



## BD BBL™ CHROMagar™ MRSA\*

### PRZEZNACZENIE

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** jest selektywnym i różnicującym podłożem hodowlanym stosowanym w jakościowym bezpośrednim wykrywaniu kolonizacji metycylooopornymi szczepami *Staphylococcus aureus* (MRSA) w celu ułatwienia profilaktyki i monitorowania zakażeń MRSA w placówkach służby zdrowia. Test wykonuje się na wymazach z noszrzy przednich pochodzących od pacjentów i pracowników ochrony zdrowia w ramach badań przesiewowych w kierunku kolonizacji MRSA. Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** nie jest przeznaczone do diagnostyki zakażeń MRSA ani do prowadzenia bądź monitorowania leczenia zakażeń.

### ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

MRSA są główną przyczyną zakażeń szpitalnych i zagrażających życiu. Zakażenia spowodowane przez MRSA są powiązane ze znacząco wyższą chorobowością, śmiertelnością i kosztami niż zakażenia spowodowane przez metycylinowrażliwe szczepy *S. aureus* (MSSA).<sup>1</sup> Częstość występowania zakażeń MRSA w placówkach medycznych dramatycznie wzrosła, a odsetek nosicieli MRSA w społeczeństwie wzrasta cały czas.<sup>2</sup> Ostatnie publikacje sugerują, że w przypadku całości społeczeństwa stopień kolonizacji *S. aureus* wynosi od 25 do 30%.<sup>3</sup> W ciągu ostatnich piętnastu lat obserwowano stały wzrost oporności drobnoustrojów, a według ostatnich danych National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) odsetek zakażeń spowodowanych przez MRSA wśród wszystkich zakażeń *S. aureus* wyniósł aż 60% w 2003 roku w placówkach intensywnej opieki medycznej.<sup>4</sup>

W celu monitorowania przenoszenia MRSA stowarzyszenie Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) przedstawiło wytyczne obejmujące aktywny program monitorujący, mający na celu określenie potencjalnych rezerwuarów oraz rygorystyczny program kontroli zakażeń, którego zadaniem jest kontrolowanie rozprzestrzeniania się MRSA.<sup>1</sup>

Podłoże **BBL CHROMagar** umożliwia bezpośrednie wykrywanie i identyfikację MRSA, ponieważ zawiera specyficzne substraty chromogenne oraz cefoksytynę. Szczepy MRSA rosną w obecności cefoksytyny<sup>5</sup> i tworzą kolonie zabarwione na kolor od różowego do fioletoworóżowego, wynikający z hydrolizy substratu chromogennego. Dodatkowe związki selekcyjne są dołączone w celu supresji drobnoustrojów gram-ujemnych, drożdży oraz niektórych gram-dodatnich ziarniaków. Bakterie inne niż MRSA mogą wykorzystywać inne substraty chromogenne znajdujące się w podłożu, tworząc kolonie zabarwione na kolor od niebieskiego do niebieskozielonego, natomiast jeśli substraty chromogenne nie zostaną wykorzystane, wytworzone kolonie są białe lub bezbarwne.

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** zostało opracowane przez A. Rambach i BD. W tym produkcie wykorzystano **BBL CHROMagar Staph aureus** opracowany przez A. Rambach i sprzedawany przez BD na podstawie umowy licencyjnej z CHROMagar, Paryż, Francja.

---

\* zgłoszony do urzędu patentowego US

## ODCZYNNIKI

### BBL CHROMagar MRSA

Skład\* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Chromopepton	40,0 g	Środki hamujące	0,07 g
Chlorek sodu	25,0	Cefoksytyna	0,006
Mieszanka chromogenów	0,5	Agar	14,0

pH  $6,8 \pm 0,3$

\*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

**IVD** . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości. W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Przy kontakcie z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią lub innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Uniwersalnych środków ostrożności”<sup>6-9</sup> oraz zaleceń obowiązujących w danej instytucji. Używane płytki z preparatami, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Aby uzyskać informacje dotyczące procedur sterylnej techniki pracy, zagrożeń biologicznych oraz usuwania zużytych produktów, należy zapoznać się z dokumentem **OGÓLNE**

### INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA.

## WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu do momentu użycia przechowywać płytki w ciemności w temperaturze od 2 do 8°C w ich oryginalnych opakowaniach oraz w pudełku kartonowym. Unikać zamrażania, przegrzania i ekspozycji na światło przed i w trakcie inkubacji, ponieważ światło może zniszczyć układ chromogenów. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji.

