



BBL™ CHROMagar MRSA II*

VERWENDUNGSZWECK

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSAII) ist ein selektives Differenzierungsmedium für den direkten Nachweis von methicillinresistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) aus klinischen Proben. Der Test kann an Proben aus dem Atemtrakt, dem unteren Gastrointestinaltrakt, der Haut und aus Wunden sowie zur Untersuchung der Nasenkolonisation aus dem Nasenvorhof durchgeführt werden, um die Prävention und Kontrolle von MRSA-Infektionen im Gesundheitsbereich zu unterstützen. Außerdem kann der Test mit positiven Blutkulturfläschchen durchgeführt werden, die grampositive Kokken enthalten.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

MRSA ist eine Hauptursache für nosokomiale und lebensbedrohliche Infektionen. MRSA-Infektionen werden mit einer signifikant höheren Morbidität und Mortalität sowie einer beträchtlichen Kostensteigerung im Vergleich zu Infektionen durch methicillinempfindlichen *S. aureus* (MSSA) in Verbindung gebracht.¹ Die Selektion dieser Organismen war zwar im Gesundheitsbereich größtmöglich, aber dennoch ist auch MRSA in der Gesellschaft insgesamt verbreiteter geworden.^{2,3}

Zur Kontrolle der Übertragung von MRSA hat die „Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)“ Richtlinien veröffentlicht, die unter anderem ein aktives Überwachungsprogramm vorsehen, um potenzielle Infektionsquellen zu erkennen. Außerdem wurde ein strenges Programm zur Infektionskontrolle auf den Weg gebracht, um die Verbreitung von MRSA einzuschränken.¹

BBL CHROMagar MRSA II ist ein selektives Differenzierungsmedium mit Cefoxitin für den Nachweis von MRSA in Proben aus dem Atemtrakt (z. B. Nasenhöhlen, Hals und Sputum), dem unteren Gastrointestinaltrakt (z. B. Rektalbereich und Stuhl), der Haut (z. B. Leisten-/Achselbeuge und Damm-/Afterbereich) und aus Wunden sowie in positiven Blutkulturfläschchen, die grampositive Kokken enthalten.

BBL CHROMagar MRSA II ist eine modifizierte Version der existierenden Formulierung von CHROMagar MRSA, die von A. Rambach und BD entwickelt wurde. Sie wird von BD unter einem Lizenzabkommen mit CHROMagar in Paris, Frankreich vertrieben.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Mikrobiologische Methode

BBL CHROMagar MRSA II ermöglicht den direkten Nachweis und die Identifizierung von MRSA durch die Integration von spezifischen chromogenen Substraten und Cefoxitin. MRSA-Stämme wachsen in Anwesenheit von Cefoxitin⁴ und produzieren durch Hydrolyse der chromogenen Substrate rosa bis hellviolette Kolonien. Zur Unterdrückung von gramnegativen Organismen, Hefen und einigen anderen grampositiven Kokken sind weitere selektive Agenzien enthalten. Nicht-MRSA-Bakterien können andere chromogenen Substrate in dem Medium verwerten, die blaue bis blaugrüne Kolonien ergeben. Falls keine chromogenen Substrate verwertet werden, sind die Kolonien weiß oder farblos.

*Patente in Europa, USA und Kanada angemeldet

REAGENZIE

BBL CHROMagar MRSA II

Ungefähre Zusammensetzung* pro Liter destilliertes Wasser

Chromopepton	35,0 g
Chromogenmischung	0,5 g
Natriumchlorid	17,5 g
Hemmstoffe	7,52 g
Cefoxitin	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 ± 0,2 bei 25 °C

*Nach Bedarf auf die geforderten Testkriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD Nur zum Gebrauch durch Fachpersonal. 

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen wie Hepatitis-Viren und HIV enthalten. Beim Umgang mit allen durch Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Gegenständen sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁵⁻⁸ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Gebrauchsfertige Platten, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien müssen nach der Verwendung im Autoklaven sterilisiert und erst danach entsorgt werden. Weitere Einzelheiten sind im Dokument **ALLGEMEINE BEDIENUNGSANLEITUNG** zu finden.

