

BD BBL CHROMagar MRSA*

APPLICATION

BBL CHROMagar MRSA est un milieu sélectif de différenciation servant essentiellement à la détection qualitative directe des colonisations par *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) afin d'aider à la prévention et au contrôle des infections dues à MRSA en milieux hospitaliers. Le test est effectué sur des échantillons prélevés par écouvillon dans les fosses nasales antérieures de patients et de personnel soignant afin de dépister la colonisation par MRSA. **BBL CHROMagar MRSA** n'est pas prévu pour diagnostiquer les infections par MRSA ni de guider ou surveiller le traitement des infections.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Les MRSA sont une cause majeure d'infections nosocomiales et d'autres infections mettant en danger la vie des patients. Les infections avec des MRSA ont été associées à une morbidité et une mortalité plus importantes et à des coûts significativement plus élevés que celles dues aux *S. aureus* sensibles à la méticilline (MSSA).¹

La prévalence des infections à MRSA a significativement augmenté dans les environnements institutionnels de soins tandis que le taux de porteurs de MRSA croît dans la communauté.² Des publications récentes suggèrent que les taux de colonisation par *S. aureus* dans la population en général varient entre 25 et 30 %.³

Les taux de résistance ont régulièrement augmenté au cours des quinze dernières années, et les données récentes de NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance – Surveillance Nationale des Infections Nosocomiales) indiquent que, dans les milieux de soins intensifs, la proportion des infections dues à MRSA atteignait 60 % de toutes les infections dues à *S. aureus* en 2003.⁴

Pour contrôler la transmission des MRSA, la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) a élaboré des lignes directrices incluant un programme de surveillance active afin d'identifier les sources potentielles et un programme de contrôle rigoureux de l'infection afin de maîtriser la dissémination des MRSA.¹

Le milieu **BBL CHROMagar** permet la détection et l'identification directes de MRSA au moyen de l'incorporation de substrats chromogènes spécifiques et de céfoxitine. Les souches de MRSA se développeront en présence de céfoxitine⁵ et produiront des colonies de couleur rose à mauve du fait de l'hydrolyse du substrat chromogène. Des agents sélectifs supplémentaires sont incorporés à des fins de suppression des organismes à Gram négatif, des levures et de quelques cocci à Gram positif. Les bactéries autres que MRSA peuvent utiliser d'autres substrats chromogènes du milieu et former des colonies bleues à bleu-vert ou, si aucun substrat chromogène n'est utilisé, des colonies blanches ou incolores.

BBL CHROMagar MRSA a été développé par A. Rambach et BD. Ce produit utilise **BBL CHROMagar Staph aureus** qui a été élaboré par A. Rambach et est vendu par BD sous contrat de licence avec CHROMagar, Paris, France.

REACTIFS

BBL CHROMagar MRSA

Formule* par litre d'eau purifiée

Chromopeptone	40,0 g	Agents inhibiteurs	0.07 g
Chlorure de sodium	25.0	Céfoxitine	0.006
Mélange chromogène	0.5	Gélose	14.0

pH 6,8 ± 0,3

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performance imposés.

* Brevet américain en attente d'enregistrement

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessiccation ou de fissure ou d'autres signes de détérioration.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les " Précautions standard " ⁶⁻⁹ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les boîtes préparées, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés, consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 C, dans leur emballage et carton d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer et les maintenir à l'abri de la lumière avant et pendant l'incubation car la lumière peut détruire les chromogènes. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage) et incubées pendant les durées recommandées.

Les boîtes provenant de piles de 10 peuvent être utilisées pendant une semaine, dans la mesure où elles sont conservées dans un lieu propre et obscur entre 2 et 8 C.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

S'assurer que les boîtes ne présentent aucun signe de détérioration, comme indiqué à la rubrique **PRECAUTIONS**. Contrôler les performances en ensemençant un échantillon représentatif de boîtes avec des cultures pures de souches de contrôle stables, produisant une réaction connue. Afin de déterminer le pouvoir inhibiteur du milieu, ensemencher *S. aureus* ATCC 25923 à une concentration de 10^4 - 10^5 UFC/boîte.¹⁰ Afin de déterminer le pouvoir nutritif du milieu, inoculer *S. aureus* ATCC 43300 à une concentration de 10^3 - 10^4 UFC/boîte.¹⁰

Incuber en conditions aérobies à 35-37 °C pendant **24 ± 4 heures**. Ne pas incuber dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone.

