



BBL™ CHROMagar MRSA II*

TILSIGTET BRUG

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSAII) er et selektivt og differentielt medium til direkte, kvalitativ påvisning af methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) i kliniske prøver. Testen kan udføres på luftvejs-, nedre gastrointestinale (=GI), hud- og sårprøver, på næseborsprøver til screening for nasal kolonisering som en hjælp til forebyggelse og kontrol af MRSA-infektioner i sundhedssektoren og på positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker.

RESUMÉ OG FORKLARING

MRSA er en væsentlig årsag til nosokomielle og livstruende infektioner. MRSA-infektioner er blevet forbundet med signifikant højere morbiditet, mortalitet og omkostninger end methicillin-følsomme infektioner forårsaget af *S. aureus* (MSSA).¹ Tilstedeværelse af disse organismer har været mest udbredt inden for sundhedssektoren, men MRSA ses nu også i større udstrækning i samfundet generelt.^{2,3}

Med henblik på at kontrollere overførslen af MRSA har Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) udgivet retningslinjer, som inkluderer et aktivt overvågningsprogram til identifikation af potentielle reservoirer og et stramt infektionskontrolprogram til kontrol af spredningen af MRSA.¹

BBL CHROMagar MRSA II er et selektivt og differentielt medium, som indeholder cefoxitin til påvisning af MRSA i luftvejs- (f.eks. nares, hals og ekspektorat), nedre GI- (f.eks. rektum og afføring), hud- (f.eks. lyske/axilla og perinæum/perianal) og sårprøver samt positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker.

BBL CHROMagar MRSA II er en modificeret udgave af den eksisterende formulering af CHROMagar MRSA, udviklet af A. Rambach og BD, og produktet sælges af BD under en licensaftale med CHROMagar, Paris, Frankrig.

PROCEDURENS PRINCIPPER

Mikrobiologisk metode

BBL CHROMagar MRSA II-mediet muliggør direkte påvisning og identifikation af MRSA via inkorporering af specifikke kromogene substrater og cefoxitin. MRSA-stammer vil vokse ved tilstedeværelsen af cefoxitin⁴ og producere grålige kolonier som et resultat af hydrolyse af det kromogene substrat. Yderligere selektive stoffer tilføres til undertrykkelse af gramnegative organismer, gær og visse andre grampositive kokker. Andre bakterier end MRSA kan udnytte andre kromogene substrater i mediet, hvilket resulterer i blå til blågrønne kolonier, eller, hvis ingen kromogene substrater udnyttes, kolonier, der forekommer hvide eller farveløse.

*Patenter anmeldt i Europa, USA og Canada

REAGENSER

BBL CHROMagar MRSA II

Omtrentlig formel* pr. liter rensset vand

Chromopepton	35,0 g
Kromogenblanding	0,5 g
Natriumchlorid	17,5 g
Hæmmende stoffer	7,52 g
Cefoxitin	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 ved 25 °C

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

IVD Kun til professionel brug. 

Patogene mikroorganismer, herunder hepatitisvira og human immundefekt virus, kan forekomme i kliniske prøver. "Standard forholdsregler"⁵⁻⁸ og institutionelle retningslinjer skal følges ved håndteringen af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker. Efter brug skal præparerede plader, præparatbeholdere og andre kontaminerede materialer steriliseres ved autoklavering, inden de bortskaffes. Der henvises til dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for detaljer.

Produktnedbrydning: Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

Inden **BBL CHROMagar MRSA II** bruges for første gang, anbefales det, at brugeren øver sig i observation af den typiske MRSA-kolonis udseende ved hjælp af definerede stammer, f.eks. de stammer, der er nævnt i afsnittet **BRUGERKVALITETSKONTROL**.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Efter modtagelsen skal pladerne opbevares i den oprindelige indpakning og æske ved 2 – 8 °C indtil inokuleringen. Eksposeringen af **BBL CHROMagar MRSA II** over for lys skal begrænses (< 4 timer) både før og under inkuberingen, da langvarig eksposering kan resultere i reduceret påvisning og/eller farvning af isolaterne. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres op til udløbsdatoen (se datoen, som er trykt på pladen eller etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationsperioder. Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C i mørke.

