NÁVOD K POUŽITÍ – MÉDIA NA MISKÁCH URČENÁ K OKAMŽITÉMU POUŽITÍ

CE

PA-257434.04 Rev.: Nov 2017

BBL™ CHROMagar MRSA II*

ÚČEL POUŽITÍ

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSAII) je selektivní a rozlišovací médium pro přímou kvalitativní detekci methicillin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) z klinických vzorků. Test je možné provést u vzorků z respiračního traktu, dolní části gastrointestinálního traktu (GIT), z kůže a z ran, ze stěrů z nosu v rámci screeningu nosní kolonizace jako pomůcka při prevenci a kontrole infekcí kmeny MRSA ve zdravotnických zařízeních a při testování pozitivních hemokultur obsahujících grampozitivní koky.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Kmeny MRSA jsou hlavní příčinou nozokomiálních infekcí a infekcí ohrožujících život. Selekce MRSA byly spojeny s výrazně vyšší morbiditou, mortalitou a náklady v porovnání s infekcí kmeny *S. aureus* citlivými na methicillin (MSSA).[1] Výskyt těchto organismů je nejvyšší v nemocničním prostředí, nicméně kmeny MRSA se stále častěji objevují i v běžné populaci.[2,3]

Americká společnost pro epidemiologii SHEA (Society for Healthcare Epidemiology of America) publikovala směrnice pro kontrolu přenosu kmenů MRSA, které zahrnují aktivní dohledový program, pomocí něhož by měla být zajištěna identifikace potenciálních zdrojů nákazy, a přísný program kontroly infekce, který by měl mapovat rozšíření kmenů MRSA.[1]

BBL CHROMagar MRSA II je selektivní a rozlišovací médium, které obsahuje cefoxitin pro detekci kmenů MRSA ve vzorcích z respiračního traktu (např. stěry z nosní dutiny, krku a ze sputa), z dolního gastrointestinálního traktu (např. rektální stěry a stolice), z kůže (např. stěry z třísel/axil a z perinea/perianální oblasti), ve vzorcích z ran a z pozitivních lahví hemokultur, které obsahují grampozitivní koky.

BBL CHROMagar MRSA II je upravená verze existujícího složení CHROMagar MRSA, které vyvinul A. Rambach a společnost BD a které prodává společnost BD v rámci licenčního ujednání se společností CHROMagar v Paříži ve Francii.

ZÁSADY POSTUPU

Mikrobiologická metoda

Médium **BBL CHROMagar MRSA II** umožňuje přímou detekci a identifikaci kmenů MRSA prostřednictvím kombinace specifických chromogenních substrátů a cefoxitinu. Kmeny MRSA budou v přítomnosti cefoxitinu[4] růst a tvořit světle fialové kolonie vznikající vlivem hydrolýzy chromogenního substrátu. Za účelem potlačení gramnegativních organismů, kvasinek a některých dalších grampozitivních koků jsou přidány další selektivní přísady. Bakterie jiné než MRSA mohou využívat ostatní chromogenní substráty v médiu, a vytvářet tak modře až modrozeleně zbarvené kolonie; pokud nedojde k využití žádného chromogenního substrátu, mohou být kolonie bílé či bezbarvé.

*Patenty pro Evropu, Usa a Kanadu v řízení

ČINIDLA

BBL CHROMagar MRSA II

Přibližné složení* na litr čištěné vody

Chromopepton	35,0 g
Směs chromogenů	0,5 g
Chlorid sodný	17,5 g
Inhibitory	7,52 g
Cefoxitin	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 při teplotě 25 °C

*Upraveno a/nebo doplněno dle potřeby tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD Pouze k odbornému použití.

