

## **BBL CHROMagar MRSAII\***

### **PRZEZNACZENIE**

**BBL CHROMagar MRSAII (CMRSAII)** jest selektywnym, różnicującym podłożem do bezpośredniego wykrywania metycylinoopornych gronkowców *Staphylococcus aureus* (MRSA) z próbek klinicznych. Test można wykonać na próbkach pochodzących z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka przewodu pokarmowego (np. odbytu i kału), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu), ran oraz dodatnich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniki Gram-dodatnie.

### **STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIA**

MRSA jest główną przyczyną zakażeń szpitalnych i zagrażających życiu. Zakażenia spowodowane przez MRSA są związane ze znacząco wyższą chorobowością, śmiertelnością i kosztami w porównaniu z zakażeniami wywołanymi przez metycylinowrażliwe szczepy *S. aureus* (MSSA).<sup>1</sup> Największa selekcja tych drobnoustrojów była w instytucjach ochrony zdrowia; jednak MRSA szeroko rozprzecznił się również poza nimi.<sup>2</sup>

W celu monitorowania przenoszenia MRSA 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 rozprzecznienia się MRSA.<sup>1</sup>

**BBL CHROMagar MRSAII** to selektywne, różnicujące podłoże zawierające cefoksytynę służące do wykrywania MRSA w próbkach pochodzących z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbytu i stolec), skóry (np. Pachwina / pacha i krocze/okolice odbytu), ran oraz dodatnich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniki Gram-dodatnie.

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAII** jest zmienioną wersją wcześniejszego opracowania składu CMRSA przez A. Rambach oraz firmę BD i jest sprzedawane przez firmę BD na podstawie licencji CHROMagar, Paryż, Francja.

### **ZASADY PROCEDURY**

Metoda mikrobiologiczna

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAII** umożliwia bezpośrednie wykrywanie i identyfikację MRSA, ponieważ zawiera specyficzne substraty chromogenne oraz cefoksytynę. Szczepy MRSA rosną w obecności cefoksytyny<sup>3</sup> i tworzą kolonie zabarwione na kolor fioletoworóżowy, wynikający z hydrolizy substratu chromogennego. Dodatkowe związki selekcyjne są dołączone w celu supresji drobnoustrojów Gram-ujemnych, drożdży oraz niektórych innych ziarniaków Gram-dodatnich. 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.

---

\*Patenty zgłoszone do urzędów patentowych w europie, Usa i Kanadzie

## ODCZYNNIKI

### BBL CHROMagar MRSAII

Przybliżony skład\* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Chromopepton	35,0 g
Mieszanka chromogenów	0,5 g
Chlorek sodu	17,5 g
Środki hamujące wzrost	7,52 g
Cefoksytyna	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 6,9 +/- 0,2 w 25°C

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

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

**IVD** Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.

W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”<sup>4-7</sup> oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danej placówce. Po użyciu gotowe podłoża na płytkach, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.<sup>8</sup>

**Instrukcje dotyczące przechowywania:** Dostarczone płytki należy przechowywać w oryginalnych opakowaniach i pudełku w temperaturze od 2 do 8°C aż do momentu wykonania posiewu. Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum (<4 h) ekspozycję na światło podłoża **BBL CHROMagar MRSAII**, gdyż przedłużona ekspozycja może spowodować zmniejszenie odzysku i (lub) zabarwienia izolatów. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz nadruk na płytce lub 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.

**Pogorszenie jakości produktu:** Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

**POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI** zaleca się stosowanie materiałów do transportu zatwierdzonych do pobierania próbek klinicznych do badań mikrobiologicznych. Postępować zgodnie z zaleceniami producenta materiałów do transportu. Użytkownik może również zapoznać się z odpowiednim piśmiennictwem w celu uzyskania informacji dotyczących metod pobierania próbek i obchodzenia się z nimi.<sup>9,10</sup>

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały:

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAII** (płytki Stacker o średnicy 90 mm) Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

### Materiały wymagane, ale niedostarczane:

Test potwierdzający, taki jak test na koagulazę, lub odczynniki do lateksowego testu aglutynacji *Staphylococcus* (np. **Staphyloslide**), szczepy do kontroli jakości, pomocnicze podłoża hodowlane oraz inny sprzęt laboratoryjny zgodnie z wymaganiami.

