius 10 lėkštelių pakuotę, laikomas švarioje tamsioje vietoje 2–8 °C temperatūroje lėkšteles galima naudoti vieną savaitę.

NAUDOTOJO ATLIEKAMA KOKYBĖS KONTROLĖ

Patikrinkite, ar nepažeistos lėkštelės, kaip nurodyta skyriuje **ATSARGUMO PRIEMONĖS**.

Tyrimo veikimą patikrinkite taip: ant standartinių pavyzdinių lėkštelių pasėkite stabilių kontrolinių mikroorganizmų, kurie sukelia žinomas ir norimas reakcijas. Kad nustatytumėte inhibitorines terpės savybes, pasėkite *S. aureus* ATCC 25923, kurių koncentracija 10^4 – 10^5 CFU/lėkštelėje.¹⁰ Terpės maistingumui nustatyti pasėkite *S. aureus* ATCC 43300, kurių koncentracija 10^3 – 10^4 CFU/lėkštelėje.¹⁰

Inkubuokite aerobinėmis sąlygomis **24 ± 4 val.** 35–37 °C temperatūroje. Atmosferos ore, kuriame yra anglies dioksido, inkubuoti negalima.

Kamienai	Augimo rezultatai
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Neauga
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Auga ir sudaro nedideles kolonijas, kurių spalva nuo rožinės iki rausvai violetinės
Neužsėta	Šviesios smėlio spalvos, skaidri

METODIKA

Pateikti reikmenys

BBL CHROMagar MRSA (90 mm skersmens **Stacker** lėkštelės). Mikrobiologiškai kontroliuojama.

Būtinai, bet nepateikti reikmenys

Papildoma terpė, koaguliazės testo reagentai, kokybės kontrolės mikroorganizmai ir kitos reikalingos laboratorinės priemonės.

Mėginių rūšys

Ši terpė skirta nosies ir šnervių mėginiams tirti. Iki šiol buvo ištirtas tik ribotas kiekis klinikinių mėginių, paimtų iš įvairių kitų kūno vietų (žr. sk. **ATLIKIMO CHARAKTERISTIKOS IR PROCEDŪROS APRIBOJIMAI**). Rekomenduojama naudoti gabenimo prietaisus, kuriais leidžiama tokius mėginius paimti. Laikykites gabenimo prietaiso gamintojų rekomenduojamų procedūrų. Smulkesnės informacijos apie mėginio paėmimo ir laikymo procedūras naudotojas taip pat gali rasti atitinkamoje literatūroje.^{11,12}

Tyrimo procedūra

Kuo greičiau į laboratoriją pristatytą mėginį pasėkite **BBL CHROMagar MRSA** lėkštelėje ir pabraukykite kilpele, kad kolonijos atsiskirtų.

Apverstas lėkšteles inkubuokite aerobinėmis sąlygomis **24 ± 4 h**, 35–37 °C temperatūroje. Jei nesusidarė kolonijų, kurių spalva nuo rožinės iki rausvai violetinės, inkubuokite dar 24 h. Inkubuoti atmosferos ore, kuriame yra anglies dioksido, negalima. Pasirūpinkite, kad inkubuojant nebūtų ūviesos (>4 h.), nes ūviesa gali suardyti chromogenus. Laikyti ūviesoje galima po to, kai kolonijos āgauna spalvā.

Svarbios pastabos: Buvo nustatyta, kad žema inkubavimo temperatūra (<35 °C) ir (arba) trumpos inkubavimo laikas (<20 val.) gali labai sumažinti **BBL CHROMagar MRSA** jautrumā gaunant rezultatus, praėjus 1 dienai po lėkštelių rezultatų įvertinimo. Todėl svarbu, kad visā inkubavimo laikā būtų palaikoma ideali 36 °C (leistina aprėptis: nuo 35 °C iki 37 °C) inkubavimo temperatūra (ne mažiau nei 20 valandų; pirmos dienos rezultatams įvertinti rekomenduojama šią temperatūrā išlaikyti 22 valandas). Atidarinėjant inkubatoriaus dureles mažėja faktinė inkubatoriaus temperatūra. Todėl rekomenduojama kiek galima rečiau atidarinėti inkubatoriaus dureles ir kiek galima trumpiau laikyti jas atidarius. Jei tai neįmanoma, rekomenduojama inkubuoti **BBL CHROMagar MRSA** specialiai tam skirtame inkubatoriuje.