BRUGERKVALITETSKONTROL*

Undersøg pladerne for tegn på nedbrydning, som beskrevet i afsnittet "Produktnedbrydning". Undersøg ydelsen ved at inokulere repræsentative prøver med fortyndinger af de kulturer, der er beskrevet herunder:

1. Udstryg pladerne til isolering. Til *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 og *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 bruges direkte inokulering.⁹
2. Inkubér pladerne ved 35 – 37 °C i en aerob atmosfære.
3. c. Inkludér Columbia agarplader med 5 % fåreblod som non-selektive kontroller for alle organismer.
4. Undersøg pladerne efter 20 – 26 t for påvisning, kolonistørrelse og farve. Se de forventede resultater i tabellen:

Teststamme	Forventede resultater
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Vækst af grållilla kolonier
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Ingen vækst

* De krævede kvalitetskontroller skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale eller nationale regulativer, akkrediteringskrav og/eller laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer. Brugeren henvises til CLSI-retningslinjer vedrørende passende kvalitetskontrolpraksis.

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BBL CHROMagar MRSA II (90 mm **Stacker**-plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Konfirmatorisk test som f.eks. koagulase eller *Staphylococcus* latex-agglutinationstestreagenser (f.eks. **Staphyloslide**), kvalitetskontrolorganismer, ekstra dyrkningsmedium og andet laboratorieudstyr efter behov.

Præparattyper

Mediet kan bruges til luftvejsprøver (f.eks. hals og ekspektorat), nedre GI-prøver (f.eks. rektum og afføring), hudprøver (f.eks. lyske/axilla og perinæum/perianal), nares- og sårprøver samt positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker.

Prøveindsamling og -håndtering

Det anbefales at bruge transportanordninger, som er godkendt til indsamling af mikrobiologiske kliniske prøver. Følg de anbefalede procedurer fra fabrikanten af transportanordningen. Brugeren henvises ligeledes til passende litteratur for detaljerede oplysninger om prøveindsamling og -håndteringsmetoder.^{10,11}

Undersøgelingsprocedure

Overhold aseptisk teknik. Agaroverfladen skal være glat og fugtig, men uden overdreven fugt. Lad mediet opnå stuetemperatur inden inokulering.

- **Næseborsprøver:** Prøven inokuleres på en **BBL CHROMagar MRSA II**-plade og udstryges for isolering snarest muligt efter modtagelse på laboratoriet. Pladerne inkuberes aerobt ved 35 – 37 °C i 20 – 26 t i omvendt position.
- **Positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker:** Så snart bloddyrkningsflasken er blevet bestemt som værende positiv, og gramfarvningen bekræfter tilstedeværelse af grampositive kokker, fjernes der en afmålt mængde; en **BBL CHROMagar MRSA II**-plade inokuleres og udstryges for isolering. Pladerne inkuberes aerobt ved 35 – 37 °C i 18 – 28 t i omvendt position. Inkubering ud over 18 – 28 t er ikke nødvendigt.
- **Alle øvrige prøver (hals-, ekspektorat-, nedre GI-, hud- og sårprøver):** Inokulér en **BBL CHROMagar MRSA II**-plade snarest muligt efter modtagelse på laboratoriet, og udstryg for isolering. Pladerne inkuberes aerobt ved 35 – 37 °C i 18 – 28 t i omvendt position. Hvis der ikke påvises grållilla kolonier, geninkuberes i 36 – 52 t i alt.

Undgå inkubering i en atmosfære, der er beriget med kuldioxid. Eksponeringen af **BBL CHROMagar MRSA II** over for lys både skal begrænses (< 4 timer) både før og under inkuberingen, da langvarig eksponering kan resultere i reduceret påvisning og/eller farvning af isolaterne. Eksponering for lys er acceptabelt efter udvikling af farvede kolonier.

RESULTATER

Efter passende inkubering aflæses pladerne imod en hvid baggrund. Kolonier af MRSA vil forekomme grållilla på **BBL CHROMagar MRSA II**-mediet. Andre organismer (ikke-MRSA) vil være hæmmet eller producere blå til blågrønne, hvide eller farveløse kolonier. Der henvises til tabel 1 – 3 for tolkning af resultater.