Płytki z otwartego opakowania zawierającego 10 płytek mogą zostać użyte w ciągu tygodnia pod warunkiem przechowywania w czystym, zacienionym miejscu, w temperaturze od 2 do 8°C.

## KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Ocenić płytki pod względem oznak pogorszenia jakości zgodnie z opisem w **ŚRODKACH OSTROŻNOŚCI**. Sprawdzić zachowanie hodowli, wykonując na reprezentatywnych próbkach podłoża posiew czystych kultur stabilnych szczepów kontrolnych, dających znane, prawidłowe reakcje. Aby ocenić zdolność inhibicji podłoża, należy wykonać posiew *S. aureus* ATCC 25923 w stężeniu  $10^4$ - $10^5$  CFU/płytkę.<sup>10</sup> Aby ocenić zdolność odżywczą podłoża, należy wykonać posiew *S. aureus* ATCC 43300 w stężeniu  $10^3$ - $10^4$  CFU/płytkę.<sup>10</sup>

Inkubować w warunkach tlenowych w temperaturze od 35 do 37°C przez **24 ± 4 godziny**. Nie inkubować w atmosferze wzbogaconej dwutlenkiem węgla.

Szczepy bakteryjne	Wzrost
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Zahamowanie wzrostu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Wzrost dający kolonie umiarkowanej wielkości w kolorze od różowego do fioletoworóżowego
Bez posiewu	Jasnobeżowe, przejrzyste

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały

**BBL CHROMagar MRSA** (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

### Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki do testu wytwarzania koagulazy, szczepy do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

## Typy próbek

Niniejsze podłoże oceniono pod kątem osiąganych wyników w przypadku zastosowania wymazów z nozdrzy przednich. Dotychczas zbadano wyłącznie ograniczoną liczbę próbek klinicznych z różnych miejsc ciała (zob. **CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY**). Zaleca się stosowanie materiałów do transportu przeznaczonych do pobierania takich próbek. Postępować zgodnie z zaleceniami producenta materiałów do transportu. Użytkownik może również zapoznać się z odpowiednią literaturą w celu uzyskania informacji dotyczących metod pobierania próbek i obchodzenia się z nimi.<sup>11,12</sup>

## Procedura testowa

Jak najszybciej po otrzymaniu próbek wykonać posiew próbki na płytkę z podłożem **BBL CHROMagar MRSA**, nakładając eżąd pasma w celu izolacji.

Inkubować płytki w warunkach tlenowych w temperaturze 35–37°C przez **24 ± 4 godziny** w pozycji odwróconej. Jeśli nie zostanie stwierdzony wzrost kolonii w kolorze od różowego do fioletoworóżowego, przeprowadzić ponowną inkubację przez okres 24 godz. Nie inkubować w atmosferze wzbogaconej dwutlenkiem węgla. Unikać ekspozycji na światło w czasie inkubacji (> 4 godzin), ponieważ światło może zniszczyć układ chromogenów. Kontakt ze światłem jest możliwy po zaobserwowaniu koloru kolonii.

**Ważna uwaga:** Stwierdzono, że niska temperatura inkubacji (<35 °C) i/lub krótki czas inkubacji (<20 godzin) mogą istotnie zmniejszyć czułość **BBL CHROMagar MRSA** przy uzyskiwaniu wyników w przypadku odczytu 1. dnia. Dlatego ważne jest przestrzeganie idealnej temperatury inkubacji, która wynosi 36 °C (dopuszczalny zakres: od 35 do 37 °C) przez cały czas inkubacji (nie mniej niż 20 godzin; idealnie 22 godziny dla odczytu wyników pierwszego dnia). Wielokrotne otwieranie drzwi inkubatora spowoduje zmniejszenie faktycznej temperatury inkubacji. Dlatego zaleca się otwieranie drzwi inkubatora jak najrzadziej i możliwie na jak najkrótszy czas. Jeśli nie jest to możliwe, zaleca się inkubowanie **BBL CHROMagar MRSA** w osobnym inkubatorze.