V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy včetně virů hepatitidy a viru lidské imunodeficience (HIV). Proto dodržujte při práci s veškerým materiálem kontaminovaným krví a jinými tělními tekutinami Standardní bezpečnostní opatření[5–8] a předpisy platné ve vaší instituci. Připravené misky, nádoby se vzorky a další kontaminované materiály je nutné po použití nejprve sterilizovat v autoklávu a poté zlikvidovat. Podrobnější informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

Zhoršování kvality výrobku: Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

Před prvním použitím média **BBL CHROMagar MRSA II** doporučujeme, abyste si pomocí definovaných kmenů, tj. pomocí kmenů zmíněných v části **KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM**, vyzkoušeli, jak vypadá typická kolonie kmenů MRSA.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po přijetí uložte misky v původním obalu a krabici při teplotě 2 – 8 °C až do doby inokulace. Před inkubací a v jejím průběhu minimalizujte dobu vystavení média **BBL CHROMagar MRSA II** světlu (< 4 hodiny), neboť delší expozice může mít za následek sníženou výtěžnost a/nebo zbarvení izolátů. Chraňte před mrazem a přehřátím. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz výtisk na misce nebo štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace. Misky z otevřených sad po 10 kusech lze používat po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém a tmavém prostředí při teplotě 2 – 8 °C.

KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM*

Podle pokynů v části „Zhoršování kvality produktu“ zkontrolujte, zda jsou misky v použitelném stavu. Použitelnost zkontrolujte naočkováním reprezentativních vzorků roztoky kultur dle níže uvedeného popisu:

1. Proveďte nátěr misky pro izolaci. Pro kmeny *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 použijte přímou inokulaci.[9]
2. Inkubujte misky při teplotě 35 – 37 °C v aerobním prostředí.
3. Použijte rovněž misky s agarem Columbia s 5 % ovčí krví jako neselektivní kontroly pro všechny organismy.
4. Zkontrolujte výtěžnost, velikost a barvu kolonií po 20 – 26 hodinách. Očekávané výsledky najdete v následující tabulce:

Testovací kmen	Očekávané výsledky
Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)	Růst světle fialových kolonií
Staphylococcus aureus ATCC 29213 (MSSA)	Žádný růst

*Požadavky na kontrolu kvality musí být splněny v souladu s platnými místními, státními a federálními zákony nebo požadavky pro akreditaci a se standardními postupy kontroly kvality vaší laboratoře. Uživatel může nahlédnout do pokynů CLSI, kde jsou uvedeny příslušné postupy kontroly kvality.

POSTUP

Dodaný materiál

BBL CHROMagar MRSA II (90mm misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolováno.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Potvrzovací test, např. koaguláza nebo testovací činidla pro latexovou aglutinaci u rodu *Staphylococcus* (např. **Staphyloslide**), materiály pro kontrolu kvality, doplňková kultivační média a další laboratorní vybavení dle potřeby.

Typy vzorků

Toto médium může být použito na vzorky z respiračního traktu (např. stěry z krku a ze sputa), z dolního gastrointestinálního traktu (např. rektální stěry a stolice), z kůže (např. stěry z třísel/axil a z perinea/perianální oblasti), na stěry z nosu, na vzorky z ran a z pozitivních lahví hemokultur, které obsahují grampozitivní koky.

Odběr vzorků a manipulace s nimi

K transportu je doporučeno používat zařízení schválená pro odběr mikrobiologických klinických vzorků. Dodržujte postupy doporučené výrobcem transportního zařízení.
Podrobné informace o odběru vzorků a manipulaci s nimi naleznete rovněž v příslušných příručkách.[10,11]

Provedení testu

Dodržujte aseptické postupy. Povrch agaru by měl být hladký a vlhký, ale bez nadměrné vlhkosti. Před inokulací počkejte, než se médium ohřeje na pokojovou teplotu.

- **Stěry z nosní dutiny**: Co nejdříve po převzetí vzorku v laboratoři inokulujte vzorek na misku s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** a proveďte nátěr k izolaci. Obrácené misky inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 – 37 °C po dobu 20 – 26 h.
- **Pozitivní lahve hemokultury obsahující grampozitivní koky:** Co nejdříve po označení lahve na hemokulturu jako pozitivní a po potvrzení přítomnosti grampozitivních koků pomocí Gramova barvení odeberte poměrný díl, inokulujte misku s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** a proveďte nátěr k izolaci. Obrácené misky inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 – 37 °C po dobu 18 – 28 h. Inkubační doba delší než 18 – 28 h se nevyžaduje.
- **Všechny ostatní typy vzorků (krk, sputum, dolní část GIT, kůže a rány):** Co nejdříve po převzetí vzorku v laboratoři inokulujte vzorek na misku s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** a proveďte nátěr k izolaci. Obrácené misky inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 – 37 °C po dobu 18 – 28 h. Pokud se nevytvoří světle fialové kolonie, opakujte inkubaci po celkovou dobu 36 – 52 h.

