



## BBL™ CHROMagar MRSA II\*

### PRZEZNACZENIE

**BBL CHROMagar MRSA II** (CMRSAII) jest selektywnym i różnicującym podłożem do bezpośredniego wykrywania jakościowego metycylinoopornych gronkowców *Staphylococcus aureus* (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) z próbek klinicznych. Test można wykonać na próbkach pochodzących z układu oddechowego, dolnego odcinka układu pokarmowego, skóry i ran oraz nozdrzy przednich w celu badań przesiewowych kolonizacji nosa, aby pomóc zapobiegać zakażeniom MRSA w warunkach instytucji opieki zdrowotnej oraz na dodatknych butelkach do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie.

### STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

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 opieki zdrowotnej; jednak MRSA szeroko rozpowszechnił się również poza nimi.<sup>2,3</sup>

W celu monitorowania przenoszenia MRSA, Amerykańskie Towarzystwo Epidemiologii Służby Zdrowia (Society for Healthcare Epidemiology of America, SHEA) opublikowało 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>

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

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA II** jest zmienioną wersją wcześniejszego opracowania składu CHROMagar MRSA 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 MRSA II** umożliwia bezpośrednie wykrywanie i identyfikację MRSA, ponieważ zawiera swoiste substraty chromogenne oraz cefoksytynę. Szczepy MRSA rosną w obecności cefoksytyny<sup>4</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 MRSA II

Przybliżony skład\* w przeliczeniu na 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: 7,0 +/- 0,2 w 25°C

\*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest 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. W czasie pracy z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”<sup>5-8</sup> oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danym laboratorium. Po użyciu gotowego podłoża na płytkach, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie. Szczegółowe informacje, patrz **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA**

### STOSOWANIA.

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

Przed pierwszym użyciem podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** zaleca się sprawdzenie typowego wyglądu kolonii MRSA przy użyciu określonych szczepów tj. szczepów wymienionych w części **KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA**.

## WARUNKI I OKRES 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 MRSA II**, 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 2 – 8°C.

## KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA\*

Obejrzeć płytki w poszukiwaniu oznak pogorszenia jakości, zgodnie z opisem w punkcie „Pogorszenie jakości produktu”.

Sprawdzić wydajność wykonując posiew reprezentatywnej próby podłoży rozcieńczonymi hodowlami zgodnie z opisem poniżej:

1. Posiać płytki pasmowo w celu uzyskania pojedynczych kolonii. W przypadku *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 oraz *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 zastosować technikę bezpośredniego posiewu.<sup>9</sup>
2. Inkubować płytki w temperaturze 35 – 37°C w warunkach tlenowych.
3. Dołączyć płytki z podłożem Columbia Agar z 5% krwią baranią jako nieselektywne kontrole dla wszystkich drobnoustrojów.
4. Zbadać płytki po 20 – 26 godzinach pod kątem odzysku, wielkości kolonii i barwy. Wartości oczekiwane, patrz Tabela:

| 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.

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały

**BBL CHROMagar MRSA II** (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

### 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. gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbyt i kał), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu), ran oraz dodatnich butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie.

### 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>10,11</sup>

### Procedura testowa

Stosować techniki aseptyczne. Powierzchnia podłoża agarowego powinna być gładka i wilgotna, ale nie nadmiernie. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

- **Próbki nozdrzy przednich:** Po dostarczeniu próbki do laboratorium należy jak najszybciej wykonać posiew, rozprowadzając próbkę na płytce z podłożem **BBL CHROMagar MRSA II**. Inkubować płytki w warunkach tlenowych w temperaturze 35 – 37°C przez 20 – 26 h w pozycji odwróconej.
- **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 MRSA II**. 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.
- **Wszystkie inne próbki (próbki z gardła, płwociny, dolnego odcinka układu pokarmowego, skóry i ran):** Po dostarczeniu próbki do laboratorium należy jak najszybciej wykonać posiew, rozprowadzając próbkę na płytce **BBL CHROMagar MRSA II**. 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.

Nie inkubować w atmosferze wzbogaconej dwutlenkiem węgla. Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum (<4 h) ekspozycję na światło podłoża **BBL CHROMagar MRSA II**, gdyż przedłużona ekspozycja może spowodować zmniejszenie odzysku i (lub) zabarwienia izolatów. Kontakt ze światłem jest możliwy po zaobserwowaniu koloru kolonii.