**Typy próbek:** Podłoże można stosować w przypadku próbek pochodzących z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbytu i kału), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu), ran oraz dodatkich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie.

**Procedura testowa:** Stosować techniki aseptyczne. Powierzchnia podłoża agarowego powinna być gładka i wilgotna, lecz bez nadmiernej wilgoci. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

**Próbki pochodzące z układu oddechowego, dolnego odcinka przewodu pokarmowego, skóry i ran:** Po dostarczeniu próbki do laboratorium należy jak najszybciej wykonać posiew, rozprowadzając próbkę na płytce **BBL CHROMagar MRSAII**. Inkubować płytki w warunkach tlenowych w temperaturze 35 – 37°C przez 18 – 28 h w pozycji odwróconej. Jeżeli fioletoworóżowe kolonie nie pojawiły się, ponownie inkubować płytki łącznie przez 36 – 52 h.

**Dodatnie butelki do posiewów krwi zawierające ziarniaki Gram-dodatnie:** Zaraz po oznaczeniu butelki do posiewów krwi jako dodatniej i potwierdzeniu barwieniem metodą Grama obecności ziarniaków Gram-dodatnich, usunąć odpowiednią ilość i wykonać posiew, rozprowadzając próbkę na płytce **BBL CHROMagar MRSAII**. Inkubować płytki w warunkach tlenowych w temperaturze 35 – 37°C przez 18 – 28 h w pozycji odwróconej. Inkubacja dłuższa niż 18 – 28 h nie jest konieczna.

Nie inkubować w atmosferze wzbogaconej dwutlenkiem węgla. Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum ekspozycję na światło, gdyż może ono zniszczyć układ chromogenów. Kontakt ze światłem jest możliwy po zaobserwowaniu koloru kolonii.

### Kontrola jakości przez użytkownika

Obejrzeć płytki w poszukiwaniu oznak pogorszenia jakości, zgodnie z opisem w punkcie „**Pogorszenie jakości produktu**”. Sprawdzić wydajność, wykonując na reprezentatywnych próbkach podłoża posiew czystych kultur szczepów kontrolnych, dających znane, prawidłowe reakcje. *S. aureus* ATCC 29213 można testować bezpośrednio lub przy stężeniu  $10^4$  –  $10^5$  CFU/płytkę w celu potwierdzenia obecności cefoksytyny.<sup>11</sup> *S. aureus* ATCC 43300 można testować bezpośrednio lub przy stężeniu  $10^3$  –  $10^4$  CFU/płytkę, aby ustalić zdolność wzrostu podłoża i wydajność reakcji chromogennej.<sup>11</sup>

Szczep kontrolny	Oczekiwane wyniki
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Wzrost kolonii fioletoworóżowych
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Zahamowanie wzrostu

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i (lub) rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Informacje na temat właściwych praktyk kontroli jakości użytkownik może znaleźć w wytycznych CLSI.

### Wyniki

Wykonać odczyt płytek względem białego tła. Na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** pojawią się kolonie w kolorze fioletoworóżowym. Wzrost innych drobnoustrojów (nie MRSA) zostanie zahamowany lub pojawią się kolonie w kolorze od niebieskiego do niebieskozielonego, białym lub bezbarwne. W celu interpretacji wyników należy zapoznać się z tabelami nr 1 i 2.