Haltbarkeit des Produkts: Platten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissbildung oder bei sonstigen Anzeichen einer Qualitätsverschlechterung nicht verwenden.

Vor der erstmaligen Verwendung von **BBL CHROMagar MRSA II** ist zu empfehlen, sich das typische Aussehen der MRSA-Kolonien mit Hilfe von definierten Stämmen (z. B. den unter **QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER** erwähnten Stämmen) einzuprägen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt die Platten bis zur Inokulation original verpackt im Karton bei 2 – 8 °C lagern. Sowohl vor als auch während der Inkubation **BBL CHROMagar MRSA II** vor Lichteinwirkung schützen (höchstens 4 Stunden), da eine längere Lichtexposition zu einer herabgesetzten Isolierung und/oder Färbung der Isolate führen kann. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (siehe Plattenprägung oder Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Platten aus geöffneten 10-Stück-Packungen können bis zu einer Woche verwendet werden, wenn sie in einem sauberen, dunklen Bereich bei 2 – 8 °C aufbewahrt werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER*

Die Platten auf Anzeichen einer Qualitätsverschlechterung überprüfen (siehe „Haltbarkeit des Produkts“).

Eine Leistungsprüfung durch Inokulation repräsentativer Proben mit Verdünnungen der Kulturen wie nachfolgend beschrieben durchführen:

1. Die Platten zur Isolierung ausstreichen. Bei *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 und *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 direkte Inokulation verwenden.⁹
2. Die Platten bei 35 – 37 °C aerob inkubieren.
3. Für alle Organismen Platten mit Columbia-Agar und 5 % Schafblut als nichtselektive Kontrollen mittesten.
4. Die Platten nach 20 – 26 Stunden auf Isolierung, Koloniegröße und Farbe überprüfen. Die zu erwartenden Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle beschrieben:

Teststamm	Zu erwartende Ergebnisse
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Wachstum von rosa bis hellvioletten Kolonien
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Kein Wachstum

* Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der kommunal, landesweit und/oder bundesweit geltenden Vorschriften, der Zulassungsbestimmungen und/oder der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Der Anwender kann sich bezüglich geeigneter Maßnahmen zur Qualitätskontrolle an die CLSI-Richtlinien halten.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BBL CHROMagar MRSA II (90-mm-**Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Bestätigungstest wie Koagulasetest oder *Staphylococcus*-Latexagglutinationstest (z. B. **Staphyloslide**), Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen, zusätzliche Kulturmedien und sonstige benötigte Laborausstattung.

Probenarten

Das Medium kann für Proben aus dem Atemtrakt (z. B. Rachenabstriche und Sputum), dem unteren Gastrointestinaltrakt (z. B. Rektalbereich und Stuhl), der Haut (z.B. Leisten-/Achselbeuge und Damm-/Afterbereich), dem Nasenvorhof und aus Wunden verwendet werden sowie für positive Blutkulturfläschchen, die grampositive Kokken enthalten.

Probenentnahme und -handhabung

Es wird die Verwendung speziell für die Entnahme von mikrobiologischen klinischen Proben zugelassener Transportsysteme empfohlen. Halten Sie sich an die Anweisungen des Herstellers dieser Transportsysteme.

Weitere Informationen zur Probenentnahme und -handhabung sind in der einschlägigen Fachliteratur zu finden.^{10, 11}

Testverfahren

Aseptisch vorgehen. Die Agaroberfläche sollte glatt und feucht sein, jedoch keine überschüssige Feuchtigkeit aufweisen. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