## Wyniki

Wykonać odczyt płytek względem białego tła. Na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** pojawiają się kolonie MRSA w kolorze od różowego do fioletoworóżowego. Wzrost innych drobnoustrojów (niebędących MRSA) będzie zahamowany lub powstaną kolonie bezbarwne, białe, niebieskie lub niebieskozielone. W celu interpretacji wyników należy zapoznać się z Tabelą nr 1.

Tabela nr 1

24 godz. inkubacja		Interpretacja/Działanie zalecane
Kolonie w kolorze od różowego do fioletoworóżowego morfologicznie przypominające gronkowce*		Stwierdzono MRSA, zgłosić kolonizację MRSA w nosie
Brak kolonii w kolorze od różowego do fioletoworóżowego		Brak dostępnego wyniku, inkubować ponownie przez 24 godziny
48 godz. inkubacja	Zalecane działanie	Interpretacja
Kolonie w kolorze od różowego do fioletoworóżowego	Przeprowadzić test wytwarzania koagulazy	Jeśli koagulazo-dodatnie – MRSA stwierdzone, zgłosić MRSA. Jeśli koagulazo-ujemne – zgłosić brak stwierdzonych MRSA
Brak kolonii w kolorze od różowego do fioletoworóżowego	B/D	Zgłosić, że nie wykryto MRSA

Na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** \*gronkowce typowo wytwarzają kolonie o umiarkowanym rozmiarze w kolorze od różowego do fioletoworóżowego. Fioletoworóżowe kolonie o bardzo niewielkim rozmiarze, punktowe, są najczęściej wytwarzane przez gram-dodatnie pałeczki, zwykle maczugowce. W przypadku niejasnej morfologii po 48 godz. można zastosować badania potwierdzające, takie jak test wytwarzania koagulazy w celu potwierdzenia rozpoznania.

## CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** jest stosowane do jakościowego bezpośredniego wykrywania, izolacji i identyfikacji metycylooopornych szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA) z wymazów kontrolnych z nosa podczas 24 godz. inkubacji bez konieczności

wykonywania testów potwierdzających oraz podczas 48 godz. inkubacji z koniecznością wykonania potwierdzającego testu wytwarzania koagulazy (zob. **Ograniczenia procedury**).

### Charakterystyka wydajnościowa<sup>13</sup>

#### Ocena działania

1. Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** zostało ocenione w czterech szpitalach znajdujących się w różnych rejonach geograficznych Stanów Zjednoczonych z udziałem świeżych potencjalnych próbek kontrolnych z przednich nozdrzy. Ogółem oceniono 1974 próbek kontrolnych z nozdrzy, porównując odzyskanie MRSA na płytkach referencyjnych z podłożem **Trypticase Soy Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej (TSA II)** oraz z podłożem **CHROMagar MRSA**. *S. aureus* pozyskane z podłoża TSA II były badane metodą mikrorozcieńczeń w bulionie z oksacyliną określającą najmniejsze stężenie hamujące (MIC), jak również trzema dodatkowymi metodami do oznaczania wrażliwości (zob. następny rozdział). Wyniki testu MIC z oksacyliną były zgodne z kryteriami interpretacyjnymi NCCLS, gdzie MSSA  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$ , a MRSA  $\geq 4$   $\mu\text{g/ml}$ . Wyniki metody przeglądowej z oksacyliną w agarze były interpretowane zgodnie z zaleceniami producenta, według których obecność wzrostu dowolnej kolonii była traktowana jako reprezentatywna dla MRSA. Wynik metody wykorzystującej podłoże **CHROMagar MRSA** był interpretowany jako dodatni w kierunku MRSA po 24 godz. w oparciu o stwierdzenie obecności kolonii w kolorze fioletoworóżowym (tylko) lub po 48 godz. w oparciu o stwierdzenie obecności kolonii w kolorze fioletoworóżowym potwierdzonych jako kolonie *S. aureus* testem wytwarzania koagulazy. Ogółem odzyskanie szczepów MRSA na podłożu **CHROMagar MRSA** było wyższe, wynosząc 95% (126) w porównaniu z odzyskiem równym 89% (117) na podłożu TSA II. Dokładność identyfikacji MRSA została porównana z metodą mikrorozcieńczeń w bulionie z oksacyliną MIC oraz metodą przeglądową z oksacyliną w agarze. W trakcie odczytu po 24 godz. stwierdzono 6 wyników fałszywie pozytywnych, w przypadku gdy zaobserwowano kolonie w kolorze fioletoworóżowym na podłożu **CHROMagar MRSA** (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* oraz 2 *Corynebacterium*). Interpretując jedynie kolor kolonii po 24 godz. w przypadku podłoża **CHROMagar MRSA** oraz przeprowadzając dla wszystkich kolonii w kolorze fioletoworóżowym test wytwarzania koagulazy po 48 godz., całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **CHROMagar MRSA** z metodą MIC z oksacyliną wyniosła 96% (312/325). Ogółem zgodność wyników pod względem kategorii metody z podłożem **CHROMagar MRSA** z metodą przeglądową z oksacyliną w agarze wyniosła 96% (312/325). W kolejnych Tabelach 2-5 przedstawiono zgodność wyników dodatnich MRSA oraz ujemnych MSSA na podłożu **CHROMagar MRSA** w porównaniu z tymi metodami referencyjnymi:

**Tabela nr 2: Porównanie wyników podłoża BBL CHROMagar MRSA (wynik po 24 godz. fioletoworóżowy / po 48 godz. dodatkowo z wynikiem testu wytwarzania koagulazy) oraz metody referencyjnej MIC z oksacyliną:**

Wynik na podłożu CHROMagar MRSA	Identyfikacja MRSA	Wynik na podłożu TSA II		Brak wzrostu <i>S. aureus</i>	Razem
		Wzrost <i>S. aureus</i>			
		Wynik testu referencyjnego MIC z oksacyliną			
		MRSA	MSSA		
Fioletoworóżowy	Fioletoworóżowy po 24 godz. lub fioletoworóżowy i koagulazo-dodatni po 48 godz.	111	7	21*	139
	Koagulazo-ujemny po 48 godz.	0	3	68**	71
Nie fioletoworóżowy/ brak wzrostu	B/D	6	198	1560	1764
Razem		117	208	1649	1974

\*21 próbek, w których nie stwierdzono *S. aureus* na podłożu TSA II, natomiast na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** uzyskano fioletoworóżowe izolaty: w 15 przypadkach potwierdzono obecność MRSA wynikiem dodatnim testu lateksowego w kierunku PBP2'; w 4 przypadkach były to koagulazo-ujemne gronkowce, a w 2 przypadkach gram-dodatnie pałeczki.

\*\*68 próbek, w których nie stwierdzono wzrostu *S. aureus* na podłożu TSA II, natomiast na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** uzyskano fioletoworóżowe izolaty po 48 godz.: w 45 przypadkach potwierdzono obecność koagulazo-ujemnych gronkowców, a w 23 były to gram-dodatnie pałeczki oraz inne drobnoustroje.

**Tabela nr 3**

Podłoże CHROMagar MRSA w porównaniu z metodą MIC z oksacyliną	
Czułość (95%CI)	Swoistość (95%CI)
94.9% (111/117) (89.3%; 98.1%)	96,6% (201/208) (93,2%; 98,6%)

**Tabela nr 4: Porównanie wyników podłoża BBL CHROMagar MRSA (wynik po 24 godz. fioletoworóżowy / po 48 godz. dodatkowo z wynikiem testu wytwarzania koagulazy) z wynikami referencyjnej metody przeglądowej z oksacyliną w agarze:**

Wynik na podłożu CHROMagar MRSA	Identyfikacja MRSA	Wynik na podłożu TSA II			Razem
		Wzrost <i>S. aureus</i>		Brak wzrostu <i>S. aureus</i>	
		MRSA	MSSA		
Fioletoworóżowy	Fioletoworóżowy po 24 godz. lub fioletoworóżowy i koagulazo-dodatni po 48 godz.	110	7	21*	138
	Koagulazo-ujemny po 48 godz.	0	3	68**	71
Nie fioletoworóżowy / brak wzrostu	B/D	6	199	1560	1765
Razem		116	209	1649	1974