Rezultatai

Lėkšteles analizuokite baltame fone. **BBL CHROMagar MRSA** terpėje MRSA kolonijos bus nuo rožinės iki rausvai violetinės spalvos. Kiti mikroorganizmai (ne MRSA) neaugs arba formuos bespalves, baltas, mėlynas arba mėlynai žalias kolonijas. Rezultatai interpretuojami 1-oje lentelėje.

1 lentelė.

24 val. inkubacija		Interpretavimas, rekomenduojamas veiksmas
Kolonijos, kurių spalva nuo rožinės iki rausvai violetinės, morfologiškai panašios į stafilokokus*		Nustatyta MRSA; pažymėkite MRSA paplitimą nosies ertmėje
Rožinių, rausvai violetinių kolonijų nėra		Rezultatas negautas, inkubuokite dar 24 valandas
48 val. inkubacija	Rekomenduojamas veiksmas	Interpretavimas
Rožinės, rausvai violetinės kolonijos	Atlikite koaguliazės testā	Jei koaguliazės testas teigiamas – MRSA nustatyta; pažymėkite MRSA. Jei koaguliazės testas neigiamas – pažymėkite, kad MRSA nenustatyta
Rožinių, rausvai violetinių kolonijų nėra	Nevertinama	Pažymėkite, kad MRSA nenustatyta

*Stafilokokai **BBL CHROMagar MRSA** terpėje paprastai sudaro vidutinio dydžio kolonijas, kurių spalva – nuo švelniai rožinės iki rausvai violetinės. Kolonijos nuo rožinės iki rausvai violetinės spalvos, kurios yra labai mažos, net smaigalio dydžio, dažniausiai būna gramteigiamos, paprastai *corynebacteria* grupei priklausančios lazdelės. Jei morfologiškai neaišku, galima atlikti tvirtinamąjį, pvz., koaguliazės, testā, kuris identifikavimą patvirtins per 48 val.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKA IR METODIKOS TRŪKUMAI

BBL CHROMagar MRSA skirta tiesiogiai meticilinui atsparias *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterijas kokybiškai nustatyti, išskirti ir identifikuoti tiriant kontrolinius nosies mėginius ir inkubuojant 24 h be patvirtinamojo testo arba 48 h su patvirtinamuoju koaguliazės testu (žr. sk. **Procedūros apribojimai**).

Atlikimo charakteristikos¹³

Tyrimo rezultatų įvertinimas

- BBL CHROMagar MRSA** tyrimas ištyrus šviežius kontrolinius mėginius iš nosies ir šnervių buvo įvertintas keturiose geografiškai skirtingose JAV ligoninėse. Iš viso buvo ištirti 1974 kontroliniai šnervių mėginiai, ir MRSA augimas palygintas **Trypticase sojos agaro su 5 % avies kraujo (TSA II)** standartinėse lėkštelėse ir **CHROMagar MRSA** lėkštelėse. *S. aureus* bakterijos, išaugusios TSA II terpėje, buvo tiriamos skiedžiant buljonu oksacilino MIC metodu, oksacilino atrinkimo agaro metodu ir dar trimis papildomais jautrumo testo metodais (žr. sk. toliau). Rezultatai, gauti oksacilino MIC metodu, pagal NCCLS interpretavimo kriterijus tokie: MSSA ≤2 μg/ml, o MRSA ≥4 μg/ml. Oksacilino atrinkimo agaro metodas interpretuojamas vadovaujantis gamintojo instrukcijomis, pagal kurias bet koks kolonijų augimas rodo MRSA buvimā. **CHROMagar MRSA** tyrimas laikomas MRSA atžvilgiu teigiamu, jei per 24 val. užaugusių kolonijų spalva tampa rausvai violetinė (tik pagal šį

