

BD BBL™ CHROMagar™ MRSA***POUŽITIE**

BBL CHROMagar MRSA je selektívna a diferenciačná pôda, ktorá sa primárne používa v zdravotníckych zariadeniach na kvalitatívnu **priamu detekciu kolonizácie baktérií *Staphylococcus aureus* rezistentných na meticilín (MRSA) ako pomoc pri prevencii a kontrole infekcií spôsobených MRSA**. Hromadná kontrola MRSA kolonizácie u pacientov a zdravotníckych pracovníkov bola vykonaná **testovaním výterov z prednej časti nosa**. **BBL CHROMagar MRSA** nie je určený na diagnostikovanie MRSA infekcie, ani pre riadenie či sledovanie liečby infekcií.

PRINCÍPY A VYSVETLENIE POSTUPU

Mikrobiologická metóda.

Baktéria MRSA je hlavnou príčinou nozokomiálnych a život ohrozujúcich infekcií. Infekcie spôsobené druhom MRSA sa spájajú s výrazne vyššou chorobnosťou, úmrtnosťou a liečebnými nákladmi než druhom *S. aureus* citlivým na meticilín (MSSA).¹

Prevalencia infekcií zapríčinených MRSA sa v medicínskych inštitúciách dramaticky zvýšila a rastie tiež rýchlosť prenosu MRSA v spoločnosti.² Najnovšie štúdie hovoria, že rýchlosť kolonizácie baktérie *S. aureus* u populácie je 25 až 30 %.³

Za posledných 15 rokov rezistencia baktérií vzrástla a najnovšie údaje orgánu NNIS (Národná kontrola nozokomiálnych infekcií v USA) ukazujú, že v roku 2003 bolo na jednotkách intenzívnej starostlivosti percento infekcií spôsobených MRSA (v rámci infekcií spôsobených druhom *S. aureus*) až 60 %.⁴

V rámci kontroly prenosu MRSA odporučila Epidemiologická spoločnosť Ameriky (SHEA) smernice, ktoré zahŕňajú program aktívneho dohľadu na identifikáciu možných zdrojov infekcie a prísny program kontroly infekcie za účelom kontroly šírenia MRSA.¹

Pôda **BBL CHROMagar** umožňuje priamu detekciu a identifikáciu baktérií MRSA metódou pridania špecifických chromogénnych substrátov a cefoxitínu. Kmene MRSA rastú za prítomnosti cefoxitínu⁵ a vytvárajú ružové až svetlofialové kolónie ako výsledok hydrolýzy chromogénneho substrátu. Pridané sú ďalšie selektívne látky na potlačenie gramnegatívnych organizmov, kvasiniek a grampozitívnych kokov. Iné baktérie ako MRSA môžu využiť chromogénny substrát v pôde a vytvoriť modré až modrozelené kolónie alebo, ak sa chromogénne substráty nevyužijú, biele alebo bezfarebné kolónie.

Pôdu **BBL CHROMagar MRSA** vyvinuli A. Rambach a spoločnosť BD. Tento produkt využíva pôdu **BBL CHROMagar Staph aureus**, ktorú vyvinul A. Rambach a predáva ju spoločnosť BD v rámci licencie od spoločnosti CHROMagar, Paríž, Francúzsko.

ZLOŽENIE**BBL CHROMagar MRSA**

Zloženie* na jeden liter deionizovanej vody

Chromopeptón	40,0 g
Chlorid sodný	25,0
Chromogénová zmes	0,5
Inhibičné látky	0,07
Cefoxitín	0,006
Agar	14,0

pH 6,8 ± 0,3

*Upravené alebo doplnené podľa potreby do jedného litra.

* US Patent - v štádiu schvaľovania

UPOZORNENIA

IVD . Iba na profesionálne použitie.

Pôdu nepoužívajte, ak nesie známky mikrobiálnej kontaminácie, zmenu farby, vysušenie, prasknutie alebo iné znaky poškodenia.

V klinických vzorkách sa môžu nachádzať patogénne mikroorganizmy vrátane vírusov hepatitídy a HIV. Pri práci so všetkými materiálmi kontaminovanými krvou a inými telesnými tekutinami dodržujte „Štandardné pracovné postupy“⁶⁻¹⁹ a smernice príslušných inštitúcií. Všetky misky, nádoby so vzorkami a iný kontaminovaný materiál sa po použití musia sterilizovať v autokláve a až potom sa môžu vyhodiť.