\*21 próbek, w których nie stwierdzono wzrostu *S. aureus* na podłożu TSA II, natomiast na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** uzyskano fioletoworóżowe izolaty: w 15 przypadkach potwierdzono obecność MRSA wynikiem dodatnim testu lateksowego w kierunku PBP2'; w 4 przypadkach były to koagulazo-ujemne gronkowce, a w 2 przypadkach gram-dodatnie pałeczki.

\*\*68 próbek, w przypadku których nie stwierdzono wzrostu *S. aureus* na podłożu TSA II, natomiast na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** po 48 godz. uzyskano fioletoworóżowe izolaty: w 45 przypadkach potwierdzono obecność koagulazo-ujemnych gronkowców, a w 23 przypadkach były to gram-dodatnie pałeczki oraz inne drobnoustroje.

**Tabela nr 5**

Podłoże CHROMagar MRSA w porównaniu z metodą przeglądową z oksacyliną w agarze	
Czułość (95%CI)	Swoistość (95%CI)
94.8% (110/116) (89.1%; 98.1%)	96,7% (202/209) (93,2%; 98,6%)

W tych badaniach również porównano podłoże **BBL CHROMagar MRSA** z innymi metodami testowymi do identyfikacji MRSA: lateksowym testem aglutynacji w kierunku białka PBP 2', metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną (30 µg) oraz wykrywaniem genu *mecA* metodą PCR. Wyniki metody krążkowo-dyfuzyjnej z cefoksytyną były interpretowane zgodnie z najnowszymi kryteriami NCCLS (wielkość strefy ≤19 mm oznacza obecność MRSA a ≥ 20 mm obecność MSSA).<sup>5</sup> Wyniki metody w kierunku białka PBP 2' oraz PCR

interpretowano zgodnie z dołączonymi instrukcjami. W Tabeli nr 6 przedstawiono zgodność procentową w porównaniu z tymi dodatkowymi metodami dla izolatów MRSA oraz MSSA. Całkowita liczba badanych izolatów różniła się między metodami ze względu na różnice dotyczące ukończenia danej metody lub stopnia zgodności/oceniałości.

Tabela nr 6

Podłoże CHROMagar MRSA w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną		Podłoże CHROMagar MRSA w porównaniu z testem aglutynacji w kierunku PBP 2 <sup>e</sup>		Podłoże CHROMagar MRSA w porównaniu z metodą PCR ( <i>mecA</i> )	
% zgodności MRSA	% zgodności MSSA	% zgodności MRSA	% zgodności MSSA	% zgodności MRSA	% zgodności 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. W jednym badaniu europejskim badano próbki kontrolne oraz inne próbki kliniczne. Przeprowadzono rutynowe badanie laboratoryjne wykrywania MRSA, wykonując posiew próbek na płytki Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej, a próbki z podejrzeniem obecności *S. aureus* zbadano metodą PCR w kierunku *S. aureus* oraz MRSA. Po przeprowadzeniu testów próbki trzymano w lodówce. Tuż po otrzymaniu wyniku metodą PCR próbki zostały nałożone na płytki z podłożem **CHROMagar MRSA** oraz z agarem Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej. Płytki inkubowano w warunkach tlenowych w temperaturze 36±1°C, a następnie po 22-24 godzinnej inkubacji prowadzono odczyt. W przypadku braku wzrostu kolonii z podejrzeniem *S. aureus* na jednym lub obu podłożach płytki ponownie inkubowano przez dodatkowy okres od 20 do 24 godzin. W celu potwierdzenia kolonie w kolorze od różowego do fioletoworóżowego obecne na podłożu **CHROMagar MRSA** oraz kolonie podejrzane o obecność *S. aureus* na podłożu agarowym Columbia CNA Agar zostały poddane badaniu wytwarzania koagulazy, oceniane metodą przeglądową z oksacyliną w agarze pod względem wzrostu oraz metodą krążkowo-dyfuzyjną pod względem oporności na cefoksytyną zgodnie z kryteriami NCCLS (wielkość strefy <math>\leq 19\text{ mm}</math> oznacza obecność MRSA).<sup>5</sup>
- Próbki kontrolne z dodatnim wynikiem PCR (n= 50) obejmowały: 37 wymazy z nosa, 1 wymaz z gardła/nosa, 9 wymazów z gardła oraz 3 wymazy ze skóry.
- Inne próbki o dodatnim wyniku PCR (n= 30) obejmowały 2 próbki z ropni oraz 3 próbki chirurgiczne, 23 wymazów z ran oraz 2 próbki z owrzodzeń.
- Próbki z ujemnym wynikiem PCR (n= 55) obejmowały 3 próbki z ropni, 9 wymazów ze skóry, 1 wymaz z odleżyn, 15 wymazów z nosa, 10 wymazów z gardła, 5 wymazów z krocza, 1 próbkę z punkcji, 3 wymazów z cewników, 1 próbkę wydzieliny z tchawicy oraz 7 wymazów z ran.