Souches	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Aucune croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Croissance de colonies de taille moyenne roses à mauves
Sans ensemenement	Beige clair, transparent

METHODE

Matériaux fournis

BBL CHROMagar MRSA (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux requis mais non fournis

Milieus de culture auxiliaires, réactifs du test pour la coagulase, souches de contrôle de qualité et autre matériel de laboratoire nécessaire.

Types d'échantillons

La performance de ce produit a été évaluée sur des prélèvements de fosses nasales antérieures. Jusqu'à maintenant, seulement un nombre limité d'échantillons cliniques prélevés à partir de divers sites anatomiques ont aussi été testés (voir **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). L'utilisation de systèmes de transport approuvés pour le prélèvement de tels échantillons est recommandée. Appliquer les procédures recommandées par le fabricant du système de transport. L'utilisateur peut aussi consulter les

publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes de prélèvement et de préparation des échantillons.^{11,12}

Mode opératoire du test

Dès que possible après réception au laboratoire, ensemercer une boîte de **BBL CHROMagar MRSA** avec l'échantillon et strier afin de réaliser l'isolement à l'aide d'une anse.

Incuber les boîtes de Petri en aérobiose à 35–37 °C pendant **24 h ± 4 h**, en position retournée.

Si aucune colonie rose à mauve ne se forme, ré-incuber pendant 24 h supplémentaires. Ne pas incuber dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone. Eviter toute exposition (> 4 heures) à la lumière pendant l'incubation, car la lumière peut détruire les chromogènes.

L'exposition à la lumière est permise une fois que la coloration des colonies s'est développée.

Remarque importante : Il a été déterminé qu'une température d'incubation basse (<35 °C) et/ou une durée d'incubation courte (<20 heures) peut réduire de manière importante la sensibilité du **BBL CHROMagar MRSA** sur les résultats obtenus si les plaques sont lues après 1 jour. Il est donc important que la température d'incubation idéale de 36 °C (plage acceptable : 35 à 37 °C) soit maintenue pendant toute la durée de l'incubation (pas moins de 20 heures ; l'idéal est 22 heures pour lire les résultats du premier jour). L'ouverture répétée des portes de l'incubateur fait diminuer la température de l'incubateur. Il est donc recommandé d'ouvrir les portes de l'incubateur aussi peu fréquemment que possible et pendant une durée aussi brève que possible. Si ceci ne peut pas être obtenu, il est recommandé d'incuber le **BBL CHROMagar MRSA** dans un incubateur spécialisé.

Résultats

Lire les boîtes sur un fond blanc. Les colonies de MRSA apparaîtront roses à mauves sur le milieu **BBL CHROMagar MRSA**. Les autres organismes (non MRSA) seront inhibés ou produiront des colonies incolores, blanches, bleues ou bleu-vert. Consulter le tableau 1 pour l'interprétation des résultats.

Tableau 1

Incubation 24 h		Interprétation/ Action recommandée
Colonies roses à mauves morphologiquement ressemblantes aux staphylocoques*		Détection de MRSA, rapporter la colonisation nasale par MRSA
Aucune colonie rose à mauve		Aucun résultat disponible, ré-incuber pendant 24 h supplémentaires
Incubation 48 h	Action recommandée	Interprétation
Colonies roses à mauves	Effectuer un test de coagulase	Si à coagulase positive – MRSA détecté, rapporter MRSA. Si à coagulase négative – rapporter aucun MRSA décelé
Aucune colonie rose à mauve	SO	Rapporter aucun MRSA décelé

