

BD BBL™ CHROMagar™ MRSA***VERWENDUNGSZWECK**

BBL CHROMagar MRSA ist ein selektives Differenzierungsmedium für den direkten qualitativen Nachweis der Kolonisierung durch Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) zur Prävention und Kontrolle von MRSA-Infektionen im Gesundheitsbereich. Der Test wird an Abstrichproben aus dem Nasenvorhof von Patienten und Medizinpersonal zum Screening auf MRSA-Kolonisierung durchgeführt. **BBL CHROMagar MRSA** ist weder zur Diagnose einer MRSA-Infektion vorgesehen, noch zum Steuern oder Überwachen einer Infektionsbehandlung.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

MRSA sind der Hauptgrund für nosokomiale und lebensbedrohliche Infektionen. Im Vergleich zu Methicillin empfindlichen *S. aureus* (MSSA) werden MRSA-Infektionen mit einer signifikant höheren Morbidität, Mortalität sowie einer Kostensteigerung in Zusammenhang gebracht.¹ Das Aufkommen von MRSA-Infektionen im Gesundheitsbereich hat dramatisch zugenommen, und die Rate der MRSA-Träger nehmen in der Gesellschaft stetig zu.² Neueste Publikationen deuten darauf hin, dass die Bevölkerung insgesamt Kolonisierungsraten von *S. aureus* von 25 - 30 % hat.³

Resistenzraten haben in den vergangenen 15 Jahren stetig zugenommen; neueste NNIS-Daten (National Nosocomial Infections Surveillance) weisen darauf hin, dass im Jahre 2003 der Anteil an MRSA unter den *S. aureus*-Infektionen auf den Intensivstationen bis zu 60 % betrug.⁴

Zur Kontrolle der Übertragung von MRSA hat die „Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)“ Richtlinien herausgebracht, die unter anderem ein aktives Überwachungsprogramm vorsehen, um potenzielle Infektionsquellen zu erkennen, und ein drastisches Programm zur Infektionskontrolle, um die Verbreitung von MRSA einzuschränken.¹

BBL CHROMagar gestattet direkten Nachweis und Identifizierung von MRSA durch die Integration von spezifischen chromogenen Substraten und Cefoxitin. MRSA-Stämme wachsen in Anwesenheit von Cefoxitin⁵ und produzieren durch Hydrolyse der chromogenen Substrate rosa bis hellviolette Kolonien. Zur Unterdrückung gramnegativer Organismen, Hefen und einigen grampositiven Kokken sind weitere selektive Agenzien enthalten. Nicht-MRSA Bakterien können andere chromogenen Substrate in dem Medium verwerten, die blaue bis blaugrüne Kolonien ergeben oder, falls keine chromogenen Substrate verwertet werden, erscheinen weiße oder farblose Kolonien.

BBL CHROMagar MRSA wurde von A. Rambach und BD entwickelt. Diese Produkt verwendet einen von A. Rambach entwickelten **BBL CHROMagar** Staph. aureus und wird durch BD unter Lizenzvertrag mit CHROMagar, Paris, vertrieben.

REAGENZIEN**BBL CHROMagar MRSA**

Zusammensetzung* pro 1 l destilliertem Wasser

Chromopepton	40,0 g	Hemmstoffe	0,07 g
Natriumchlorid	25,0	Cefoxitin	0,006
Chromogenmischung	0,5	Agar	14,0