Neinkubujte v atmosféře obohacené oxidem uhličitým. Před inkubací a v jejím průběhu minimalizujte dobu vystavení média **BBL CHROMagar MRSA II** světlu (< 4 hodiny), neboť delší expozice může mít za následek sníženou výtěžnost a/nebo zbarvení izolátů. Vystavení působení světla je přípustné až poté, co se rozvine zabarvení kolonií.

VÝSLEDKY

Po správně provedené inkubaci vyhodnoťte misky proti bílému podkladu. Kolonie MRSA se budou na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** jevit světle fialové. Jiné organismy (jiné než MRSA) budou potlačeny nebo budou vytvářet modré až modrozelené, bílé či bezbarvé kolonie.
K interpretaci výsledků použijte tabulky 1 – 3.

Tabulka 1: Interpretace výsledků stěrů z nosní dutiny

Inkubace 20 – 26 h	Interpretace/doporučený krok
Světle fialové kolonie morfologicky podobné stafylokokům*	Pozitivní – zjištěn MRSA
Jiné než světle fialové kolonie	Negativní – Kmeny MRSA nebyly detekovány
Žádný růst	Negativní – Kmeny MRSA nebyly detekovány

*Viz OMEZENÍ POSTUPU

Tabulka 2: Interpretace výsledků u pozitivních lahví na hemokulturu obsahujících grampozitivní koky

Inkubace 18 – 28 h	Interpretace/doporučený krok
Světle fialové kolonie morfologicky podobné stafylokokům*	Pozitivní – zjištěn MRSA
Bez světle fialových kolonií	Negativní – Kmeny MRSA nebyly detekovány

*Viz OMEZENÍ POSTUPU

Tabulka 3: Interpretace výsledků u vzorků z krku, sputa, dolního gastrointestinálního traktu, z kůže a z ran

Inkubace 18 – 28 h		Interpretace/doporučený krok
Světle fialové kolonie morfologicky podobné stafylokokům*		Kmeny MRSA byly detekovány
Bez světle fialových kolonií		Znovu inkubujte dalších 18 – 24 hodin (celková doba inkubace 36 – 52 hodin)
Inkubace 36 – 52 h	**Doporučený krok**	**Interpretace**
Světle fialové kolonie*	Proveďte přímý potvrzovací test (např. koagulázovou reakci nebo latexovou aglutinaci pro kmen *Staphylococcus*).	Pokud je koagulázová reakce nebo latexová aglutinace pro kmen *Staphylococcus* pozitivní, kmeny MRSA byly detekovány. Pokud je koagulázová reakce nebo latexová aglutinace pro kmen *Staphylococcus* negativní, kmeny MRS detekovány nebyly.
Bez světle fialových kolonií	N/A	Kmeny MRSA nebyly detekovány.

*Viz OMEZENÍ POSTUPU
N/A = Nelze použít

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Prevalence infekce MRSA se dramaticky zvýšila ve zdravotnických zařízeních a četnost nosičství MRSA se zvyšuje i v běžné populaci. Novější publikace uvádí, že v období od roku 1999 do roku 2005 se počet hospitalizací související s *S. aureus* zvýšil o 62 % a odhadovaný počet hospitalizací související s methicillin-rezistentním *S. aureus* se více než zdvojnásobil.[12] Data ze systému NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) ukazují, že v prostředí jednotek intenzivní péče se podíl MRSA na infekcích *S. aureus* zvýšil na 59,5 – 64,4 %. Bylo zjištěno dramatické zvýšení incidence infekcí měkkých tkání a kůže, což naznačuje, že se v nemocnicích rozšiřují kmeny MRSA s původem v běžné populaci.[12,13]

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI

BBL CHROMagar MRSA II je selektivní a rozlišovací médium pro přímou kvalitativní detekci methicillin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) z klinických vzorků. Test je možné provést u vzorků z respiračního traktu, dolní části GIT, z kůže a z ran po 18 až 52 hodinách inkubace. Test je možné rovněž provést u stěrů z dutiny nosní v rámci screeningu nosní kolonizace jako pomůcka při prevenci a kontrole infekcí kmeny MRSA ve zdravotnických zařízeních po 20 až 26 hodinách inkubace a při testování pozitivních lahví hemokultur obsahujících grampozitivní koky po 18 až 28 hodinách inkubace.

