



BBL™ CHROMagar MRSA II*

APPLICATION

Le milieu **BBL CHROMagar MRSA II** (CMRSAII) est un milieu sélectif de différenciation servant à la détection directe qualitative de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) à partir d'échantillons cliniques. Le test peut être effectué sur des échantillons d'origine respiratoire, gastro-intestinale (GI) inférieure, cutanée et de plaies, sur des prélèvements des fosses nasales antérieures pour le dépistage de la colonisation nasale afin de contribuer à la prévention et au contrôle des infections à SARM en milieu hospitalier et sur des flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif.

RESUME ET EXPLICATION

Les SARM sont une cause majeure d'infections nosocomiales et d'autres infections mettant en danger la vie des patients. Les infections à SARM ont été associées à une morbidité et une mortalité nettement supérieures et à des coûts significativement plus élevés que celles dues aux *S. aureus* sensibles à la méthicilline (SAMS).¹ La diffusion de ces organismes résistants a surtout été importante en milieu hospitalier mais les SARM sont aussi devenus plus répandus dans la communauté.^{2,3}

Pour contrôler la transmission des SARM, la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) a publié 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 SARM.¹

BBL CHROMagar MRSA II est un milieu sélectif de différenciation contenant de la céfoxitine et servant à la détection de SARM dans des échantillons d'origine respiratoire (par ex., écouvillonnages des fosses nasales antérieures, de la gorge, expectorations), gastro-intestinale inférieure (GI) (par ex., écouvillonnages rectaux et selles), cutanée (par ex., aine/aisselle et périnée/périanal) et de plaies, ainsi que sur des flacons positifs d'hémoculture contenant des cocci à Gram positif.

Le milieu **BBL CHROMagar MRSA II** est une version modifiée du milieu CHROMagar MRSA, développé par A. Rambach et BD, et commercialisé par BD dans le cadre d'un contrat de licence passé avec CHROMagar, Paris, France.

PRINCIPES DE LA METHODE

Méthode microbiologique

Le milieu **BBL CHROMagar MRSA II** permet la détection et l'identification directes du SARM au moyen de l'incorporation de substrats chromogènes spécifiques et de céfoxitine. Les souches de SARM se développeront en présence de céfoxitine⁴ et produiront des colonies mauves 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 autres cocci à Gram positif. Les bactéries autres que SARM 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.

*Brevets européens, américains et canadiens en instance

REACTIFS

BBL CHROMagar MRSA II

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Chromopeptone	35,0 g
Mélange chromogène	0,5 g
Chlorure de sodium	17,5 g
Agents inhibiteurs	7,52 g
Céfoxitine	5,2 mg
Gélose	14,0 g

pH : 7,0 +/- 0,2 à 25 °C

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

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

IVD A usage professionnel uniquement. 

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 »⁵⁻⁸ 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, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**.

Détérioration du produit : 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.

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

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans leur emballage et carton d'origine entre 2 et 8 °C jusqu'au moment de l'ensemencement. Minimiser l'exposition à la lumière (< 4h) du **BBL CHROMagar MRSA II** aussi bien avant que pendant l'incubation, car une exposition prolongée peut entraîner une réduction de la récupération et/ou de la coloration des isolats. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'empreinte sur la boîte ou l'étiquette de l'emballage) et incubées pendant les durées recommandées. Les boîtes provenant de piles ouvertes de 10 boîtes 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 « Détérioration du produit ».

Contrôler les performances en ensemençant des échantillons représentatifs avec des dilutions des cultures comme décrit ci-dessous :

1. Strier les boîtes afin de créer l'isolement. Pour le *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et le *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, utiliser l'ensemencement direct.⁹
2. Incuber les boîtes entre 35 et 37 °C en atmosphère aérobie.
3. Incorporer des boîtes de gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton pour qu'elles jouent le rôle de contrôles non sélectifs pour l'ensemble des microorganismes.
4. Examiner les boîtes au bout de 20 à 26 h afin de contrôler la récupération, la taille des colonies et la couleur. Voir les résultats escomptés dans le tableau :

Souche de test	Résultats attendus
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (SARM)	Croissance de colonies mauves
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (SAMS)	Aucune croissance

* Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et/ou aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. L'utilisateur peut se référer aux directives du CLSI pour des pratiques de contrôle qualité appropriées.