pH 6,8 ± 0,3

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

* Patent in den USA angemeldet

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Platten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstiger Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen wie Hepatitis-Viren und HIV enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁶⁻⁹ sowie die internen Richtlinien der Institution zu beachten. Gebrauchsfertige Platten, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach der Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Hinweise zu Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt die Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch originalverpackt im Karton dunkel bei 2-8 °C lagern. Vor und während der Inkubation vor Kälte, Hitze und Lichteinwirkung schützen, da Licht die Chromogene zerstören kann. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten 10er Packungen können bei Lagerung bei 2-8 °C in einem sauberen, dunklen Bereich bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Die Platten, wie unter **VORSICHTSMASSNAHMEN** beschrieben, auf Anzeichen von Verfall überprüfen. Zur Leistungsprüfung repräsentative Platten mit Reinkulturen stabiler Kontrollorganismen inokulieren, die bekannte, gewünschte Reaktionen hervorrufen. Zur Bestimmung der Hemmkapazität des Mediums sollte *S. aureus* ATCC 25923 in einer Konzentration von 10^4 - 10^5 KBE/Platte inokuliert werden.¹⁰ Zur Bestimmung der Nährkapazität des Mediums sollte *S. aureus* ATCC 43300 in einer Konzentration von 10^3 - 10^4 KBE/Platte inokuliert werden.¹⁰

Platten aerob **24 ± 4 Stunden** bei 35-37 °C inkubieren. Nicht in einer Atmosphäre mit Zusatz von Kohlendioxid inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Kein Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Wachstum von mittelgroßen rosa bis hellvioletten Kolonien
Nicht inokuliert	Hell beigefarben, transparent

VORGEHENSWEISE

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

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

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Koagulasetest, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und weitere Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Medium wurde auf seine Leistung mit Nasenvorhofproben evaluiert. Bis heute wurde nur eine begrenzte Anzahl klinischer Proben aus verschiedenen Körperbereichen getestet (siehe **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNG**).

Es wird die Verwendung speziell für die Entnahme dieser Proben geeigneter Transportbehälter empfohlen. Halten Sie sich an die Anweisungen des Herstellers dieser Transportbehälter. Siehe auch Einzelheiten zur Probenentnahme und -handhabung in der einschlägigen Fachliteratur.^{11,12}

Testverfahren

Die Proben so bald wie möglich nach Eingang im Labor auf einer **BBL CHROMagar MRSA**-Platte inokulieren und zum Isolieren mit einer Öse ausstreichen.

Die Platten in umgekehrter Position aerob **24 ± 4 h** bei 35–37 °C inkubieren. Für weitere 24 h inkubieren, wenn keine rosa bis hellvioletten Kolonien sichtbar sind. Nicht in einer Atmosphäre mit Zusatz von Kohlendioxid inkubieren. Während der Inkubation (> 4 h) vor Lichteinwirkung schützen, da Licht die Chromogene zerstören kann. Nach Entwicklung der Koloniefarbe ist Lichteinwirkung erlaubt.

Wichtiger Hinweis: Es wurde festgestellt, dass niedrige Inkubationstemperatur (<35° C) und/oder kurze Inkubationszeit (<20 Stunden) die Empfindlichkeit von **BBL CHROMagar MRSA** beim Erreichen der Ergebnisse nach eintägiger Ablesung wesentlich reduzieren können. Es ist daher wichtig, dass die ideale Bebrütungstemperatur von 36° C (akzeptabler Bereich: 35 bis 37° C) während der gesamten Bebrütungszeit (nicht weniger als 20 Stunden; ideal sind 22 Stunden zum Ablesen der Ergebnisse am ersten Ablesetag) aufrecht erhalten wird. Wiederholtes Öffnen der Brutschranktüren reduziert die tatsächliche Brutschranktemperatur. Daher wird empfohlen, die Brutschranktüren so selten wie möglich zu öffnen und die Öffnungszeit so kurz wie möglich zu halten. Wenn das nicht möglich ist, wird es empfohlen, **BBL CHROMagar MRSA** in einem nur dafür verwendeten Brutschrank zu bebrüten.

Ergebnisse

Platten gegen einen weißen Hintergrund ablesen. MRSA-Kolonien erscheinen auf dem **BBL CHROMagar MRSA** Medium als rosa bis hellviolette Kolonien. Andere Organismen (nicht MRSA) werden gehemmt oder produzieren farblose, weiße oder blaugrüne Kolonien. Zur Interpretation der Ergebnisse siehe Tabelle 1.

