



Screening for MRSA

NordicAST workshop 2012

Robert Skov

Screening for MRSA

- Udfordringer
 - Der kan være få MRSA kolonier
 - Anden bakteriel flora inklusive KNS
- Metoder
 - Dyrkningsbaseret
 - Gen detektions baseret

Screening

- Dyrkningsbaseret
 - Standard media
 - Selektive media
 - Antibiotika
 - Oxacillin/methicillin/cefoxitin, aztreonam, ciprofloxacin
 - Vækst modificering
 - NaCl, Lithium, desferrioxamine, telliurite
 - Indikatorer
 - Color change indicator e.g. mannitol - phenolred
 - Chromogener
 - Opformering!
 - Mange muligheder for sammensætning!!

Reference	Total no. of MRSA No. of samples	Tested Agar media	Broth for subculture	% Additional MRSA isolates found by broth methods
Cookson et al. Lancet (1987) March 21;1:696	139 / 666	<input type="checkbox"/> MSA + 5mg/L methicillin	Oxoid nr.2 (7,5% NaCl) + same agar	44%
Van Ogtrop et al. Antimic agents & chemotherapy (1995) Sept.,p. 269	464 / 1548	<input type="checkbox"/> BA <input type="checkbox"/> MSA	Nutrient broth (6,5% NaCl) Oxoid + same agars	14%
Davies et al. J Clin Patol (1997);50:257-258	134 / 402	<input type="checkbox"/> MSA <input type="checkbox"/> MSA ox <input type="checkbox"/> BP + ciproxin	Tryptone-T broth, Unipad (6% NaCl) + same agars	9-18%
Wanten et al. Nephrol Dial Transplant (1998)13:1256- 1258	141 / 454	<input type="checkbox"/> BA <input type="checkbox"/> MSA	TSB (6,5% NaCl) , BBL + same agars	23%
Gardam et al. Inf contr hosp epid (2001) March, P. 152-156	156 / 1644	<input type="checkbox"/> MSA ox 2mg/L <input type="checkbox"/> MSA ox 4 mg/L	Tryptone broth (7,5% NaCl), Difco + MSA 4mg/L oxa. (ASM protocol)	13-23%
Wertheim et. al J Clin microbiol (2001),39: P.2660- 2663	40 / 1098	<input type="checkbox"/> BA <input type="checkbox"/> MSA	MSB + Ceftizoxime + Aztreonam + BA	43%
Blanc et al. J Clin microbiol (2003) Aug, P.3499-3502	1112 / 7929	ORSA (Oxoid)	Mueller Hinton 5mg/l oxa. (4,5% NaCl) + ORSA / LSMA	24%
Safdar et al. J Clin microbiol (2003) July, 41, P. 3161-3166	43 / 816	<input type="checkbox"/> MSA <input type="checkbox"/> MHA ox <input type="checkbox"/> MSA ox <input type="checkbox"/> MSAL ox	TSB (6,5% NaCl) + same agars	7 – 14 %
Grmek-Kosnik et al. J hosp inf (2005) 61, P. 155-161	86 / 1254	<input type="checkbox"/> BA <input type="checkbox"/> ORSA (Oxoid)	Todd-Hedwitt broth (BD)+ CNA supplement (Oxoid) + same agars	20 – 30%

kromogene media

- Udgør klart en fordel – pga farveomslaget som gør dem “let” aflæselige
 - Generel god “performance”
 - Sensitivitet øges af forudgående opformering
 - Nahimana, CMI, Dec 2006 14 -28%
 - Van Loo, J Med Micro, 491, 2007 12 %
 - de San, JCM, 2007, 1098 19%
 - Rossney, EJCMID, 2007; 459 12%