*Les staphylocoques produisent en général des colonies lisses, de taille moyenne, de couleur rose à mauve sur le milieu **BBL CHROMagar MRSA**. Les colonies mauves qui sont très petites à minuscules sont le plus souvent des bacilles à Gram positif, en général des corynebactéries. Si la morphologie est peu claire, des tests de confirmation tels que le test pour la coagulase peuvent être utilisés afin de confirmer l'identification en 48 h.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA METHODE

BBL CHROMagar MRSA sert à la détection, l'isolement et l'identification directs qualitatifs de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (MRSA) à partir d'échantillons nasaux de surveillance au bout de 24 h d'incubation sans test de confirmation ou de 48 h d'incubation avec un test de confirmation pour la coagulase (voir **Limites de la méthode**).

Caractéristiques de performance¹³

Evaluation des performances

1. **BBL CHROMagar MRSA** a été évalué dans quatre hôpitaux américains avec des emplacements géographiques diversifiés sur des prélèvements frais de fosses nasales antérieures à des fins de surveillance. Un total de 1974 échantillons de surveillance consistant en des prélèvements de fosses nasales ont été évalués en comparant la mise en évidence de MRSA sur les boîtes de référence à gélose trypticase soja avec 5 % de sang de

mouton (**TSA II - Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood**) et les boîtes **CHROMagar MRSA**. Les *S. aureus* mis en évidence sur les boîtes TSA II ont été testés par la méthode de détermination de la CMI de l'oxacilline par microdilution en bouillon et au test de dépistage sur gélose à l'oxacilline, ainsi que par trois autres tests de sensibilité supplémentaires (voir section suivante). Les résultats de CMI de l'oxacilline respectaient les critères d'interprétation du NCCLS, à savoir MSSA $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ et MRSA $\geq 4 \mu\text{g/ml}$. Le dépistage sur gélose à l'oxacilline a été interprété en appliquant les instructions du fabricant qui considéraient la présence de toute colonie comme représentative de MRSA. **CHROMagar MRSA** a été interprété comme positif pour MRSA au bout de 24 h sur la base de la seule détection de colonie(s) mauve(s) et au bout de 48 h en se basant sur la détection de colonies mauves avec confirmation de l'identité *S. aureus* par un test pour la coagulase. Avec 95 % contre 89 %, le taux global de mise en évidence de MRSA était plus élevé sur **CHROMagar MRSA** (126) que sur TSA II (117). L'exactitude de l'identification des MRSA a été comparée à la méthode de détermination de la CMI de l'oxacilline par microdilution en bouillon et au test de dépistage sur gélose à l'oxacilline. La lecture à 24 h a donné 6 faux positifs présentant des colonies mauves sur **CHROMagar MRSA** (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* et 2 *Corynebacterium*). En utilisant la seule coloration des colonies pour la lecture à 24 h de **CHROMagar MRSA** et en confirmant l'identité de toutes les colonies mauves avec le test pour la coagulase pour la lecture à 48 h, la concordance totale entre le test sur **CHROMagar MRSA** et le test de détermination de la CMI de l'oxacilline était de 96 % (312/325). Globalement la concordance par catégorie entre **CHROMagar MRSA** et la gélose de dépistage à l'oxacilline était de 96 % (312/325) Le pourcentage de concordance pour MRSA positif et le pourcentage de concordance pour MSSA négatif de **CHROMagar MRSA** avec ces méthodes de référence est donné dans les tableaux 2 à 5 :

Tableau 2 : Performance de BBL CHROMagar MRSA (coloration mauve après 24 h / coloration + test pour la coagulase après 48 h) comparée aux résultats du test de référence CMI oxacilline :

Résultat de CHROMagar MRSA	Identification de MRSA	Résultat de TSA II		Pas de croissance de <i>S. aureus</i>	Total
		Croissance de <i>S. aureus</i>			
		MRSA	MSSA		
Mauve	Mauve après 24 h ou mauve et coagulase positive après 48 h	111	7	21*	139
	Coagulase négative après 48 h	0	3	68**	71
Pas mauve/Pas de croissance	SO	6	198	1560	1764
Total		117	208	1649	1974

*Sur 21 échantillons à partir desquels aucun *S. aureus* n'a été mis en évidence sur TSA II et qui ont donné des isolats mauves sur **BBL CHROMagar MRSA** : 15 ont été confirmés comme étant des MRSA grâce à des résultats positifs de test au latex PBP2' ; 4 étaient des staphylocoques à coagulase négative ; et 2 étaient des bacilles Gram positifs.