Tabelle 1

Nach 24 h Inkubation		Interpretation/Empfohlene Vorgehensweise
Rosa bis hellviolette Kolonien, die morphologisch an Staphylokokken erinnern*		MRSA nachgewiesen, MRSA nasale Kolonisierung melden
Keine rosa bis hellvioletten Kolonien		Ergebnis nicht verfügbar, weitere 24 Stunden inkubieren
Nach 48 h Inkubation	Empfohlene Vorgehensweise	Interpretation
Rosa bis hellviolette Kolonien	Koagulasetest durchführen	Bei positiver Koagulase – MRSA nachgewiesen, MRSA melden Bei negativer Koagulase – melden, dass kein MRSA nachgewiesen
Keine rosa bis hellvioletten Kolonien	–	Melden, dass kein MRSA nachgewiesen

*Auf **BBL CHROMagar MRSA**-Medium produzieren Staphylokokken typischerweise mittelgroße rosa bis hellviolette Kolonien mit glatter Oberfläche. Bei hellvioletten Kolonien, die sehr klein bis stecknadelkopfgroß sind, handelt es sich meist um grampositive Stäbchen, gewöhnlich Corynebakterien. Bei unklarer Morphologie nach 48 h können zur Identifizierung Bestätigungstests (Koagulase) durchgeführt werden.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BBL CHROMagar MRSA wird zum qualitativen direkten Nachweis, zur Isolation und Identifikation von Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) an nasalen Hygieneüberwachungsproben nach 24 h Inkubation ohne Bestätigungstest oder nach 48 h Inkubation mit einem bestätigenden Koagulasetest (siehe **Verfahrensbeschränkungen**) verwendet.

Leistungsmerkmale¹³

Leistungsbeurteilung

1. **BBL CHROMagar MRSA** wurde an 4 Krankenhäusern in geografisch unterschiedlichen Regionen in den USA mit frischen prospektiven Hygieneüberwachungsproben von Nasenvorhöfen evaluiert. Insgesamt wurden 1974 Hygieneüberwachungsproben von Nasenvorhöfen evaluiert, indem die Isolierung von MRSA auf **Trypticase-Soja-Agar mit 5% Schafblut (TSA II)** als Referenzplatte zu **CHROMagar MRSA** Platte verglichen wurden. Der

auf TSA II isolierte *S. aureus* wurde mit den Methoden Mikrobouillondilution-Oxacillin-MIC und Oxacillin-Screen-Agar sowie 3 zusätzlichen Empfindlichkeitstestmethoden getestet (siehe nächster Abschnitt). Die Oxacillin-MIC Ergebnisse wurden nach den Interpretationskriterien des NCCLS ausgewertet: MSSA $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ und MRSA $\geq 4 \mu\text{g/ml}$. Der Oxacillin-Screen-Agar wurde nach Anweisung des Herstellers interpretiert, einschließlich der Anwesenheit jeglicher für MRSA repräsentativer Kolonien. **CHROMagar MRSA** wurde nach 24 h bei Nachweis hellvioletter Kolonien (alleine) als MRSA-positiv interpretiert oder nach 48 h bei Nachweis hellvioletter Kolonien mit Bestätigung für *S. aureus* durch einen Koagulasetest. Gesamtisolierung von MRSA auf **CHROMagar MRSA** fiel mit 95 % (126) verglichen mit einer Isolierung von 89 % (117) auf TSA II höher aus. Die Genauigkeit der MRSA-Identifizierung wurde mit den Methoden Oxacillin-MIC-Mikrobouillon-Dilution und Oxacillin-Screen-Agar verglichen. Bei Ablesen nach 24 h gab es 6 falschpositive Ergebnisse, bei denen auf dem **CHROMagar MRSA** hellviolette Kolonien (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* und 2 *Corynebacterium*) zu beobachten waren. Bei Ablesen des **CHROMagar MRSA** nach 24 h allein nach Farbe der Kolonien, und der Bestätigung aller hellvioletten Kolonien mit Koagulase bei Ablesen nach 48 h lag die Gesamtübereinstimmung des **CHROMagar MRSA** Tests zu Oxacillin-MIC-Test bei 96 % (312/325). Die Übereinstimmung in der Gesamtkategorie von **CHROMagar MRSA** zu Oxacillin-Screen-Agar lag bei 96 % (312/325). Positive MRSA- und negative MSSA-Übereinstimmung von **CHROMagar MRSA** verglichen mit den Referenzmethoden in Prozent zeigen im Folgenden die Tabellen 2 bis 5:

Tabelle 2: Leistung von BBL CHROMagar MRSA (24 h hellviolett / 48 h in Kombination mit Koagulase als Endergebnis) im Vergleich mit dem Oxacillin-MIC Referenzergebnis:

CHROMagar MRSA Ergebnis	MRSA Identifikation	TSA II Ergebnis		Kein Wachstum <i>S. aureus</i>	Gesamt
		<i>S. aureus</i> Wachstum			
		MRSA	MSSA		
Hellviolett	Hellviolett nach 24 h, oder hellviolett + Koag. pos. nach 48 h	111	7	21*	139
	Koag. neg 48 h	0	3	68**	71
Nicht hellviolett / kein Wachstum	–	6	198	1560	1764
Gesamt		117	208	1649	1974

*Von 21 Proben, von denen auf TSA II kein *S. aureus* isoliert wurde, und hellviolette Isolate auf **BBL CHROMagar MRSA** isoliert wurden: 15 wurden durch positive PBP2' Latex-Testergebnisse als MRSA bestätigt; 4 waren Koagulase negative Staphylokokken und 2 waren grampositive Stäbchen.

** Von 68 Proben, von denen auf TSA II kein *S. aureus* isoliert wurde, und hellviolette Isolate auf **BBL CHROMagar MRSA** nach 48 h isoliert wurden: 45 wurden als Koagulase negative Staphylokokken bestätigt; 23 waren grampositive Stäbchen und andere Organismen.

Tabelle 3

CHROMagar MRSA vgl. mit Oxacillin-MIC	
Empfindlichkeit (95%-VI)	Spezifität (95%-VI)
94,9 % (111/117) (89,3 %; 98.1%)	96,6 % (201/208) (93,2 %; 98,6 %)

Tabelle 4: Leistung von BBL CHROMagar MRSA (24 h hellviolett / 48 h in Kombination mit Koagulase als Endergebnis) im Vergleich mit dem Oxacillin-Screen-Agar Referenzergebnis:

CHROMagar MRSA Ergebnis	MRSA Identifikation	TSA II Ergebnis			Gesamt
		S. aureus Wachstum		Kein Wachstum S. aureus	
		Oxacillin-Screen-Agar Referenzergebnis			
		MRSA	MSSA		
Hellviolett	Hellviolett nach 24 h, oder hellviolett + Koag. pos. nach 48 h	110	7	21*	138
	Koag. neg. 48 h	0	3	68**	71
Nicht hellviolett / kein Wachstum	–	6	199	1560	1765
Gesamt		116	209	1649	1974

*Von 21 Proben, von denen auf TSA II kein *S. aureus* isoliert wurde, und hellviolette Isolate auf **BBL CHROMagar MRSA** isoliert wurden: 15 wurden durch positive PBP2' Latex-Testergebnisse als MRSA bestätigt; 4 waren Koagulase negative Staphylokokken und 2 waren grampositive Stäbchen.

** Von 68 Proben, von denen auf TSA II kein *S. aureus* isoliert wurde, und hellviolette Isolate auf **BBL CHROMagar MRSA** nach 48 h isoliert wurden: 45 wurden als Koagulase negative Staphylokokken bestätigt; 23 waren grampositive Stäbchen und andere Organismen.