- **Proben aus dem Nasenvorhof:** Die Proben so bald wie möglich nach Eingang im Labor auf einer **BBL CHROMagar MRSA II**-Platte inokulieren und zum Isolieren ausstreichen. Die Platten in umgekehrter Position aerob 20 – 26 Stunden lang bei 35 – 37 °C inkubieren.
- **Positive Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken:** Sobald das Blutkulturfläschchen als positiv bestimmt wurde und die Gramfärbung das Vorhandensein von grampositiven Kokken bestätigt, ein Aliquot aus dem Fläschchen entnehmen und eine **BBL CHROMagar MRSA II**-Platte inokulieren und zur Isolierung ausstreichen. Die Platten in umgekehrter Position aerob 18 – 28 Stunden lang bei 35 – 37 °C inkubieren. Eine Inkubation von mehr als 18 – 28 Stunden ist nicht erforderlich.
- **Alle anderen Proben (Rachen, Sputum, unterer Gastrointestinaltrakt, Haut und Wunde):** Die Proben so bald wie möglich nach Eingang im Labor auf einer **BBL CHROMagar MRSA II**-Platte inokulieren und zum Isolieren ausstreichen. Die Platten in umgekehrter Position aerob 18 – 28 Stunden lang bei 35 – 37 °C inkubieren. Wenn keine hellvioletten Kolonien sichtbar werden, Inkubation bis zu einer Gesamtzeit von 36 – 52 Stunden fortsetzen.

Nicht in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre inkubieren. Sowohl vor als auch während der Inkubation **BBL CHROMagar MRSA II** vor Lichteinwirkung schützen (nicht mehr als 4 Stunden exponieren), da eine längere Lichtexposition zu einem reduzierten Nachweis und/oder Färbung der Isolate führen kann. Nach Entwicklung der Koloniefarbe ist Lichteinwirkung erlaubt.

ERGEBNISSE

Nach ordnungsgemäßer Inkubation die Platten vor einem weißen Hintergrund ablesen. MRSA-Kolonien erscheinen auf dem **BBL CHROMagar MRSA II**-Medium als rosa bis hellviolette Kolonien. Andere Organismen (nicht MRSA) werden gehemmt oder produzieren blaue bis blaugrüne, weiße oder farblose Kolonien. Zur Interpretation der Ergebnisse Tabelle 1 bis 3 heranziehen.

Tabelle 1: Interpretation der Ergebnisse bei Proben aus dem Nasenvorhof

Nach 20 – 26 Stunden Inkubation	Interpretation/Empfohlene Vorgehensweise
Hellviolette Kolonien, die morphologisch an Staphylokokken erinnern*	Positiv – MRSA nachgewiesen
Andersfarbige (keine hellvioletten) Kolonien	Negativ – Kein MRSA nachgewiesen
Kein Wachstum	Negativ – Kein MRSA nachgewiesen

* Siehe VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Tabelle 2: Interpretation der Ergebnisse bei positiven Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken

Nach 18 – 28 Stunden Inkubation	Interpretation/Empfohlene Vorgehensweise
Rosa bis hellviolette Kolonien, die morphologisch an Staphylokokken erinnern*	Positiv – MRSA nachgewiesen
Keine rosa bis hellvioletten Kolonien	Negativ – Kein MRSA nachgewiesen

* Siehe VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Tabelle 3: Interpretation der Ergebnisse bei Proben aus dem Hals, Sputum, unteren Gastrointestinaltrakt, der Haut und aus Wunden

Nach 18 – 28 Stunden Inkubation		Interpretation/Empfohlene Vorgehensweise
Rosa bis hellviolette Kolonien, die morphologisch an Staphylokokken erinnern*		MRSA nachgewiesen
Keine rosa bis hellvioletten Kolonien		Für weitere 18 bis 24 Stunden inkubieren, bis eine Gesamtinkubationszeit von 36 bis 52 Stunden erreicht ist
Nach 36 – 52 Stunden Inkubation	Empfohlene Vorgehensweise	Interpretation
Rosa bis hellviolette Kolonien*	Direkten Bestätigungstest ausführen (z. B. Koagulasetest oder <i>Staphylococcus</i> -Latexagglutinationstest)	Verläuft die Koagulase oder die <i>Staphylococcus</i> -Latexagglutination positiv – MRSA nachgewiesen Verläuft die Koagulase oder die <i>Staphylococcus</i> -Latexagglutination negativ – Kein MRSA nachgewiesen
Keine rosa bis hellvioletten Kolonien	N. z.	Kein MRSA nachgewiesen