Ďalšie informácie o postupoch pri práci s aseptikami, o biohazardoch a likvidácii použitého produktu nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Prijaté misky s pôdou uskladňujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C v pôvodnom obale a v kartónovej škatuli až do začiatku používania. Nezmrazujte, nevystavujte vyššej teplote a svetlu pred a počas inkubácie, pretože svetlo môže zničiť chromogény. Pôda sa môže použiť na kultiváciu až do dňa expirácie (uvedeného na obale) a môže sa inkubovať podľa odporúčania. Misky z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň (ak sú uskladnené na čistom tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C).

KONTROLA KVALITY

Skontrolujte, či misky nenesú známky poškodenia podľa opisu v časti **UPOZORNENIA**.

Skontrolujte účinnosť pôdy naočkovaním reprezentačnej vzorky misiek čistými kultúrami stabilných kontrolných organizmov, ktoré dávajú známe (očakávané) výsledky. Ak chcete zistiť inhibičnú kapacitu pôdy, naočkujte kmeň *S. aureus* ATCC™ 25923 v koncentrácii 10⁴ - 10⁵ CFU na jednu miskú.¹⁰ Ak chcete zistiť výživnú kapacitu pôdy, naočkujte kmeň *S. aureus* ATCC 43300 v koncentrácii 10³ - 10⁴ CFU na jednu miskú.¹⁰

Inkubujte aeróbne pri teplote 35 až 37 °C po dobu **24 ± 4 hodín**. Neinkubujte v prostredí obohatenom oxidom uhličitým.

Kmene	Výsledky rastu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Žiadny rast
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Rast, stredne veľké ružové až svetlofialové kolónie
Nenaočkované	Bezfarebné až svetlobéžové, transparentné

POSTUP

Dodávaný materiál

BBL CHROMagar MRSA (90 mm misky **Stacker™**). Mikrobiologicky kontrolované.

Potrebný materiál, nedodávaný

Pomocné kultivačné pôdy, činidlá na koagulázový test, organizmy na kontrolu kvality a ďalšie laboratórne vybavenie podľa potreby.

Typy vzoriek

Toto médium bolo hodnotené pre testovanie vzoriek z prednej časti nosa. Testovalo sa aj obmedzené množstvo klinických vzoriek z rôznych častí tela (pozri časť **VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU**). Na odber takýchto vzoriek sa odporúča použiť schválené prenosové zariadenia. Postupujte podľa odporúčaní výrobcu prenosového zariadenia. Podrobné informácie o odbere a manipulácii so vzorkami nájdete aj v príslušnej literatúre.^{11,12}

Postup testu

Čo možno najskôr po prijatí do laboratória očkujte vzorku na miskú s pôdou **BBL CHROMagar MRSA** a rozotrite pomocou kľučky.

Misky inkubujte aeróbne pri teplote 35–37 °C po dobu **24 ± 4 h** v obrátenej polohe. Ak sa neobjavia ružovo až lilavo sfarbené kolónie, inkubujte ďalších 24 h. Neinkubujte v CO₂ inkubátore. Počas inkubácie (> 4 h) nevystavujte svetlu, pretože svetlo môže zničiť chromogény. Vystavenie svetlu je prípustné, až keď sa rozvinie farba kolónií.

Dôležitá poznámka: Bolo zistené, že nízka inkubačná teplota (<35 °C) a/alebo krátky inkubačný čas (<20 hodín) môžu významne znížiť citlivosť **BBL CHROMagar MRSA** pri odčítaní výsledkov z platní počas prvého dňa. Je preto dôležité, aby sa inkubačná teplota 36 °C (prijateľný rozsah teplôt: 35 až 37 °C) dodržiavala počas celej inkubačnej doby (nie menej ako 20 hodín; pre odčítanie výsledkov prvého dňa v ideálnom prípade 22 hodín). Opakované otváranie dvierok inkubátora zníži skutočnú teplotu v ňom. Odporúčame otváranie dvierok inkubátora redukovať na minimum a dvierka otvárať na čo najkratší čas. Ak toto nie je možné, odporúčame inkubáciu **BBL CHROMagar MRSA** vykonávať v špecializovanom inkubátore.