METHODE

Matériaux fournis

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

Matériaux requis mais non fournis

Test de confirmation tel celui pour la coagulase ou réactifs du test d'agglutination au latex pour *Staphylococcus* (par ex., **Staphyloslide**), souches de contrôle qualité, milieux de culture auxiliaires et autres matériels de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Le milieu peut être utilisé pour des échantillons d'origine respiratoire (par ex., gorge, expectorations), GI inférieure (par ex., écouvillonnages rectaux et selles), cutanée (par ex., aine/aisselle et périnée/péri-anal) des fosses nasales et de plaies, ainsi que sur des flacons positifs d'hémoculture contenant des cocci à Gram positif.

Prélèvement et préparation des échantillons

L'utilisation de systèmes de transport approuvés pour le prélèvement des échantillons cliniques microbiologiques 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.^{10, 11}

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie. La surface de la gélose doit être lisse et humide, mais sans excès d'humidité. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

- **Prélèvements des fosses nasales antérieures** : dès que possible après réception au laboratoire, ensemencer une boîte de **BBL CHROMagar MRSA II** avec l'échantillon et strier afin de réaliser l'isolement. Incuber les boîtes de Pétri en position retournée, en aérobiose, entre 35 et 37 °C pendant 20 à 26 heures.
- **Flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif** : dès que le flacon d'hémoculture est désigné comme positif et que la coloration de Gram confirme la présence de cocci à Gram positif, prélever une aliquote, ensemencer une boîte de **BBL CHROMagar MRSA II** et strier afin de réaliser l'isolement. Incuber les boîtes de Pétri en position retournée, en aérobiose, entre 35 et 37 °C pendant 18 à 28 heures. Incuber au-delà de 18 à 28 heures est inutile.
- **Tous les autres échantillons (gorge, expectorations, GI inférieure, d'origine cutanée et de plaies)** : dès que possible après réception au laboratoire, ensemencer une boîte de **BBL CHROMagar MRSA II** avec l'échantillon et strier afin de réaliser l'isolement. Incuber les boîtes de Pétri en position retournée, en aérobiose, entre 35 et 37 °C pendant 18 à 28 heures. Si aucune colonie mauve n'est récupérée, ré-incuber pendant 36 à 52 heures.

Ne pas incuber dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone. Minimiser l'exposition à la lumière (< 4 h) du **BBL CHROMagar MRSA II** aussi bien avant que pendant l'incubation, car une exposition prolongée peut entraîner une réduction de la récupération et/ou de la coloration des isolats. L'exposition à la lumière est permise une fois que la coloration des colonies s'est développée.

RESULTATS

Après une incubation adéquate, lire les boîtes sur un fond blanc. Les colonies de SARM apparaîtront mauves sur le milieu **BBL CHROMagar MRSA II**. Les autres organismes (non SARM) seront inhibés ou produiront des colonies incolores, blanches ou bleues à bleu-vert. Consulter les tableaux 1 à 3 pour l'interprétation des résultats.

Tableau 1 : interprétation des résultats pour les prélèvements des fosses nasales antérieures

Incubation 20 à 26 h	Interprétation/Action recommandée
Colonies mauves morphologiquement semblables aux staphylocoques*	Positive – détection de SARM
Détection de colonies non mauves	Négative - Aucun SARM détecté
Aucune croissance	Négative - Aucun SARM détecté

* Voir « LIMITES DE LA PROCEDURE ».

Tableau 2 : interprétation des résultats pour les flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif

Incubation 18 à 28 h	Interprétation/Action recommandée
Colonies mauves morphologiquement semblables aux staphylocoques*	Positive – détection de SARM
Aucune colonie mauve	Négative - Aucun SARM détecté

* Voir « LIMITES DE LA PROCEDURE ».