požymį) arba per 48 val. užaugusių kolonijų spalva tampa rausvai violetinė, o *S. aureus* buvimas patvirtinamas koaguliazės testu. Iš viso **CHROMagar MRSA** terpėje išaugusių MRSA išėiga buvo didesnė kaip 95 % (126), palyginti su 89 % (117), išaugusių TSA II terpėje. MRSA nustatymo tikslumas buvo vertinamas palyginus oksacilino MIC mikrobiologinį buljono skiedimo metodą ir oksacilino atrinkimo agaro metodą. Analizuojant po 24 val. inkubavimo buvo nustatyti 6 klaidingi teigiami atvejai, kai rausvai violetinės kolonijos augo **CHROMagar MRSA** terpėje (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus*, and 2 *Corynebacterium*). Analizuojant po 24 val. inkubavimo ir atsižvelgiant tik į **CHROMagar MRSA** terpėje užaugusių kolonijų spalvą ir po 48 val. inkubavimo patvirtinant visas rausvai violetines kolonijas atlikus koaguliazės testą buvo gautas 96 % (312/325) atitikimas, palyginus tyrimą **CHROMagar MRSA** terpėje su tyrimu oksacilino MIC metodu. Pagal visas kategorijas tyrimas **CHROMagar MRSA** terpėje tyrimą oksacilino atrinkimo agaro metodu atitiko 96 % (312/325). Teigiamas procentinis MRSA atitikimas ir neigiamas procentinis MSSA atitikimas lyginant tyrimą **CHROMagar MRSA** terpėje ir tyrimą šiais standartiniais metodais parodytas 2–5 lentelėse.

2 lentelė: Tyrimo BBL CHROMagar MRSA metodu (24 val. rausvai violetinės/48 val. galutinis rezultatas po koaguliazės testo) rezultatų palyginimas su standartiniais rezultatais, gautais ištyrus oksacilino MIC metodu.

CHROMagar MRSA rezultatas	MRSA identifikavimas	TSA II rezultatas		S. aureus neauga	Iš viso
		S. aureus augimas			
		Standartinis rezultatas, gautas oksacilino MIC metodu			
		MRSA	MSSA		
Rausvai violetinės kolonijos	Rausvai violetinės kolonijos po 24 val. arba rausvai violetinės kolonijos ir teigiamas koaguliazės testas po 48 val.	111	7	21*	139
	Koaguliazės testas neigiamas po 48 val.	0	3	68**	71
Rausvai violetinių kolonijų nėra/neauga kolonijos	Nevertinama	6	198	1560	1764
Iš viso		117	208	1649	1974

*21 mėginys, kuriame *S. aureus* TSA II terpėje nustatyta nebuvo, o rausvai violetinės spalvos izoliatai buvo išskirti **BBL CHROMagar MRSA** terpėje: 15 mėginių patvirtintas MRSA buvimas pagal teigiamus PBP2' latekso tyrimo rezultatus, 4 pagal koaguliazės testą buvo neigiami stafilokokai, o 2 – gramteigiamos lazdelės.

68 mėginiai, kuriuose *S. aureus* nebuvo nustatyta TSA II terpėje, o rausvai violetinės spalvos izoliatai buvo išskirti **BBL CHROMagar MRSA terpėje po 48 val.: 45 mėginiai buvo patvirtinti kaip neigiami stafilokokai pagal koaguliazės testą, 23 buvo gramteigiamos lazdelės ir kiti mikroorganizmai.

3 lentelė.

Rezultatu, gautų CHROMagar MRSA ir oksacilino MIC metodais, palyginimas	
Jautrumas (95 %CI)	Specifiškumas (95 %CI)
94,9 % (111/117) (89,3 %; 98,1 %)	96,6 % (201/208) (93,2 %; 98,6 %)

4 lentelė: Tyrimo BBL CHROMagar MRSA metodu (24 val. Rausvai violetinės/48 val. galutis rezultatas po koaguliazės testo) rezultatų palyginimas su standartiniais rezultatais, gautais ištyrus oksacilino atrinkimo agaro metodu.