Screening

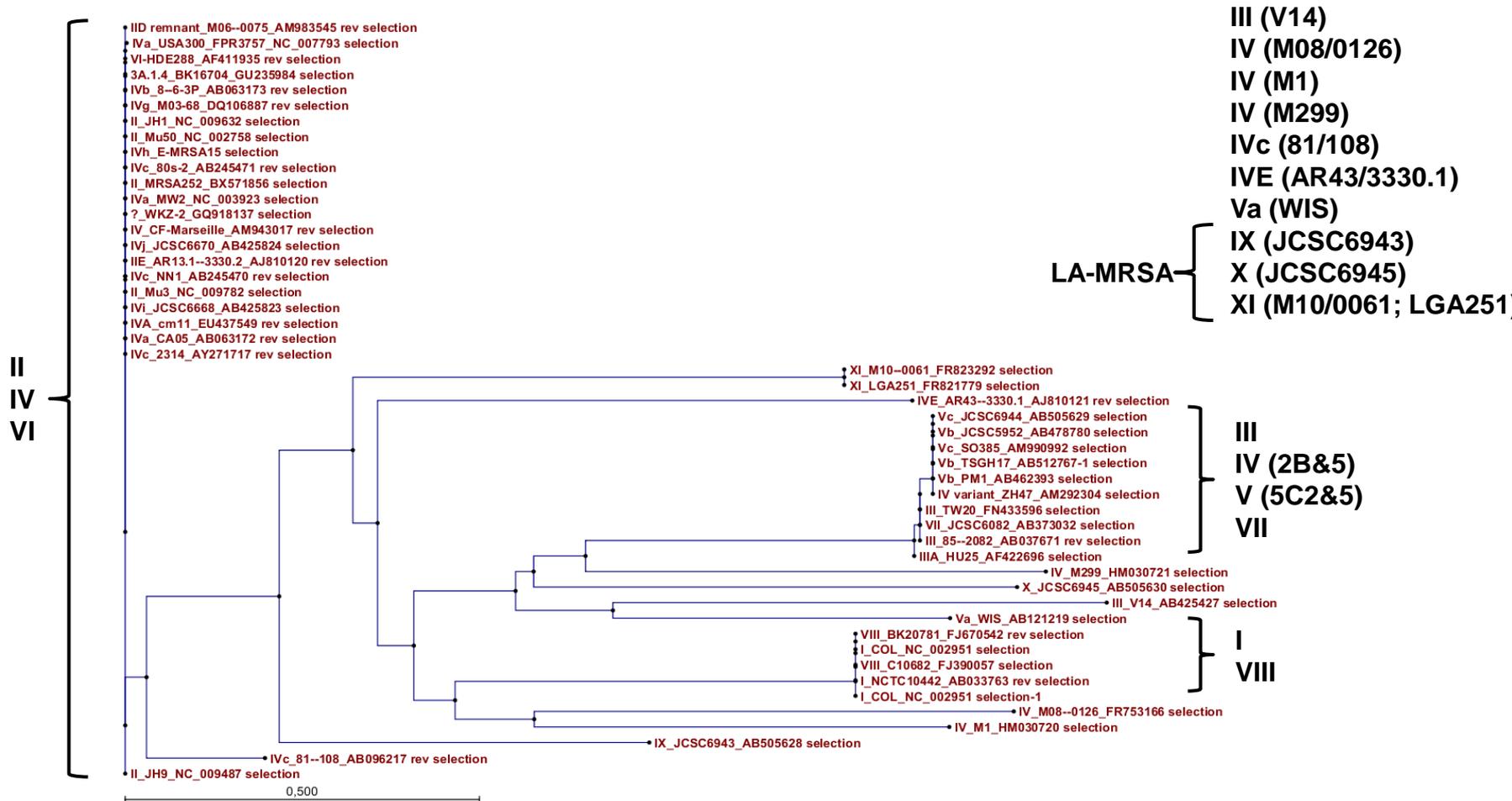
- Molekylære metoder - PCR baseret
 - Separate detektion af
 - *mecA*
 - *S. aureus* specifikt gen (eg. *nuc*)
- Kombineret detektion
 - *SCCmec* and *orfx*
 - “genial ide”

OBS: mixed samples of MSSA and MR-CNS

Genotypisk detektion

- Udfordringer
 - identisk *mecA* gene i CoNS
 - Nogle KNS giver signal svarende til *orfX*
 - Falsk positive ses
 - *orfX* er et godt target MEN afstanden til *mecA* er for lang til at lave en pcr
 - Derfor anvendes surrogat sekvenser I J3 regionen i stedet

Fylogenetisk træ over DNA sekvens diversiteten I J3 regionen (første 500 bp)



Fylogenetisk træ over DNA sekvens diversiteten I J3 regionen (første 500 bp)



Sensitivitet og specificitet

Type of specimens	No. of specimens	Sens %	Spec %	Reference
Nose	? -204 ptts	95	98	Rossney, JCM, 2008, 3285
Nose	1077	86.3	94.9	Wolk, JCM, 2010, 758
Nose	43	89.5	100	Kelley, JCM, 2009, 3769
Nose	414	100	99.4	Hombach, JCM,2010, 2882
Groin/peri	? -204 ptts)	97	96	Rossney, JCM, 2008, 3285
Groin	43	78.6	92.6	Kelley, JCM, 2009, 3769
Groin	389	100	99.4	Hombach, JCM,2010, 2882
Blood culture	223	98%	100%	Parta, JCM,

Falsk positive

- Der findes andre *SCCmec* elementer end *SCCmec*
 - *SCCmec* kassetten kan have tabt *mecA*
 - 28 isolater fra prøver som var Xpert positive (13% af MRSA I lav endemisk område) viste sig at være MSSA
 - 11 forskellige genetiske MSSA linjer
 - *orfX* lignende sekvenser i MR-CoNS
 - *S. Sciuri*

“Den svenske metode”

- Primær screening for *nuc* (*S. aureus*)
 - *nuc* positive videreundersøges
- Podepind/ provtagningspinne
 - bouillion opformering over nat
 - (+/- pooling enten før eller efter opformering)
- udsåning af positive prøver på
 - Alm medie (blodplader)
 - Selektive stafylokokplader
 - Selektive MRSA plader
 - +/- cefoxitin disk

Konklusion

- Mange måder at nå til Rom
 - Der findes ingen eentydig universel bedste metode!
- I min optik
 - Opformering øger klart sensitiviteten
 - De kommercielle metoder er GODE
 - husk begrænsningerne!
 - forklar klinikere om disse!
 - Styrke er for de “negative prøver”!!!