Tableau 3 : interprétation des résultats pour les échantillons de la gorge, d'expectorations, d'origine GI inférieure, cutanée et de plaies

Incubation 18 à 28 h		Interprétation/Action recommandée
Colonies mauves morphologiquement semblables aux staphylocoques*		SARM détecté
Aucune colonie mauve		Réincuber pendant 18 à 24 h supplémentaires pour atteindre un temps d'incubation total de 36 à 52 heures
Incubation 36 à 52 h	Action recommandée	Interprétation
Colonies* mauves	Effectuer un test de confirmation direct (par ex., pour la coagulase ou d'agglutination au latex pour <i>Staphylococcus</i>)	Si le test pour la coagulase ou d'agglutination au latex pour <i>Staphylococcus</i> est positif – SARM détecté Si le test pour la coagulase ou d'agglutination au latex pour <i>Staphylococcus</i> est négatif – Aucun SARM détecté
Aucune colonie mauve	NA	Aucun SARM détecté

* Voir « LIMITES DE LA PROCEDURE ».

NA = Non applicable

VALEURS ATTENDUES

La prévalence des infections à SARM a significativement augmenté dans les environnements hospitaliers tandis que le taux de porteurs de SARM progresse dans la communauté. Des publications récentes suggèrent que les taux d'hospitalisations liées à *S. aureus* ont augmenté de 62 % et que le nombre estimé d'hospitalisations pour *S. aureus* résistants à la méthicilline a plus que doublé entre 1999 et la fin 2005.¹² Les données du NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System – Surveillance Nationale des Infections Nosocomiales) indiquent que dans les services de soins intensifs, la proportion des infections à SARM a atteint 59,5 à 64,4 % de l'ensemble des infections à *S. aureus*. Des augmentations spectaculaires de l'incidence des infections cutanées et des tissus mous ont été observées, ce qui suggère que le SARM communautaire se propage dans les hôpitaux.^{12, 13}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Le milieu **BBL CHROMagar MRSA II** est un milieu sélectif de différenciation servant à la détection qualitative directe de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) à partir d'échantillons cliniques. Le test peut être réalisé sur des échantillons d'origine respiratoire, gastro-intestinale inférieure (GI), cutanée et de plaies après 18 à 52 heures d'incubation. Il peut également être effectué sur des prélèvements des fosses nasales antérieures pour le dépistage de la colonisation nasale afin de contribuer à la prévention et au contrôle des infections à SARM en milieu hospitalier après 20 à 26 heures d'incubation et sur des flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif après 18 à 28 heures d'incubation.

Evaluations des performances externes

Deux évaluations des performances externes ont été menées :

- Lors de la première évaluation, le milieu **BBL CHROMagar MRSA II** a été évalué dans quatre laboratoires d'analyses médicales différents sur des restes d'échantillons prospectifs d'origine respiratoire (par ex., écouvillonnages des fosses nasales antérieures, de gorge, expectorations), GI inférieure (par ex., écouvillonnages rectaux et selles), cutanée (par ex., aine/aisselle et périnée/périanal) et de plaies, ainsi que sur des flacons positifs d'hémoculture contenant des cocci à Gram positif (tableaux 4 et 5).¹⁴

Les échantillons ont été évalués en comparant les taux de récupération des SARM sur des milieux de culture traditionnels (c.-à-d., gélose de soja tryptique avec 5 % de sang de mouton, gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton ou gélose CNA (colistine, acide nalidixique) selon le type de l'échantillon) et sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II**. Les *S. aureus* récupérés sur les milieux de culture traditionnels ont été testés par la méthode de diffusion sur disque à la céfoxitine. Pour les résultats des tests de diffusion sur disque à la céfoxitine, on a appliqué les critères d'interprétation du CLSI pour la détermination de la résistance à la méthicilline (R) et de la sensibilité à la méthicilline (S), ($R \leq 21$ mm et $S \geq 22$ mm).^{4, 15} Pour **BBL CHROMagar MRSA II**, l'interprétation de positif au SARM était basée sur la détection de colonies mauves au bout de 18 à 28 heures et la détection de colonies mauves avec confirmation de l'identité *S. aureus* au bout de 36 à 52 heures.

