



## BBL™ CHROMagar MRSA II\*

### NAMJENA

**BBL CHROMagar MRSA II** (CMRSAII) selektivna je i diferencijalna podloga za kvalitativno izravno otkrivanje meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) iz kliničkih uzoraka. Ispitivanje se može provesti na respiratornim uzorcima, donjim gastrointestinalnim uzorcima (= GI), uzorcima kože i rana, na brisevima nosa za probir nazalne kolonizacije s ciljem sprečavanja i nadzora MRSA infekcija u ustanovama za zdravstvenu zaštitu i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke.

### SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

MRSA je glavni uzrok bolničkih i po život opasnih infekcija. MRSA infekcije povezuju se sa znatno višom stopom obolijevanja, smrtnosti i višim troškovima u usporedbi s infekcijama *S. aureus* (MSSA) osjetljivim na meticilin<sup>1</sup>. Ti se organizmi ponajviše nalaze u okruženju ustanova za zdravstvenu zaštitu. Ipak, MRSA je postala češća i u izvanbolničkom okruženju.<sup>2,3</sup>

Kako bi se suzbio prijenos MRSA-e, Američko društvo za epidemiologiju u zdravstvenoj zaštiti (Society for Healthcare Epidemiology of America, SHEA) izdalo je smjernice koje uključuju program aktivnog nadzora u svrhu prepoznavanja potencijalnih izvora bakterija i strogi program suzbijanja infekcije u svrhu suzbijanja širenja MRSA-e.<sup>1</sup>

**BBL CHROMagar MRSA II** selektivna je i diferencijalna podloga koja sadrži cefoksitin za otkrivanje MRSA-e iz respiratornih uzoraka (npr. bris nosa, grla i ispljuvak), donjih gastrointestinalnih uzoraka (npr. rektalni bris i stolica), uzoraka kože (npr. prepone/pazuha i perineum/perianalno područje), uzoraka rana i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke.

**BBL CHROMagar MRSA II** izmijenjena je verzija postojećeg pripravka CHROMagar MRSA koji su razvili A. Rambach i BD te koji prodaje tvrtka BD na temelju licencnog ugovora sklopljenog s tvrtkom CHROMagar, Pariz, Francuska.

### NAČELA POSTUPKA

#### Mikrobiološka metoda

Podloga **BBL CHROMagar MRSA II** omogućuje izravno otkrivanje i prepoznavanje MRSA-e inkorporiranjem specifičnih kromogenih supstrata i cefoksitina. Sojevi MRSA-e rast će u prisutnosti cefoksitina<sup>4</sup> i stvarati svijetloljubičaste kolonije koje proizlaze iz hidrolize kromogenog supstrata. Ugrađeni su dodatni selektivni agensi za supresiju gram-negativnih organizama, kvasca i nekih drugih gram-pozitivnih koka. Bakterije drukčije od MRSA-e mogu koristiti ostale kromogene supstrate u mediju koji daju plavo do plavo-zelenu obojenu koloniju ili, ako se ne koriste kromogeni supstrati, kolonije se pojavljuju kao bijele ili bezbojne.

\*Patent prijavljen u Europi, SAD-u i Kanadi

## REAGENSI

### BBL CHROMagar MRSA II

Približna formula\* po litri pročišćene vode

Kromopepton	35,0 g
Kromogenska mješavina	0,5 g
Natrijev klorid	17,5 g
Inhibicijski agensi	7,52 g
Cefoksitin	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 pri 25°C

\*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

## UPOZORENJA I MJERE OPREZA

**IVD** Samo za profesionalnu primjenu. 

U kliničkim uzorcima mogu biti prisutni patogeni mikroorganizmi uključujući viruse hepatitisa i virusa humane imunodeficijencije (HIV). Pri rukovanju svim predmetima kontaminiranim krvlju i drugim tjelesnim tekućinama treba se pridržavati „Standardnih mjera opreza“<sup>5-8</sup> i institucionalnih smjernica. Nakon upotrebe, pripremljene pločice, spremnici za uzorke i ostali kontaminirani materijal moraju se sterilizirati u autoklavu prije odlaganja. Za pojedinosti, pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**.