Tabelle 5

CHROMagar MRSA vgl. mit Oxacillin-Screen-Agar	
Empfindlichkeit (95%-VI)	Spezifität (95%-VI)
94,8 % (110/116) (89,1 %; 98,1 %)	96,7 % (202/209) (93,2 %; 98,6 %)

In diesen Studien wurde der **BBL CHROMagar MRSA** auch mit anderen Testmethoden zur Identifizierung von MRSA verglichen: der PBP 2' Latex-Agglutinationstest, ein Cefoxitin (30 µg) Blättchendiffusionstest und PCR-Nachweis des *mecA* Gens. Der Cefoxitin-Blättchendiffusionstest wurde nach neuesten NCCLS-Interpretationskriterien bewertet (Zonengröße von ≤ 19 mm für MRSA oder ≥ 20 mm für MSSA).⁵ PBP 2' und PCR-Methoden wurden laut Gebrauchsanweisung interpretiert. Mit diesen Methoden verglichene Übereinstimmungen für MRSA- und MSSA-Isolate in Prozent zeigt Tabelle 6. Die Gesamtanzahl der Isolate differiert je nach Art der individuellen Durchführung der Methode oder den Compliance/Evaluierbarkeitsraten zwischen den Methoden.

Tabelle 6

CHROMagar MRSA vgl. mit Cefoxitin-Blättchendiffusion		CHROMagar MRSA vgl. mit PBP 2' Latex-Agglutination		CHROMagar MRSA vgl. mit PCR (<i>mecA</i>)	
% MRSA Übereinstimmung	% MSSA Übereinstimmung	% MRSA Übereinstimmung	% MSSA Übereinstimmung	% MRSA Übereinstimmung	% MSSA Übereinstimmung
94,9 % (112/118) (89,3 %; 98,1 %)	98 % (200/204) (95,1%; 99,5 %)	93,5 % (115/123) (87,6 %; 97,2 %)	98,5 % (198/201) (95,7 %; 99,7 %)	95,7 % (111/116) (90,2 %; 98,6 %)	97 % (196/202) (93,6 %; 98,9 %)

2. Hygieneüberwachungsproben und andere klinische Proben wurden in einer europäischen Studie getestet. Zur routinemäßigen Untersuchung auf MRSA-Nachweis wurden die Proben auf Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut ausgestrichen, dann die Proben mit Verdacht auf *S. aureus* mittels PCR auf *S. aureus* und MRSA weiter untersucht. Nach der Verarbeitung wurden die Proben im Kühlschrank gelagert. Unmittelbar nach Bekanntwerden der PCR-Ergebnisse wurden sie auf **CHROMagar MRSA** und Columbia-CNA mit 5 % Schafblut aufgetragen. Die Platten wurden aerob bei 36 +/- 1 °C inkubiert und nach 22-24 Stunden

abgelesen. Falls bei diesen Platten mit Verdacht auf *S. aureus* in einem oder beiden Medien kein Kolonienwachstum auftrat, wurden sie noch mal für 20-24 Stunden inkubiert.

Zur Bestätigung wurden rosa bis hellviolette Kolonien auf **CHROMagar MRSA** und die Kolonien mit Verdacht auf *S. aureus* auf dem Columbia-CNA-Agar mit einem Koagulase-Röhrchentest untersucht und auf Oxacillin-Screen-Agar auf Wachstum und zur Cefoxitin Resistenz mit einem Blättchen-Diffusionstest (bewertet nach NCCLS-Kriterien mit Zonengröße von ≤ 19 mm für MRSA) getestet.⁵

PCR-positive Hygieneüberwachungsproben (n= 50) bestanden aus: 37 Nasenabstriche, 1 Rachen/Nasenabstrich, 9 Rachenabstriche und 3 Hautabstriche.

Andere PCR-positive Proben (n=30) waren 2 Abszess- und 3 chirurgische Proben, 23 Wundabstriche und 2 Ulkusabstriche.

PCR-negative Proben (n= 55) fanden sich unter 3 Abszessproben, 9 Hautabstriche, 1 Dekubitusabstrich, 15 Nasalabstriche, 10 Rachenabstriche, 5 Perinealabstriche, 1 Punktionsprobe, 3 Katheterabstriche, 1 Trachealsekretprobe and 7 Wundabstriche.

Insgesamt wurden 135 Proben getestet.