## WYNIKI

Po zakończeniu prawidłowej inkubacji przeprowadzić odczyt płytek względem białego tła. Na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** pojawią się kolonie MRSA w kolorze fioletoworóżowym. Wzrost innych drobnoustrojów (niebędących MRSA) będzie zahamowany lub powstaną kolonie o barwie niebieskiej do niebieskozielonej, białe lub bezbarwne. W celu interpretacji wyników należy zapoznać się z Tabelami od 1 do 3.

**Tabela 1: Interpretacja wyników próbek z nozdrzy przednich**

| Inkubacja 20 – 26 h                                                         | Interpretacja/Działanie zalecane |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Kolonie w kolorze fioletoworóżowym morfologicznie przypominające gronkowce* | Wynik dodatni — wykryto MRSA     |
| Brak wykrytych kolonii fioletoworóżowych                                    | Wynik ujemny — nie wykryto MRSA  |
| Zahamowanie wzrostu                                                         | Wynik ujemny — nie wykryto MRSA  |

\* Patrz OGRANICZENIA PROCEDURY

**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* | Wynik dodatni — wykryto MRSA     |
| Brak kolonii w kolorze fioletoworóżowym                                     | Wynik ujemny — nie wykryto MRSA  |

\* Patrz OGRANICZENIA PROCEDURY

**Tabela 3: Interpretacja wyników próbek z gardła, płwociny, dolnego odcinka układu 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                                     |                                                                                                                  | Ponownie inkubować przez kolejne 18 –24 godziny, aby osiągnąć całkowity czas inkubacji 36 – 52 godzin.                                                                                                                            |
| 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<br>Jeżeli test na koagulazę lub lateksowy test aglutynacji <i>Staphylococcus</i> da wynik ujemny — nie wykryto MRSA |
| Brak kolonii w kolorze fioletoworóżowym                                     | Nd.                                                                                                              | Nie wykryto MRSA                                                                                                                                                                                                                  |

\* Patrz OGRANICZENIA PROCEDURY

Nd. = nie dotyczy

## 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* w placówkach intensywnej opieki medycznej wzrósł do 59,5 – 64,4%. Zaobserwowano dramatyczny wzrost liczby przypadków zakażeń tkanek miękkich i skóry, wskazując, że w szpitalach rozpowszechniane są pozaszpitalne MRSA.<sup>12,13</sup>

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

**BBL CHROMagar MRSA II** jest selektywnym, różnicującym podłożem do bezpośredniego wykrywania jakościowego metycylinoopornych gronkowców *Staphylococcus aureus* (MRSA) z próbek klinicznych. Test można przeprowadzać na próbkach z układu oddechowego, dolnego odcinka układu pokarmowego, skóry i ran po 18 do 52 godzinach inkubacji. Test można także wykonać na próbkach z nozdrzy przednich w celu badania przesiewowego kolonizacji nosa, aby pomóc w zapobieganiu i ograniczaniu zakażeń MRSA w warunkach opieki zdrowotnej po 20 do 26 godzinach inkubacji oraz na dodatknych butelkach do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie po 18 do 28 godzinach inkubacji.

### Zewnętrzne oceny wydajnościowe

Przeprowadzono dwie zewnętrzne oceny wydajnościowe:

- Podczas pierwszej oceny podłoże **BBL CHROMagar MRSA II** oceniano w czterech różnych laboratoriach klinicznych przy użyciu pozostałych próbek prospektywnych z układu oddechowego (np. nozdrza, gardło i płwocina), dolnego odcinka układu pokarmowego (np. odbyt i kał), skóry (np. pachwina/pacha i krocze/okolice odbytu) i ran oraz dodatknych butelek do posiewów krwi zawierających ziarniaki Gram-dodatnie (Tabele 4 i 5).<sup>14</sup> Próbkę oceniano, porównując odzysk MRSA na tradycyjnym podłożu hodowlanym (np. Tryptic Soy Agar z 5% krwią baranią, Columbia Agar z 5% krwią baranią lub CNA (podłoże z kolistyną i kwasem nalidyksowym) w zależności od typów próbek) i na płytkach **BBL CHROMagar MRSA II**. 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, ( $R \leq 21$  mm i  $S \geq 22$  mm).<sup>4,15</sup> Wynik metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II** był interpretowany jako dodatni w kierunku MRSA po 18 – 28 h na podstawie stwierdzenia obecności kolonii w kolorze fioletoworóżowym lub po 36 – 52 h na podstawie stwierdzenia obecności kolonii potwierdzonych jako kolonie *S. aureus*.