Sur 68 échantillons à partir desquels aucun *S. aureus* n'a été mis en évidence sur TSA II et qui ont donné des isolats mauves sur **BBL CHROMagar MRSA au bout de 48 h : 45 ont été confirmés comme étant des staphylocoques à coagulase négative ; et 23 étaient des bacilles Gram positifs et d'autres organismes.

Tableau 3

CHROMagar MRSA vs. CMI Oxacilline	
Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
94,9 % (111/117) (89,3 % ; 98,1 %)	96,6 % (201/208) (93,2 % ; 98,6 %)

Tableau 4 : Performance de BBL CHROMagar MRSA (coloration mauve après 24 h / coloration + test pour la coagulase après 48 h) comparée au résultat de référence sur gélose de dépistage à l'oxacilline :

Résultat de CHROMagar MRSA	Identification de MRSA	Résultat de TSA II			Total
		Croissance de <i>S. aureus</i>		Pas de croissance de <i>S. aureus</i>	
		Résultat de référence sur gélose de dépistage à l'oxacilline			
		MRSA	MSSA		
Mauve	Mauve après 24 h ou mauve et coagulase positive après 48 h	110	7	21*	138
	Coagulase négative après 48 h	0	3	68**	71
Pas mauve/Pas de croissance	SO	6	199	1560	1765
Total		116	209	1649	1974

*Sur 21 échantillons à partir desquels aucun *S. aureus* n'a été mis en évidence sur TSA II et qui ont donné des isolats mauves sur **BBL CHROMagar MRSA** : 15 ont été confirmés comme étant des MRSA grâce à des résultats positifs de test au latex PBP2' ; 4 étaient des staphylocoques à coagulase négative ; et 2 étaient des bacilles Gram positifs.

Sur 68 échantillons à partir desquels aucun *S. aureus* n'a été mis en évidence sur TSA II et qui ont donné des isolats mauves sur **BBL CHROMagar MRSA au bout de 48 h : 45 ont été confirmés comme étant des staphylocoques à coagulase négative ; et 23 étaient des bacilles Gram positifs et d'autres organismes.

Tableau 5

CHROMagar MRSA vs. Gélose de dépistage à l'oxacilline	
Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
94,8 % (110/116) (89,1 % ; 98,1 %)	96,7 % (202/209) (93,2 % ; 98,6 %)

Ces études ont aussi comparé **BBL CHROMagar MRSA** aux autres tests d'identification de MRSA : test d'agglutination sur latex PBP 2', test de diffusion sur disque à la céfoxitine (30 µg) et une détection PCR du gène *mecA*. Le test de diffusion sur disque à la céfoxitine appliquait les critères d'interprétation récents du NCCLS (taille de la zone ≤ 19 mm pour MRSA, ou ≥ 20 mm pour MSSA).⁵ Les méthodes PBP 2' et PCR ont suivi pour l'interprétation les instructions données sur l'étiquette. Le pourcentage de concordance par rapport à ces méthodes supplémentaires est donné dans le tableau 6 pour les isolats MRSA et MSSA. Le nombre total d'isolats testés varie avec les méthodes en raison des différences entre l'accomplissement des méthodes individuelles ou les taux de conformité/évaluation.