**Tabela 1 Interpretacja próbek z układu oddechowego, dolnego odcinka przewodu pokarmowego, skóry i ran**

Inkubacja 18 – 28 h		Interpretacja/Działanie zalecane
Kolonie w kolorze fioletoworóżowym morfologicznie przypominające gronkowce*		Wykryto MRSA
Brak kolonii w kolorze fioletoworóżowym		Inkubować ponownie łącznie przez 36 – 52 h
Inkubacja 36 – 52 h	Zalecane działanie	Interpretacja
Kolonie fioletoworóżowe*	Wykonać bezpośredni test potwierdzający (np. na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji <i>Staphylococcus</i> )	Jeżeli test na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji <i>Staphylococcus</i> da wynik dodatni — wykryto MRSA Jeżeli test na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji <i>Staphylococcus</i> da wynik ujemny — nie wykryto MRSA
Brak kolonii w kolorze fioletoworóżowym	Nie dotyczy	Nie wykryto MRSA

\*Na podłożu **BBL CHROMagar MRSaII** gronkowce typowo wytwarzają kolonie o umiarkowanym rozmiarze w kolorze fioletoworóżowym. Fioletoworóżowe kolonie o bardzo niewielkim rozmiarze, punktowe, są najczęściej wytwarzane przez Gram-dodatnie pałeczki, zwykle maczugowce. Po 36 – 52 h należy wykonać test potwierdzający, taki jak test na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji *Staphylococcus*, który można wykonać bezpośrednio z płytki **BBL CHROMagar MRSaII**.

**Tabela 2 Interpretacja wyników w przypadku dodatnich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie**

Inkubacja 18 – 28 h	Interpretacja/Działanie zalecane
Kolonie w kolorze fioletoworóżowym morfologicznie przypominające gronkowce*	Wykryto MRSA
Brak kolonii w kolorze fioletoworóżowym	Nie wykryto MRSA

\*Na podłożu **BBL CHROMagar MRSaII** gronkowce typowo wytwarzają kolonie o umiarkowanym rozmiarze w kolorze fioletoworóżowym. Fioletoworóżowe kolonie o bardzo niewielkim rozmiarze, punktowe, są najczęściej wytwarzane przez Gram-dodatnie pałeczki, zwykle maczugowce. W przypadku inkubacji trwającej dłużej niż 18 – 28 h należy wykonać test potwierdzający, taki jak test na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji *Staphylococcus*, który można wykonać bezpośrednio z płytki **BBL CHROMagar MRSaII**.

### Ograniczenia procedury

Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum (<4 h) ekspozycję na światło podłoża **BBL CHROMagar MRSaII**, gdyż przedłużona ekspozycja może spowodować zmniejszenie odzysku i (lub) zabarwienia izolatów.

Przechowywać płytki w oryginalnym opakowaniu oraz w pudełku przez cały okres przechowywania.

Wydajność podłoża **BBL CHROMagar MRSaII** zoptymalizowano dla inkubacji w temperaturze 35 – 37°C przez 18 – 28 h. Niższe temperatury inkubacji (<35°C) i (lub) krótsze czasy inkubacji (<18 h) mogą powodować zmniejszenie czułości podłoża **BBL CHROMagar MRSaII**.

Nie zaleca się inkubacji dłuższych niż 36 – 52 h.

Po trwającej 36 – 52 godzin inkubacji pewne rzadziej spotykane szczepy *Chryseobacterium meningosepticum*, koagulazoujemnych *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., metycylinowrażliwych *Staphylococcus aureus*, *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Rhodococcus equi*, *Serratia marcescens* i drożdży mogą tworzyć fioletoworóżowe kolonie wymagające wykonania testu na koagulazę lub lateksowego testu aglutynacji gronkowców w celu potwierdzenia obecności MRSA. Zjawisko to może również wystąpić dużo szybciej po 18 – 28 h.

Może wystąpić wzrost *mecA* ujemnych *S. aureus*, jeżeli najmniejsze stężenia hamujące MIC oksacyliny zbliżają się lub są równe stężeniu granicznemu oporności.