Externí hodnocení účinnosti

Byla provedena dvě externí hodnocení účinnosti:

- V prvním hodnocení bylo médium **BBL CHROMagar MRSA II** hodnoceno ve čtyřech odlišných klinických laboratořích se zbytkovými prospektivními vzorky z respiračního traktu (např. stěry z nosní dutiny, krku a ze sputa), z dolního gastrointestinálního traktu (např. rektální stěry a stolice), z kůže (např. stěry z třísel/axil a z perinea / perianální oblasti) a se vzorky z ran a z pozitivních lahví hemokultur, které obsahují grampozitivní koky (tabulky 4 a 5).[14]

Vzorky byly hodnoceny porovnáním výtěžnosti kmenů MRSA na tradičních kultivačních médiích (např. sójový agar Tryptic s 5 % ovčí krve, agar Columbia s 5 % ovčí krve nebo CNA (agar s kolistinem a nalidixovou kyselinou), v závislosti na typech vzorků) a výtěžnosti u misek **BBL CHROMagar MRSA II**. S. aureus získaný na tradičních kultivačních médiích byl testován metodou diskového difuzního testu s cefoxitinem. Výsledky diskového difuzního testu s cefoxitinem odpovídaly interpretačním kritériím CLSI pro stanovení rezistence na methicillin (R) a citlivosti na methicillin (S), (R ≤ 21 mm a S ≥ 22 mm).[4,15] Médium **BBL CHROMagar MRSA II** bylo interpretováno jako pozitivní na kmeny MRSA po 18 – 28 h na základě detekce světle fialových kolonií nebo po 36 – 52 h na základě detekce světle fialových kolonií s potvrzením na *S. aureus.*

Celková prevalence MRSA u média **BBL CHROMagar MRSA II** byla 15 % (778/5051), tj. cca 65,6 % (778/1186) všech kmenů *S. aureus.* U tradičních kultivačních misek (např. sójový agar Tryptic s 5 % ovčí krve, agar Columbia s 5 % ovčí krve a agar CNA) byla četnost výtěžnosti kmenů MRSA 79,8 % (621/778), zatímco u média **BBL CHROMagar MRSA II**, byla četnost výtěžnosti MRSA 95,6 % (744/778).

Tabulka 4 Výtěžnost kmenů MRSA: BBL CHROMagar MRSA II vs. tradiční kultura

		Výtěžnost kmenů MRSA	
Typy vzorků	**Doba odečtu[1)]**	**Tradiční kultura**	**CMRSAII**
Respirační trakt	24 h	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 h	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
Dolní část gastrointestinálního traktu	24 h	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 h	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Kůže	24 h	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 h	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Rána	24 h	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)
	48 h	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Hemokultura[2)]	24 h	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Kombinace[3)]	**24 h**	**83,1% (621/747)**	**89,8% (671/747)**
	48 h	**79,8% (621/778)**	**95,6% (744/778)**

[1)] 24 h představuje rozsah odečítání 18 – 28 h bez nutnosti provedení potvrzovacího testování a rozsah odečítání 48 h představuje 36 – 52 h s potvrzovacím testováním.

[2)] Pozitivní hemokultura obsahující grampozitivní koky.

[3)] Zahrnuje všechny typy vzorků (respirační trakt, dolní část gastrointestinálního traktu, kůže, rány a hemokultury).