Tableau 6

CHROMagar MRSA vs. Diffusion sur disque à la céfoxitine		CHROMagar MRSA vs. Agglutination sur latex PBP 2'		CHROMagar MRSA vs. PCR (<i>mecA</i>)	
% de concordance pour MRSA	% de concordance pour MSSA	% de concordance pour MRSA	% de concordance pour MSSA	% de concordance pour MRSA	% de concordance pour MSSA
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. Dans une étude européenne, des échantillons de surveillance et d'autres échantillons cliniques ont été testés. Pour une recherche de routine de MSRA, les échantillons ont été ensemencés sur une gélose Columbia CNA à 5 % de sang de mouton et les échantillons suspectés d'être *S. aureus* étaient soumis à PCR pour *S. aureus* et MSRA. Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur après le traitement. Immédiatement après l'obtention du résultat du PCR, les échantillons ont été ensemencés sur **CHROMagar MRSA** et une gélose Columbia CNA à 5 % de sang de mouton. Les boîtes ont été incubées en aérobiose à 36 +/- 1 °C et examinées au bout de 22 à 24 heures d'incubation. Dans les cas où aucune colonie suspectée être *S. aureus* ne s'est développée sur l'un ou les deux milieux, les boîtes ont été ré-incubées pendant 20 à 24 heures supplémentaires.

A des fins de confirmation, les colonies roses à mauves sur **CHROMagar MRSA** et les colonies suspectées être *S. aureus* sur la gélose Columbia CNA ont été soumises à un test en tube pour la coagulase, un test de croissance sur gélose de dépistage à l'oxacilline et un test de la résistance à la céfoxitine par une méthode de diffusion sur disque en utilisant les critères de la NCCLS (tailles de la zone <= 19 mm indiquent MRSA).⁵

Les échantillons de surveillance positifs pour PCR (n=50) comprenaient : 37 écouvillonnages nasaux, 1 écouvillonnage de gorge/nez, 9 écouvillonnages de gorge et 3 écouvillonnages cutanés.

Les autres échantillons positifs pour PCR (n=30) comprenaient 2 échantillons d'abcès et 3 échantillons chirurgicaux, 23 écouvillonnages de blessures et 2 échantillons d'ulcère.

Les échantillons négatifs pour PCR (n=55) incluaient 3 échantillons d'abcès, 9 écouvillonnages cutanés, 1 écouvillonnage d'escarres de décubitus, 15 écouvillonnages nasaux, 10 écouvillonnages de gorge, 5 écouvillonnages périméaux, 1 échantillon de ponction, 3 écouvillonnages de cathéter, 1 échantillon de sécrétions trachéales et 7 écouvillonnages de blessure.

Au total 135 échantillons ont été testés.

Les 80 échantillons positifs pour PCR ont donné au bout de 22 à 24 heures des colonies roses à mauves sur **CHROMagar MRSA** et des colonies qui étaient suspectées être *S. aureus* sur la gélose Columbia CNA à 5 % de sang de mouton tandis que les 55 échantillons négatifs pour PCR n'ont donné aucune croissance sur les deux milieux après 22-24 heures et après 42 à 48 heures. Deux isolats des échantillons négatifs pour PCR obtenu sur la gélose Columbia CNA mais pas sur le milieu **CHROMagar MRSA** ont été confirmés comme étant *S. aureus* par un test positif pour la coagulase ; ces isolats ne se sont pas développés sur la gélose de dépistage à l'oxacilline, étaient sensibles à la céfoxitine (taille de zone 30 mm) et n'ont pas produits de colonies roses à mauves sur **CHROMagar MRSA**. Un autre isolat des échantillons négatifs pour PCR a produit des colonies violettes sur **CHROMagar MRSA** qui pouvaient être différenciées par leur couleur des colonies roses à mauves de *S. aureus*.

Les 80 échantillons positifs pour MRSA repiqués à partir de **CHROMagar MRSA** et de la gélose CNA à 5 % de sang de mouton ont tous montré une croissance sur la gélose de dépistage à l'oxacilline.

Au cours du test de diffusion sur disque à la céfoxitine, deux isolats se sont montrés sensibles après repiquage aussi bien à partir de **CHROMagar MRSA** que de la gélose Columbia CNA à 5 % de sang de mouton tandis que 4 souches se sont avérées résistantes après repiquage à partir de **CHROMagar MRSA** mais sensibles après repiquage à partir de la gélose Columbia CNA à 5 % de sang de mouton. Tous les autres isolats se sont montrés résistants aussi bien à partir de **CHROMagar MRSA** que de la gélose Columbia CNA.