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

Niektóre rzadko występujące szczepy MRSA wykazują wrażliwość na podłoże **BBL CHROMagar MRSAll**. 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.

Duża ilość bakterii i (lub) pewne składniki próbek mogą powodować nieswoiste zabarwienie głównego kwadrantu podłoża. Może to doprowadzić do pojawienia się fioletoworóżowego, fioletowego, zielonego lub niebieskiego zabarwienia podłoża bądź niewielkiej mgiełki u góry podłoża, ale bez wyraźnych kolonii. To zjawisko nie powinno być interpretowane jako wynik dodatni.

Przed pierwszym użyciem podłoża **BBL CHROMagar MRSAll** zaleca się sprawdzenie typowego wyglądu kolonii MRSA przy użyciu określonych szczepów, np. szczepów wymienionych w części „Kontrola jakości przez użytkownika”.

## WARTOŚCI OCZEKIWANE

Częstość zakażeń MRSA w placówkach medycznych dramatycznie wzrosła, a odsetek nosicieli MRSA w społeczeństwie wzrasta cały czas. Ostatnie publikacje sugerują, że liczba hospitalizacji związanych z *S. aureus* wzrosła o 62%, a szacowana liczba hospitalizacji spowodowanych przez metycylinooporne *S. aureus* wzrosła ponad dwukrotnie od 1999 do 2005.<sup>12</sup> Dane NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) wskazują, że odsetek zakażeń spowodowanych przez MRSA wśród wszystkich zakażeń *S. aureus* wzrósł do 59,5 – 64,4 w placówkach intensywnej opieki medycznej. Zaobserwowano dramatyczny wzrost liczby przypadków zakażeń tkanek miękkich i skóry, wskazując społeczeństwu, że związane z MRSA są rozpowszechniane w szpitalach.<sup>12, 13</sup>

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAll** jest stosowane do jakościowego bezpośredniego wykrywania metycylinoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA) z próbek z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbytu i kału), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu) i ran oraz dodatknych butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie.

## Zewnętrzna ocena wydajnościowa

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAll** oceniano w czterech różnych laboratoriach klinicznych przy użyciu pozostałych próbek prospektywnych z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbytu i kału), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu) i ran oraz dodatknych butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie. Próbkę oceniano, porównując odzysk MRSA na tradycyjnym podłożu hodowlanym (np. Tryptic Soy Agar with 5% Sheep Blood, Columbia Agar with 5% Sheep Blood lub CNA (podłoże z kolistyną i kwasem nalidyksowym) w zależności od typów próbek) i na płytce **BBL CHROMagar MRSAll**. Szczepy *S. aureus* odzyskane na tradycyjnym podłożu hodowlanym przetestowano metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną. Wyniki metody krążkowo-dyfuzyjnej z cefoksytiną były interpretowane zgodnie z kryteriami CLSI dotyczącymi określenia oporności (R) i wrażliwości (S) na metycylinę, ( $R \leq 21\text{mm}$  i  $S \geq 22\text{mm}$ ).<sup>3, 14</sup> Wynik metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAll** był interpretowany jako dodatni w kierunku MRSA po 18 – 28 h na podstawie stwierdzenia obecności kolonii w kolorze fioletoworóżowym lub po 36 – 52 h w na podstawie stwierdzenia obecności kolonii potwierdzonych jako kolonie *S. aureus*.

Ogólna przewaga MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAll** wyniosła 15% (778/5051) lub około 65,6% (778/1186) dla wszystkich *S. aureus*. W przypadku tradycyjnej płytki hodowlanej (np. Tryptic Soy Agar with 5% Sheep Blood, Columbia

Agar with 5% Sheep Blood i CNA) odzysk MRSA wyniósł 89,8% (621/778), podczas gdy odzysk MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** wyniósł 95,6% (744/778).