La prévalence globale de SARM sur **BBL CHROMagar MRSA II** était de 15 % (778/5 051), soit environ 65,6 % (778/1 186) de tous les *S. aureus*. Pour les cultures traditionnelles (c.-à-d., gélose de soja tryptique avec 5 % de sang de mouton, gélose Columbia avec 5 % de sang de mouton et gélose CNA), le taux de récupération des SARM était de 79,8 % (621/778), tandis que sur **BBL CHROMagar MRSA II**, il était de 95,6 % (744/778).

Tableau 4 Taux de récupération des SARM : BBL CHROMagar MRSA II par rapport aux milieux de culture traditionnels

		Taux de récupération des SARM	
Catégorie d'échantillon	Temps ¹ de lecture	Culture traditionnelle	CMRSaII
Respiratoire	24 h	79,8 % (182/228)	85,5 % (195/228)
	48 h	76,8 % (182/237)	92,4 % (219/237)
GI inférieur	24 h	86,9 % (93/107)	87,9 % (94/107)
	48 h	77,5 % (93/120)	98,3 % (118/120)
Cutané	24 h	68,6 % (118/172)	88,4 % (152/172)
	48 h	66,3 % (118/178)	96,1 % (171/178)
Plaies	24 h	90,6 % (115/127)	92,1 % (117/127)

		Taux de récupération des SARM	
Catégorie d'échantillon	Temps ¹⁾ de lecture	Culture traditionnelle	CMRSaII
	48 h	88,5 % (115/130)	94,6 % (123/130)
Hémoculture²⁾	24 h	100 % (113/113)	100 % (113/113)
Combiné³⁾	24 h	83,1 % (621/747)	89,8 % (671/747)
	48 h	79,8 % (621/778)	95,6 % (744/778)

¹⁾ 24 h représente une plage de lecture de 18 à 28 h sans test de confirmation nécessaire tandis que 48 h correspond à une plage de lecture de 36 à 52 h avec test de confirmation.

²⁾ Flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif

³⁾ inclut toutes les origines d'échantillons (respiratoire, GI inférieure, cutanée, plaie et hémoculture)

Tableau 5 : Performance de BBL CHROMagar MRSA II par rapport à la culture traditionnelle et au test de diffusion sur disque à la céfoxitine par type d'échantillon

		Disque à la céfoxitine	
Catégorie d'échantillon	Temps ¹⁾ de lecture	Sensibilité (IC à 95 %)*	Spécificité (IC à 95 %)*
Respiratoire	24 h	85,5 % (195/228) (80,3 %, 89,8 %)	99,8 % (1 216/1 218) (99,4 %, 100 %)
	48 h	92,4 % (219/237) (88,3 %, 95,4 %)	99,8 % (1 207/1 209) (99,4 %, 100 %)
GI inférieur	24 h	87,9 % (94/107) (80,1 %, 93,4 %)	100 % (587/587) (99,4 %, 100 %)
	48 h	98,3 % (118/120) (94,1 %, 99,8 %)	100 % (574/574) (99,4 %, 100 %)
Cutané	24 h	88,4 % (152/172) (82,6 %, 92,8 %)	100 % (1 103/1 103) (99,7 %, 100 %)
	48 h	96,1 % (171/178) (92,1 %, 98,4 %)	100 % (1 097/1 097) (99,7 %, 100 %)
Plaies	24 h	92,1 % (117/127) (86 %, 96,2 %)	100 % (821/821) (99,6 %, 100 %)
	48 h	94,6 % (123/130) (89,2 %, 97,8 %)	100 % (818/818) (99,6 %, 100 %)
Hémoculture²⁾	24 h	100 % (113/113) (96,8 %, 100 %)	100 % (575/575) (99,4 %, 100 %)
Combiné³⁾	24 h	89,8 % (671/747) (87,4 %, 91,9 %)	100 % (4 302/4 304) (99,8 %, 100 %)
	48 h	95,6 % (744/778) (93,9 %, 97 %)	100 % (4 271/4 273) (99,8 %, 100 %)

* IC= Intervalle de confiance

¹⁾ 24 h représente une plage de lecture de 18 à 28 h sans test de confirmation nécessaire tandis que 48 h correspond à une plage de lecture de 36 à 52 h avec test de confirmation.