Ogółem przebadano 135 próbek.

W przypadku wszystkich 80 próbek z dodatnim wynikiem PCR stwierdzono wzrost kolonii w kolorze od różowego do fioletoworóżowego na podłożu **CHROMagar MRSA** oraz wzrost kolonii z podejrzeniem obecności *S. aureus* na podłożu agarowym Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej po okresie od 22 do 24 godzin, natomiast w przypadku 55 próbek z ujemnym wynikiem PCR nie stwierdzono odpowiadającego wzrostu na obu podłożach po okresie od 22 do 24 oraz po 42 do 48 godzin. W przypadku dwa izolaty w grupie próbek z wynikiem ujemnym PCR, w przypadku którego stwierdzono wzrost na podłożu agarowym Columbia CNA Agar, ale nie na podłożu **CHROMagar MRSA**, potwierdzono obecność *S. aureus* dodatnim wynikiem testu wytwarzania koagulazy; natomiast nie stwierdzono wzrostu tego izolaty metodą przeglądową z oksacyliną w agarze, izolat ten był wrażliwy na cefoksytynę (rozmiar strefy 30 mm) i nie wytwarzał kolonii w kolorze od różowego do fioletoworóżowego na podłożu **CHROMagar MRSA**. W przypadku innego izolatu z grupy próbek z ujemnym wynikiem PCR stwierdzono fioletowe kolonie na podłożu **CHROMagar MRSA**, które można było odróżnić od kolonii *S. aureus* w kolorze od różowego do fioletoworóżowego ze względu na odmienny kolor.

W przypadku wszystkich 80 próbek dodatnich w kierunku MRSA stwierdzono wzrost metodą przeglądową z oksacyliną w agarze na podłożu **CHROMagar MRSA** oraz na agarze Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej.

W badaniu metodą krążkową z cefoksytiną dwa izolaty wykazały wrażliwość po przeprowadzeniu hodowli pochodnej z podłoża **CHROMagar MRSA** oraz z agaru Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej, a cztery szczepy wykazały oporność po przeprowadzeniu hodowli pochodnej z podłoża **CHROMagar MRSA**, a wrażliwość po przeprowadzeniu hodowli pochodnej z agaru Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej. Wszystkie inne izolaty pochodzące z podłoża **CHROMagar MRSA** oraz z agaru Columbia CNA Agar wykazały oporność.

Czułość i swoistość przy porównaniu z metodą PCR oraz metodą przeglądową z oksacyliną w agarze wyniosła 100%. Czułość w porównaniu z metodą krążkową z cefoksytiną wyniosła 91,4%.

#### Test prowokacji

Badanie testem prowokacji dwudziestu (20) szczepów *S. aureus* zostało przeprowadzone w trzech amerykańskich ośrodkach klinicznych. Ten schemat badawczy obejmował 9 heterogennych opornych MRSA, 5 homogennych opornych MRSA oraz 6 MSSA. Czułości dla poszczególnych ośrodków oraz czułość ogólna wyniosły 100%, również specyficzność dla poszczególnych ośrodków oraz specyficzność ogólna wyniosły 100%.