Tabulka 5: Účinnost média BBL CHROMagar MRSA II vs. tradiční kultura a disk s cefoxitinem dle typu vzorku

		Disk s cefoxitinem	
Typy vzorků	**Doba odečtu**[1)]	**Senzitivita (95% CI)***	**Specificita (95% CI)***
Respirační trakt	24 h	85,5 % (195/228) (80,3 %, 89,8 %)	99,8 % (1216/1218) (99,4 %, 100 %)
	48 h	92,4 % (219/237) (88,3 %, 95,4 %)	99,8 % (1207/1209) (99,4 %, 100 %)
Dolní část gastrointestinálního traktu	24 h	87,9 % (94/107) (80,1 %, 93,4 %)	100 % (587/587) (99,4 %, 100 %)
	48 h	98,3 % (118/120) (94,1 %, 99,8 %)	100 % (574/574) (99,4 %, 100 %)
Kůže	24 h	88,4 % (152/172) (82,6 %, 92,8 %)	100 % (1103/1103) (99,7 %, 100 %)
	48 h	96,1 % (171/178) (92,1 %, 98,4 %)	100 % (1097/1097) (99,7 %, 100 %)
Rána	24 h	92,1 % (117/127) (86 %, 96,2 %)	100 % (821/821) (99,6 %, 100 %)
	48 h	94,6 % (123/130) (89,2 %, 97,8 %)	100 % (818/818) (99,6 %, 100 %)
Hemokultura[2)]	24 h	100 % (113/113) (96,8 %, 100 %)	100 % (575/575) (99,4 %, 100 %)
Kombinace[3)]	**24 h**	**89,8 % (671/747) (87,4 %, 91,9 %)**	**100 % (4302/4304) (99,8 %, 100 %)**
	48 h	**95,6 % (744/778) (93,9 %, 97 %)**	**100 % (4271/4273) (99,8 %, 100 %)**

*CI= konfidenční interval.

[1)] 24 h představuje rozsah odečítání 18 – 28 h bez nutnosti provedení potvrzovacího testování a rozsah odečítání 48 h představuje 36 – 52 h s potvrzovacím testováním.

[2)] Pozitivní hemokultura obsahující grampozitivní koky.

[3)] Zahrnuje všechny typy vzorků (respirační trakt, dolní část gastrointestinálního traktu, kůže, rány a hemokultury).

Vzorky z dýchacího traktu:

Porovnáním výtěžnosti kmenů MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 1 446 vzorků z respiračního traktu. Celková výtěžnost MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** byla s 92,4 % (219/237) vyšší v porovnání s výtěžností 76,8 % (182/237) na miskách s tradiční kulturou po 48 h Při odečítání po 18 – 28 h byly pozorovány dvě falešně pozitivní kultury na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se specificitou 99,8 % (1 216/1 218). Pomocí barvy kolonií po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** a po potvrzení všech světle fialových kolonií pomocí potvrzovacího testu po 36 – 52 h byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem s cefoxitinem u vzorků z respiračního traktu 98,6 % (1 426/1 446).

Vzorky z dolní části gastrointestinálního traktu:

Porovnáním výtěžnosti kmenů MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 694 vzorků z dolní části gastrointestinálního traktu. Celková výtěžnost kmenů MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** byla s 98,3 % vyšší (118/120) v porovnání s výtěžností 77,5 % (93/120) na tradičních kultivačních miskách po 48 h. Na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se neobjevily žádné falešně pozitivní vzorky. Pomocí barvy kolonií po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** a po potvrzení všech světle fialových kolonií pomocí potvrzovacího testu po 36 – 52 h byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem s cefoxitinem u vzorků z respiračního traktu 99,7 % (692/694).

Vzorky z kůže:

Porovnáním výtěžnosti MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 1 275 vzorků z kůže. Celková výtěžnost kmenů MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** byla s 96,1 % vyšší (171/178) v porovnání s výtěžností 66,3 % (118/178) na tradičních kultivačních miskách po 48 h. Na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se neobjevily žádné falešně pozitivní vzorky. Pomocí barvy kolonií po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** a po potvrzení všech světle fialových kolonií pomocí potvrzovacího testu po 36 – 52 h byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem cefoxitinem u vzorků z kůže 99,5 % (1 268/1 275).

Vzorky z ran:

Porovnáním výtěžnosti kmenů MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 948 vzorků z ran. Celková výtěžnost kmenů MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** byla s 94,6 % vyšší (123/130) v porovnání s výtěžností 88,5 % (115/130) na tradičních kultivačních miskách po 48 h. Na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se neobjevily žádné falešně pozitivní vzorky. Pomocí barvy kolonií po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** a po potvrzení všech světle fialových kolonií pomocí potvrzovacího testu po 36 – 52 h byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem cefoxitinem u vzorků z ran 99,3 % (941/948).