²⁾ Flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif

³⁾ inclut toutes les origines d'échantillons (respiratoire, GI inférieure, cutanée, plaie et hémoculture)

Echantillons d'origine respiratoire :

Un total de 1 446 échantillons d'origine respiratoire ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** était plus élevé, se chiffrant à 92,4 % (219/237), contre 76,8 % (182/237) sur les boîtes de culture traditionnelle à 48 h. Les lectures sur la plage 18 à 28 h ont donné deux faux positifs sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II**, soit une spécificité de 99,8 % (1 216/1 218). En utilisant seulement la coloration des colonies pour la lecture de **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h et en confirmant l'identité des colonies mauves avec un test de confirmation pour la lecture sur la plage 36 à 52 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 98,6 % (1 426/1 446) pour les échantillons d'origine respiratoire.

Echantillons d'origine GI inférieure :

Un total de 694 échantillons d'origine GI inférieure ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** était plus élevé, se chiffrant à 98,3 % (118/120), contre 77,5 % (93/120) sur les boîtes de culture traditionnelle à 48 h. Aucun faux positif n'a été observé sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II**. En utilisant seulement la coloration des colonies pour la lecture de **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h et en confirmant l'identité des colonies mauves avec un test de confirmation pour la lecture sur la plage 36 à 52 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 99,7 % (692/694) pour les échantillons d'origine GI inférieure.

Echantillons d'origine cutanée :

Un total de 1 275 échantillons d'origine cutanée ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** était plus élevé, se chiffrant à 96,1 % (171/178), contre 66,3 % (118/178) sur les boîtes de culture traditionnelle à 48 h. Aucun faux positif n'a été observé sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II**. En utilisant seulement la coloration des colonies pour la lecture de **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h et en confirmant l'identité des colonies mauves avec un test de confirmation pour la lecture sur la plage 36 à 52 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 99,5 % (1 268/1 275) pour les échantillons d'origine cutanée.

Echantillons de plaies :

Un total de 948 échantillons de plaies ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** était plus élevé, se chiffrant à 94,6 % (123/130), contre 88,5 % (115/130) sur les boîtes de culture traditionnelle à 48 h. Aucun faux positif n'a été observé sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II**. En utilisant seulement la coloration des colonies pour la lecture de **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h et en confirmant l'identité des colonies mauves avec un test de confirmation pour la lecture sur la plage 36 à 52 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 99,3 % (941/948) pour les échantillons de plaies.

Flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif :

Un total de 688 flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur **BBL CHROMagar MRSA II** et sur les boîtes de culture traditionnelle était équivalent et atteignait 100 % (113/113) sur la plage 18 à 28 heures. Aucun faux positif n'a été observé sur **BBL CHROMagar MRSA II**. En utilisant seulement la coloration pour la lecture des boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 100 % (688/688) pour les flacons d'hémoculture positifs.

Echantillons combinés :

Un total de 5 051 échantillons combinés ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur les boîtes de culture traditionnelle et sur les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. Le taux de récupération globale de SARM sur les boîtes **BBL CHROMagar MRSA II** était plus élevé, se chiffrant à 95,6 % (744/778), contre 79,8 % (621/778) sur les boîtes de culture traditionnelle pour tous les types d'échantillons combinés (respiratoires, GI inférieurs, cutanés, de plaies, et flacons d'hémoculture positifs contenant des cocci à Gram positif). La lecture sur la plage 18 à 28 heures a donné deux faux positifs (colonies mauves) sur **BBL CHROMagar MRSA II**, soit une spécificité de 99,9 % (4 271/4 273). En utilisant seulement la coloration des colonies pour la lecture de **BBL CHROMagar MRSA II** sur la plage 18 à 28 h et en confirmant l'identité des colonies mauves avec un test de confirmation pour la lecture sur la plage 36 à 52 h, la concordance totale entre le test sur **BBL CHROMagar MRSA II** et le test de diffusion sur disque à la céfoxitine était de 99,3 % (5 015/5 051) pour tous les échantillons combinés.

Test d'épreuve

Le test de vingt (20) souches d'épreuve de *S. aureus* a été réalisé dans trois des sites d'analyses médicales. La galerie comprenait 14 SARM et 6 SAMS. La concordance au niveau de chaque site individuel et des sites combinés était de 100 %.