* Siehe VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

N. z. = nicht zutreffend

ERWARTETE WERTE

Die Anzahl der MRSA-Infektionen im Gesundheitsbereich hat dramatisch zugenommen, und die MRSA-Verbreitung wird in der Gesellschaft stetig größer. Neueste Publikationen deuten darauf hin, dass *S. aureus*-bedingte Krankenhausaufenthalte um 62 % zugenommen haben und dass sich die geschätzte Anzahl von Krankenhausaufenthalten bedingt durch methicillinresistenten *S. aureus* im Zeitraum von 1999 bis 2005 mehr als verdoppelt hat.¹² Die NNIS-Daten (National Nosocomial Infections Surveillance System) weisen darauf hin, dass sich der MRSA-Anteil der *S. aureus*-Infektionen auf den Intensivstationen auf 59,5 – 64,4 % erhöht hat. Außerdem wurden dramatische Erhöhungen der Fälle von Haut- und Weichgewebeinfektionen beobachtet, was darauf hindeutet, dass sich die in der Gesellschaft auftretenden MRSA-Infektionen in den Krankenhäusern ausbreiten.^{12, 13}

LEISTUNGSMERKMALE

BBL CHROMagar MRSA II ist ein selektives Differenzierungsmedium für den direkten qualitativen Nachweis von methicillinresistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) aus klinischen Proben. Der Test kann an Proben aus dem Atemtrakt, dem unteren Gastrointestinaltrakt, der Haut und aus Wunden nach einer Inkubationszeit von 18 bis 52 Stunden durchgeführt werden. Der Test kann außerdem zur Untersuchung der Nasenkolonisation an Proben aus dem Nasenvorhof mit einer Inkubationszeit von 20 bis 26 Stunden durchgeführt werden, um die Prävention und Kontrolle von MRSA-Infektionen im Gesundheitsbereich zu unterstützen. Zudem können positive Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken nach einer Inkubationszeit von 18 bis 28 Stunden getestet werden.

Externe Leistungsbeurteilungen

Es wurden zwei externe Leistungsbeurteilungen durchgeführt:

- In der ersten Beurteilung wurde **BBL CHROMagar MRSA II** von vier verschiedenen klinischen Labors anhand von prospektiven Proben aus dem Atemweg (z. B. Nasenhöhlen, Hals und Sputum), dem unteren Gastrointestinaltrakt (z. B. Rektalbereich und Stuhl), der Haut (z. B. Leisten-/Achselbeuge und Damm-/Afterbereich) und aus Wunden sowie anhand von positiven Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken beurteilt.
Die Proben wurden durch Vergleich der Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturmedien (z. B. Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut, Columbia-Agar mit 5 % Schafblut oder CNA (Colistin-Nalidixinsäure-Agar), je nach Probentyp) und **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten beurteilt. Der auf traditionellen Kulturmedien isolierte *S. aureus* wurde mit dem Diffusionstestverfahren mit Cefoxitin-Kontrollblättchen getestet. Die Ergebnisse des Cefoxitin-Blättchendiffusionstests wurden nach den CLSI-Bewertungskriterien für den Nachweis von Methicillin-Resistenz (R) und Methicillin-Empfindlichkeit (S), ($R \leq 21$ mm und $S \geq 22$ mm) beurteilt.^{4, 15} **BBL CHROMagar MRSA II** wurde nach 18 – 28 Stunden bei Nachweis hellvioletter Kolonien als MRSA-positiv interpretiert oder nach 36 – 52 Stunden bei Nachweis hellvioletter Kolonien mit Bestätigung für *S. aureus*.

Die Gesamtverbreitung von MRSA bei **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 15 % (778/5051), was einem Anteil von 65,6 % (778/1186) an den gesamten *S. aureus* entsprach. Bei den traditionellen Kulturplatten (z. B. Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut, Columbia-Agar mit 5 % Schafblut oder CNA (Colistin-Nalidixinsäure-Agar) lag die MRSA-Isolierungsrate bei 79,8 % (621/778), während sie sich bei **BBL CHROMagar MRSA II** auf 95,6 % (744/778) belief.