Tabela 3 Odzysk MRSA: podłoże **BBL CHROMagar MRSAII** w porównaniu z podłożem tradycyjnym

		Odzysk MRSA	
Kategoria próbek	Czas odczytu <sup>1</sup>	Podłoże tradycyjne	CMRSAII
Układ oddechowy	24 godz.	79,8% (182/228)	85,5% (195/228)
	48 godz.	76,8% (182/237)	92,4% (219/237)
Dolny odcinek układu pokarmowego	24 godz.	86,9% (93/107)	87,9% (94/107)
	48 godz.	77,5% (93/120)	98,3% (118/120)
Skóra	24 godz.	68,6% (118/172)	88,4% (152/172)
	48 godz.	66,3% (118/178)	96,1% (171/178)
Rana	24 godz.	90,6% (115/127)	92,1% (117/127)
	48 godz.	88,5% (115/130)	94,6% (123/130)
Podłoże do posiewów krwi <sup>2</sup>	24 godz.	100% (113/113)	100% (113/113)
Połączone <sup>3</sup>	24 godz.	<b>83,1% (621/747)</b>	<b>89,8% (671/747)</b>
	48 godz.	<b>79,8% (621/778)</b>	<b>95,6% (744/778)</b>

<sup>1</sup> 24 h oznacza zakres odczytu 18 – 28 h bez wymaganego testu potwierdzającego, a 48 h oznacza zakres odczytu 36 – 52 h z testem potwierdzającym

<sup>2</sup> Dodatkowo podłoże do posiewów krwi zawierające ziarniki Gram-dodatnie

<sup>3</sup> Obejmuje wszystkie typy próbek (z układu oddechowego, dolnego odcinka układu pokarmowego, skóry, ran i podłoża do posiewów krwi)

Tabela 4: Wydajność podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** w porównaniu z podłożem tradycyjnym i krążkiem z cefoksytyną według typu próbek

		Krążek z cefoksytyną	
Kategoria próbek	Czas odczytu <sup>1</sup>	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
Układ oddechowy	24 godz.	85,5% (195/228) (80,3%,89,8%)	99,8% (1216/1218) (99,4%,100%)
	48 godz.	92,4% (219/237) (88,3%,95,4%)	99,8% (1207/1209) (99,4%,100%)
Dolny odcinek układu pokarmowego	24 godz.	87,9% (94/107) (80,1%,93,4%)	100% (587/587) (99,4%,100%)
	48 godz.	98,3% (118/120) (94,1%,99,8%)	100% (574/574) (99,4%,100%)
Skóra	24 godz.	88,4% (152/172) (82,6%,92,8%)	100% (1103/1103) (99,7%,100%)
	48 godz.	96,1% (171/178) (92,1%,98,4%)	100% (1097/1097) (99,7%,100%)
Rana	24 godz.	92,1% (117/127) (86%,96,2%)	100% (821/821) (99,6%,100%)

		Krażek z cefoksytyną	
Kategoria próbek	Czas odczytu <sup>1</sup>	Czułość (95% CI)	Swoistość (95% CI)
	48 godz.	94,6% (123/130) (89,2%,97,8%)	100% (818/818) (99,6%,100%)
Podłoże do posiewów krwi <sup>2</sup>	24 godz.	100% (113/113) (96,8%,100%)	100% (575/575) (99,4%,100%)
Połączone <sup>3</sup>	24 godz.	89,8% (671/747) (87,4%,91,9%)	100% (4302/4304) (99,8%,100%)
	48 godz.	95,6% (744/778) (93,9%,97%)	100% (4271/4273) (99,8%,100%)

<sup>1</sup> 24 h oznacza zakres odczytu 18 – 28 h bez wymaganego testu potwierdzającego, a 48 h oznacza zakres odczytu 36 – 52 h z testem potwierdzającym

<sup>2</sup> Dodatkowo podłoże do posiewów krwi zawierające ziarniaki Gram-dodatnie