**Pogoršanje kvalitete proizvoda:** Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Prije prve upotrebe **BBL CHROMagar MRSA II** preporučuje se obuka o uobičajenom izgledu kolonije MRSA-e s definiranim sojevima, odn. sojevima spomenutim u **KORISNIČKOJ KONTROLI KVALITETE**.

## ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice u originalnom pakiranju i kutiji pri temperaturi od 2 – 8°C do trenutka inokulacije. Minimizirajte izloženost (< 4 h) **BBL CHROMagar MRSA II** svjetlu prije i tijekom inkubacije jer produžena izloženost može prouzročiti smanjeni oporavak i/ili obojenost izolata. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte natpis na pločici ili etiketi pakiranja) i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Pločice iz otvorenih stogova po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako su čuvane na čistom i tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C.

## KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE\*

Provjerite ima li na pločicama znakova pogoršanja kvalitete opisanih u odjeljku „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.

Provjerite učinkovitost inokuliranjem reprezentativnih uzoraka s otopinama kultura kao što je opisano u nastavku:

1. Razmažite pločice radi izolacije. Za *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 koristite izravnu inokulaciju.<sup>9</sup>
2. Inkubirajte pločice pri temperaturi od 35 °C - 37 °C u aerobnoj atmosferi.
3. Uključite pločice s agarom Columbia s 5% ovčje krvi kao neselektivne kontrole za sve organizme.
4. Nakon 20 - 26 h na pločicama pregledajte izolaciju, veličinu kolonija i boju. Očekivane rezultate pogledajte u tablici:

Testni soj	Očekivani rezultati
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Rast svijetlojubičastih kolonija
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Nema rasta

\* Zahtjevi kontrole kvalitete moraju biti ispunjeni u skladu s važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, uvjetima akreditiranja i/ili postupcima kvalitete standardne kontrole vašeg laboratorija. Korisnik može pogledati preporuke CLSI-ja kako bi pronašao odgovarajuće prakse kontrole kvalitete.

## POSTUPAK

### Priloženi materijal

**BBL CHROMagar MRSA II** (pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolirano.

### Potreban materijal koji se nabavlja zasebno

Potvrđni test kao što je koagulaza ili reagensi za lateks-test aglutinacije kao dokaz *Staphylococcus* (npr. **Staphyloslide**), organizmi za kontrolu kvalitete, podloga za dodatne stanične kulture i ostala laboratorijska oprema prema potrebi.

### Vrste uzoraka

Podloga se može upotrebljavati za respiratorne uzorke (npr. bris grla i ispljuvak), donje gastrointestinalne uzorke (npr. rektalni bris i stolica), uzorke kože (npr. prepone/pazuha i perineum/perianalno područje), bris nosa i uzorke rana i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke.

### Prikupljanje i rukovanje uzoraka

Preporučuje se upotreba transportnih sredstava odobrenih za prikupljanje mikrobioloških kliničkih uzoraka. Pridržavajte se preporučenih postupaka proizvođača transportnog sredstva. Korisnik također može pogledati odgovarajuće tekstove s pojedinostima o postupcima prikupljanja i rukovanju uzoraka.<sup>10, 11</sup>

### Postupak ispitivanja

Primjenjujte aseptične tehnike. Površina agara trebala bi biti glatka i vlažna, ali bez suvišne vlage. Prije inokulacije pričekajte da se podloga zagrije do sobne temperature.