#### Ekspresja oporności

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA** zostało ocenione pod kątem możliwości wykrywania szczepów heterogennych i homogennych. MRSA mogą być odporne homogenicznie lub heterogenicznie. W przypadku szczepów heterogennych zaledwie 1 komórka na 1 milion może wykazywać oporność, utrudniając tym samym wykrywanie standardowymi testami do oznaczania wrażliwości na środki przeciwbakteryjne.<sup>14</sup> Piętnaście szczepów testowych obejmujących 10 heterogennych i 5 homogennych MRSA oceniono pod względem odzyskiwania oraz liczebności kolonii na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** w porównaniu z nieselektywnym podłożem TSA II z 5% dodatkiem krwi baraniej. Stwierdzono wzrost wszystkich 15 szczepów na obu podłożach **BBL CHROMagar MRSA** oraz TSA II. Liczebność kolonii na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** wyniosła 64-99% dla szczepów heterogennych oraz 71-100% dla szczepów homogennych w porównaniu z podłożem TSA II. Te wyniki potwierdzają, że podłoże **BBL CHROMagar MRSA** może być stosowane do odróżniania szczepów homogennych i heterogennych.<sup>14</sup>

#### Badanie interferencji

Osiem często stosowanych substancji medycznych, krew ludzką oraz pięć typów materiałów do transportu próbek badano pod kątem potencjalnego zaburzenia reakcji chromogennej na podłożu **BBL CHROMagar MRSA**. Spray do nosa zawierający chlorowodorek fenylefryny w stężeniu 10% wykazał działanie przeciwbakteryjne na podłożu **BBL CHROMagar MRSA**, jak również na nieselektywnym podłożu kontrolnym TSA II z 5% dodatkiem krwi baraniej. Nie stwierdzono wpływu żadnej innej badanej substancji ani materiału na wyniki osiągane przez podłoże **BBL CHROMagar MRSA**.<sup>13</sup>

#### **Wartości oczekiwane**

W zewnętrznej ocenie charakterystyki działania podłoża **CHROMagar MRSA** (zob. **Charakterystyka wydajnościowa**) ogólna przewaga kolonizacji *S. aureus* wyniosła 17,2% (340/1974), co zostało stwierdzone na płytkach z podłożem **CHROMagar MRSA** lub z agarem **Trypticase Soy Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej (TSA II)**. Ogólna przewaga (pojedynczy pacjent) próbek MRSA dodatnich wyniosła 6,7% (132/1974) lub około 39% (132/340) dla wszystkich *S. aureus*. Poziom wykrywania kolonizacji MRSA na płytce TSA II wyniósł 6,5% (117/1974), natomiast poziom kolonizacji MRSA na płytce **CHROMagar MRSA** wyniósł 7,0% (126/1974). Poziomy kolonizacji mogą różnić się między różnymi krajami i populacjami.<sup>3,4</sup>

### Ograniczenia procedury

Ograniczać kontakt podłoża **BBL CHROMagar MRSA** ze światłem przed oraz w czasie inkubacji, ponieważ światło może zniszczyć układ chromogenów. Przechowywać płytki w opakowaniu oryginalnym oraz w pudełku kartonowym przez cały okres przechowywania.

Badania kontrolne określają status kolonizacji w danym okresie czasu i mogą różnić się w zależności od schematu leczenia pacjenta (np. leczenie mające na celu usunięcie kolonii), stanu pacjenta (np. przekazującego MRSA w sposób nieaktywny) lub narażenia na środowiska o wysokim ryzyku (np. kontakt z nosicielem MRSA, przedłużona hospitalizacja). Monitorowanie statusu kolonizacji powinno być prowadzone zgodnie z wytycznymi szpitala.

Wyniki uzyskane na podłożu **CHROMagar MRSA** powinny być stosowane dodatkowo w stosunku do metod kontrolujących zakażenia szpitalne mających na celu identyfikację pacjentów wymagających stosowania podwyższonych środków ostrożności.

To podłoże może być wykorzystywane w monitorowaniu przekazywania MRSA w obrębie szpitala do identyfikacji pacjentów przeznaczonych do rozpoczęcia lub zakończenia izolacji.