<sup>3</sup> Obejmuje wszystkie typy próbek (z układu oddechowego, dolnego odcinka układu pokarmowego, skóry, ran i podłoża do posiewów krwi)

Próbki pochodzące z układu oddechowego:

Oceniono w sumie 1446 próbek pochodzących z układu oddechowego, porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** był wyższy, wynosząc 92,4% (219/237) w porównaniu z odzyskiem równym 76,8% (182/237) na tradycyjnych płytkach hodowlanych po 48 h. W przypadku odczytu po 18 – 28 h zaobserwowano dwa fałszywie dodatnie wyniki na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**, przy swoistości wynoszącej 99,8% (1216/1218). Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną dla próbek pochodzących z układu oddechowego, wyniosła 98,6% (1426/1446).

Próbki pochodzące z dolnego odcinka układu pokarmowego:

Oceniono w sumie 694 próbki pochodzące z dolnego odcinka układu pokarmowego, porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** był wyższy, wynosząc 98,3% (118/120) w porównaniu z odzyskiem równym 77,5% (93/120) w przypadku tradycyjnych płytek hodowlanych po 48 h. Nie zaobserwowano fałszywie dodatnich wyników na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną dla próbek pochodzących z dolnego odcinka układu pokarmowego, wyniosła 99,7% (692/694).

Próbki pochodzące ze skóry:

Oceniono w sumie 1275 próbek pochodzących ze skóry, porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** był wyższy, wynosząc 96,1% (171/178) w porównaniu z odzyskiem równym 66,3% (118/178) w przypadku tradycyjnych płytek hodowlanych po 48 h. Nie zaobserwowano fałszywie dodatnich wyników na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną dla próbek pochodzących ze skóry, wyniosła 99,5% (1268/1275).

Próbki pochodzące z ran:

Oceniono w sumie 948 próbek pochodzących z ran, porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** był wyższy, wynosząc 94,6% (123/130) w porównaniu z odzyskiem równym 88,5% (115/130) w przypadku tradycyjnych płytek hodowlanych po 48 h. Nie zaobserwowano fałszywie dodatnich wyników na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną dla próbek pochodzących z ran, wyniosła 99,3% (941/948).

Dodatnie butelki do posiewów krwi zawierające ziarniaki Gram-dodatnie:

Oceniono w sumie 688 dodatnich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie, porównując odzysk szczepów MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Całkowity odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** i tradycyjnych płytkach hodowlanych odpowiadał 100% (113/113) po 18 – 28 h. Nie zaobserwowano wyników fałszywie dodatnich na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18-28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną dla dodatnich butelek do posiewów krwi, wyniosła 100% (688/688).

Typy próbek połączonych:

Oceniono w sumie 5051 próbek połączonych, porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSAII**. Całkowity odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII** był wyższy, wynosząc 95,6% (744/778) w porównaniu z odzyskiem równym 79,8% (621/778) na tradycyjnych płytkach hodowlanych dla wszystkich typów próbek połączonych (układ oddechowy, dolny odcinek układu pokarmowego, skóra, rany i dodatnie butelki do posiewów krwi zawierające ziarniaki Gram-dodatnie). Po 18 – 28 h zaobserwowano 2 fałszywie dodatnie kolonie w kolorze fioletoworóżowym na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**, przy swoistości wynoszącej 99,9% (4271/4273). Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSAII** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h łączna całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSAII**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną dla próbek wszystkich typów, wyniosła 99,3% (5015/5051).

Test prowokacji

Badanie testem prowokacji dwudziestu (20) szczepów *S. aureus* zostało przeprowadzone w trzech ośrodkach klinicznych. Panel zawierał 14 szczepów MRSA i 6 szczepów MSSA. Zgodność dla poszczególnych ośrodków oraz zgodność ogólna wyniosła 100%.