- **Brisevi nosa:** Po primitku u laboratorij, što je prije moguće inokulirajte uzorak na pločicu **BBL CHROMagar MRSA II** i razmažite radi izolacije. Inkubirajte pločice aerobno pri temperaturi od 35 – 37°C tijekom 20 – 26 sati u obrnutom položaju.
- **Boce pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke:** Čim je boca kulture krvi (hemokulture) određena kao pozitivna i obojenost po Gramu potvrdi prisutnost gram-pozitivnih koka, odstranite alikvot, inokulirajte pločicu **BBL CHROMagar MRSA II** i razmažite radi izolacije. Inkubirajte pločice aerobno pri temperaturi od 35 – 37°C tijekom 18 – 28 sati u obrnutom položaju. Inkubacija dulja od 18 – 28 sati nije potrebna.
- **Svi drugi uzorci (bris grla, ispljuvak, donji gastrointestinalni uzorci te uzorci kože i rana):** Po primitku u laboratorij, što je prije moguće inokulirajte pločicu **BBL CHROMagar MRSA II** i razmažite radi izolacije. Inkubirajte pločice aerobno pri temperaturi od 35 – 37°C tijekom 18 – 28 sati u obrnutom položaju. Ako se ne otkriju svjetloljubičaste kolonije, ponovno inkubirajte ukupno od 36 – 52 sati.

Ne inkubirajte kad je zraku dodan ugljični dioksid. Minimizirajte izloženost (<4 h) **BBL CHROMagar MRSA II** svjetlu prije i tijekom inkubacije jer produžena izloženost može prouzročiti smanjeni oporavak i/ili obojenost izolata. Izloženost svjetlu dopuštena je nakon što se razvije boja kolonije.

## REZULTATI

Nakon odgovarajuće inkubacije očitajte pločice na bijeloj pozadini. Kolonije MRSA-e bit će svjetloljubičaste na podlozi **BBL CHROMagar MRSA II**. Drugi organizmi (koji nisu MRSA) bit će inhibirani ili će stvoriti plave do plavo-zelene, bijele ili bezbojne kolonije. Za tumačenje rezultata pogledajte tablice 1 - 3.

Tablica 1: Tumačenje rezultata za briseve nosa

Inkubacija 20 – 26 sati	Tumačenje / Preporučeno djelovanje
Svjetloljubičaste kolonije morfološki slične stafilokokima*	Pozitivno – otkrivena MRSA
Otkrivene kolonije koje nisu svjetloljubičaste	Negativno – Nije otkrivena MRSA
Nema rasta	Negativno – Nije otkrivena MRSA

\* Pogledajte OGRANIČENJA POSTUPKA

**Tablica 2: Tumačenje rezultata za bočice pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke**

Inkubacija 18 – 28 sati	Tumačenje / Preporučeno djelovanje
Svijetloljubičaste kolonije morfološki slične stafilokokima*	Pozitivno – otkrivena MRSA
Nema svijetloljubičastih kolonija	Negativno – Nije otkrivena MRSA

\* Pogledajte OGRANIČENJA POSTUPKA

**Tablica 3: Tumačenje rezultata briseva grla, ispljuvka, donjih gastrointestinalnih uzoraka te uzoraka kože i rana**

Inkubacija 18 – 28 sati		Tumačenje / Preporučeno djelovanje
Svijetloljubičaste kolonije morfološki slične stafilokokima*		Otkrivena MRSA
Nema svijetloljubičastih kolonija		Ponovno inkubirajte dodatnih 18 do 24 h kako biste ostvarili ukupno vrijeme inkubacije od 36 – 52 sata)
Inkubacija 36 – 52 sati	Preporučeno djelovanje	Tumačenje
Svijetloljubičaste kolonije*	Izvedite izravni potvrdni test (npr. koagulaza ili lateks aglutinacija <i>Staphylococcus</i> ).	Ako je koagulaza ili lateks aglutinacija <i>Staphylococcus</i> pozitivna, otkrivena je MRSA. Ako je koagulaza ili lateks aglutinacija <i>Staphylococcus</i> negativna – nije otkrivena MRSA
Nema svijetloljubičastih kolonija	Nije primjenjivo	Nije otkrivena MRSA