Alle 80 PCR-positiven Proben zeigten auf **CHROMagar MRSA** nach 22-24 Stunden rosa bis hellviolett Kolonienwachstum und Kolonien mit Verdacht auf *S. aureus* auf dem Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut, wohingegen die 55 PCR-negativen Proben nach 22-24 Stunden bzw. 42-48 Stunden auf beiden Medien kein entsprechendes Wachstum zeigten.

Zwei Isolate aus PCR-negativen Proben, auf Columbia-CNA, jedoch nicht auf **CHROMagar MRSA** erhalten, wurden durch einen positiven Koagulasetest als *S. aureus* positiv bestätigt. Diese Isolate zeigten auf dem Oxacillin-Screen-Agar kein Wachstum, waren empfindlich im Cefoxitin-Blättchentest (Zonengröße 30 mm) und ergaben keine rosa bis hellvioletten Kolonien auf **CHROMagar MRSA**. Ein weiteres Isolat einer PCR-negativen Probe ergab violette Kolonien auf **CHROMagar MRSA**, das anhand der Kolonienfarbe von der rosa bis hellvioletten Färbung des *S. aureus* unterschieden werden konnte.

Alle 80 MRSA-positiven Proben zeigten Wachstum auf Oxacillin-Screen-Agar, sowohl aus dem **CHROMagar MRSA** sowie dem Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut.

Im Cefoxitin-Blättchentest zeigten zwei Isolate Empfindlichkeit bei Subkultivierung aus **CHROMagar MRSA** und Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut. 4 Stämme zeigten bei Subkultivierung aus **CHROMagar MRSA** Resistenz, doch Empfindlichkeit bei Subkultivierung aus Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut. Alle anderen Isolate zeigten sowohl aus **CHROMagar MRSA** als auch aus Columbia CNA Agar Resistenz.

Die Empfindlichkeit und Spezifität betrug im Vergleich zur PCR und dem Oxacillin-Screen-Agar 100 %. Die Empfindlichkeit im Vergleich zu dem Cefoxitin-Blättchentest betrug 91,4 %.

Referenztests

Das Testen von 20 *S. aureus* Referenzstämmen wurde von drei amerikanischen klinischen Studienzentren durchgeführt. Dieses Panel bestand aus 9 heterogen resistenten MRSA, 5 homogen resistenten MRSA und 6 MSSA. Empfindlichkeit und Spezifität der einzelnen Zentren sowie aller Zentren zusammen betrug jeweils 100 %.

Ausdrucksform der Resistenz

BBL CHROMagar MRSA wurde auf seine Fähigkeit der Erkennung heterogener und homogener Stämme evaluiert. MRSA kann sowohl homogen als auch heterogen resistent vorkommen. In heterogenen Stämmen kann der Anteil der Zellen für die Resistenz 1 zu 1 Million betragen, was den Nachweis durch konventionelle Antibiotika-Empfindlichkeitstests schwierig macht.¹⁴ 15 Teststämme, die 10 heterogene und 5 homogene MRSA vertreten, wurden zur Isolierung und Koloniezählung des **BBL CHROMagar MRSA** im Vergleich zu einem nicht selektiven Medium (TSA II mit 5 % Schafblut) evaluiert. Sowohl **BBL CHROMagar MRSA** als auch TSA II isolierten alle 15 Stämme. Die Koloniezählung auf **BBL CHROMagar MRSA** belief sich verglichen mit TSA II auf 64-99 % für heterogene und 71-100 % für homogene Stämme. Diese Ergebnisse unterstützen die Aussage, dass **BBL CHROMagar MRSA** sowohl homogene als auch heterogene Stämme nachweisen kann.¹⁴

Interferenz-Studie

Acht allgemein gebräuchliche Arzneimittel, Humanblut und fünf verschiedene Proben-transportbehälter wurden für das **BBL CHROMagar MRSA**-Medium auf potentielle Interferenz mit der chromogenen Reaktion evaluiert. Ein Phenylephrinhydrochloridhaltiger Nasenspray zeigte auf **BBL CHROMagar MRSA** sowie auf der nicht selektiven Kontrolle (TSA II mit 5 % Schafblut) in 10 %iger Konzentration antibakterielle Aktivität. Keine andere getestete Substanz oder getestetes Material störte die Leistung des **BBL CHROMagar MRSA**-Mediums.¹³