CHROMagar MRSA rezultatas	MRSA identifikavimas	TSA II rezultatas		S. aureus neauga	Iš viso
		S. aureus augimas			
		MRSA	MSSA		
Rausvai violetinės kolonijos	Rausvai violetinės kolonijos po 24 val. arba rausvai violetinės kolonijos ir teigiamas koaguliazės testas po 48 val.	110	7	21*	138
	Koaguliazės testas neigiamas po 48 val.	0	3	68**	71
Rausvai violetinių kolonijų nėra/neauga kolonijos	Nevertinama	6	199	1560	1765
Iš viso		116	209	1649	1974

*21 mėginys, kuriame *S. aureus* TSA II terpėje nustatyta nebuvo, o rausvai violetinės spalvos izoliatai buvo išskirti BBL CHROMagar MRSA terpėje: 15 mėginių patvirtintas MRSA buvimas pagal teigiamus PBP2' latekso tyrimo rezultatus, 4 pagal koaguliazės testą buvo neigiami stafilokokai, o 2 – gramteigiamos lazdelės.

**68 mėginiai, kuriuose *S. aureus* nebuvo nustatyta TSA II terpėje, o rausvai violetinės spalvos izoliatai buvo išskirti BBL CHROMagar MRSA terpėje po 48 val.: 45 mėginiai buvo patvirtinti kaip neigiami stafilokokai pagal koaguliazės testą, 23 buvo gramteigiamos lazdelės ir kiti mikroorganizmai.

5 lentelė.

Rezultatu, gautų CHROMagar MRSA ir oksacilino atrinkimo agaro metodais, palyginimas	
Jautrumas (95 %CI)	Specifiškumas (95 %CI)
94,8 % (110/116) (89,1 %; 98,1 %)	96,7 % (202/209) (93,2 %; 98,6 %)

Šiais tyrimais nustatant MRSA BBL CHROMagar MRSA metodus taip pat buvo palygintas su kitais tyrimo metodais: PBP 2' latekso agliutinacijos testu, cefoksitino (30 µg) diskų difuzijos testu ir *mecA* geno nustatymo PGR būdu. Cefoksitino diskų difuzijos testas atitiko pastaruosius NCCLS nustatytus interpretavimo kriterijus (zonos dydis ≤19 mm, jei MRSA, arba ≥ 20 mm, jei MSSA).⁵ PBP 2' ir PGR metodai trumpąsias interpretavimo instrukcijas atitiko. Kitais metodais nustatytų MRSA ir MSSA izoliatų procentinio atitikimo palyginimas pagal parodytas 6 lentelėje. Įvairiais metodais tirtas bendrasis izoliatų skaičius skiriasi dėl skirtingo įvairių tyrimo metodų atlikimo laiko arba dėl atlikimo ir įvertinimo laiko santykio.

6 lentelė.

CHROMagar MRSA metodo palyginimas su cefoksitino diskų difuzijos metodu		CHROMagar MRSA metodo palyginimas su PBP 2' latekso agliutinacijos metodu		CHROMagar MRSA metodo palyginimas su PGR (<i>mecA</i>) metodu	
MRSA atitikimas %	MSSA atitikimas %	MRSA atitikimas %	MSSA atitikimas %	MRSA atitikimas %	MSSA atitikimas %
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. Atliekant tyrimus Europoje buvo tiriami kontroliniai ir kiti klinikiniai mėginiai. Atliekant kasdieninį laboratorinį MRSA tyrimą mėginiai buvo pasėti Columbia CAN agar su 5 % avies kraujo terpėje, o mėginiai, kuriuose įtariamas *S. aureus* buvimas, buvo tiriami PGR metodu ieškant *S. aureus* ir MRSA. Apdoroti mėginiai buvo laikomi šaltai. Iškart po to, kai PGR metodu buvo gauti rezultatai, mėginiai buvo pasėti **CHROMagar MRSA** ir Columbia CAN su 5 % avies kraujo terpėje. Lėkštelės buvo inkubuojamos aerobinėmis sąlygomis 36 +/- 1 °C temperatūroje ir analizuojamos po 22–24 val. inkubavimo. Jei panašios į *S. aureus* kolonijos neaugo nė vienoje terpėje, lėkštelės buvo papildomai inkubuojamos dar 20–24 val. Kad rezultatai pasitvirtintų, rožinės, rausvai violetinės spalvos kolonijoms, užaugusioms **CHROMagar MRSA** terpėje, ir panašioms į *S. aureus* kolonijoms, užaugusioms Columbia CAN agare, buvo atliktas koaguliazės testas, ir jos buvo auginamos oksacilino atrenkamojo agaro terpėje, o cefoksitinui atsparioms kolonijoms buvo atliktas diskų difuzijos testas taikant NCCLS kriterijus (zonos dydis \leq 19 mm rodo MRSA).⁵ PGR teigiami kontroliniai mėginiai (n= 50) buvo tokie: 37 nosies tamponai, 1 gerklės ir nosies tamponas, 9 gerklės tamponai ir 3 odos tamponai. Kiti PGR teigiami mėginiai (n= 30) tokie: 2 pūlių mėginiai ir 3 chirurginiai mėginiai, 23 žaizdų mėginiai ir 2 opos mėginiai. PGR neigiami mėginiai (n= 55) tokie: 3 pūlių mėginiai, 9 odos tamponai, 1 pragulos tamponas, 15 nosies ertmės tamponų, 10 gerklės tamponų, 5 tarpvietės tamponai, 1 punkcijos mėginys, 3 kateterių tamponai, 1 trachėjinės sekrecijos mėginys ir 7 žaizdų tamponai. Iš viso ištirta 135 mėginių.