Tabel 1: Tolkning af resultater for næseborsprøver

20 – 26 t inkubering	Tolkning/anbefalet handling
Grållilla kolonier, der morfologisk ligner stafylokokker*	Positiv - MRSA påvist
Påvisning af ikke-grållilla kolonier	Negativ - MRSA ikke påvist
Ingen vækst	Negativ - MRSA ikke påvist

* Se "PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER"

Tabel 2: Tolkning af resultater for positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker

18 – 28 t inkubering	Tolkning/anbefalet handling
Grållilla kolonier, der morfologisk ligner stafylokokker*	Positiv - MRSA påvist
Ingen grållilla kolonier	Negativ - MRSA ikke påvist

* Se "PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER"

Tabel 3: Tolkning af resultater for hals-, ekspektorat-, nedre GI-, hud- og sårprøver

18 – 28 t inkubering	Tolkning/anbefalet handling	
Grållilla kolonier, der morfologisk ligner stafylokokker*	MRSA påvist	
Ingen grållilla kolonier	Geninkubér i yderligere 18 til 24 t for at opnå en samlet inkuberingstid på 36 – 52 timer)	
36 – 52 t inkubering	Anbefalet handling	Tolkning
Grållilla kolonier*	Udfør en direkte konfirmatorisk test (f.eks. koagulasetest eller <i>Staphylococcus</i> latex-agglutination)	Hvis koagulase eller <i>Staphylococcus</i> latex-agglutination er positiv – MRSA påvist Hvis koagulase eller <i>Staphylococcus</i> latex-agglutination er negativ – MRSA ikke påvist
Ingen grållilla kolonier	N/A	MRSA ikke påvist

* Se "PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER"

N/A = Ikke relevant

FORVENTEDE VÆRDIER

Prævalensen af MRSA-infektion er steget dramatisk på medicinske institutioner, og bærefrekvensen for MRSA stiger i samfundet. Ifølge nyere publikationer er *S. aureus*-relaterede hospitalsindlæggelser steget med 62 %, og det estimerede antal methicillin-resistente *S. aureus*-indlæggelser mere end fordoblet fra 1999 til 2005.¹² Data fra NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) viser, at andelen af MRSA blandt *S. aureus*-infektionerne er steget til 59,5 – 64,4 % for så vidt angår patienter på intensivafdelinger. Der fandtes dramatiske stigninger i incidensen af infektioner i bløddele og hud, hvilket antyder en udbredelse af samfundsrelateret MRSA på hospitaler.^{12, 13}

YDELSESKARAKTERISTIKA

BBL CHROMagar MRSA II er et selektivt og differentielt medium til direkte, kvalitativ påvisning af methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) i kliniske prøver. Testen kan udføres på luftvejs-, nedre gastrointestinale (GI), hud- og sårprøver efter 18 til 52 timers inkubering. Testen kan også udføres på næseborsprøver til screening for nasal kolonisering som en hjælp til forebyggelse og kontrol af MRSA-infektioner i sundhedssektoren efter 20 til 26 timers inkubering, og på positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker efter 18 til 28 timers inkubering.

Eksterne evalueringer af ydeevne

Der er blevet udført to eksterne evalueringer af ydeevnen:

- I den første evaluering blev **BBL CHROMagar MRSA II** evalueret på fire forskellige kliniske laboratorier med resterende, prospektive luftvejs- (f.eks. nares, hals og ekspektorat), nedre GI- (f.eks. rektum og afføring), hud- (f.eks. lyske/axilla og perinæum/perianal) og sårprøver samt positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker (tabel 4 og 5).¹⁴
Prøverne blev evalueret ved at sammenligne påvisningen af MRSA på traditionelle dyrkningsmedier (f.eks. trypton-sojaagar med 5 % fåreblod, Columbia agar med 5 % fåreblod eller CNA (colistin nalidixinsyreagar), afhængigt af prøvetypen) med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. *S. aureus* påvist på traditionelle dyrkningsmedier blev testet vha. cefoxitindiskdiffusionsmetoden. Resultaterne af cefoxitindiskdiffusionstesten fulgte CLSI-tolkningskriterierne for bestemmelse af methicillinresistens (R) og methicillinfølsomhed (S), ($R \leq 21$ mm og $S \geq 22$ mm).^{4,15} **BBL CHROMagar MRSA II** blev tolket som positiv for MRSA efter 18 – 28 t baseret på påvisning af grållilla kolonier eller efter 36 – 52 t baseret på påvisning af grållilla kolonier bekræftet som værende *S. aureus*.