Ogólna przewaga MRSA z podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** wynosiła 15% (778/5051) lub około 65,6% (778/1186) wszystkich szczepów *S. aureus*. W przypadku tradycyjnej płytki hodowlanej (np. Tryptic Soy Agar z 5% krwią baranią, Columbia Agar z 5% krwią baranią i CNA) odzysk MRSA wyniósł 79,8% (621/778), podczas gdy odzysk MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** wyniósł 95,6% (744/778).

**Tabela 4 Odzysk MRSA: podłoże BBL CHROMagar MRSA II w porównaniu z podłożem tradycyjnym**

|                                  |                            | Odzysk MRSA        |                 |
|----------------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| Kategoria próbek                 | Czas odczytu <sup>1)</sup> | Podłoże tradycyjne | CMRSAII         |
| Układ oddechowy                  | 24 h                       | 79,8% (182/228)    | 85,5% (195/228) |
|                                  | 48 h                       | 76,8% (182/237)    | 92,4% (219/237) |
| Dolny odcinek układu pokarmowego | 24 h                       | 86,9% (93/107)     | 87,9% (94/107)  |
|                                  | 48 h                       | 77,5% (93/120)     | 98,3% (118/120) |
| Skóra                            | 24 h                       | 68,6% (118/172)    | 88,4% (152/172) |
|                                  | 48 h                       | 66,3% (118/178)    | 96,1% (171/178) |
| Rana                             | 24 h                       | 90,6% (115/127)    | 92,1% (117/127) |

|                                         |                            | Odzysk MRSA        |                 |
|-----------------------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| Kategoria próbek                        | Czas odczytu <sup>1)</sup> | Podłoże tradycyjne | CMRSAII         |
|                                         | 48 h                       | 88,5% (115/130)    | 94,6% (123/130) |
| Podłoże do posiewu z krwi <sup>2)</sup> | 24 h                       | 100% (113/113)     | 100% (113/113)  |
| Połączone <sup>3)</sup>                 | 24 h                       | 83,1% (621/747)    | 89,8% (671/747) |
|                                         | 48 h                       | 79,8% (621/778)    | 95,6% (744/778) |

<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)

**Tabela 5: Wydajność podłoża BBL CHROMagar MRSA II w porównaniu z podłożem tradycyjnym i krążkiem z cefoksytyną według typu próbki**

|                                         |                            | Krążek z cefoksytyną             |                                   |
|-----------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Kategoria próbek                        | Czas odczytu <sup>1)</sup> | Czułość (95% CI)*                | Swoistość (95% CI)*               |
| Układ oddechowy                         | 24 h                       | 85,5% (195/228)<br>(80,3%,89,8%) | 99,8% (1216/1218)<br>(99,4%,100%) |
|                                         | 48 h                       | 92,4% (219/237)<br>(88,3%,95,4%) | 99,8% (1207/1209)<br>(99,4%,100%) |
| Dolny odcinek układu pokarmowego        | 24 h                       | 87,9% (94/107)<br>(80,1%,93,4%)  | 100% (587/587)<br>(99,4%,100%)    |
|                                         | 48 h                       | 98,3% (118/120)<br>(94,1%,99,8%) | 100% (574/574)<br>(99,4%,100%)    |
| Skóra                                   | 24 h                       | 88,4% (152/172)<br>(82,6%,92,8%) | 100% (1103/1103)<br>(99,7%,100%)  |
|                                         | 48 h                       | 96,1% (171/178)<br>(92,1%,98,4%) | 100% (1097/1097)<br>(99,7%,100%)  |
| Rana                                    | 24 h                       | 92,1% (117/127)<br>(86%,96,2%)   | 100% (821/821)<br>(99,6%,100%)    |
|                                         | 48 h                       | 94,6% (123/130)<br>(89,2%,97,8%) | 100% (818/818)<br>(99,6%,100%)    |
| Podłoże do posiewu z krwi <sup>2)</sup> | 24 h                       | 100% (113/113)<br>(96,8%,100%)   | 100% (575/575)<br>(99,4%,100%)    |
| Połączone <sup>3)</sup>                 | 24 h                       | 89,8% (671/747)<br>(87,4%,91,9%) | 100% (4302/4304)<br>(99,8%,100%)  |
|                                         | 48 h                       | 95,6% (744/778)<br>(93,9%,97%)   | 100% (4271/4273)<br>(99,8%,100%)  |