Proben aus dem Atemtrakt:

Insgesamt wurden 1446 Proben aus dem Atemtrakt evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 92,4 % (219/237) und damit höher als die auf traditionellen Kulturplatten nach 48 Stunden erzielte in Höhe von 76,8 % (182/237). Bei den Ergebnissen nach 18 – 28 Stunden wurden zwei falsche Positivwerte auf **BBL CHROMagar MRSA II** beobachtet, woraus sich eine Spezifität von 99,8 % (1216/1218) ergab. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit einem Bestätigungstest beim Ablesen nach 36 – 52 Stunden lag die Gesamtübereinstimmung des **BBL CHROMagar MRSA II**-Tests im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für Proben aus dem Atemtrakt bei 98,6 % (1426/1446).

Proben aus dem unteren Gastrointestinaltrakt:

Insgesamt wurden 694 Proben aus dem unteren Gastrointestinaltrakt evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 98,3 % (118/120) und war damit höher als die auf traditionellen Kulturplatten nach 48 Stunden erzielte in Höhe von 77,5 % (93/120). Es wurden keine falschen

Positivproben auf **BBL CHROMagar MRSA II** beobachtet. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit einem Bestätigungstest beim Ablesen nach 36 – 52 Stunden lag die Gesamtübereinstimmung des **BBL CHROMagar MRSA II**-Tests im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für Proben aus dem unteren Gastrointestinaltrakt bei 99,7 % (692/694).

Tabelle 4 MRSA-Isolierung: BBL CHROMagar MRSA II gegenüber traditioneller Kultur

Proben Kategorie	Ablesezeit ¹⁾	MRSA-Isolierung	
		Traditionelle Kultur	CMRSAII
Atemtrakt	24 h	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 h	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
Unterer Gastrointestinaltrakt	24 h	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 h	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Haut	24 h	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 h	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Wunde	24 h	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)
	48 h	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Blutkultur ²⁾	24 h	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Kombiniert ³⁾	24 h	83,1% (621/747)	89,8% (671/747)
	48 h	79,8 % (621/778)	95,6 % (744/778)

¹⁾ 24 h stellt einen Ablesebereich von 18 – 28 Stunden ohne erforderlichen Bestätigungstest dar, 48 h einen Ablesebereich von 36 – 52 Stunden mit einem Bestätigungstest.

²⁾ Positive Blutkulturfläschchen, die grampositive Kokken enthalten

³⁾ Schließt alle Probenotypen ein (Atemtrakt, unterer Gastrointestinaltrakt, Haut, Wunden und Blutkultur)

Hautproben:

Insgesamt wurden 1275 Hautproben evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 96,1 % (171/178) und war damit höher als die auf traditionellen Kulturplatten nach 48 Stunden erzielte in Höhe von 66,3 % (118/178). Es wurden keine falschen Positivproben auf **BBL CHROMagar MRSA II** beobachtet. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit einem Bestätigungstest beim Ablesen nach 36 – 52 Stunden lag die Gesamtübereinstimmung des **BBL CHROMagar MRSA II**-Tests im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für Hautproben bei 99,5 % (1268/1275).

Wundproben:

Insgesamt wurden 948 Wundproben evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 94,6 % (123/130) und war damit höher als die auf traditionellen Kulturplatten nach 130 Stunden erzielte in Höhe von 88,5 % (115/130). Es wurden keine falschen Positivproben auf **BBL CHROMagar MRSA II** beobachtet. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit einem Bestätigungstest beim Ablesen nach 36 – 52 Stunden lag die Gesamtübereinstimmung des **BBL CHROMagar MRSA II**-Tests im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für Wundproben bei 99,3 % (941/948).

