

chromID™ MRSA agar (MRSA)

IVD

Хромогенный агар для определения MRSA (скрининга метициллинорезистентных штаммов *Staphylococcus aureus*)**КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ**

Хромогенная среда chromID™ MRSA предназначена для скрининга метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) у хронических носителей и пациентов группы риска (1,7). Она не заменяет традиционные методы определения чувствительности к антибиотикам. MRSA обладает множественной устойчивостью и является частым возбудителем нозокомиальных инфекций (3, 4, 9). Быстрое определение MRSA крайне важно для предотвращения вспышек вызванных им инфекций и лечения пациента. Данная среда была разработана для обеспечения этих целей.

ПРИНЦИП

Агар chromID™ MRSA имеет богатую питательную базу из нескольких пептонов, а также содержит хромогенный субстрат (α -глюкозидаза) и несколько антибиотиков, в том числе цефокситин, что обеспечивает (2, 6):

- рост метициллинорезистентных штаммов (MRSA), включая гетерорезистентные штаммы;
- прямое определение штаммов MRSA, обладающих α -глюкозидазной активностью (зарегистрированный патент): колонии зеленого цвета.

Антимикробные агенты в составе селективной смеси ингибируют рост большинства бактерий, не принадлежащих к роду *Staphylococcus*, и дрожжей.

СОСТАВ НАБОРА**Готовая к использованию среда:**

REF 43 451	Упаковка, 20 чашек (90 мм)
REF 43 459	Упаковка, 10x10 чашек (90 мм)

MRSA *

* маркировка на каждой чашке

СОСТАВ**Расчетный состав:**

Среду можно модифицировать в соответствии с целями исследования.

Растительные и животные пептоны (бычни или свиные).....	20.1 г
ТРИС.....	0.65 г
Хромогенный субстрат	0.4 г
Селективная смесь	4.1 г
Агар.....	13 г
Очищенная вода	1 л

pH 7.3

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Термостат
- Сердечно-мозговой инфузионный бульон (ref. 42081)
- Тода-Хьюита бульон с антибиотиками (ref. 42116)

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностики *in-vitro*.
- Для профессионального использования.
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с "CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – действующая версия". За дополнительной информацией обращайтесь к "Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories - CDC/NIH – Последнее издание", а также нормативам, принятым в Вашей стране.
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте реактивы, если упаковка повреждена.
- Не используйте чашки со следами контаминации и/или испарений.
- Люди, плохо различающие цвета, могут испытывать трудности при работе с данной средой.
- При интерпретации результатов принимайте во внимание морфологию колоний, данные микроскопии, а также результаты других тестов.
- Указанные рабочие характеристики были получены с использованием процедуры, приведенной в данной инструкции, при температуре культивирования 37°C. Любые изменения приведенной процедуры могут привести к получению неверных результатов.

ХРАНЕНИЕ

- Хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить не более 2 недель в целлофановом пакете при 2-8°C в темноте.

ОБРАЗЦЫ

Среда предназначена для работы с образцами любого типа (отделяемое носа, верхних дыхательных путей, половых путей, др.). Образцы следует брать тампоном. По результатам недавно проведенного исследования, использование для взятия мазков нейлонового флокированного тампона и транспортной среды (Eswab) улучшает высыпаемость штаммов MRSA на агаре chromID™ MRSA (см. п. "Рабочие характеристики", описание 4-го исследования).

При определении MRSA в отделяемом носа и верхних дыхательных путей (только в этих образцах) можно ввести стадию обогащения.

Соблюдайте правила надлежащей лабораторной практики при взятии и транспортировке образцов, адаптированные к типам используемых образцов.

ПРИМЕНЕНИЕ

A. Посев без обогащения

- Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
- Сделайте посев образца непосредственно на агар chromID™ MRSA.
- Инкубируйте чашки в перевернутом положении (вверх дном) при 37°C в аэробных условиях. Учет результатов обычно производится через 18-24 часа после начала инкубации.
Положительный результат может быть получен через 18 часов культивирования. Однако в случае отсутствия роста или окраски колоний инкубацию следует продлить до 24 часов.
При получении отрицательного результата через 24 часа, инкубацию можно продлить еще на 24 часа, чтобы увеличить чувствительность определения.
При использовании нейлонового флокированного тампона и транспортной среды (Eswab) продление времени инкубации не обязательно.