Den samlede prævalens af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II** var 15 % (778/5051), eller cirka 65,6 % (778/1186) af alle *S. aureus*. For den traditionelle dyrkningsplade (f.eks. trypton-sojaagar med 5 % fåreblod, Columbia agar med 5 % fåreblod og CNA) var MRSA-påvisningsraten 79,8 % (621/778), mens MRSA-påvisningsraten for **BBL CHROMagar MRSA II** var 95,6 % (744/778).

Tabel 4 MRSA-påvisning: BBL CHROMagar MRSA II kontra traditionel dyrkning

		MRSA-påvisning	
Prøve-kategori	Aflæsningstid ¹⁾	Traditionel dyrkning	CMRSaII
Luftveje	24 t	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 t	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
Nedre GI	24 t	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 t	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Hud	24 t	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 t	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Sår	24 t	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)
	48 t	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Bloddyrkning ²⁾	24 t	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Kombineret ³⁾	24 t	83,1 % (621/747)	89,8 % (671/747)
	48 t	79,8 % (621/778)	95,6 % (744/778)

¹⁾ 24 t repræsenterer et aflæsningsområde på 18 – 28 t uden påkrævet konfirmatorisk test, og 48 t aflæsningsområdet er 36 – 52 t med konfirmatorisk test.

²⁾ Positiv bloddyrkning indeholdende grampositive kokker

³⁾ Inkluderer alle prøvetyper (luftvejs, nedre GI, hud, sår og bloddyrkning)

Tabel 5: BBL CHROMagar MRSA II ydeevne kontra traditionel dyrkning og cefoxitindisktest efter prøvetype

Prøve-kategori	Aflæsningstid ¹⁾	Cefoxitindisk	
		Sensitivitet (95 % CI)*	Specificitet (95 % CI)*
Luftveje	24 t	85,5 % (195/228) (80,3 %, 89,8 %)	99,8 % (1216/1218) (99,4 %, 100 %)
	48 t	92,4 % (219/237) (88,3 %, 95,4 %)	99,8 % (1207/1209) (99,4 %, 100 %)
Nedre GI	24 t	87,9 % (94/107) (80,1 %, 93,4 %)	100 % (587/587) (99,4 %, 100 %)
	48 t	98,3 % (118/120) (94,1 %, 99,8 %)	100 % (574/574) (99,4 %, 100 %)
Hud	24 t	88,4 % (152/172) (82,6 %, 92,8 %)	100 % (1103/1103) (99,7 %, 100 %)
	48 t	96,1 % (171/178) (92,1 %, 98,4 %)	100 % (1097/1097) (99,7 %, 100 %)
Sår	24 t	92,1 % (117/127) (86 %, 96,2 %)	100 % (821/821) (99,6 %, 100 %)
	48 t	94,6 % (123/130) (89,2 %, 97,8 %)	100 % (818/818) (99,6 %, 100 %)
Bloddyrkning ²⁾	24 t	100 % (113/113) (96,8 %, 100 %)	100 % (575/575) (99,4 %, 100 %)
Kombineret ³⁾	24 t	89,8 % (671/747) (87,4 %, 91,9 %)	100 % (4302/4304) (99,8 %, 100 %)
	48 t	95,6 % (744/778) (93,9 %, 97 %)	100 % (4271/4273) (99,8 %, 100 %)

* CI = konfidensinterval

¹⁾ 24 t repræsenterer et aflæsningsområde på 18 – 28 t uden påkrævet konfirmatorisk test, og 48 t aflæsningsområdet er 36 – 52 t med konfirmatorisk test.