Výsledky

Misky odčítajte oproti bielemu pozadiu. Kolónie baktérie MRSA budú na pôde **BBL CHROMagar MRSA** ružové až svetlofialové. Iné organizmy (nie MRSA) budú inhibované alebo vytvoria bezfarebné, biele, modré alebo modrozelené kolónie. Výsledky interpretujte podľa Tabuľky 1.

Tabuľka 1

Inkubácia 24 hod.	Interpretácia/odporúčaný postup	
Ružové až svetlofialové kolónie morfológicky pripomínajúce stafylokoky*	Zistená prítomnosť MRSA, zaznamenajte nazálnu kolonizáciu MRSA.	
Žiadne ružové až svetlofialové kolónie	Žiadne výsledky, opakujte inkubáciu ďalších 24 hod.	
Inkubácia 48 hod.	Odporúčaný postup	Interpretácia
Ružové až svetlofialové kolónie	Urobte koagulázový test.	Koaguláza pozitívna – zistené MRSA, zaznamenajte MRSA. Koaguláza negatívna – zaznamenajte nezistené MRSA.
Žiadne ružové až svetlofialové kolónie	-	Zaznamenajte nezistené MRSA.

*Stafylokoky typicky vytvárajú na pôde **BBL CHROMagar MRSA** stredne veľké hladké ružové až svetlofialové kolónie. Svetlofialové kolónie, ktoré sú veľmi malé až neviditeľné, sú najčastejšie grampozitívne paličky, zvyčajne korynebaktérie. Ak je morfológia nejasná, možno na potvrdenie identifikácie po 48 hodinách použiť potvrdzujúce testy, napr. koagulázu.

VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU

Pôda **BBL CHROMagar MRSA** sa používa na kvalitatívnu priamu detekciu, izoláciu a identifikáciu baktérií *Staphylococcus aureus* (MRSA) rezistentných na meticilín z kontrolných organizmov a klinických vzoriek pri inkubácii po dobu 24 h bez potvrdzujúceho testovania alebo po dobu 48 h, s konfirmačným koagulázovým testom (pozri **Obmedzenia postupu**).

Vlastnosti Postupu¹³

Hodnotenie účinnosti

1. Pôda **BBL CHROMagar MRSA** bola hodnotená v štyroch geograficky odlišných amerických nemocniciach použitím čerstvých eventuálne pozitívnych kontrolných vzoriek z nozdier. Hodnotilo sa celkom 1974 eventuálne pozitívnych vzoriek z nozdier porovnaním izolácie MRSA na referenčnej pôde **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** s pôdou **CHROMagar MRSA**. Kmene *S. aureus* izolované na pôde TSA II boli testované metódou Oxacillin MIC rozpustením v mikrobujóne a metódou Oxacillin Screen Agar, ako aj tromi ďalšími testovacími metódami na citlivosť (pozri ďalší odsek). Výsledky metódy Oxacillin MIC boli interpretované podľa centra NCCLS s MSSA ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ a MRSA ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Výsledky metódy Oxacillin Screen Agar boli interpretované podľa pokynov výrobcu, podľa ktorých prítomnosť akéhokoľvek rastu kolónií znamená prítomnosť MRSA. Pôda **CHROMagar MRSA** bola interpretovaná ako pozitívna na MRSA po 24 hodinách inkubácie pri zistení svetlofialových kolónií (samotných) alebo po 48 hodinách pri zistení svetlofialových kolónií a potvrdením baktérie *S. aureus* koagulázovým testom. Celková izolácia MRSA na pôde **CHROMagar MRSA** bola viac ako 95 % (126) v porovnaní s izoláciou 89 % (117) na pôde TSAII. Presnosť identifikácie MRSA sa porovnala s metódou Oxacillin MIC rozpustením v mikrobujóne a metódou Oxacillin Screen Agar. Pri odčítaní po 24 hod. bolo 6 zdanlivo pozitívnych výsledkov, keď sa na pôde **CHROMagar MRSA** pozorovali svetlofialové kolónie (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* a 2 *Corynebacterium*). Po určení iba podľa farby kolónií

na pôde **CHROMagar MRSA** po 24 hodinách a potvrdení všetkých svetlofialových kolónií koagulázou po 48 hodinách bola celková zhoda testov **CHROMagar MRSA** a Oxacillin MIC 96 % (312/325). Celková zhoda testov **CHROMagar MRSA** a Oxacillin Screen Agar bola 96 % (312/325). Pozitívna percentuálna zhoda pri MRSA a negatívna pri MSSA pri pôde **CHROMagar MRSA** v porovnaní s týmito referenčnými metódami je vyjadrená v nasledujúcich Tabuľkách 2 - 5.