Tabelle 5: BBL CHROMagar MRSA II-Leistung gegenüber traditioneller Kultur und Cefoxitin-Blättchen nach Probentyp

		Cefoxitin-Blättchen	
Proben Kategorie	Ablesezeit ¹⁾	Empfindlichkeit (95 % CI)*	Spezifität (95 % CI)*
Atemtrakt	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 %)
Unterer Gastrointestinaltrakt	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 %)
Haut	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 %)
Wunde	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 %)
Blutkultur ²⁾	24 h	100 % (113/113) (96,8 %, 100 %)	100 % (575/575) (99,4 %, 100 %)
Kombiniert 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 = Vertrauensintervall

¹⁾ 24 h stellt einen Ablesebereich von 18 – 28 Stunden ohne erforderlichen Bestätigungstest dar, 48 h einen Ablesebereich von 36 – 52 Stunden mit einem Bestätigungstest.

²⁾ Positive Blutkulturfläschchen, die grampositive Kokken enthalten

³⁾ Schließt alle Probentypen ein (Atemtrakt, unterer Gastrointestinaltrakt, Haut, Wunden und Blutkultur)

Positive Blutkulturfläschchen, die grampositive Kokken enthalten:

Insgesamt wurden 688 positive Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** und auf traditionellen Kulturplatten war nach 18 – 28 Stunden identisch und lag bei 100 % (113/113). Es wurden keine falschen Positivproben auf **BBL CHROMagar MRSA II** beobachtet. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien lag die Gesamtübereinstimmung beim Vergleich zwischen **BBL CHROMagar MRSA II**-Test und Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für positive Blutkulturfläschchen bei 100 % (688/688).

Kombinierte Probenarten:

Insgesamt wurden 5051 kombinierte Proben evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten verglichen wurde. Die Gesamtisolierung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** lag bei 95,6 % (744/778) und war damit höher als die auf traditionellen Kulturplatten für eine Kombination aus allen Probentypen (Atemtrakt, unterer Gastrointestinaltrakt, Haut, Wunden und positive Blutkulturfläschchen mit grampositiven Kokken) erzielte in Höhe von 79,8 % (621/778). Beim Ablesen nach 18 Stunden gab es 2 falsche positive Ergebnisse bei einer Spezifität von 99,9 % (4271/4273), bei denen auf dem **BBL CHROMagar MRSA II** hellviolette Kolonien zu beobachten waren. Beim Ablesen des **BBL CHROMagar MRSA II** nach 18 – 28 Stunden allein nach Farbe der Kolonien und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit einem Bestätigungstest beim Ablesen nach 36 – 52 Stunden lag die kombinierte Gesamtübereinstimmung des **BBL CHROMagar MRSA II**-Tests im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchendiffusionstest für alle Probentypen bei 99,3 % (5015/5051).

Referenztests

Das Testen von zwanzig (20) *S. aureus* Referenzstämmen wurde von drei amerikanischen klinischen Studienzentren durchgeführt. Das Profil bestand aus 14 MRSA und 6 MSSA. Die Übereinstimmung der einzelnen Zentren sowie aller Zentren zusammen betrug jeweils 100 %.

- In der zweiten Beurteilung wurde **BBL CHROMagar MRSA II** wurde in drei klinischen Labors in geografisch unterschiedlichen Regionen mit Hygieneüberwachungsproben von Nasenvorhöfen evaluiert. Die Proben wurden durch Vergleich der Isolierung von MRSA auf Platten mit Trypticase-Soja-Agar und 5 % Schafblut (TSA II) mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten beurteilt. Zudem wurden an jedem Standort die üblichen Verfahren zur Bestimmung von *S. aureus* (traditionelle Kultur) verwendet. (Die Routineverfahren an zwei Standorten schlossen Staphylokokken-Latex-Agglutinationstests ein. Am dritten Standort wurde ein Koagulasetest durchgeführt. Alle isolierten *S. aureus* wurden mit dem Diffusionstest mit Cefoxitin-Kontrollblättchen auf *mec-A*-vermittelte Oxacillin-Resistenz getestet. Die Ergebnisse des Cefoxitin-Blättchendiffusionstests (30 µg) wurden nach den CLSI-Verfahren und -Interpretationskriterien beurteilt.^{4, 15} **BBL CHROMagar MRSA II** wurde nach 20 – 26 Stunden bei Nachweis hellvioletter Kolonien als MRSA-positiv interpretiert.