Wynik ujemny uzyskany z podłoża **CHROMagar MRSA** występujący po uprzednim wyniku dodatnim może oznaczać zakończone sukcesem leczenie eradykacyjne lub może wystąpić ze względu na przerywane wydalanie drobnoustrojów.

W przypadku badania próbek klinicznych, należy dokonać posiewu tych próbek na dodatkowe podłoża hodowlane, zwłaszcza na nieselektywną płytkę agarową z krwią (np. **BD Columbia Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej**) oraz w celu wzmocnienia odzysku drobnoustrojów gram-dodatnich zaangażowanych w zakażenie na płytkę agarową **BD Columbia CNA Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej**.

Niektóre szczepy *Enterococcus* są odporne na inhibitory obecne w podłożu **BBL CHROMagar MRSA**. W rzadkich przypadkach może to spowodować nadmierny wzrost kolonii w kolorze od niebieskiego do niebieskozielonego, utrudniając tym samym wykrywanie MRSA. W przypadku zaobserwowania silnego wzrostu niebieskozielonych kolonii zaleca się porównanie wzrostu otrzymanego na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** ze wzrostem uzyskanym na płycie agarowej z krwią pod kątem obecności *S. aureus*.

Należy ściśle przestrzegać czasów i temperatur inkubacji określonych w punkcie **PROCEDURA - Procedura testowa**.

Po 48 godz. niektóre szczepy koagulazo-ujemnych gronkowców (takich jak *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* oraz *S. schleiferi*), *Acinetobacter* sp., maczugowców oraz drożdży mogą wytworzyć kolonie zabarwione na fioletoworóżowo, wymagając tym samym przeprowadzenia potwierdzającego testu wytwarzania koagulazy w celu potwierdzenia obecności MRSA. Taka sytuacja może również wystąpić po 24 godz., ale znacznie rzadziej. W badaniach klinicznych z próbkami kontrolnymi około 5% (6/120) zabarwionych na fioletoworóżowo kolonii wykrytych po 24 godz. na podłożu **BBL CHROMagar MRSA** stanowiły koagulazo-ujemne gronkowce i/lub maczugowce. Jeśli jest to konieczne, w celu zwiększenia swoistości można przeprowadzić barwienie metodą Grama i/lub test wytwarzania koagulazy w przypadku kolonii w kolorze fioletoworóżowym po 24 godzinach.

Jeśli najmniejsze stężenia hamujące MIC oksacyliny lub cefoksytyny dla izolatu zbliżają się lub są równe stężeniu granicznemu oporności, może wystąpić wzrost *mecA*-ujemnych *S. aureus* (*S. aureus* o zwiększonej oporności, inaczej BORSA).

Inkubacja w atmosferze z dodatkiem 5% CO<sub>2</sub> nie jest zalecana i może spowodować powstanie fałszywie negatywnych hodowli.

Zastosowanie chlorowodoru fenylefryny, składnika niektórych sprayów do nosa, w stężeniu ≥10% działa hamująco na wzrost drobnoustrojów, który nie jest związany z charakterystyką działania podłoża hodowlanego.

Niektóre rzadko występujące szczepy MRSA wykazują wrażliwość na podłoże **BBL CHROMagar MRSA**. Ta wrażliwość nie jest związana z opornością na metycylinę, ale ze



składnikami podłoża. W takim przypadku te szczepy mogą być fałszywie określane jako wrażliwe na metycylinę.

Podłoże **CHROMagar MRSA** nie jest przeznaczone do wykrywania *S. aureus* innych niż MRSA lub innych gatunków *Staphylococcus*.

Przed pierwszym zastosowaniem podłoża hodowlanego **BBL CHROMagar MRSA** zalecamy przeprowadzenie testu wyglądu typowej kolonii MRSA określonymi szczepami np. szczepami przedstawionymi w paragrafie **KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA**.

## PIŚMIENNICTWO

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. 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.

## PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

### BD BBL CHROMagar MRSA

Nr kat. 257308

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, cpu 20

Nr kat. 257333

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, cpu 120

## **DODATKOWE INFORMACJE**

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy 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 Berges

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