Tabuľka 2: Účinnosť metódy BBL CHROMagar MRSA (výsledok po 24 hod. svetlofialová/48 hod. s potvrdením koagulázou) verzus referenčný výsledok metódy Oxacillin MIC:

Výsledok CHROMagar MRSA	Identifikácia MRSA	Výsledok TSA II		Žiadny rast kmeňa <i>S. aureus</i>	Celkom
		Rast kmeňa <i>S. aureus</i>			
		Refer. výsledok Oxacillin MIC			
		MRSA	MSSA		
Svetlofialové	Po 24 hod. svetlofialové, po 48 hod. s pozit. koagulázou	111	7	21*	139
	Po 48 hod. negat. koag.	0	3	68**	71
Nie svetlofialové/žiadny rast	-	6	198	1560	1764
Celkom		117	208	1649	1974

*Z 21 vzoriek, kde sa neizoloval kmeň *S. aureus* na pôde TSA II a na pôde **BBL CHROMagar MRSA** sa izolovali svetlofialové izoláty: 15 sa potvrdilo ako pozitívne na MRSA testom PBP2' latex, 4 boli koaguláza-negatívne stafylokoky a 2 boli grampozitívne paličky.

Z 68 vzoriek, kde sa neizoloval kmeň *S. aureus* na pôde TSA II a na pôde **BBL CHROMagar MRSA sa izolovali svetlofialové izoláty, po 48 hod.: 45 sa potvrdilo ako koaguláza-negatívne stafylokoky a 23 bolo grampozitívnych paličiek a iných organizmov.

Tabuľka 3

CHROMagar MRSA vs. Oxacillin MIC	
Citlivosť (95 % CI)	Špecifickosť (95 % CI)
94,9 % (111/117) (89,3 %; 98,1 %)	96,6 % (201/208) (93,2 %; 98,6 %)

Tabuľka 4: Účinnosť metódy BBL CHROMagar MRSA (výsledok po 24 hod. svetlofialová/48 hod. s potvrdením koagulázou) verzus referenčný výsledok metódy Oxacillin Screen Agar:

Výsledok CHROMagar MRSA	Identifikácia MRSA	Výsledok TSA II		Žiadny rast kmeňa <i>S. aureus</i>	Celkom
		Rast kmeňa <i>S. aureus</i>			
		Refer. výsledok Oxacillin Screen Agar			
		MRSA	MSSA		
Svetlofialové	Po 24 hod. svetlofialové, po 48 hod. s pozit. koagulázou	110	7	21*	138
	Po 48 hod. negat. koag.	0	3	68**	71
Nie svetlofialové/žiadny rast	-	6	199	1560	1765
Celkom		116	209	1649	1974

*Z 21 vzoriek, kde sa neizoloval kmeň *S. aureus* na pôde TSA II a na pôde **BBL CHROMagar MRSA** sa izolovali svetlofialové izoláty: 15 sa potvrdilo ako pozitívne na MRSA testom PBP2' latex, 4 boli koaguláza-negatívne stafylokoky a 2 boli grampozitívne paličky.

Z 68 vzoriek, kde sa neizoloval kmeň *S. aureus* na pôde TSA II a na pôde **BBL CHROMagar MRSA sa izolovali svetlofialové izoláty, po 48 hod.: 45 sa potvrdilo ako koaguláza-negatívne stafylokoky a 23 bolo grampozitívnych paličiek a iných organizmov.

Tabuľka 5

CHROMagar MRSA vs. Oxacillin Screen Agar	
Citlivosť(95 % CI)	Špecifickosť(95 % CI)
94,8 % (110/116) (89,1 %; 98,1 %)	96,7 % (202/209) (93,2 %; 98,6 %)

Tieto štúdie tiež porovnávajú metódu **BBL CHROMagar MRSA** s ďalšími testovacími metódami na zistenie MRSA: aglutinačným testom PBP 2' Latex, cefoxitínovým (30 µg) testom diskovou difúziou a detekciou PCR génu *mecA*. Cefoxitínový test diskovou difúziou bol interpretovaný podľa kritérií centra NCCLS (veľkosť zóny ≤19 mm ako MRSA, ≥ 20 mm ako MSSA).⁵ Metódy PBP 2' a PCR boli interpretované podľa príslušných inštrukcií. Percentuálna zhoda pre izoláty druhov MRSA a MSSA pri porovnaní s týmito dodatočnými metódami je vyjadrená v Tabuľke 6. Celkový počet testovaných izolátov sa pri jednotlivých metódach líši z dôvodu odlišností v postupe každej metódy a v miere spoľahlivosti.