Wewnętrzna ocena wydajnościowa

Granice wykrywalności (LOD, Limits of Detection)

Podłoże **BBL CHROMagar MRSAII** oceniono w celu ustalenia granicy wykrywalności (LOD) odzysku metycylinyopornych szczepów *S. aureus*. Cztery badane szczepy; obejmujące dwa heterogenne i dwa homogenne MRSA, oceniono pod względem odzyskiwania na podłożu **BBL CHROMagar MRSAII**<sup>15</sup>. Do ustalenia stężenia posianych drobnoustrojów w jednostkach tworzących kolonie (CFU) dla każdego rozcieńczenia wykorzystano nieselektywne płytki z podłożem Columbia Agar with 5%



Sheep Blood. Granica wykrywalności dla CMRSAII mieściła się w zakresie 4 – 116 CFU po 24 h i 4 – 24 CFU po 48 h<sup>16</sup>.

## Badanie interferencji

Oceniono ogółem 30 substancji, obejmujących powszechnie używane substancje lecznicze, materiały do transportu, bulion wzbogacony i podłoża do posiewów krwi, pod względem potencjalnego zakłócania i hamowania wzrostu szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II**. Niektóre płyny do płukania jamy ustnej, krople do gardła, kwas acetylosalicylowy, osobiste środki nawilżające i ibuprofen mogą zmniejszać odzysk MRSA. Spray do nosa zawierający chlorowodorek fenylefryny w stężeniu 10% wykazał działania przeciwbakteryjne. Żadne inne badane substancje, materiały lub podłoża nie zakłócały odzysku MRSA na podłożu BBL CHROMagar MRSA II.<sup>16</sup>

## DOSTĘPNOŚĆ

### Numer Nr Opis

**REF 257434** BBL CHROMagar MRSAII Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 20 sztuk

**REF 257435** BBL CHROMagar MRSAII Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 120 sztuk

## PIŚMIENNICTWO

1. Muto, C. A., J. A. Jernigan, B. E. Ostrowosky, H. M. Richet, W. R. Jarvis, J. M. Boyce, and 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., and S. J. Peacock. 2007. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci.* *In* P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M. L. Landry and M.A. Pfaller (eds.), *Manual of clinical microbiology*, 9<sup>th</sup> ed. ASM, Washington DC.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth Informational Supplement, M100-S18. CLSI, Wayne, PA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3<sup>rd</sup> ed., CLSI, Wayne, PA.
5. The Public Health Services, US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings 2007. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl>.
6. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (BMBL) 5<sup>th</sup> ed. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. CDC website, <http://www.cdc.gov/print.do?url=http%3A/www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb15/bmb15toc>
7. 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 89/391/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000*, p. 0021-0045.
8. BD European OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA
9. Linscott, A.J. 2007. Specimen collection and transport. *In* L.S. Gracia, and H.D. Isenberg, (eds.), *Clinical microbiology procedures handbook*, 2<sup>nd</sup> ed. ASM, Washington DC.
10. Miller, J.M., K. Krisher, and H.T. Holmes. 2007. General principles of specimen collection and handling. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (eds.), *Manual of clinical microbiology*. 9<sup>th</sup> ed., ASM, Washington DC.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Approved Standard M22-A3. Quality control for commercially prepared microbiological culture media, 3<sup>rd</sup> ed., CLSI, Wayne, PA.
12. Klevens R. M., M. A. Morrison, and J. Nadle et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the US. *JAMA*, 298 (15) 1763-1771 (summary on MRSA – Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.)
13. Klein E., D. A. Smith, and R. Lazminarayan. 2007. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerging Infectious Diseases*, (12) CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod>

14. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved Standard M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9<sup>th</sup> ed., CLSI, Wayne, PA.
15. Tomasz A., S. Nachman, and H. Leah 1991. Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicro. Agents Chemother, 35:124-129.
16. Dane w archiwum BD Diagnostics.

## **DODATKOWE INFORMACJE**

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się 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

Made in Germany

### **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>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

BD, BD Logo, BBL, Staphyloslide, and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2008 BD