²⁾ Positiv bloddyrkning indeholdende grampositive kokker

³⁾ Inkluderer alle prøvetyper (luftvejs, nedre GI, hud, sår og bloddyrkning)

Luftvejsprøver:

I alt 1446 luftvejsprøver blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**-plader var med 92,4 % (219/237) højere sammenlignet med en påvisning på 76,8 % (182/237) på traditionelle dyrkningsplader efter 48 t. Ved aflæsningen efter 18 – 28 t blev der observeret to falsk positive resultater på **BBL CHROMagar MRSA II** med en specificitet på 99,8 % (1216/1218). Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** og med bekræftelse af alle grållilla kolonier med en konfirmatorisk test ved aflæsningen efter 36 – 52 t var den samlede overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** ved sammenligning med cefoxitindiskdiffusionstesten 98,6 % (1426/1446) for luftvejsprøver.

Prøver fra nedre GI:

I alt 694 prøver fra nedre GI blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**-plader var med 98,3 % (118/120) højere sammenlignet med en påvisning på 77,5 % (93/120) på traditionelle dyrkningsplader efter 48 t. Der blev ikke observeret falsk positive prøver på **BBL CHROMagar MRSA II**. Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** og med bekræftelse af alle grållilla kolonier vha. en konfirmatorisk test ved aflæsningen efter 36 – 52 t var den samlede overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** ved sammenligning med cefoxitindiskdiffusionstesten 99,7 % (692/694) for prøver fra nedre GI.

Hudprøver:

I alt 1275 hudprøver blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**-plader var med 96,1 % (171/178) højere sammenlignet med en påvisning på 66,3 % (118/178) på traditionelle dyrkningsplader efter 48 t. Der blev ikke observeret falsk positive præparater på **BBL CHROMagar MRSA II**. Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** og med bekræftelse af alle grållilla kolonier med en konfirmatorisk test ved aflæsningen efter 36 – 52 t var den samlede overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** ved sammenligning med cefoxitindiskdiffusionstesten 99,5 % (1268/1275) for hudprøver.

Sårprøver:

I alt 948 sårprøver blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**-plader var med 94,6 % (123/130) højere sammenlignet med en påvisning på 88,5 % (115/130) på traditionelle dyrkningsplader efter 48 t. Der blev ikke observeret falsk positive resultater på **BBL CHROMagar MRSA II**. Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** og med bekræftelse af alle grållilla kolonier med en konfirmatorisk test ved aflæsningen efter 36 – 52 t var den samlede overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** ved sammenligning med cefoxitindiskdiffusionstesten 99,3 % (941/948) for sårprøver.

Positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker:

I alt 688 positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**- og traditionelle dyrkningsplader stemte overens med 100 % (113/113) efter 18 – 28 t. Der blev ikke observeret falsk positive resultater på **BBL CHROMagar MRSA II**. Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** var den samlede overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** sammenlignet med cefoxitindiskdiffusionstesten 100 % (688/688) for positive bloddyrkningsflasker.

Kombinerede prøvetyper:

Et samlet antal på 5051 kombinerede prøver blev evalueret ved sammenligning af MRSA-påvisning på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. Samlet påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II** var med 95,6 % (744/778) højere sammenlignet med en påvisning på 79,8 % (621/778) på traditionelle dyrkningsplader for alle kombinerede prøvetyper (luftvej, nedre GI, hud, sår og positive bloddyrkningsflasker indeholdende grampositive kokker). Ved aflæsningen efter 18 – 28 t blev der observeret 2 falsk positive grållilla kolonier på **BBL CHROMagar MRSA II**, med en specificitet på 99,9 % (4271/4273). Ved brug af koloniernes farve ved aflæsningen efter 18 – 28 t for **BBL CHROMagar MRSA II** og med bekræftelse af alle grållilla kolonier med en konfirmatorisk test ved aflæsningen efter 36 – 52 t var den samlede, kombinerede overensstemmelse for **BBL**

CHROMagar MRSA II ved sammenligning med cefoxitindiskdiffusionstesten 99,3 % (5015/5051) for alle præparattyper.