\* Pogledajte OGRANIČENJA POSTUPKA

N/A= nije primjenjivo

## OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Učestalost infekcija MRSA-om dramatično je porasla u okružju zdravstvenih ustanova, a u porastu je i stopa prijenosa MRSA-e u izvanbolničkom okružju. Nedavne publikacije upućuju da se broj hospitalizacija prouzročenih *S. aureusom* povećao za 62%, a procijenjeni broj hospitalizacija prouzročenih meticilin-rezistentnim *S. aureusom* više nego udvostručio u razdoblju od 1999. do 2005.<sup>12</sup> Podaci dobiveni iz NNIS-a (Nacionalni sustav praćenja bolničkih infekcija, National Nosocomial Infections Surveillance System) pokazuju da je udjel MRSA-e u infekcijama prouzročenim *S. aureusom* u okružju jedinica za intenzivnu skrb porastao na 59,5 – 64,4%. Utvrđen je dramatičan porast učestalosti pojave infekcija mekog tkiva i kože, što ukazuje na činjenicu da se MRSA povezana s izvanbolničkim okružjem širi u bolnicama.<sup>12,13</sup>

## KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA

**BBL CHROMagar MRSA II** selektivna je i diferencijalna podloga za kvalitativno izravno otkrivanje meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) iz kliničkih uzoraka. Ispitivanje se može provesti nakon 18 do 52 sata inkubacije na respiratornim, donjim gastrointestinalnim uzorcima (GI), uzorcima kože i rana. Ispitivanje se može provesti na brisevima nosa za probir nazalne kolonizacije s ciljem sprečavanja i nadzora MRSA infekcija u ustanovama za zdravstvenu zaštitu nakon 20 do 26 sati inkubacije i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke nakon 18 do 28 sati inkubacije.

### Vanjske analize svojstava

Provedene su dvije vanjske analize svojstava:

- U prvoj analizi **BBL CHROMagar MRSA II** analizirao se u četiri različita klinička laboratorija s preostalim, prospektivnim respiratornim uzorcima (npr. bris nosa, grla i ispljuvak), donjim gastrointestinalnim uzorcima (npr. rektalni bris i stolica), uzorcima kože (npr. prepone/pazuha i perineum/perianalno područje), uzorcima rana i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke (tablice 4 i 5).<sup>14</sup>

Uzorci su analizirani usporedbom izolacije MRSA-e na tradicionalnim hranjivim podlogama (npr. triptični sojin agar s 5% ovčje krvi, agar Columbia s 5% ovčje krvi ili CNA (agar s kolistinom i nalidiksičnom kiselinom), ovisno o vrstama uzoraka) i na pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. *S. aureus* izoliran na tradicionalnim hranjivim podlogama bio je ispitan metodom testiranja difuzije diska cefoksitina. Rezultati testa difuzije diska cefoksitina slijedili su interpretativne kriterije CLSI-ja za određivanje rezistentnosti (R) i osjetljivosti (S) metecilina, ( $R \leq 21$  mm i  $S \geq 22$  mm).<sup>4,15</sup> **BBL CHROMagar MRSA II** bio je tumačen kao pozitivan na MRSA-u nakon 18 – 28 sati na temelju otkrivanja svijetloljubičastih kolonija ili nakon 36 – 52 sata na temelju otkrivanja svijetloljubičastih kolonija uz potvrdu da se radi o *S. aureusu*.

Ukupna učestalost MRSA-e iz **BBL CHROMagar MRSA II** iznosila je 15% (778/5051) ili oko 65,6% (778/1186) svih *S. aureusa*. Za pločicu s tradicionalnom staničnom kulturom (npr. triptični sojin agar s 5% ovčje krvi, agar Columbia s 5% ovčje krvi i CNA) stopa izolacije MRSA-e iznosila je 79,8% (621/778), dok je za **BBL CHROMagar MRSA II** stopa izolacije MRSA-e iznosila 95,6% (744/778).