Bei beiden externen Beurteilungen wurden insgesamt 1613 Proben aus dem Nasenvorhof evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf traditionellen Kulturplatten mit der Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**-Platten nach einer Inkubationszeit von 20 bis 26 Stunden verglichen wurde (Tabelle 6). Die Positiv- und Negativ-Übereinstimmung von **BBL CHROMagar MRSA II** lag im Vergleich zu den traditionellen Kulturen nach 20 – 26 Stunden bei 87,9 % bzw. 98,6 %. Die Empfindlichkeit und die Spezifität betrugen im Vergleich mit dem Blättchendiffusionstest 88,8 % und 99,8 %.

Tabelle 6: Leistung von BBL CHROMagar MRSA II im Vergleich mit traditioneller Kultur und Cefoxitin-Blättchen bei Nasenvorhofproben

Traditionelle Kultur			
Probenart	Ablesezeit	Positiv-Übereinstimmung in Prozent (95 % CI)	Negativ-Übereinstimmung in Prozent (95 % CI)
Nasenvorhof	24 h ¹	87,9 % (181/206) (82,6 %, 92,0 %)	98,6 % (1387/1407) (97,8 %, 99,1 %)

Cefoxitin-Blättchendiffusionstest (CLSI)			
Probenart	Ablesezeit	Empfindlichkeit (95 % CI)	Spezifität (95 % CI)
Nasenvorhof	24 h ¹	88,8 % (198/223) (83,9 %, 92,6 %)	99,8 % (1387/1390) (99,4 %, 100 %)

¹24 h entspricht einem Ablesebereich von 20 – 26 Stunden ohne erforderlichen Bestätigungstest

Interne Leistungsbeurteilung

Nachweisgrenze (LOD)

BBL CHROMagar MRSA II wurde evaluiert, um die Nachweisgrenze (LOD) der Isolierung von methicillinresistentem *S. aureus* zu bestimmen. Vier Teststämme, die zwei heterogene und zwei homogene MRSA vertreten, wurden zur Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II** evaluiert.¹⁶ Kulturplatten mit nicht selektivem Columbia-Agar mit 5 % Schafblut wurden zum Nachweis der Organismuskonzentration ausgedrückt in koloniebildenden Einheiten (KBE) für jede Verdünnung verwendet. Die Nachweisgrenze für **BBL CHROMagar MRSA II** lag nach 24 Stunden bei 4 – 116 KBE und nach 48 Stunden bei 4 – 24 KBE¹⁷.

Interferenz-Studie

Insgesamt wurden 30 Substanzen, einschließlich allgemein gebräuchlicher Arzneimittel, Probentransportbehälter, Anreicherungsbouillon und Blutkulturmedien im Hinblick auf eine potentielle Interferenz und Hemmung von MRSA auf **BBL CHROMagar MRSA II** evaluiert. Einige Mundwässer, Halstropfen, Acetylsalicylsäure, persönliche Gleitmittel und Ibuprofen können die Isolierung von MRSA reduzieren. Nasensprays mit den Wirkstoffen Fluticasonpropionat, Azelastinhydrochlorid, Phenylephrinhydrochlorid und Oxymetazolinhydrochlorid sowie rezeptfreie Hustentropfen mit Menthol zeigten eine antibakterielle Aktivität.