B. Посев после обогащения

- Сделайте посев образца в бульон обогащения (сердечно-мозговой инфузионный бульон или бульон Тода-Хьюита с антибиотиками).
- Инкубируйте бульон 18-24 часа при 37°C.
- Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
- Сделайте посев из бульона обогащения на агар chromID™ MRSA.
- Инкубируйте чашки в перевернутом положении (вверх дном) при 37°C в аэробных условиях. Учет результатов обычно производится через 18-24 часа после начала инкубации.

Указанные рабочие характеристики были получены с использованием процедуры, приведенной в данной инструкции, при температуре культивирования 37°C. Сотрудники лаборатории несут ответственность за выбор любой другой температуры культивирования и проверку сохранения рабочих характеристик при этом. Примечание: условия теста (использование стадии обогащения, время инкубации) следует адаптировать к местным эпидемиологическим особенностям.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Получение даже одной типичной колонии зеленого цвета свидетельствует о наличии MRSA в образце. Зеленая окраска видна отчетливее при просмотре колоний в проходящем свете через агар.

A. Посев без обогащения

- Для отделяемого носа, получение типичных зеленых колоний через 18-24 часа свидетельствует о наличии MRSA. Для других типов образцов, следует подтверждать принадлежность типичных колоний, полученных через 18-24 часа, к виду *S. aureus*, используя биохимические или иммунологические тесты. После подтверждения принадлежности к виду *S. aureus* проверьте устойчивость штамма к метициллину.
- Через 48 часов инкубации, вне зависимости от типа образца, положительный результат следует подтверждать с использованием той же (см. выше) процедуры.

B. Посев после обогащения

- Через 18-24 часа культивирования проведите идентификацию типичных колоний.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Протокол:

Для контроля питательных свойств среды рекомендуется использовать следующие штаммы:

- *Staphylococcus aureus* ATCC® 43300
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213.

Результаты:

Штамм	Результат при 33-37°C	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 43300	Рост в течение 24 часов	Колонии зеленого цвета
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Отсутствие роста в течение 48 часов	

Примечание:

Контроль качества следует осуществлять в соответствии с действующими нормами и положениями (частота, количество штаммов, температура культивирования...).

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Некоторые штаммы *S. aureus*, имеющие ген метициллинорезистентности *mec A*, но характеризующиеся низкими МИК для цефокситина (≤ 4 мг/л), могут не образовать колоний на данной среде.
- Некоторые штаммы *S. aureus*, не имеющие гена *mec A*, могут образовывать характерные колонии на данной среде через 24 или 48 часов инкубации.
- Некоторые штаммы коагулазоотрицательных стафилококков могут образовывать бледно-зеленые колонии. При появлении такой окраски через 48 часов культивирования, результат следует считать отрицательным.
- Некоторые другие микроорганизмы (не *S. aureus*) могут образовывать зеленые, но имеющие другой фенотипический вид колонии, что позволяет легко отличить их от колоний MRSA (*Bacillus*, грамотрицательные палочки, энтерококки, продуценты БЛРС).
- Если для определения чувствительности к антибиотикам использовать колонии, снятые с агара chromID™ MRSA, для гликопептидов могут быть получены неадекватные результаты (отмечена тенденция к получению завышенных значений МИК для гликопептидов).

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Исследования агара chromID™ MRSA проводились на базе 4 учреждений на клинических образцах в ходе мониторинга MRSA.

В первом исследовании (Франция) (8) использовали 278 мазков из носовых пазух (в том числе 28 замороженных предположительно положительных образцов). Среду chromID™ MRSA сравнивали с двумя другими средами:

- коммерчески доступной средой, при наличии характерных колоний на которой для подтверждения результатов требуется тест на коагулазу;
- колумбийским агаром + 5% бараньей крови + смесь CNA (селективное выделение грамположительных бактерий) в сочетании с тестами для подтверждения метициллинорезистентности (коагулаза + ген *mecA* методом ПЦР).