\* CI = przedział ufności

<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 MRSA II**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** 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 MRSA II**, przy swoistości wynoszącej 99,8% (1216/1218). Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, 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 MRSA II**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** 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 MRSA II**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, 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 MRSA II**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** 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 MRSA II**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, 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 MRSA II**. Ogólny odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** 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 MRSA II**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytyną 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 MRSA II**. Całkowity odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** i tradycyjnych płytkach hodowlanych odpowiadał 100% (113/113) po 18 – 28 h. Nie zaobserwowano wyników fałszywie dodatnich na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II**. Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, 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 MRSA II**. Całkowity odzysk szczepów MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** 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 MRSA II**, przy swoistości wynoszącej 99,9% (4271/4273). Przy interpretacji koloru kolonii po 18 – 28 h w przypadku podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** i przeprowadzeniu dla wszystkich kolonii fioletoworóżowych testu potwierdzającego po 36 – 52 h łączna całkowita zgodność metody wykorzystującej podłoże **BBL CHROMagar MRSA II**, 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%.

- Podczas drugiej oceny podłoże **BBL CHROMagar MRSA II** zostało ocenione w trzech laboratoriach klinicznych znajdujących się w różnych rejonach z udziałem świeżych potencjalnych próbek kontrolnych z przednich nozdrzy. Próbkę oceniano, porównując odzysk MRSA na płytkach z podłożem Trypticase Soy Agar z 5% krwią baranią (TSA II) oraz rutynowe procedury identyfikacji *S. aureus* każdego ośrodka (podłoże tradycyjne) z płytkami podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** (procedura rutynowa dla dwóch ośrodków obejmowała badanie lateksowej aglutynacji gronkowców, a trzeci ośrodek obejmował test koagulazy. Wszystkie szczepy *S. aureus* badano pod kątem oporności na oksacylinę spowodowaną Mec-A metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną). Wyniki testu metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną (30 µg) były interpretowane i wykonywane metodami zgodnymi z kryteriami CLSI.<sup>4,15</sup> Badanie **BBL CHROMagar MRSA II** interpretowano jako pozytywne dla MRSA po 20 – 26 h na podstawie wykrywania kolonii fioletoworóżowych.

Na podstawie obu ocen zewnętrznych oceniono łącznie 1613 zgodnych próbek z nozdrzy przednich porównując odzysk MRSA na tradycyjnych płytkach hodowlanych z płytkami **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 h inkubacji (Tabela 6).

Zgodność wyników dodatnich i ujemnych dla podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** po 20 – 26 h w porównaniu z hodowlą tradycyjną wynosiła odpowiednio 87,9% i 98,6%. Czulość i swoistość w porównaniu z metodą krążkowo-dyfuzyjną z cefoksytiną wynosiła odpowiednio 88,8% oraz 99,8%.

**Tabela 6: Wydajność podłoża BBL CHROMagar MRSA II w porównaniu z podłożem tradycyjnym i krążkiem z cefoksytyną dla próbek nozdrzy**

| Podłoże tradycyjne |                   |                                              |                                             |
|--------------------|-------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Rodzaj próbki      | Czas odczytu      | Odsetek zgodności wyników dodatnich (95% CI) | Odsetek zgodności wyników ujemnych (95% CI) |
| Nozdrza            | 24 h <sup>1</sup> | 87,9% (181/206)<br>(82,6%, 92,0%)            | 98,6% (1387/1407)<br>(97,8%, 99,1%)         |

| Metoda krążkowo-dyfuzyjna z cefoksytyną (CLSI) |                   |                                   |                                    |
|------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Rodzaj próbki                                  | Czas odczytu      | Czułość (95% CI)                  | Swoistość (95% CI)                 |
| Nozdrza                                        | 24 h <sup>1</sup> | 88,8% (198/223)<br>(83,9%, 92,6%) | 99,8% (1387/1390)<br>(99,4%, 100%) |

<sup>1</sup>24 h reprezentuje zakres odczytu 20 – 26 h bez wymaganego testu potwierdzającego

### **Wewnętrzna ocena wydajnościowa**

Granice wykrywalności (LOD, Limits of Detection)

Podłoże **BBL CHROMagar MRSA II** oceniono w celu ustalenia granicy wykrywalności (LOD) odzysku metycyloopornych szczepów *S. aureus*. Cztery szczepy testowe reprezentujące dwa MRSA heterogenne i dwa homogenne oceniono pod kątem odzysku na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II**.<sup>16</sup> Nieselektywne płytki z podłożem Columbia Agar z 5% krwią baranią użyto do określenia stężenia organizmu jako jednostki tworzące kolonie (CFU) dla każdego rozcieńczenia. Granica wykrywalności dla **BBL CHROMagar MRSA II** mieściła się w zakresie 4 – 116 CFU po 24 h i 4 – 24 CFU po 48 h.<sup>17</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. Aerosole do nosa zawierające propionian flutikazonu, chlorowoderek azelastyny, chlorowoderek fenylefryny i chlorowoderek oksymetazoliny oraz dostępne bez recepty tabletki do ssania zawierające mentol wykazywały aktywność przeciwbakteryjną.