Tabuľka 6

CHROMagar MRSA vs. cefoxitínový - disková difúzia		CHROMagar MRSA vs. aglutinačný PBP 2' Latex		CHROMagar MRSA vs. PCR (<i>mecA</i>)	
% zhody pre MRSA	% zhody pre MSSA	% zhody pre MRSA	% zhody pre MSSA	% zhody pre MRSA	% zhody pre 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. V európskej štúdii sa testovali kontrolné vzorky a ďalšie klinické vzorky. Pre rutinné laboratórne testovanie na detekciu MRSA boli vzorky očkované na pôdu Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood a vzorky podozrivé na *S. aureus* boli testované metódou PCR na *S. aureus* a MRSA. Po testovaní boli vzorky zmrazené. Hneď po získaní výsledkov z testu PCR boli naočkované na pôdy **CHROMagar MRSA** a Columbia CNA with 5% Sheep Blood. Misky sa inkubovali aeróbne pri teplote 36 +/- 1 °C a 22 až 24 hodín po inkubácii sa odčítali výsledky. Ak ani na jednej pôde nerástli kolónie podozrivé na *S. aureus*, misky sa inkubovali ďalších 20 až 24 hodín.

Pre potvrdenie sa ružové až svetlofialové kolónie z pôdy **CHROMagar MRSA** a kolónie podozrivé na *S. aureus* z pôdy Columbia CNA Agar testovali skúmavkovým koagulázovým testom a testoval sa ich rast na pôde Oxacillin Screen Agar a rezistencia na cefoxitín pomocou diskovej difúzie, pričom sa na interpretáciu použili kritériá NCCLS (veľkosť zóny ≤19 mm potvrdzuje MRSA).⁵

Pozitívne kontrolné vzorky z testu PCR (n= 50) obsahovali: 37 výterov z nosa, 1 výter z nosa/hrdla, 9 výterov z hrdla a 3 stery z kože.

Ďalšie vzorky pozitívne z PCR (n = 30) obsahovali 2 vzorky z abscesu a 3 z operácie, 23 výterov z rany a 2 vzorky z vredu.

Negatívne vzorky z testu PCR (n= 55) obsahovali 3 vzorky z abscesu, 9 sterov z kože, 1 dekubitálny ster, 15 výterov z nosa, 10 výterov z hrdla, 5 perineálnych výterov, 1 vzorku z punkcie, 3 výtery z katétra, 1 vzorku tracheálneho sekrétu a 7 výterov z rany.

Celkom bolo testovaných 135 vzoriek.

Pri všetkých 80 vzorkách pozitívnych z PCR rástli po 22 až 24 hodinách na pôde **CHROMagar MRSA** ružové až svetlofialové kolónie a na pôde Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood kolónie podozrivé na *S. aureus*, pričom 55 negatívnych vzoriek nepreukázalo takýto rast ani na jednej pôde po 22 až 24 hodinách a ani po 42 až 48 hodinách. Tieto izoláty spomedzi vzoriek negatívnych pri PCR získaných z pôdy Columbia CNA (ale nie z pôdy **CHROMagar MRSA**) sa potvrdil ako pozitívny na *S. aureus* koagulázovým testom. Tento izolát nerástol na pôde Oxacillin Screen Agar, bol rezistentný na cefoxitín (veľkosť zóny 30 mm) a nevytvoril na pôde **CHROMagar MRSA** ružové až svetlofialové kolónie. Ďalší izolát

spomedzi vzoriek negatívnych pri PCR vytvoril na pôde **CHROMagar MRSA** fialové kolónie, ktoré sa dali podľa farby odlíšiť od ružového až svetlofialového zafarbenia kolónií kmeňa *S. aureus*.