Udfordringstestning

Testning af tyve (20) udfordringsstammer til *S. aureus* blev foretaget på tre forskellige klinikker. Panelet indeholdt 14 MRSA og 6 MSSA. Overensstemmelsen for individuelle klinikker og klinikkerne imellem var 100 %.

- I den anden evaluering blev **BBL CHROMagar MRSA II** evalueret på tre geografisk forskellige kliniske laboratorier med overvågningsprøver fra næsebor. Prøverne blev evalueret ved at sammenligne påvisningen af MRSA på trypticase sojaagarplader med 5 % fåreblod (TSA II) og det enkelte laboratoriums rutineprocedure til identifikation af *S. aureus* (traditionel dyrkning) med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader. (Rutineproceduren på to af laboratorierne omfattede stafylokok latex-agglutinationstestning, og på det tredje laboratorium omfattede den koagulasetestning. Samtlige *S. aureus*, der blev påvist, blev testet for *mec-A*-medieret oxacilin-resistens ved hjælp af cefoxitindiskdiffusionstesten). Resultaterne af cefoxitindiskdiffusionstesten (30 µg) fulgte CLSI-metoderne og tolkningskriterierne.^{4,15} **BBL CHROMagar MRSA II** blev tolket som positiv for MRSA efter 20 – 26 t baseret på påvisning af grållilla kolonier.

Fra begge de eksterne evalueringer blev der i alt evalueret 1613 kompliant næseborsprøver, med sammenligning af MRSA-påvisningen på traditionelle dyrkningsplader med **BBL CHROMagar MRSA II**-plader efter 20 til 26 timers inkubering (tabel 6). Den positive procentvise overensstemmelse og negative procentvise overensstemmelse for **BBL CHROMagar MRSA II** efter 20 – 26 t i forhold til traditionel dyrkning var henholdsvis 87,9 % og 98,6 %. Sensitivitet og specificitet sammenlignet med cefoxitindiskdiffusionstesten var henholdsvis 88,8 og 99,8 %.

Tabel 6: BBL CHROMagar MRSA II ydeevne kontra traditionel dyrkning og cefoxitindisktest til naresprøver

Traditionel dyrkning			
Prøvetype	Aflæsningstid	Positiv procentvis overensstemmelse (95 % CI)	Negativ procentvis overensstemmelse (95 % CI)
Nares	24 t ¹	87,9 % (181/206) (82,6 %, 92,0 %)	98,6 % (1387/1407) (97,8 %, 99,1 %)

Cefoxitindiskdiffusionstest (CLSI)			
Prøvetype	Aflæsningstid	Sensitivitet (95 % CI)	Specificitet (95 % CI)
Nares	24 t ¹	88,8 % (198/223) (83,9 %, 92,6 %)	99,8 % (1387/1390) (99,4 %, 100 %)

¹24 t repræsenterer et aflæsningsområde på 20 – 26 t uden påkrævet konfirmatorisk test

Intern evaluering af ydeevne

Påvisningsgrænser (LOD)

BBL CHROMagar MRSA II blev evalueret for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LOD) for methicillin-resistent *S. aureus*. Fire teststammer, der repræsenterede to heterogene og to homogene MRSA blev evalueret for påvisning på **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁶ Ikke-selektive Columbia agarplader med 5 % fåreblod blev brugt til bestemmelse af organismekonzentrationen udtrykt i kolonidannende enheder (CFU) for hver fortynding. LOD for **BBL CHROMagar MRSA II** lå i området fra 4 – 116 CFU efter 24 t og 4 – 24 CFU efter 48 t¹⁷.

Interferensundersøgelse

I alt 30 stoffer – herunder almindeligt anvendte lægemiddelstoffer, transportanordninger, berigelsesbouillon og bloddykningsmedier – blev evalueret for potentiel interferens og hæmning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**. Visse typer mundskyl, halstabletter, acetylsalicylsyre, glidecremer og ibuprofen kan reducere påvisningen af MRSA. Næsesprays, der indeholder fluticasonpropionat, azelastinhydrochlorid, phenylephrinhydrochlorid og oxymetazolinhydrochlorid samt håndkøbshalstabletter, der indeholder mentol, påviste antibakteriel aktivitet.