**Tablica 4 Otkrivanje MRSA-e: BBL CHROMagar MRSA II u odnosu na tradicionalnu staničnu kulturu**

		Otkrivanje MRSA-e	
Uzorak Kategorija	Vrijeme očitanja <sup>1)</sup>	Tradicionalna stanična kultura	CMRSaII
Respiratorni	24 h	79,8% (182/228)	85,5% (195/228)
	48 h	76,8% (182/237)	92,4% (219/237)
Donji gastrointestinalni	24 h	86,9% (93/107)	87,9% (94/107)
	48 h	77,5% (93/120)	98,3% (118/120)
Koža	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)
	48 h	88,5% (115/130)	94,6% (123/130)
Kultura krvi (hemokultura) <sup>2)</sup>	24 h	100% (113/113)	100% (113/113)
Kombinirano <sup>3)</sup>	24 h	<b>83,1% (621/747)</b>	<b>89,8% (671/747)</b>
	48 h	<b>79,8% (621/778)</b>	<b>95,6% (744/778)</b>

<sup>1)</sup> 24 h predstavlja raspon očitavanja od 18 – 28 sati bez potrebnog potvrdnog ispitivanja, a raspon očitavanja od 48 h je 36 – 52 sata s potvrdnim ispitivanjem.

<sup>2)</sup> Pozitivna kultura krvi (hemokultura) koja sadrži gram-pozitivne koke

<sup>3)</sup> Uključuje sve vrste uzoraka (respiratorne, donje gastrointestinalne, kožu, rane i kulturu krvi (hemokulturu))

**Tablica 5: Svojstva BBL CHROMagar MRSA II u odnosu na tradicionalnu staničnu kulturu i disk cefoksitina prema vrsti uzorka**

Uzorak Kategorija	Vrijeme očitanja <sup>1)</sup>	Disk cefoksitina	
		Osjetljivost (95% intervala pouzdanosti (CI))*	Specifičnost (95% intervala pouzdanosti (CI))*
Respiratorni	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%)
Donji gastrointestinalni	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%)
Koža	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%)
Rana	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%)
Kultura krvi (hemokultura) <sup>2)</sup>	24 h	100% (113/113) (96,8%, 100%)	100% (575/575) (99,4%, 100%)
Kombinirano <sup>3)</sup>	24 h	<b>89,8% (671/747) (87,4%, 91,9%)</b>	<b>100% (4302/4304) (99,8%, 100%)</b>
	48 h	<b>95,6% (744/778) (93,9%, 97%)</b>	<b>100% (4271/4273) (99,8%, 100%)</b>

\* CI= interval pouzdanosti

<sup>1)</sup> 24 h predstavlja raspon očitavanja od 18 – 28 sati bez potrebnog potvrdnog ispitivanja, a raspon očitavanja od 48 h je 36 – 52 sati s potvrdnim ispitivanjem.

<sup>2)</sup> Pozitivna kultura krvi (hemokultura) koja sadrži gram-pozitivne koke

<sup>3)</sup> Uključuje sve vrste uzoraka (respiratorne, donje gastrointestinalne, kožu, rane i kulturu krvi (hemokulturu))

Respiratorni uzorci:

Ukupno je analizirano 1446 respiratornih uzoraka usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, MRSA je izolirana na **BBL CHROMagar MRSA II** u više od 92,4% slučajeva (219/237) u usporedbi s 76,8% (182/237) na pločicama tradicionalne stanične kulture nakon 48 sati. Pri očitavanju nakon 18 – 28 sati na **BBL CHROMagar MRSA II** zapažena su dva lažno pozitivna uzorka za specifičnost od 99,8% (1216/1218). Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II** i potvrđivanjem svih svijetloljubičastih kolonija potvrdnim testom s očitavanjem nakon 36 – 52 sata, ukupna podudarnost **BBL CHROMagar MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina za respiratorne uzorke iznosila je 98,6% (1426/1446).

Donji gastrointestinalni uzorci:

Ukupno je analizirano 694 donjih gastrointestinalnih uzoraka usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, MRSA je izolirana na **BBL CHROMagar MRSA II** u više od 98,3% slučajeva (118/120) u usporedbi s 77,5% (93/120) na pločicama tradicionalne kulture nakon 48 sati. Nisu bili zapaženi lažno pozitivni uzorci na **BBL CHROMagar MRSA II**. Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II** i potvrđivanjem svih svijetloljubičastih kolonija potvrdnim testom s očitavanjem nakon 36 – 52 sata, ukupna podudarnost **BBL CHROMagar MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina za donje gastrointestinalne uzorke iznosila je 99,7% (692/694).