Pozitivní lahve hemokultury obsahující grampozitivní koky:

Porovnáním výtěžnosti kmenů MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 688 vzorků z pozitivních lahví na hemokulturu obsahujících grampozitivní koky. Celková výtěžnost MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** a na tradičních kultivačních miskách byla stejná u 100 % (113/113) po uplynutí 18 – 28 h. Na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se neobjevily žádné falešně pozitivní vzorky. Pomocí odečtu barvy kolonie po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem s cefoxitinem pro pozitivní lahve na hemokulturu 100 % (688/688).

Kombinované typy vzorků:

Porovnáním výtěžnosti MRSA na tradičních kulturách a na miskách s médiem **BBL CHROMagar MRSA II** bylo vyhodnoceno celkem 5 051 kombinovaných vzorků. Celková výtěžnost kmenů MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** byla s 95,6 % vyšší (744/778) v porovnání s výtěžností 79,8 % (621/778) na tradičních kultivačních miskách u všech kombinovaných typů vzorků (respirační trakt, dolní část gastrointestinálního traktu, kůže, rány a pozitivní lahve na hemokulturu obsahující grampozitivní koky). Při odečítání po 18 – 28 h se objevily 2 falešně pozitivní světle fialové kolonie na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** se specificitou 99,9 % (4 271/4 273). Pomocí barvy kolonií po 18 – 28 h u média **BBL CHROMagar MRSA II** a po potvrzení všech světle fialových kolonií pomocí potvrzovacího testu po 36 – 52 h byla celková shoda u média **BBL CHROMagar MRSA II** v porovnání s difuzním diskovým testem s cefoxitinem u všech vzorků 99,3 % (5 015/5 051).

Challenge testy
Na třech klinických pracovištích bylo otestováno dvacet (20) kmenů *S. aureus*. Panel zahrnoval 14 MRSA a 6 MSSA. Shody v rámci pracoviště a kombinované shody pracovišť byly 100 %.

- Při druhém hodnocení byly misky **BBL CHROMagar MRSA II** vyhodnoceny ve třech různých klinických laboratořích pomocí kontrolních vzorků ze stěrů z nosní dutiny. Vzorky byly hodnoceny porovnáním výtěžnosti MRSA na miskách se sojovým agarem Trypticase s 5 % ovčí krve (TSA II) a rutinního postupu každého pracoviště pro identifikaci *S. aureus* (tradiční kultura) ve srovnání s miskami **BBL CHROMagar MRSA II**. (Rutinní postup na dvou pracovištích zahrnoval stafylokokovou latexovou aglutinaci a na třetím pracovišti testování koagulázy. Všechny získané kmeny *S. aureus* byly testovány na přítomnost *mec*-A mediované rezistence k oxacillinu pomocí difuzního diskového testu s cefoxitinem.) Výsledky diskového difuzního testu s cefoxitinem (30 µg) odpovídaly metodám CLSI a interpretačním kritériím.[4,15] Misky **BBL CHROMagar MRSA II** byly interpretovány jako pozitivní na MRSA po 20 – 26 hodinách při detekci světle fialových kolonií.

  Z obou externích hodnocení bylo zpracováno celkem 1 613 odpovídajících vzorků z dutiny nosní a byla porovnána výtěžnost MRSA u tradičních kultivačních misek s miskami **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 hodinách inkubace (tabulka 6). Procento pozitivní shody a procento negativní shody u misek **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 hodinách tradiční kultivace bylo 87,9 % a 98,6 %. Citlivost a specificita ve srovnání s difuzním diskovým testem s cefoxitinem byla 88,8 % a 99,8 %.