Visi 80 PGR teigiami mėginiai, pasėti **CHROMagar MRSA** terpėje, po 22–24 val. formavo rožines ir rausvai violetinės kolonijas ir mėginiai, pasėti Columbia CNA agare su 5 % avies kraujo, – panašias į *S. aureus* kolonijas, o 55 PGR neigiamiems mėginiams, pasėtiems šiose dviejose terpėse, po 22–24 val. ir 42–48 val. toks augimas nebuvo būdingas. Vienas PGR neigiamas mėginio izoliatas, gautas Columbia CNA, bet neaugantis **CHROMagar MRSA** terpėje, buvo patvirtintas kaip *S. aureus* pagal teigiamą koaguliazės testo rezultatą. Šis izoliatas neaugo oksacilino atrenkamojo agaro terpėje ir buvo jautrus cefoksitinui (zonos dydis – 30 mm), o **CHROMagar MRSA** terpėje neformavo rožinių ir rausvai violetinių kolonijų. Kitas izoliatas, gautas iš neigiamo PGR mėginio, **CHROMagar MRSA** terpėje formavo violetines kolonijas, kurios spalva skiriasi nuo *S. aureus* rožinės ir rausvai violetinės spalvos.

Visi 80 MRSA teigiami mėginiai, augantys **CHROMagar MRSA** ir Columbia CNA agaro su 5 % avies kraujo terpėje, augo ir Oxacillin Screen Agar terpėje. Atliekant cefoksitino disko testą du izoliatai, kurie buvo persėti iš **CHROMagar MRSA** ir Columbia CAN agaro su 5 % avies kraujo terpės, buvo jautrūs, o keturi kamienai buvo atsparūs, kai buvo persėti iš **CHROMagar MRSA**, bet jautrūs, persėti iš Columbia CAN agaro su 5 % avies kraujo terpės. Visi kiti izoliatai, persėti iš **CHROMagar MRSA** ir Columbia CNA agaro terpės, buvo atsparūs. Jautrumas ir specifiškumas, palyginus su PGR ir oksacilino atrinkimo agaro metodais, buvo 100 %. Jautrumas, palyginti su cefoksitino disko testu, buvo 91,4 %.

Bandomasis tyrimas

Dvidešimt (20) bandomųjų *S. aureus* kamienų buvo tiriama trijose JAV ligoninėse. Šioje plokštelėje 9 atvejai buvo įvairaus atsparumo MRSA, 5 – vienodo atsparumo MRSA ir 6 buvo MSSA. Kiekvieno atskiro atvejo ir atvejų derinių jautrumas buvo 100 %, individualusis ir bendrasis specifiškumas buvo po 100 %.