Uzorci kože:

Ukupno je analizirano 1275 uzoraka kože usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, MRSA je izolirana na **BBL CHROMagar MRSA II** u više od 96,1% slučajeva (171/178) u usporedbi s 66,3% (118/178) na pločicama tradicionalne kulture nakon 48 sati. Nisu bili zapaženi lažno pozitivni uzorci na **BBL CHROMagar MRSA II**. Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II** i potvrđivanjem svih svijetloljubičastih kolonija potvrdnim testom s očitavanjem nakon 36 – 52 sata, ukupna podudarnost **BBL CHROMagar MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina za uzorke kože iznosila je 99,5% (1268/1275).

Uzorci rana:

Ukupno je analizirano 948 uzoraka rana usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, MRSA je izolirana na **BBL CHROMagar MRSA II** u više od 94,6% slučajeva (123/130) u usporedbi s 88,5% (115/130) na pločicama tradicionalne stanične kulture nakon 48 sati. Nisu bili zapaženi lažno pozitivni uzorci na **BBL CHROMagar MRSA II**. Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II** i potvrđivanjem svih svijetloljubičastih kolonija potvrdnim testom s očitavanjem nakon 36 – 52 sata, ukupna podudarnost **BBL CHROMagar MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina za uzorke rana iznosila je 99,3% (941/948).

Bocce pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke:

Ukupno je analizirano 688 boca pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, izolacija MRSA-e na **BBL CHROMagar MRSA II** i na pločicama tradicionalne stanične kulture bilo je 100% (113/113) nakon 18 – 28 sati. Nisu bili zapaženi lažno pozitivni uzorci na **BBL CHROMagar MRSA II**. Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II**, ukupna podudarnost **BBL CHROMagar MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) iznosila je 100% (688/688).

Kombinirane vrste uzoraka:

Ukupno je analiziran 5051 kombinirani uzorak usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. Općenito, MRSA je izolirana na **BBL CHROMagar MRSA II** u više od 95,6% slučajeva (744/778) u usporedbi s 79,8% (621/778) na pločicama tradicionalne stanične kulture za sve vrste kombiniranih uzoraka (respiratornih, donjih gastrointestinalnih, kože, rana i na bocama pozitivne kulture krvi (hemokulture) koje sadrže gram-pozitivne koke). Očitavanjem nakon 18 – 28 sati zapažene su 2 lažno pozitivne svijetloljubičaste kolonije na **BBL CHROMagar MRSA II** za specifičnost od 99,9% (4271/4273). Očitavanjem obojenosti kolonije nakon 18 – 28 sati za **BBL CHROMagar MRSA II** i potvrđivanjem svih svijetloljubičastih kolonija potvrdnim testom s očitavanjem nakon 36 – 52 sat, kombinirana ukupna podudarnost **BBL CHROMagar**

**MRSA II** u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina za sve vrste uzoraka iznosila je 99,3% (5015/5051).

#### Ispitivanje imunog odgovora

Ispitivanje imunog odgovora dvadeset (20) sojeva *S. aureusa* izvršeno je na tri klinička mjesta. Paleta je uključivala 14 MRSA i 6 MSSA uzoraka. Podudarnosti pojedinačnih mjesta i kombiniranog mjesta iznosile su 100%.

- U drugoj analizi, **BBL CHROMagar MRSA II** analizirao se u tri klinička laboratorija u zemljopisno različitim područjima s nadzorom briseva nosa. Uzorci su analizirani usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama sa sojinim agarom Trypticase s 5% ovčje krvi (TSA II) i u rutinskom postupku svakog centra za identifikaciju *S. aureus* (tradicionalna hranjiva podloga) i na pločicama **BBL CHROMagar MRSA II**. (Rutinski postupak za dva centra predstavljalo je ispitivanje lateks aglutinacije stafilokoka, a za treći centar ispitivanje koagulaze. Svim izoliranim *S. aureus* ispitana je rezistentnost na oksacilin posredovana genom *mec-A* testom difuzije diska cefoksitina). Rezultati testa difuzije diska cefoksitina (30µg) slijedili su metode i interpretativne kriterije<sup>4, 15</sup> CLSI-ja. **BBL CHROMagar MRSA II** bio je tumačen kao pozitivan na MRSA-u nakon 20 – 26 sati na temelju otkrivanja svijetloljubičastih kolonija.

