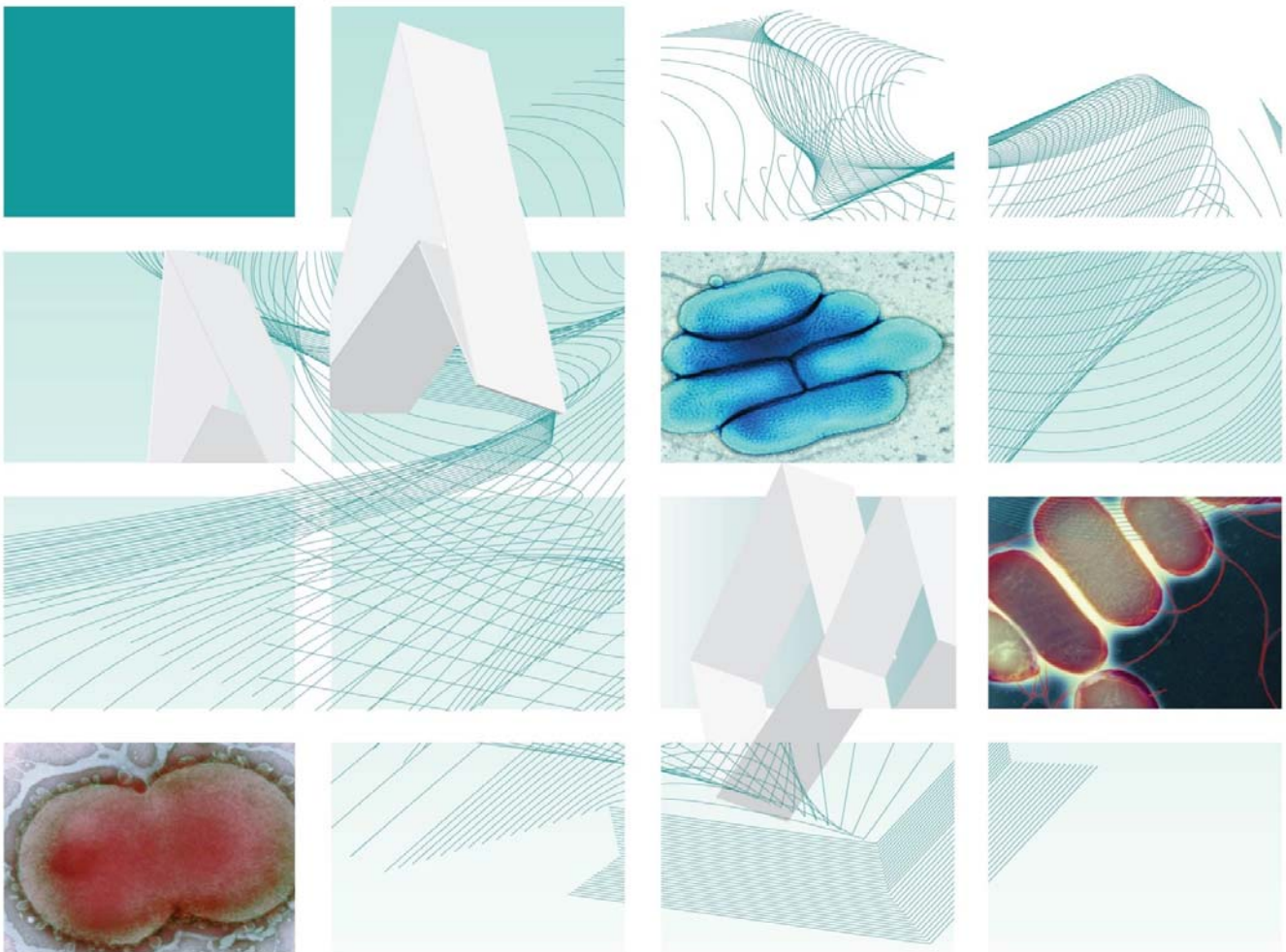




Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Ricerca di MRSA con Screening su Campioni



Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <http://www.hpa.org.uk/SMI/WorkingGroups>).