La sensibilité et la spécificité comparées à PCR et la gélose de dépistage à l'oxacilline étaient toutes les deux de 100 %. La sensibilité comparée au test de diffusion sur disque était de 91,4 %.

Test d'épreuve

Le test de vingt (20) souches d'épreuve de *S. aureus* a été réalisé dans trois des sites cliniques américains. Dans cette galerie, 9 étaient des MRSA résistants hétérogènes, 5 étaient des MRSA résistants homogènes et 6 étaient des MSSA. Les sensibilités sur chaque site individuel et sur

les sites combinés étaient toutes de 100 % et les spécificités individuelles et globale étaient également toutes de 100 %.

Expression de la résistance

On a évalué la capacité du milieu **BBL CHROMagar MRSA** à détecter les souches hétérogènes et homogènes. Les MRSA peuvent être des résistants hétérogènes ou homogènes. Les souches hétérogènes peuvent présenter un taux d'expression de la résistance aussi faible que 1 cellule sur 1 million, ce qui rend la détection par les tests traditionnels de sensibilité aux antibiotiques extrêmement difficile.¹⁴ On a évalué le taux de mise en évidence et le nombre de colonies de 15 souches, dont 10 MRSA hétérogènes et 5 MRSA homogènes sur **BBL CHROMagar MRSA** puis on les a comparés à ceux sur milieu non sélectif TSA II avec 5 % de sang de mouton. Les 15 souches ont toutes été mises en évidence sur **BBL CHROMagar MRSA** et sur TSA II. Le nombre de colonies sur **BBL CHROMagar MRSA** variait entre 64–99 % pour les souches hétérogènes et entre 71–100 % pour les souches homogènes par comparaison au milieu TSA II. Ces résultats indiquent que **BBL CHROMagar MRSA** est capable de détecter les souches hétérogènes comme les souches homogènes.¹⁴

Etudes d'interférence

On a évalué les interférences potentielles de huit substances médicinales couramment utilisées, du sang humain et de cinq types de système de transport des échantillons sur les réactions chromogènes sur milieu **BBL CHROMagar MRSA**. A une concentration de 10 %, une pulvérisation nasale contenant du chlorhydrate de phényléphrine a une action anti-bactérienne sur **BBL CHROMagar MRSA** ainsi que sur le contrôle non sélectif TSA II avec 5 % de sang de mouton. Aucune autre substance testée et aucun autre système testé n'a interféré avec la performance du milieu **BBL CHROMagar MRSA**.¹³

Valeurs attendues

Lors de l'évaluation extérieure de la performance de **CHROMagar MRSA** (voir **Caractéristiques de performance**), la prévalence globale de la colonisation par *S. aureus* était de 17,2 % (340/1974), telle que mesurée en boîtes de Pétri sur **CHROMagar MRSA** ou sur gélose trypticase soja avec 5 % de sang de mouton (**Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood - TSA II**). La prévalence globale des échantillons positifs pour MRSA (patient non-dupliqué) était de 6,7 % (132/1974), soit environ 39 % (132/340) de tous les *S. aureus*. Le taux de détection de la colonisation par MRSA sur les boîtes de Pétri TSA II était de 6,5 % (117/1974) contre 7,0 % (126/1974) sur les boîtes de Pétri **CHROMagar MRSA**. Les taux de colonisation peuvent varier au sein des divers pays et des différentes populations.^{3,4}

Limites de la méthode

Minimiser l'exposition de **BBL CHROMagar MRSA** à la lumière avant et pendant l'incubation car la lumière peut détruire les chromogènes. Conserver les boîtes dans leur emballage et leur carton d'origine pendant toute la durée du stockage.