Ingen andre testede stoffer, anordninger eller medier interfererede med påvisning af MRSA på **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

- Eksponeringen af **BBL CHROMagar MRSA II** over for lys både skal begrænses (< 4 timer) både før og under inkuberingen, da langvarig eksponering kan resultere i reduceret påvisning og/eller farvning af isolaterne.
- Inkubering i CO₂ anbefales ikke og kan resultere i falsk negative dyrkninger.
- Inkuberingstider over 36 – 52 t anbefales ikke.
- Til næseborsprøver er ydelsen af **BBL CHROMagar MRSA II** blevet optimeret til inkubering i 20 - 26 t ved 35 - 37 °C. Lavere inkuberingstemperaturer (<35 °C) og/eller kortere inkuberingstider (<20 t) kan reducere sensitiviteten af **BBL CHROMagar MRSA II**. Bemærk, at hyppig åbning af inkubator dørene kan reducere inkubatortemperaturen. Det anbefales derfor, at nedsætte åbning af inkubator dørene til det mindst mulige, og at gøre åbningsperioderne så korte som muligt.
- Efter inkubering i 24 t eller længere kan visse stammer af *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* og *Bacillus cereus* frembringe grållilafarvede kolonier. Hvis det ønskes, kan der udføres en gramfarvning.
- Efter inkubering i 24 t eller længere kan *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* og methicillin-følsomme *Staphylococcus aureus* omend sjældent også frembringe grållilafarvede kolonier. Hvis der ikke er mistanke om MRSA, kan der udføres en koagulasetest og en antimikrobiel følsomhedstest (AST).
- Sjældne MRSA-stammer har udvist sensitivitet over for **BBL CHROMagar MRSA II**-basen. Denne sensitivitet er urelateret til methicillin-resistens, men skyldes en bestanddel i basen. Som resultat kan disse stammer forekomme at være falskt følsomme over for methicillin.
- Der findes sjældne MRSA-stammer, som kan frembringe ikke-grållilla kolonier på **BBL CHROMagar MRSA II**. Hvis der er mistanke om MRSA, kan disse ikke-grållilla kolonier efter behov videredyrkes med henblik på yderligere identifikation og følsomhedstestning.
- Et højt bakterieniveau og/eller visse prøver kan frembringe uspecifik farvning af mediets primære kvadrant. Dette kan resultere i, at mediet udviser grållilla, lilla, grøn eller blå farvning eller et let sløret udseende på toppen af mediet men uden tydelige kolonier. Uspecifik farvning af mediet skal tolkes som et negativt resultat.
- *mecA*-negative *S. aureus* kan vokse, hvis oxacillin- eller cefoxitin-MIC'er ligger på eller nær resistensgrænsen.
- Andre resistensmekanismer end *mecA* (f.eks. borderline oxacillin-resistent *Staphylococcus aureus*-BORSA og modificeret *Staphylococcus aureus*-MODSA) har ikke været underkastet nogen grundigere evaluering med CMRSA II. Derfor er CMRSA II's ydelse med sådanne resistensmekanismer ukendt.
- Da isoleringen af MRSA er afhængig af antallet af organismer, der findes i prøven, afhænger opnåelsen af pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, -håndtering og -opbevaring.
- Et enkeltstående negativt resultat må ikke anvendes som den eneste basis for diagnostiske, behandlings- eller håndteringsbeslutninger. Samtidige dyrkninger kan være nødvendige med henblik på identifikation af organismen, følsomhedstestning eller epidemiologisk typebestemmelse.

Inden **BBL CHROMagar MRSA II** bruges for første gang, anbefales det, at brugeren øver sig i observation af den typiske MRSA-kolonis udseende ved hjælp af definerede stammer, f.eks. de stammer, der er nævnt i afsnittet **Bruger kvalitetskontrol**.

BESTILLING

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (brugsklare plademedier), cpu 20

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (brugsklare plademedier), cpu 120

LITTERATUR

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. Data i arkiv, BD Diagnostics.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD-repræsentant angående yderligere oplysninger.



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.