  Tabulka 6: Účinnost média BBL CHROMagar MRSA II vs. tradiční kultura a disk s cefoxitinem u stěrů z dutiny nosní

Tradiční kultura			
Typ vzorku	Doba odečtu	Pozitivní procentuální shoda (95 % CI)	Negativní procentuální shoda (95 % CI)
Nosní dutina	24 h[1]	87,9 % (181/206) (82,6 %, 92,0%)	98,6 % (1387/1407) (97,8 %, 99,1 %)

Diskový difuzní test s cefoxitinem (CLSI)			
Typ vzorku	Doba odečtu	Senzitivita (95 % CI)	Specificita (95 % CI)
Nosní dutina	24 h[1]	88,8 % (198/223) (83,9 %, 92.6 %)	99,8 % (1387/1390) (99,4 %, 100 %)

[1]24 h představuje rozsah odečtu 20 – 26 hodin bez nutnosti potvrzovacího testování

Vnitřní hodnocení účinnosti

Limity detekce (LOD)
Médium **BBL CHROMagar MRSA II** bylo hodnoceno pro stanovení limitu detekce (LOD) pro výtěžnost methicillin-rezistentního *S. aureus*. Čtyři testované kmeny představující dva heterogenní a dva homogenní kmeny MRSA byly hodnoceny na výtěžnost média **BBL CHROMagar MRSAII.**[16] Ke stanovení koncentrace organismu vyjádřené pomocí jednotek CFU u každého ředění byl použit neselektivní agar Columbia s 5 % ovčí krve. LOD pro médium **BBL CHROMagar MRSA II** měly rozsah 4 – 116 CFU za 24 h a 4 – 24 CFU za 48 h.[17]

Interferenční studie
Z hlediska potenciální interference a inhibice MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** bylo hodnoceno celkem 30 látek, včetně běžně používaných lékařských prostředků, transportních

zařízení, obohacovacích bujónů a krevních kultivačních médií. Některé ústní vody, tablety proti bolení v krku, kyselina acetylsalicylová, osobní lubrikanty a ibuprofen mohou snižovat výtěžnost kmenů MRSA. Nosní spreje obsahující flutikason propionát, azelastin hydrochlorid, fenylefrin hydrochlorid a oxymetazolin hydrochlorid stejně jako pastilky OTC obsahující mentol vykazovaly antibakteriální aktivitu.
Žádné další testované látky, zařízení ani média s výtěžností kmenů MRSA na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** neinterferovaly.[17]

OMEZENÍ POSTUPU

- Před inkubací a v jejím průběhu minimalizujte dobu vystavení média **BBL CHROMagar MRSA II** světlu (< 4 hodiny), neboť delší expozice může mít za následek sníženou výtěžnost a/nebo zbarvení izolátů.
- Inkubaci v atmosféře CO_2 nedoporučujeme, jelikož může vést k falešně negativním kulturám.
- Inkubační doba přesahující 36 – 52 h se nedoporučuje.
- U vzorků z nosních stěrů byla výtěžnost média **BBL CHROMagar MRSA II** optimalizována na dobu inkubace 20 – 26 hodin při teplotě 35 – 37 °C. Nižší inkubační teploty (<35 °C) a/nebo kratší doby inkubace (<20 h) mohou snížit citlivost média **BBL CHROMagar MRSA II**. Pamatujte, že časté otevírání dveří inkubátoru může snížit jeho reálnou vnitřní teplotu. Doporučujeme proto omezit otevírání dveří na minimum a maximálně zkrátit dobu, po kterou zůstanou dveře otevřené.
- Po inkubaci trvající 24 hodin nebo déle mohou některé kmeny *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* a *Bacillus cereus* produkovat světle fialově zabarvené kolonie. V případě potřeby je možné provést Gramovo barvení.
- Po inkubaci trvající 24 hodin nebo déle mohou také některé kmeny *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* a *Staphylococcus aureus* citlivé na methicillin vzácně produkovat světle fialově zbarvené kolonie. Pokud nemáte podezření na MRSA, je možné provést koagulázový test a test citlivosti na antibiotika (AST).
- Vzácné kmeny MRSA vykazovaly citlivost vůči základním složkám média **BBL CHROMagar MRSA II**. Tato citlivost nezávisí na rezistenci vůči methicillinu, ale je způsobena jednou ze základních složek média. Výsledkem může být falešná citlivost těchto kmenů na methicilin.
- Existují vzácné kmeny MRSA, které na médiu **BBL CHROMagar MRSA II** tvoří jinak zbarvené kolonie. Při podezření na MRSA proveďte dle potřeby subkultivaci fialově nezbarvených kolonií pro další identifikaci a testování citlivosti.
- Velká dávka bakterií a/nebo některé vzorky mohou vytvořit nespecifické zbarvení primární oblasti média. Tak může dojít k tomu, že se na médiu vytvoří světle fialové, fialové, zelené nebo modré zbarvení nebo lehký zákal v horní části média, ale nedojde k vytvoření jednotlivých kolonií. Nespecifické zbarvení média je nutné interpretovat jako negativní.
- *mec*A-negativní *S. aureus* může růst za předpokladu, že MIC pro oxacillin nebo cefoxitin jsou v blízké nebo stejné úrovni jako zlomový bod rezistence.
- Mechanismy rezistence jiné než *mecA* (tj. hraniční oxacillin-rezistentní *Staphylococcus aureus*-BORSA a modifikovaný *Staphylococcus aureus*-MODSA) nebyly v širším rozsahu hodnoceny pomocí CMRSA II, a proto není účinnost CMRSA II u těchto mechanismů rezistence známa.
- Vzhledem k tomu, že izolace MRSA je nezávislá na počtu organismů přítomných ve vzorku, spolehlivost výsledků závisí na správném odběru, manipulaci a skladování vzorků.
- Jeden negativní výsledek nesmí být použit jako výhradní základ pro diagnózu, léčbu nebo při rozhodování o péči. Pro identifikaci organismu, testování citlivosti nebo epidemiologické otypování může být nutné použít souběžné kultury.