U obje vanjske analize ukupno je analizirano 1613 zadovoljavajućih briseva nosa usporedbom izolacije MRSA-e na pločicama tradicionalne stanične kulture s pločicama **BBL CHROMagar MRSA II** nakon 20 do 26 sati inkubacije (tablica 6). Pozitivno i negativno postotno slaganje **BBL CHROMagar MRSA II** nakon 20-26 h s tradicionalnom staničnom kulturom bilo je 87,9% i 98,6%. Osjetljivost i specifičnost u usporedbi s testom difuzije diska cefoksitina bile su 88,8 i 99,8%.

**Tablica 6: Svojstva BBL CHROMagar MRSA II u odnosu na tradicionalnu staničnu kulturu i disk cefoksitina za briseve nosa**

Tradicionalna stanična kultura			
Tip uzorka	Vrijeme očitavanja	Pozitivno postotno slaganje (95% intervala pouzdanosti (CI))	Negativno postotno slaganje (95% intervala pouzdanosti (CI))
Brisevi nosa	24 h <sup>1</sup>	87,9% (181/206) (82,6%, 92,0%)	98,6% (1387/1407) (97,8%, 99,1%)

  

Test difuzije diska cefoksitina (CLSI)			
Tip uzorka	Vrijeme očitavanja	Osjetljivost (95% intervala pouzdanosti (CI))	Specifičnost (95% intervala pouzdanosti (CI))
Brisevi nosa	24 h <sup>1</sup>	88,8% (198/223) (83,9%, 92,6%)	99,8% (1387/1390) (99,4%, 100%)

<sup>1</sup>24 h predstavlja raspon očitavanja od 20 – 26 sati bez potrebnog potvrdnog ispitivanja

#### Analiza interne učinkovitosti

Granice osjetljivosti testa (LOD)

**BBL CHROMagar MRSA II** analiziran je u svrhu utvrđivanja granice osjetljivosti testa (LOD) izolacije meticilin-rezistentnog *S. aureusa*. Analizirana je izolacija četiri ispitna soja; dva s heterogenom i dva s homogenom MRSA na **BBL CHROMagar MRSA II**.<sup>16</sup> Neselektivne pločice agara Columbia s 5% ovčje krvi bile su upotrijebljene za utvrđivanje koncentracije organizama izražene u jedinicama koje tvore kolonije (CFU) za svaku otopinu. LOD za **BBL CHROMagar MRSA II** kretao se u rasponu od 4 – 116 CFU nakon 24 sata i 4 – 24 CFU nakon 48 sati.<sup>17</sup>



## Ispitivanje interferencije

Ukupno je analizirano 30 tvari uključujući obično korištene medicinske tvari, transportna sredstva, hranjivi bujon i hranjive podloge za kulturu krvi (hemokulturu) radi potencijalne interferencije i inhibicije MRSA-e na **BBL CHROMagar MRSA II**. Neke vodice za usta, pastile za grlo, acetilsalicilna kiselina, intimni lubrikanti i ibuprofen mogu smanjiti otkrivanje MRSA-e. Sprejevi za nos koji sadrže flutikazon propionat, azelastin hidroklorid, fenilefrin hidroklorid i oksimetazolin hidroklorid kao i pastile za grlo koje sadrže mentol pokazali su antibakterijsko djelovanje. Nijedna druga ispitana tvar, sredstvo ili podloga nije pokazala interferenciju s izolacijom MRSA-e na **BBL CHROMagar MRSA II**.<sup>17</sup>