Atsparumo išraiška

BBL CHROMagar MRSA terpė skirta heterogeniniams ir homogeniniams kamienams nustatyti. MRSA gali būti homogeniškai arba heterogeniškai atspari. Heterogeniniai kamienai gali 1 milijone atsparių ląstelių turėti 1 ląstelę, kuri apsunkins įprastinį antimikrobinio jautrumo tyrimą.¹⁴ Penkiolika tiriamų MRSA kamienų, iš kurių 10 yra heterogeniški ir 5 homogeniški, buvo tiriami dėl augimo ir kolonijų skaičiaus auginant **BBL CHROMagar MRSA** terpėje ir lyginant su neselektyvia terpe – TSA II su 5 % avies kraujo. Ir **BBL CHROMagar MRSA**, ir TSA II terpėje išaugo visi 15 kamienų. **BBL CHROMagar MRSA** terpėje heterogeninių kamienų kolonijų skaičius, palyginti su išaugusių TSA II terpėje, svyravo 64–99 %, o homogeninių kamienų – 71–100 %. Šie rezultatai rodo, kad **BBL CHROMagar MRSA** terpė gali būti naudojama nustatant homogeninius ir heterogeninius kamienus.¹⁴

Trukdymo tyrimas

Kaip chromogeniniai reakcijai, vykstančiai **BBL CHROMagar MRSA** terpėje, potencialiai trukdančios medžiagos buvo nustatytos aštuonios dažniausiai naudojamos medicininės medžiagos, žmogaus kraujas ir penkių tipų mėginių gabenimo prietaisai. Esant 10 % koncentracijai nosies purškalas, kuriame yra fenilefrino hidroklorido, pasižymėjo antimikrobinio aktyvumu **BBL CHROMagar MRSA** terpėje, taip pat ir neselektyvioje kontrolinėje medžiagoje – TSA II su 5 % avies kraujo terpėje. Jokia kita tirta medžiaga ar priemonė darbo **BBL CHROMagar MRSA** terpėje netrukdė.¹³

Laukiami rezultatai

Išoriškai vertinant **CHROMagar MRSA** terpę (žr. sk. **Atlikimo charakteristikos**), bendrasis *S. aureus* paplitimas buvo 17,2 % (340/1974), kaip ir buvo nustatyta tiriant lėkšteles **CHROMagar MRSA** arba „Trypticase“ sojos agaro su 5 % avies kraujo (TSA II) terpėje. MRSA teigiamų mėginių bendrasis paplitimas (pacientai tirti vieną kartą) buvo 6,7 % (132/1974), arba apie 39 % (132/340) nuo visų *S. aureus* atvejų. TSA II lėkštėse MRSA kolonijų susidarymo norma 6,5 % (117/1974), o **CHROMagar MRSA** terpės lėkštėse MRSA kolonijų norma buvo 7,0 % (126/1974). Kolonijų susidarymo norma gali skirtis – tai priklauso nuo šalies ir populiacijų grupių.^{3,4}

Metodikos trūkumai

Pasirūpinkite, kad ant **BBL CHROMagar MRSA** terpės visiškai nepatektų šviesos, nes šviesa gali suardyti chromogenus. Lėkšteles visą leistiną laiką laikykite tik movos pavidalo gamintojo pakuotėse ir kartoninėse dėžutėse.

Kontroliniai tyrimai kolonijų susidarymo galimybę nustato tam tikru laiku, kuri gali kisti – tai priklauso nuo paciento gydymo aplinkybių (pvz., laikotarpis, kai kolonijos nesusidaro), paciento būklės (pvz., MRSA neaktyvios) arba buvimo didesnės rizikos aplinkoje (pvz., kontaktas su MRSA nešiotaju, ilgesnė buvimo ligoninėje trukmė). Kolonijų formavimo galimybė turi būti tiriama laikantis ligoninės taisyklių.

Tyrimo **CHROMagar MRSA** terpėje rezultatai gali būti naudojami padedant kontroliuoti hospitalines infekcijas ir nustatyti pacientus, kuriems reikia imtis didesnių atsargumo priemonių. Ši terpė gali būti naudojama tiems pacientams nustatyti, kuriuos reikia izoliuoti arba perkelti iš izoliuotųjų grupės ir kontroliuoti hospitalinės MRSA pernešimą. Neigiamas tyrimo **CHROMagar MRSA** terpėje rezultatas, gautas po anksčiau gauto teigiamo tyrimo rezultato, gali rodyti, kad gydymas sėkmingas, arba toks rezultatas gali atsirasti dėl kintančio augimo.