Všetkých 80 vzoriek pozitívnych na MRSA rástlo na pôde Oxacillin Screen Agar z oboch pôd - **CHROMagar MRSA** aj Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

V cefoxitínovom diskovom teste boli dva izoláty citlivé pri subkultivácii z pôdy **CHROMagar MRSA** aj Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood a štyri kmene boli rezistentné pri subkultivácii z pôdy **CHROMagar MRSA**, ale citlivé pri subkultivácii z pôdy Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Všetky ostatné izoláty boli rezistentné z oboch pôd - **CHROMagar MRSA** aj Columbia CNA Agar.

Citlivosť a špecifickosť v porovnaní s metódami PCR a Oxacillin Screen Agar boli 100 %.

Citlivosť v porovnaní s cefoxitínovým diskovým testom bola 91,4 %.

Stimulačné testovanie

Testovanie 20 stimulačných kmeňov baktérie *S. aureus* sa uskutočnilo v troch klinických zariadeniach v USA. Z tohto panela bolo 9 kmeňov heterogénne rezistentných MRSA, 5 bolo homogénne rezistentných MRSA a 6 kmeňov bolo MSSA. Citlivosť z každého zariadenia individuálne aj zo všetkých spolu bola vždy 100 % a individuálna aj celková špecifickosť bola vždy 100 %.

Vyjadrenie rezistentnosti

Pôda **BBL CHROMagar MRSA** bola hodnotená na schopnosť rozlíšiť heterogénne a homogénne kmene. Druh MRSA môže byť heterogénne alebo homogénne rezistentný. Pri heterogénnych kmeňoch môže byť aj jedna z jedného milióna buniek rezistentná, čím sa detekcia konvenčnými testmi na citlivosť na antibiotiká sťažuje.¹⁴ 15 testovacích kmeňov, predstavujúcich 15 heterogénnych a 5 homogénnych kmeňov MRSA, sa hodnotilo z hľadiska izolácie a počtu kolónií na pôde **BBL CHROMagar MRSA** v porovnaní s neselektívnou pôdou TSA II with 5% sheep blood. Obe pôdy, **BBL CHROMagar MRSA** aj TSA II, izolovali všetkých 15 kmeňov. Počet kolónií na pôde **BBL CHROMagar MRSA** sa v porovnaní s pôdou TSA II pohyboval od 64 do 99 % heterogénnych a od 71 do 100 % homogénnych kmeňov. Tieto výsledky potvrdzujú, že pôda **BBL CHROMagar MRSA** je schopná zistiť homogénne aj heterogénne kmene.¹⁴

Štúdia interferencie

Osem bežne používaných medicínskych substancií, ľudská krv a päť typov zariadení na prenos vzoriek sa testovalo na možnú interferenciu chromogénnej reakcie v pôde **BBL CHROMagar MRSA**. Nosný sprej obsahujúci 10 % koncentráciu hydrochloridu fenylefrínu predstavoval bakteriostatickú aktivitu na pôde **BBL CHROMagar MRSA**, ako aj na neselektívnej kontrolnej pôde TSA II with 5% sheep blood. Žiadna testovaná substancia ani zariadenie nepreukázali interferenciu s účinnosťou pôdy **BBL CHROMagar MRSA**.¹³

Očakávané hodnoty

Pri externom hodnotení účinnosti pôdy **CHROMagar MRSA** (pozri **Vlastnosti postupu**) bola celková prevalencia kolonizácie *S. aureus* 17,2 % (340/1974), zistená či už pôdou **CHROMagar MRSA** alebo **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)**. Celková prevalencia (neduplikovaní pacienti) vzoriek pozitívnych na MSRA bola 6,7 % (132/1974) a na všetky druhy *S. aureus* asi 39 % (132/340). Na pôde TSA II bola miera zistenia kolonizácie MSRA 6,5 % (117/1974), pričom na pôde **CHROMagar MRSA** bola 7,0 % (126/1974). Miera kolonizácie sa môže líšiť v rámci rôznych krajín a populačných skupín.^{3,4}

Obmedzenia postupu

Minimalizujte vystavenie pôdy **BBL CHROMagar MRSA** svetlu, pred aj počas inkubácie, pretože svetlo môže zničiť chromogény. Počas celej doby uskladnenia nechajte misky v originálnom balení v kartónovej škatuli.