Erwartete Werte

Bei der externen Leistungsbewertung des **CHROMagar MRSA** (siehe **Leistungsmerkmale**) lag die Prävalenz der *S. aureus* Kolonisierung, wie sowohl durch **CHROMagar MRSA** als auch **Trypticase-Soja-Agar mit 5 % Schafblut (TSA II)** Platten nachgewiesen, bei insgesamt 17,2 % (340/1974). Die Prävalenz der (nicht doppelter Patient) MRSA-positiven Proben lag insgesamt bei 6,7 % (132/1974) oder von allen *S. aureus* um 39 % (132/340). Die TSA II-Platten Nachweisrate der MRSA-Kolonisierung betrug 6,5 % (117/1974), während die **CHROMagar MRSA**-Rate der MRSA-Kolonisierung bei 7,0 % (126/1974) lag. Die Kolonisierungsraten können in verschiedenen Länder und Populationen variieren.^{3,4}

Verfahrensbeschränkungen

Sowohl vor als auch während der Inkubation **BBL CHROMagar MRSA** vor Lichteinwirkung schützen, da Licht die Chromogene zerstören kann. Die Platten während der gesamten Lagerperiode originalverpackt im Karton aufbewahren.

Überwachungstests bestimmen den Status der Kolonisierung zu einem bestimmten Zeitpunkt und können, abhängig von der Behandlung des Patienten (z. B. Maßnahmen zur Dekolonisierung), des Patientenstatus (z. B. kein aktiver MRSA-Ausscheider) oder Exposition gegenüber Hochrisikobereichen (z. B. Kontakt mit MRSA-Träger, verlängerter Krankenhausaufenthalt), variieren. Das Monitoring des Kolonisierungsstatus sollte gemäß den in der Klinik geltenden Regeln vorgenommen werden.

CHROMagar MRSA Ergebnisse sollten als Zusatz von Bestrebungen zur Kontrolle der Krankenhausinfektionen verwendet werden, um die Patienten zu identifizieren, die verstärkte Vorsichtsmaßnahmen bedürfen.

Dieses Medium kann zur Identifikation von Patienten verwendet werden, die isoliert oder nicht isoliert werden müssen, um eine nosokomiale Übertragung von MRSA unter Kontrolle zu halten. Ein **CHROMagar MRSA** negatives Ergebnis nach einem vorhergehenden positiven Testergebnis kann einen Behandlungserfolg anzeigen oder aufgrund intermittierender Ausscheidung erfolgen.

BBL CHROMagar MRSA kann zum Nachweis von MRSA an klinischen Proben aus verschiedenen Körperstellen verwendet werden. Wenn klinische Proben untersucht werden, ist es erforderlich, dass mit diesen Proben zum Nachweis aller an einer Infektion beteiligten pathogenen Keime zusätzliche Medien inokuliert werden, vor allem eine nicht selektive Blutagarplatte (z. B. **BD Columbia-Agar mit 5 % Schafblut**) und zur Verbesserung der Isolierung der an der Infektion beteiligten grampositiven Organismen einen **BD Columbia-CNA-Agar mit 5 % Schafblut**.

Bestimmte *Enterococcus*-Stämme sind gegen die Hemmstoffe im **BBL CHROMagar MRSA** resistent. In seltenen Fällen kann dies zur Überwucherung blauer bis blaugrüner Kolonien führen, was einen MRSA-Nachweis erschwert. Es wird bei starkem Wachstum blaugrüner Kolonien empfohlen, das Wachstum auf dem **BBL CHROMagar MRSA** mit dem Wachstum auf einer Blutagar-Platte auf Anwesenheit von *S. aureus* zu vergleichen.

Die unter **VERFAHREN – Testverfahren** erwähnten Inkubationszeiten und –temperaturen müssen strikt eingehalten werden.