Żadne inne badane substancje, materiały lub podłoża nie zakłócały odzysku MRSA na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II**.<sup>17</sup>

### **OGRANICZENIA PROCEDURY**

- Przed inkubacją oraz podczas niej należy ograniczyć do minimum (<4 h) ekspozycję na światło podłoża **BBL CHROMagar MRSA II**, gdyż przedłużona ekspozycja może spowodować zmniejszenie odzysku i/lub zabarwienia izolatów.
- Inkubacja w atmosferze z dodatkiem CO<sub>2</sub> nie jest zalecana i może spowodować powstanie fałszywie ujemnych hodowli.
- Nie zaleca się inkubacji dłuższych niż 36 – 52 h.
- W przypadku próbek z nozdrzy przednich wydajność podłoża **BBL CHROMagar MRSA II** optymalizowano pod kątem inkubacji przez 20 – 26 h w temperaturze 35 – 37°C. Niższe temperatury inkubacji (<35°C) i/lub krótsze czasy inkubacji (<20 h) mogą redukować czułość podłoża **BBL CHROMagar MRSA II**. Proszę zwrócić uwagę, że częste otwieranie drzwi inkubatora może spowodować obniżenie temperatury inkubatora. Dlatego zaleca się otwieranie drzwi inkubatora jak najrzadziej i możliwie na jak najkrótszy czas.
- Po inkubacji przez 24 h lub dłużej niektóre szczepy *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* i *Bacillus*

*cereus* mogą dawać kolonie o barwie fioletoworóżowej. W razie potrzeby można przeprowadzić barwienie metodą Grama.

- Po inkubacji przez 24 h lub dłużej szczepy *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* oraz metycylinowrażliwe *Staphylococcus aureus* rzadko mogą dawać kolonie o barwie fioletoworóżowej. Jeżeli nie ma podejrzenia MRSA, można także przeprowadzić test koagulazy i wrażliwości przeciwdrobnoustrojowej (AST).
- Niektóre rzadko występujące szczepy MRSA wykazują wrażliwość na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II**. 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.
- Istnieją rzadkie szczepy MRSA, które na podłożu **BBL CHROMagar MRSA II** mogą dawać kolonie o barwie innej niż fioletoworóżowa. W przypadku podejrzenia MRSA mogą być konieczne hodowle pochodne kolonii o barwie innej niż fioletoworóżowa do dalszej identyfikacji i badań wrażliwości.
- Duża ilość bakterii i/lub pewne próbki mogą dawać 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. Nieswoista barwa podłoża powinna być interpretowana jako wynik ujemny.
- Może wystąpić wzrost *mecA* ujemnych *S. aureus*, jeżeli najmniejsze stężenia hamujące (MIC) oksacyliny zbliżają się lub są równe stężeniu granicznemu oporności.
- Mechanizmy oporności inne niż *mecA* (tj. *Staphylococcus aureus*-BORSA o granicznej oporności na oksacylinę i zmodyfikowany *Staphylococcus aureus*-MODSA) nie były szeroko oceniane z CMRSA II i z go powodu wydajność CMRSA II z takimi mechanizmami oporności nie jest znana.
- Ponieważ izolacja MRSA jest zależna od liczby organizmów występujących w próbce, wiarygodne wyniki są zależne od prawidłowego pobrania próbki, jej obróbki oraz przygotowania.
- Pojedynczy wynik ujemny nie powinien być stosowany jako jedyna podstawa podejmowania decyzji odnośnie rozpoznania, leczenia i postępowania. Do identyfikacji organizmu, badania wrażliwości lub typowania epidemiologicznego mogą być konieczne hodowle równoległe.

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

## DOSTĘPNOŚĆ

- REF** 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych), po 20 sztuk
- REF** 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych), po 120 sztuk

## PIŚMIENNICTWO

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, 9<sup>th</sup> 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, 3<sup>rd</sup> 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) 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/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, 3<sup>rd</sup> 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, 2<sup>nd</sup> 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. 9<sup>th</sup> 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-resistant *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, 9<sup>th</sup> 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. Dane w archiwum BD Diagnostics.

## DODATKOWE INFORMACJE

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