Kontrolné testovanie určuje stav kolonizácie v danom čase a môže sa líšiť v závislosti od liečby pacienta (napr. dekolonizačný režim), stavu pacienta (napr. nie je aktívnym prenášačom MRSA)

alebo pôsobenia vysokorizikového prostredia (napr. kontakt s nosičom MRSA, predĺžená hospitalizácia). Monitorovanie stavu kolonizácie by sa malo diať podľa zásad nemocnice. Výsledky z pôdy **CHROMagar MRSA** by sa mali použiť ako doplnok pri nozokomiálnej kontrole infekcie, aby sa identifikovali pacienti, ktorí potrebujú zvýšené preventívne opatrenia. Táto pôda sa môže použiť na identifikáciu pacientov, ktorí majú byť v izolácii alebo mimo izolácie, aby sa kontroloval nozokomiálny prenos MRSA. Negatívny výsledok z pôdy **CHROMagar MRSA** nasledujúci za predošlým pozitívnym výsledkom testu môže znamenať úspešnú liečbu a likvidáciu baktérie, alebo sa môže vyskytnúť v prípade intermitentného prenášača.

Pri vyšetrovaní klinických vzoriek treba týmito vzorkami naočkovať aj doplnkové pôdy, zvlášť neselektívne agarové pôdy (napr. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**), a pre lepšiu izoláciu grampozitívnych organizmov obsiahnutých v infekcii aj pôdu **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

Niektoré kmene baktérie *Enterococcus* sú rezistentné na inhibičné látky obsiahnuté v pôde **BBL CHROMagar MRSA**. To môže v zriedkavých prípadoch viesť k prílišnému rastu modrých až modrozelených kolónií, čím sa sťažuje detekcia MRSA. Ak sa pozoruje rast modrozelených kolónií, odporúča sa porovnať rast na pôde **BBL CHROMagar MRSA** s rastom na krvnej agarovej pôde, či sa potvrdila prítomnosť kolónií baktérie *S. aureus*.

Inkubačné časy a teploty odporúčané v časti **POSTUP – Postup testu** striktné dodržiavajte.

Po 48 hodinách môžu náhodné kmene koaguláza-negatívnych stafylokokov (napr. *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* and *S. schleiferii*), druhu *Acinetobacter*, korynebaktérií a kvasiniek tvoriť svetlofialové kolónie, čo vyžaduje potvrdzujúci koagulázový test na potvrdenie prítomnosti MRSA. To sa môže stať aj skôr, už po 24 hodinách.

V klinických štúdiách s kontrolnými vzorkami na pôde **BBL CHROMagar MRSA** bolo približne 5 % (6/120) zo svetlofialových kolónií zistených po 24 hodinách koaguláza-negatívnych stafylokokov alebo korynebaktérií. Na zvýšenie špecificity sa môže prípadne spraviť Gramovo farbenie alebo koagulázový test už po 24 hodinách na svetlofialových kolóniách.

Ak sú testy citlivosti izolátu na oxacilín alebo cefoxitín veľmi blízko rezistentnosti, druh *S. aureus* negatívny pri teste *mecA* (takmer rezistentný *S. aureus* alebo BORSA) môže rásť.

Inkubácia v prostredí s 5 % CO₂ sa neodporúča a môže priniesť zdanlivo negatívne kultúry.

Použitie hydrochloridu fenylefrínu (zložka niektorých nosných sprejov) v koncentrácii ≥ 10 % má inhibičný efekt na rast organizmov, čo sa však nevzťahuje na účinnosť pôdy.

Veľmi zriedkavé kmene MRSA sa ukázali byť senzitívne na základ pôdy **BBL CHROMagar MRSA**.

Táto citlivosť nesúvisí s rezistentnosťou na meticilín, ale je spôsobená zložkou základu pôdy.

Ako dôsledok sa tieto kmene môžu javiť ako zdanlivo citlivé na meticilín.

Pôda **CHROMagar MRSA** nie je určená na detekciu iných druhov baktérie *S. aureus* ako MRSA alebo iných druhov rodu *Staphylococcus*.

Pred prvým použitím pôdy **BBL CHROMagar MRSA** odporúčame vyskúšať typický vzhlad kolónií s potvrdenými kmeňmi MRSA, napr. kmeňmi spomenutými v časti **KONTROLA KVALITY**.

POUŽITÁ LITERATÚRA

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.

BALENIE/DOSTUPNOSŤ

BD BBL CHROMagar MRSA

Kat. č. 257308

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 20 ks

Kat. č. 257333

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 120 ks

ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ak máte záujem o ďalšie informácie, kontaktujte miestneho zástupcu 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 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