Посев образца осуществляли непосредственно на агар (без стадии обогащения). Культивирование осуществляли при 33-37°C в аэробных условиях. Учет результатов производили через 18-24 часа и 48 часов. Положительные результаты были получены для 45 образцов, включая 23 замороженных (по крайней мере, на одной из трех сред).

Высеваемость MRSA			
	chromID™ MRSA	Среда сравнения другого производителя	Колумб. агар + CNA + тест на коагулазу + детекция <i>mecA</i>
18-24 часа	42/45 (Ч = 93.3%) (С = 98.7%)	38/45 (Ч = 84.4%) (С = 88.8%)	42/45
48 часов	43/45 (Ч = 95.6%)	43/45 (Ч = 95.6%)	43/45

Ч: чувствительность метода

С: специфичность

Во втором исследовании (Бельгия) (5) использовали 491 образец, в том числе 363 мазка из носовых пазух, 47 мазков нёба, 46 урогенитальных мазков и 35 прочих образцов. Среду chromID™ MRSA сравнивали с колумбийским агаром + 5% бараньей крови в сочетании с тестами для подтверждения метициллинорезистентности (коагулаза + ген *mecA* методом ПЦР). Посев образцов производили на агар без предварительного обогащения, или после обогащения в сердечно-мозговом инфузионном бульоне +7.5% NaCl. Инкубировали при 33-37°C в аэробных условиях. Учет результатов производили через 18-24 часа и 48 часов инкубации при 33-37°C в аэробных условиях. Положительные результаты были получены для 55 образцов (по крайней мере, на одной из двух сред, вне зависимости от метода).

Посев без обогащения		
	chromID™ MRSA	Колумб. агар с бараньей кровью + тест на коагулазу + детекция <i>mecA</i>
18-24 часа	35/55 (Ч = 63.6%) (С = 99.8%)	30/55
48 часов	54/55 (Ч = 98.1%)	38/55

Ч: чувствительность метода

С: специфичность

В третьем исследовании (Бельгия) использовали 770 образцов: 119 мазков из носа, 355 мазков из зева, а также 296 образцов других типов. Посев образцов производили без предварительного обогащения, или после обогащения в сердечно-мозговом инфузионном бульоне и бульоне Тода-Хьюита с антибиотиками. Учет результатов производили через 22-24 часа и 48 часов инкубации при 33-37°C в аэробных условиях для вариантов без фазы обогащения, или через 18-24 часа для вариантов с фазой обогащения.

		Посев на агар chromID™ MRSA без обогащения		Посев после обогащения в сердечно-мозговом бульоне		Посев после обогащения в бульоне Тода-Хьюита с антибиотиками	
		Нос	Зев	Нос	Зев	Нос	Зев
22-24 часа		17/22 Ч=77.3% С=100%	15/22 Ч=68.2% С=97.9%*	21/22 Ч=95.5% С=96.9%*	17/22 Ч=77.3% С=90.7%*	20/22 Ч=90.9% С=95.9%*	19/22 Ч=86.4% С=92.2%*
48 часов			19/22 Ч=86.4%	17/22 Ч=77.3%	--	--	--

Ч: чувствительность метода

С: специфичность

* Специфичность без подтверждения

В четвертом исследовании (Франция) использовали 167 образцов, в том числе 144 образца отделяемого носа и 23 часа отделяемого ран. В этом исследовании, сравнивали набор для взятия образца Eswab (нейлоновый флокированный тампон и транспортная среда) с обычным полиуретановым тампоном (без транспортной среды). Для взятия образцов оба тампона использовали в параллели. Посев образцов производили непосредственно на агар chromID™ MRSA, без стадии обогащения. Учет результатов производили через 18, 24 и 48 часов культивирования при 33-37°C в аэробных условиях. Положительные результаты были получены для 59 образцов, по крайней мере, с использованием одного из двух типов тампонов.