- Lors de la seconde évaluation, le **BBL CHROMagar MRSA II** a été évalué dans trois laboratoires cliniques avec des emplacements géographiques diversifiés sur des prélèvements des fosses nasales antérieures à des fins de surveillance. Les échantillons ont été évalués en comparant la mise en évidence de SARM sur une boîte de Pétri de gélose de soja tryptique avec 5 % de sang de mouton (TSA II) et la procédure habituelle de chaque site pour l'identification de *S. aureus* (culture traditionnelle) avec les boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II**. (La procédure habituelle pour deux sites englobait un test d'agglutination au latex pour staphylocoque et pour le troisième, un test pour la coagulase. Tous les *S. aureus* mis en évidence ont été testés par la méthode de diffusion sur disque à la céfoxitine afin de déterminer leur résistance à l'oxacilline (gène *mecA*.) Les résultats de la méthode de diffusion sur disque à la céfoxitine (30 µg) respectaient les critères d'interprétation et les méthodes CLSI.^{4, 15} **BBL CHROMagar MRSA II** a été interprété comme positif pour le SARM sur la plage 20 à 26 h suite à la détection de colonies mauves.

Pour les deux évaluations externes, 1 613 échantillons admissibles des fosses nasales antérieures ont été évalués au total, comparant la mise en évidence du SARM sur des boîtes de culture traditionnelles et des boîtes de **BBL CHROMagar MRSA II** après une incubation de 20 à 26 h (tableau 6). Le pourcentage de concordance positif et le pourcentage de concordance négatif de **BBL CHROMagar MRSA II** après 20 à 26 h par rapport à la culture traditionnelle étaient de 87,9 % et 98,6 %, respectivement. La sensibilité et la spécificité par rapport à la méthode de diffusion sur disque à la céfoxitine étaient de 88,8 et 99,8 %, respectivement.

Tableau 6 : performances de BBL CHROMagar MRSA II par rapport à la culture traditionnelle et au test de diffusion sur disque à la céfoxitine pour les échantillons des fosses nasales

Culture traditionnelle			
Type d'échantillon	Temps de lecture	Pourcentage de concordance positif (IC à 95 %)	Pourcentage de concordance négatif (IC à 95 %)
Fosses nasales	24 h ¹	87,9 % (181/206) (82,6 %, 92,0 %)	98,6 % (1 387/1 407) (97,8 %, 99,1 %)

Test de diffusion sur disque à la céfoxitine (CLSI)			
Type d'échantillon	Temps de lecture	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Fosses nasales	24 h ¹	88,8 % (198/223) (83,9 %, 92,6 %)	99,8% (1 387/1 390) (99,4 %, 100 %)

¹24 h représente une plage de lecture de 20 à 26 h sans test de confirmation nécessaire

Evaluation des performances internes

Limites de la détection (LOD)

Afin de déterminer la limite de détection (LOD) pour la récupération des *S. aureus* résistants à la méthicilline sur **BBL CHROMagar MRSA II**, on a évalué le taux de récupération sur **BBL CHROMagar MRSAII** de quatre souches, dont deux SARM hétérogènes et deux SARM homogènes.¹⁶ Une gélose Columbia non sélective avec 5 % de sang de mouton a servi à déterminer la concentration exprimée en unités formant colonies (UFC) pour chaque dilution. La LOD pour **BBL CHROMagar MRSA II** variait entre 4 et 116 UFC à 24 h et entre 4 et 24 UFC à 48 h¹⁷.

Etudes d'interférence

On a évalué les interférences potentielles de 30 substances dont des substances médicinales couramment utilisées, des systèmes de transport, des bouillons d'enrichissement, des milieux d'hémoculture, ainsi que leur inhibition potentielle des SARM sur **BBL CHROMagar MRSA II**. Certains bains de bouche, certaines pastilles pour la gorge, l'acide acétylsalicylique, des lubrifiants intimes et l'ibuprofène peuvent réduire le taux de récupération des SARM. Les sprays nasaux contenant du propionate de fluticasone, du chlorhydrate d'azélastine, du chlorhydrate de phényléphrine et du chlorhydrate d'oxymétazoline ainsi que les pastilles pour la gorge au menthol vendues sans ordonnance ont démontré une activité antibactérienne.