Nach 48 h können gelegentlich Stämme von Koagulase negativen Staphylokokken (z. B. *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* und *S. schleiferi*), *Acinetobacter* sp., Corynebakterien und Hefen hellviolette Kolonien bilden, die zur Bestätigung von MRSA einen Koagulasetest benötigen. Das kann auch zu einem früheren Zeitpunkt als 24 h

vorkommen. Klinische Studien mit Hygieneüberwachungsproben haben gezeigt, dass ca. 5 % (6/120) der auf dem **BBL CHROMagar MRSA**-Medium nach 24 h nachgewiesenen hellvioletten Kolonien Koagulase negative Staphylokokken und/oder Corynebakterien waren. Auf Wunsch kann nach 24 h zur Erhöhung der Spezifität eine Gramfärbung und/oder ein Koagulasetest von hellvioletten Kolonien durchgeführt werden.

Falls die Oxacillin oder Cefoxitin-MICs eines Isolats sich nicht am oder nahe des Resistenzgrenzwerts befinden, können *mecA*-negative *S. aureus* (grenzwertig resistenter *S. aureus* oder BORSA) wachsen.

Inkubation mit 5 % CO₂ ist nicht zu empfehlen und kann zu falsch negativen Kulturen führen.

Die Verwendung von Phenylephrinhydrochlorid (Bestandteil einiger Nasensprays) in einer Konzentration von ≥ 10 % zeigt eine Hemmwirkung auf Organismuswachstum, die unabhängig von der Leistung des Mediums ist.

Seltene MRSA-Stämme haben Empfindlichkeit gegenüber des **BBL CHROMagar MRSA**-Basismediums gezeigt. Diese Empfindlichkeit hat nichts mit der Methicillin-Resistenz zu tun, sondern beruht auf einer Komponente im Basismedium. Diese Stämme können auf Grund dessen als falsch empfindlich gegen Methicillin durchgehen.

CHROMagar MRSA ist nicht geeignet zum Nachweis anderer *S. aureus* als MRSA oder anderer Staphylokokken-Spezies.

Vor der erstmaligen Verwendung von **BBL CHROMagar MRSA** wird empfohlen, sich das typische Erscheinungsbild der MRSA-Kolonien mit Hilfe von definierten Stämmen (z. B. den unter **QUALITÄSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER** erwähnten Stämmen) einzuprägen.

LITERATUR

1. Muto, C. A., J. A. Jernigan, B. E. Ostrowosky, H. M. Richet, W. R. Jarvis, J. M. Boyce, B. M. Farr. 2003. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control and Hospital Epidemiol.* May 362-386.
2. Bannerman, T. L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (eds.), *Manual of clinical microbiology*. ASM, Washington DC.
3. MRSA - Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.
4. Proportion of *S. aureus* Nosocomial Infections Resistance to Oxacillin (MRSA) Among Intensive Care Unit Patients, 1989 - 2003 (graph). CDC website, http://www.cdc.gov/ncidod/hip/ARESIST/ICU_MRSA.pdf.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement, M100- S15., Wayne, PA.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed., NCCLS, Wayne, PA.
7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practice Advisory Committee. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17: 53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. 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 89/1391/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.*

10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1996. Approved Guideline M22-A2. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media. NCCLS, Wayne, PA.
11. Ramsay-Shea, Y. 1992. Specimen collection and transport. In Isenberg, H.D. (ed.), Clinical microbiology procedures handbook. ASM, Washington DC.
12. Miller, J .M., H. T .Holmes, K. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling. In P .R. Murray, E.J. Baron, J .H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenenbaum (eds.), Manual of clinical microbiology. ASM, Washington DC.
13. Data on file, BD Diagnostics.
14. Tomasz A., Nachman S., Leah H. 1991. Stable classes of Phenotypic Expression in Methicillin Resistant Clinical isolates of Staphylococci. Antimicro. Agents Chemother. 35: 124-129.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD BBL CHROMagar MRSA

REF 257308 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

REF 257333 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

BD, BD logo, BBL, Trypticase and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2005 BD