Keine andere getestete Substanz, getesteter Behälter oder getestetes Material beeinträchtigte die MRSA-Isolierung auf **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Sowohl vor als auch während der Inkubation **BBL CHROMagar MRSA II** vor Lichteinwirkung schützen (weniger als 4 Stunden exponieren), da eine längere Lichtexposition zu einer herabgesetzten Isolierung und/oder Färbung der Isolate führen kann.
- Inkubation mit CO₂ ist nicht zu empfehlen und kann zu falschen negativen Kulturen führen.
- Eine Inkubationszeit von mehr als 36 – 52 Stunden ist nicht erforderlich.
- Die Leistung von **BBL CHROMagar MRSA II** wurde bei Nasenvorhofproben für eine Inkubation bei 35 – 37 °C mit einer Dauer von 20 – 26 Stunden optimiert. Niedrigere Inkubationstemperaturen (< 35 °C) und/oder kürzere Inkubationszeiten (< 20 Stunden) können die Empfindlichkeit von **BBL CHROMagar MRSA II** herabsetzen. Beachten Sie, dass die Inkubationstemperatur durch häufiges Öffnen des Inkubators verringert wird. Es ist daher zu empfehlen, den Inkubator möglichst wenig und dann auch nur kurz zu öffnen.
- Ab einer Inkubationszeit von 24 Stunden können manche Stämme von *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* und *Bacillus cereus* hellviolette Kolonien bilden. Bei Bedarf kann dann eine Gramfärbung durchgeführt werden.
- Ab einer Inkubationszeit von 24 Stunden können in seltenen Fällen auch *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* und methicillinempfindliche *Staphylococcus aureus* hellviolette Kolonien bilden. Wenn kein Verdacht auf MRSA besteht, können ein Koagulasetest und ein antimikrobieller Empfindlichkeitstest (AST) durchgeführt werden.
- Seltene MRSA-Stämme haben eine Empfindlichkeit gegenüber dem **BBL CHROMagar MRSA II**-Basismedium gezeigt. Diese Empfindlichkeit hat nichts mit der Methicillin-Resistenz zu tun, sondern beruht auf einer Komponente im Basismedium. Daher können diese Stämme fälschlicherweise als methicillinresistent erscheinen.
- Es gibt seltene MRSA-Stämme, die auf **BBL CHROMagar MRSA II** keine hellvioletten Kolonien, sondern Kolonien in einer anderen Farbe bilden. Bei Verdacht auf MRSA können diese andersfarbigen Kolonien zur weiteren Identifikation und Empfindlichkeitsprüfung subkultiviert werden.

- Eine hohe Bakterienbesiedlung und/oder bestimmte Proben können zu einer nichtspezifischen Färbung des primären Quadranten des Mediums führen. Dies kann zu einer hellvioletten, purpurnen, grünen oder blauen Färbung bzw. zu einem leichten Schleier auf dem Medium führen, jedoch ohne eindeutige Kolonien. Eine nichtspezifische Färbung des Mediums sollte als negativ interpretiert werden.
- *mecA*-negative *S. aureus* können wachsen, falls die Oxacillin- oder Cefoxitin-MICs eines Isolats sich am oder nahe am Resistenzgrenzwert befinden.
- Andere Resistenzmechanismen als *mecA* (z. B. grenzwertig oxacillinresistenter *Staphylococcus aureus*-BORSA und modifizierter *Staphylococcus aureus*-MODSA) wurden nicht umfassend mit CMRSA II getestet. Daher ist die Leistung von CMRSA II in Verbindung mit diesen Resistenzmechanismen nicht bekannt.
- Da die Isolierung von MRSA von der Anzahl der Organismen in der Probe abhängt, sind zuverlässige Ergebnisse nur dann möglich, wenn die Entnahme, Handhabung und Aufbewahrung der Proben sachgemäß durchgeführt werden.
- Ein einzelnes negatives Ergebnis sollte nicht als alleinige Grundlage für Diagnose-, Behandlungs- oder Verwaltungsentscheidungen verwendet werden. Bei Bedarf müssen weitere Kulturen angelegt werden, um die Organismusidentifikation, Empfindlichkeitsprüfung oder epidemiologische Typisierung durchzuführen.

Vor der erstmaligen Verwendung von **BBL CHROMagar MRSA II** ist zu empfehlen, sich das typische Aussehen der MRSA-Kolonien mit Hilfe von definierten Stämmen (z. B. den unter **QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER** erwähnten Stämmen) einzuprägen.

LIEFERBARE PRODUKTE

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Gebrauchsfertige Plattenmedien), 20 Platten

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Gebrauchsfertige Plattenmedien), 120 Platten

LITERATUR

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-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, 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. Unterlagen liegen vor, BD Diagnostics.

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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.