Jei tiriame klinikinius mėginius, sukeliančius šią infekciją, būtina šiomis rūšimis užsėti papildomą terpę, ypač – neselektyvią kraujo agaro lėkštelę (pvz., **BD Columbia agarą su 5 % avies kraujo**), o kad pagerėtų gramteigiamų mikroorganizmų, sukeliančių šią infekciją, augimas, reikia naudoti **BD Columbia CNA agarą su 5 % avies kraujo**.

Tam tikri *Enterococcus* kamienai inhibitoriams, kurių esama **BBL CHROMagar MRSA** terpėje, yra atsparūs. Todėl retais atvejais gali paspartėti mėlynų ir mėlynai žalių kolonijų augimas, o tai apsunkintų MRSA nustatymą. Jei matomas spartus mėlynai žalių kolonijų augimas, rekomenduojama palyginti augimą **BBL CHROMagar MRSA** terpėje ir kraujo agaru lėkštelėje ir patikrinti, ar nėra *S. aureus*.

Griežtai laikykitės skirsnyje **METODIKA. Tyrimo metodika** nurodytų trukmės ir temperatūros reikalavimų.

Po 48 val. kai kurie koaguliazai neigiami (kurių koaguliazės testas yra neigiamas) stafilokokų kamienai (*S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* ir *S. schleiferi*), *Acinetobacter* sp., *corynebacteria* grupės bakterijos ir mielės gali formuoti rausvai violetines kolonijas – tokiu atveju, kad patvirtintumėte MRSA, turėsite atlikti patvirtinamąjį koaguliazės testą. Tai daug rečiau atsitinka per 24 val. trukmės inkubaciją. Klinikinių tyrimų metu ištyrus kontrolinius mėginius paaiškėjo, kad maždaug 5 % (6/120) rausvai violetinių kolonijų, tiriamų po 24 val. **BBL CHROMagar MRSA** terpėje, buvo koaguliazai neigiami stafilokokai ir (arba) *corynebacteria* grupės atstovai. Kad padidėtų specifiškumas, jei reikia, po 24 val. rausvai violetines kolonijas galima dažyti pagal Gramą ir (arba) atlikti koaguliazės testą.

Jei izoliato oksacilino arba cefoksitino MIC atsparumo vertė yra ribinė, gali augti *mecA* neigiama *S. aureus* (ribinio atsparumo *S. aureus* arba BORSA).

Inkubuoti 5 % CO₂ aplinkoje nerekomenduojama, nes gali augti klaidingą neigiamą rezultatą rodančios kultūros.

Naudojant ≥10 % fenilefrino hidrochloridą, kuris yra kai kurių nosies purškalo komponentas, pasireiškia inhibitorinis mikroorganizmų augimo poveikis, bet tai su terpės savybėmis nesusiję.

Retkarčiais pasitaiko MRSA kamienų, kurie jautrūs **BBL CHROMagar MRSA** terpei. Šis jautrumas su atsparumu meticilinui nesusijęs, o priklauso nuo terpės sudėties. Todėl tokie kamienai gali augti kaip klaidingai meticilinui atsparūs mikroorganizmai.

CHROMagar MRSA terpė netinka meticilinui *S. aureus* neatsparioms ar kitoms *Staphylococcus* rūšims nustatyti.

Prieš pirmą kartą naudojant **BD CHROMagar MRSA** terpę rekomenduojame pamėginti atpažinti tipiską MRSA kolonijų išvaizdą su nustatytais kamienais, pvz., minimais sk.

NAUDOTOJO ATLIEKAMA KOKYBĖS KONTROLĖ.

LITERATŪRA

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 89/1391/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.

PAKUOTĖS

BD BBL CHROMagar MRSA

Katalogo Nr. 257308

Paruošta naudoti terpė lėkštelėse; 20 lėkštelių

Katalogo Nr. 257333

Paruošta naudoti terpė lėkštelėse; 120 lėkštelių

PAPILDOMA INFORMACIJA

Dėl papildomos informacijos kreipkitės į vietinį BD atstovą.



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