Před prvním použitím média **BBL CHROMagar MRSA II** doporučujeme, abyste si pomocí definovaných kmenů, např. pomocí kmenů zmíněných v části **KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM**, vyzkoušeli, jak vypadá typická kolonie kmenů MRSA.

DOSTUPNOST

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (médium na miskách k okamžitému použití), 20 kusů v balení

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (médium na miskách k okamžitému použití), 120 kusů v balení

ODKAZY

1. Calfee, D. P., C. D. Salgado, D. Classen, K.M. Arias, K. Podgorny, D.J. Anderson, H. Burstin, S. E. Coffin, E. R. Dubberke, V. Fraser, D. N. Gerding, F. A. Griffin, P. Gross, K.S. Kaye, M. Klompas, E. Lo, J. Marschall, L. A. Mermel, L. Nicolle, D. A. Pegues, T. M. Perl, S. Saint, R. A. Weinstein, R. Wise, D. S. Yokoe. 2008. Supplement Article: SHEA/ IDSA Practice Recommendation Strategies to prevent Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Acute Care Hospitals. Infect. Control and Hospital Epidemiol. Oct: 29: supplement 1, 62-80.
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, 9th ed. ASM, Washington DC.
3. 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
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Eighteenth Informational Supplement, M100-S18. CLSI, Wayne, PA.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed., CLSI, Wayne, PA.
6. 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.
7. 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) 5th 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/bmbl5/bmbl15toc
8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Approved Standard M22-A3. Quality control for commercially prepared microbiological culture media, 3rd ed., CLSI, Wayne, PA.
10. Linscott, A.J. 2007. Specimen collection and transport. *In* L.S. Gracia, and H.D.Isenberg, (eds.), Clinical microbiology procedures handbook, 2nd ed. ASM, Washington DC.
11. 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. 9th ed., ASM, Washington DC.
12. Huckabee C.M., W.C. Huskins, and P.R. Murray. 2009. Predicting Clearance of Colonization with Vancomycin- Resistant Enterococci and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by use of weekly surveillance cultures. J. Clin. Microbiol., 47: 1229-1230.
13. 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.)
14. Wendt C., N. L. Havill, and K. C. Chapin et al. Evaluation of a new selective medium, BD BBL CHROMagar MRSA II, for detection of methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* in different specimens. J. Clin. Microbiol., 48: 2223-2227.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved Standard M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9th ed., CLSI, Wayne, PA.
16. 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.
17. Archivní data, společnost BD Diagnostics.

DALŠÍ INFORMACE
Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti BD.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

http://www.bd.com
http://www.bd.com/europe/regulatory/

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.
© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.