	Набор для взятия образца Eswab	Полиуретановый тампон без транспортной среды
18 часов	51/59 (Ч=86.4%) (С=97.2%)	45/59 (Ч=76.2%) (С=98.2%)
24 часа	55/59 (Ч=93.2%) (С=97.2%)	48/59 (Ч=81.4%) (С=98.2%)
48 часов	55/59 (Ч=93.2%) (С=96.3%)	51/59 (Ч=86.4%) (С=97.2%)

Ч: чувствительность метода

С: специфичность

Использование набора для взятия образца Eswab существенно увеличивает высеваемость штаммов MRSA на агаре chromID™ MRSA при культивировании в течение 18 и 24 часов.

В этом случае, нет необходимости в продлении времени культивирования до 48 часов и учете результата через 48 часов после начала культивирования.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Согласно проведенным внутренним исследованиям, нейлоновый флокированный тампон (Ref. 280101) совместим с агаром chromID™ MRSA.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизируйте неиспользованные и использованные реактивы, а также контаминированные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Сотрудники лаборатории несут ответственность за утилизацию отходов в соответствии с типом и классом опасности и согласно действующим правилам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- NAHIMANA I., FRANCIOLI P., BLANC D. S. – Evaluation of three chromogenic media (MRSA ID, MRSA-Select and CHROMagar MRSA) and ORSAB for surveillance cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. – *J. Clin. Microbiol. and Infect.*, 2006.
- DAVIES A., PERRY J.D., BUTTERWORTH L.A. et al - An evaluation of MRSA ID: a new chromogenic medium for the isolation and identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - R2151, Prague (République Tchèque) 2004 14th, ECCMID.
- LELIEVRE H., LINA G., JONES M. E. et al. - Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. – *J. Clin. Microbiol.*, Nov. 1999, vol. 37, n°11, p. 3452-3457
- MUTO C.A., JERNIGAN J.A., OSTROWSKY B.E. et al. – Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2003, Vol. 24, p. 362-386.
- NONHOFF C., STRUELENS M.J., BRENNER A. et al. - Comparison of MRSA ID medium and enrichment broth culture for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriers by muco-cutaneous surveillance cultures. - Poster, Copenhagen (Danemark) 2005 15 th, ECCMID.
- PERRY J.D., RENNISON C., BUTTERWORTH L.A. et al. – Evaluation of *S. aureus* ID, a new chromogenic agar medium for detection of *Staphylococcus aureus*. - *J. Clin. Microbiol.*, Dec. 2003, vol. 41, p. 5695-5698.
- PERRY J.D., DAVIES A., BUTTERWORTH L.A. et al. – Development and evaluation of a chromogenic agar medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - *J. Clin. Microbiol.*, Oct 2004, vol. 42, n° 10, p. 4519-4523.

- REVERDY M.E., ORENGA S., ROCHE J.M. et al. - Multiresistant bacteria screening: clinical evaluation of MRSA ID, a new chromogenic medium for the screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. - Poster, Copenhague (Danemark) 2005 15 th, ECCMID
- SEVIN E., LARMARAUD-SEVIN O., LEGRAND P. – Approche moléculaire de la résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus*. - *Revue française des laboratoires*, 1999, vol. 315, p. 25-31.
- C. Nonhoff, O. Denis, A. Brenner, P. Buidin, C. Thiroux, M. Struelens. (Brussels, BE)
Comparison of three chromogenic media for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from screening swabs in hospitalised patients
ECCMID MUNICH 31.03.2007 au 03.04.2007 poster n°1605

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для диагностики in-vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Беречь от света
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Содержимого достаточно для <n> тестов

bioMérieux, голубой логотип и chromID являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации торговыми марками, принадлежащими компании bioMérieux SA или одной из ее дочерних компаний.
ATCC является торговой маркой, принадлежащей Американской типовой коллекции клеточных культур.
Другие названия и торговые марки являются собственностью их законных владельцев.



bioMérieux SA
au capital de 12 029 370 €
RCS LYON 673 620 399

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