Les tests de surveillance déterminent l'état de la colonisation à un moment donné et peuvent varier en fonction du traitement du patient (par ex., régime de décolonisation), de l'état du patient (par ex., n'excrétant pas activement MRSA) ou de l'exposition à des environnements à hauts risques (par ex., contact avec des porteurs de MRSA, hospitalisation prolongée). Le suivi de l'état de la colonisation doit être fait conformément aux règlements hospitaliers en vigueur. Les résultats de **CHROMagar MRSA** doivent être utilisés comme un complément des efforts de contrôle des infections nosocomiales, qui permet d'identifier les patients nécessitant des précautions renforcées.

Ce milieu sert à identifier les patients qu'il faut isoler afin de contrôler la transmission nosocomiale de MRSA ou au contraire les patients qui peuvent sortir de quarantaine. Un résultat **CHROMagar MRSA** négatif qui fait suite à un résultat antérieur positif peut signifier la réussite du traitement d'éradication ou peut résulter d'une excrétion intermittente.

Si des échantillons cliniques sont analysés, il est nécessaire d'ensemencer des milieux supplémentaires avec ces échantillons, en particulier une boîte de gélose au sang non sélective (par ex., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) ainsi que **BD Columbia CNA Agar with**

5% Sheep Blood afin d'améliorer la mise en évidence des organismes à Gram positif intervenant dans l'infection.

Certaines souches d'*Enterococcus* sont résistantes aux agents inhibiteurs contenus dans **BBL CHROMagar MRSA**. Rarement ceci se traduit par une croissance et un développement excessifs de colonies bleues à bleu-vert, rendant la détection de MRSA difficile. Si une forte croissance de colonies bleu-vert est observée, il est recommandé de comparer la croissance obtenue sur **BBL CHROMagar MRSA** à celle sur la boîte de gélose au sang afin de déceler *S. aureus*.

Suivre les durées et les températures d'incubation figurant dans **PROCÉDURE - Mode opératoire du test**.

Au bout de 48 h, des souches occasionnelles de staphylocoques à coagulase négative (tels que *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* et *S. schleiferi*), les espèces d'*Acinetobacter*, les corynebactéries et les levures peuvent produire des colonies de coloration mauve qui nécessitent un test de vérification pour la coagulase afin de confirmer leur identité de MRSA. Ceci peut aussi se produire quoique à un taux beaucoup plus faible au bout de 24 h. Dans les études cliniques avec des échantillons de surveillance, environ 5 % (6/120) des colonies de coloration mauve décelées au bout de 24 h étaient des staphylocoques à coagulase négative et/ou des corynebactéries sur le milieu **BBL CHROMagar MRSA**. Si désiré, une coloration de Gram et/ou un test de détection de la coagulase peut être effectué au bout de 24 h sur les colonies de coloration mauve afin d'accroître la spécificité.

Si les CMI oxacilline ou céfotixine d'un isolat sont égales ou proches des seuils de résistance, des *S. aureus mecA*-négatifs (*S. aureus* faiblement résistants ou BORSA) peuvent croître.

L'incubation à 5 % de CO₂ n'est pas recommandée et peut donner des cultures faussement négatives.

L'utilisation de chlorhydrate de phényléphrine, un composant de quelques pulvérisations nasales à une concentration de ≥ 10 % a un effet inhibiteur sur la croissance des organismes, totalement indépendant de la performance du milieu.

De rares souches de MRSA ont montré une sensibilité à la base **BBL CHROMagar MRSA**. Cette sensibilité est indépendante de la résistance à la méticilline, elle est due à un composant de la base. De ce fait, ces souches peuvent apparaître comme faussement sensibles à la méticilline.

CHROMagar MRSA n'a pas été conçu pour la détection des *S. aureus* autres que MRSA ou celle des autres espèces de *Staphylococcus*.

Avant d'utiliser le **BBL CHROMagar MRSA** pour la première fois, il est recommandé de se familiariser avec l'aspect caractéristique des colonies MRSA à l'aide de souches définies, p. ex. celles citées sous **CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR**.

REFERENCES

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. Tenover (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.

CONDITIONNEMENT

BD BBL CHROMagar MRSA

N° réf. 257308

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

N° réf. 257333

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



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