## OGRANIČENJA POSTUPKA

- Minimizirajte izloženost **BBL CHROMagar MRSA II** svjetlu (<4 h) prije i tijekom inkubacije jer produžena izloženost može prouzročiti smanjenu izolaciju i/ili obojenost izolata.
- Inkubacija u CO<sub>2</sub> nije preporučljiva i može prouzročiti lažno negativne kulture.
- Trajanje inkubacije dulje od 36 – 52 sata nije preporučljivo.
- Za briseve nosa svojstva **BBL CHROMagar MRSA II** poboljšana su pri inkubaciji od 20-26 h pri temperaturi od 35-37°C. Niže temperature inkubacije (<35° C) i/ili kraće vrijeme inkubacije (<20 h) mogu smanjiti osjetljivost **BBL CHROMagar MRSA II**. Čestim otvaranjem vrata inkubatora smanjuje se temperatura u inkubatoru. Stoga se preporučuje što manje otvaranje vrata inkubatora te da vrata budu otvorena što je kraće moguće.
- Nakon inkubacije od 24 h ili dulje neki sojevi *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* i *Bacillus cereus* mogu stvoriti svijetloljubičaste kolonije. Ako želite možete napraviti bojenje po Gramu.
- Nakon inkubacije od 24 h ili dulje *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* i *Staphylococcus aureus* osjetljiv na meticilin rijetko također mogu stvoriti svijetloljubičaste kolonije. Ako se ne sumnja na MRSA, mogu se napraviti ispitivanja koagulaze i protumikrobne osjetljivosti (AST).
- Rijetki sojevi MRSA-e pokazali su osjetljivost na bazu **BBL CHROMagar MRSA II**. Ta osjetljivost nije vezana uz rezistentnost meticilina, već se pripisuje komponenti u bazi. Posljedica toga je da ti sojevi mogu pokazati lažnu preosjetljivost na meticilin.
- Postoje rijetki sojevi MRSA koji mogu stvoriti kolonije koje nisu svijetloljubičaste na **BBL CHROMagar MRSA II**. Ako se ne sumnja na MRSA, po potrebi tretirajte potkulturom kolonije koje nisu svijetloljubičaste radi identifikacije i ispitivanja osjetljivosti.
- Velika količina bakterija i/ili neki uzorci mogu prouzročiti nespecifičnu obojenost primarnog kvadranta podloge. Kao rezultat toga podloga može pokazivati svijetloljubičastu, purpurnu, zelenu ili plavu obojenost ili laganu maglicu na vrhu podloge, ali s nedostatkom izraženih kolonija. Nespecifičnu obojenost podloge treba tumačiti kao negativnu.
- *mecA*-negativni *S. aureus* može se razviti ako su minimalne inhibicijske koncentracije (MIC) oksacilina ili cefoksitina na rezistentnoj prijelomnoj točki ili blizu nje.
- Mehanizmi rezistentnosti koji nisu *mecA* (odn. granični oksacilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*-BORSA i izmijenjeni *Staphylococcus aureus*-MODSA) nisu duže analizirani s CMRSA II, stoga su svojstva CMRSA II s tim mehanizmima rezistentnosti nepoznata.
- Budući da izolacija MRSA ovisi o brojnim organizmima u uzorku, pouzdani rezultati ovise o pravilnom prikupljanju, rukovanju i pohranjivanju uzoraka.
- Jedan negativan rezultat ne smije biti isključiv temelj za dijagnostiku, obradu ili terapijske odluke. Za identifikaciju organizama, ispitivanje osjetljivosti ili epidemiološku tipizaciju mogu biti potrebne prateće kulture.

Prije prve upotrebe **BBL CHROMagar MRSA II** preporučuje se obuka o uobičajenom izgledu kolonije MRSA-e s definiranim sojevima, odn. sojevima spomenutim u **Korisničkoj kontroli kvalitete**.

## DOSTUPNOST

**REF** 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Pločaste podloge spremne za upotrebu), cpu 20

**REF** 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Pločaste podloge spremne za upotrebu), cpu 120

## REFERENCE

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/bmb15/bmb15toc>
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. Službeni podaci, BD Diagnostics.

## **DODATNE INFORMACIJE**

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke 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 the property of Becton, Dickinson and Company.