Aucune autre substance, aucun autre système ou milieu testé n'a interféré avec la récupération des SARM sur **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Minimiser l'exposition à la lumière (< 4 h) du **BBL CHROMagar MRSA II** aussi bien avant que pendant l'incubation, car une exposition prolongée peut entraîner une réduction de la récupération et/ou de la coloration des isolats.
- L'incubation sous CO₂ n'est pas recommandée et peut donner des cultures faussement négatives.
- Incuber au-delà de 36 à 52 heures est déconseillé.
- Pour les échantillons des fosses nasales antérieures, les performances de **BBL CHROMagar MRSA II** ont été optimisées pour une incubation de 20 à 26 h entre 35 et 37 °C. Des températures d'incubation inférieures (<35 °C) et/ou des durées d'incubation plus courtes (<20 h) peuvent réduire la sensibilité de **BBL CHROMagar MRSA II**. Notez que l'ouverture répétée des portes de l'incubateur peut abaisser 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.

- Après une incubation de 24 h ou davantage, certaines souches de *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi*, et *Bacillus cereus* peuvent produire des colonies colorées en mauve. Au besoin, une coloration de Gram peut être effectuée.
- Après une incubation de 24 h ou davantage, *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis*, et *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline peuvent également produire, dans de rares cas, des colonies mauves. En l'absence de suspicion de SARM, un test pour la coagulase et un test de sensibilité aux antimicrobiens (AST) peuvent être réalisés.
- De rares souches de SARM ont montré une sensibilité à la base **BBL CHROMagar MRSA II**. Cette sensibilité est indépendante de la résistance à la méthicilline, elle est due à un composant de la base. De ce fait, ces souches peuvent apparaître comme faussement sensibles à la méthicilline.
- Il existe de rares souches de SARM produisant des colonies non mauves sur **BBL CHROMagar MRSA II**. En cas de suspicion de SARM, repiquer les colonies non mauves pour de nouveaux tests d'identification et de sensibilité au besoin.
- Une forte charge bactérienne et/ou certains échantillons peuvent entraîner une coloration non spécifique du quadrant primaire du milieu. Ceci peut se traduire par une coloration mauve, violette, verte ou bleue du milieu ou un léger voile au-dessus du milieu en l'absence de colonies distinctes. Une coloration non spécifique du milieu doit être interprétée comme négative.
- Des *S. aureus mecA*-négatifs peuvent croître si les CMI pour l'oxacilline et la céfoxitine sont proches ou égales aux seuils de résistance.
- Les mécanismes de résistance autres que le *mecA* (c.-à-d. *Staphylococcus aureus* faiblement résistant à l'oxacilline ou BORSA et *Staphylococcus aureus* modifié ou MODSA) n'ayant pas été évalués en profondeur avec le CMRSA II, les performances du CMRSA II avec ces mécanismes de résistance sont inconnues.
- L'isolement des SARM étant variable selon le nombre d'organismes présents dans l'échantillon, il est indispensable que l'échantillon ait été prélevé, manipulé et stocké correctement pour obtenir des résultats fiables.
- Un seul résultat négatif ne doit pas servir de base unique à un diagnostic, un traitement ou à des décisions thérapeutiques. Des cultures concomitantes peuvent être nécessaires pour l'identification de l'organisme, le test de la sensibilité ou le typage épidémiologique.

Avant d'utiliser le **BBL CHROMagar MRSA II** pour la première fois, il est recommandé de se familiariser avec l'aspect caractéristique des colonies de SARM à l'aide de souches définies ; celles citées sous **Contrôle de qualité par l'utilisateur** sont recommandées.

CONDITIONNEMENT

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (milieu en boîtes de Pétri prêt à l'emploi), 20 unités par carton

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (milieu en boîtes de Pétri prêt à l'emploi), 120 unités par carton

REFERENCES

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. Données disponibles, archives de BD Diagnostics.

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

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



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.