Si ringraziano per contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i Revisori Medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

Per ulteriori informazioni contattare:

Standards Unit
Microbiology Services
Public Health England
61 Colindale Avenue
London NW9 5EQ

E-mail: standards@phe.gov.uk

Website: <http://www.hpa.org.uk/SMI>

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche sono sviluppate con la collaborazione di:



Contenuti

| | |
|--|-----------|
| RINGRAZIAMENTI | 2 |
| TABELLA MODIFICHE | 4 |
| SMI DEL RU: OBIETTIVO E SCOPO | 6 |
| SCOPO DEL DOCUMENTO | 8 |
| SCOPO | 8 |
| INTRODUZIONE | 8 |
| INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI | 12 |
| 1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA | 14 |
| 2 PRELIEVO DEL CAMPIONE | 14 |
| 3 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE | 14 |
| 4 PROCESSO/PROCEDURA SUL CAMPIONE | 15 |
| 5 PROCEDURA DI REFERTAZIONE | 17 |
| 6 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE | 17 |
| APPENDICE1: CARATTERISTICHE DEGLI MRSA NEL RU | 19 |
| APPENDICE2: RICERCA IN CAMPIONI PER SCREENING DI MRSA | 20 |
| BIBLIOGRAFIA | 21 |



NICE ha accreditato la procedura usata dalla Public Health England per elaborare gli Standards for Microbiology Investigations. L'accreditamento è valido per 5 anni dal Luglio 2011. Informazioni più dettagliate sull'accreditamento possono essere consultate: www.nice.org.uk/accreditation.

Per ulteriori informazioni sul nostro accreditamento consultare: : www.nice.org.uk/accreditation

Tabella delle Modifiche

Ciascun metodo SMI possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso E-mail: standards@phe.gov.uk

I documenti nuovi o revisionati devono essere controllati in ciascun laboratorio in accordo con il sistema locale di gestione della qualità.

| | |
|--|---|
| Modifica No/Data. | 8/03.04.14 |
| Emissione eliminata. no | 5.2 |
| Emissione inserita no. | 6 |
| Sezione(i) interessate/Pagina no. | Modifica. |
| Documento intero . | <p>Il documento è stato inserito in un nuovo formato che evidenzia il passaggio della Health Protection Agency alla Public Health England.</p> <p>Prima pagina ridisegnata.</p> <p>Rinominata la pagina di "Stato come Scopo" e Obiettivo ed aggiornata in modo appropriato.</p> <p>I loghi delle organizzazioni professionali sono stati revisionati ed aggiornati.</p> <p>Revisionata e aggiornata bibliografia degli Standard di sicurezza e referenti delle denunce</p> |
| Introduzione | <p>Introduzione è stata modificata per favorire la comprensione e per favorire il flusso. Inserito MRSA del bestiame.</p> <p>La concentrazione raccomandata del brodo di arricchimento è stata modificata dal 7% al 2,5</p> |
| Appendice | <p>Annullata la vecchia Appendice 1</p> <p>Appendice 2 ha sostituito Appendice 1 con un collegamento per sostituire la tabella.</p> <p>La vecchia appendice 3 è diventata Appendice 2.</p> |
| Bibliografia | Bibliografia revisionata e aggiornata |

| | |
|--------------------------------|------------------|
| Modifica No/Data. | 7/12.07.12 |
| Emissione eliminata. no | 5.1 |
| Emissione inserita no. | 5.2 |
| Sezione(i) interessate. | Modifica. |

| | |
|--|--|
| <p>Intero documento</p> | <p>Documento presentato in nuovo formato.</p> <p>Il termine " contenitore a tenuta ermetica con marchiatura CE " sostituisce quello di " contenitore impermeabile sterile " (ove appropriato) e si riferisce al testo specifico nell'ambito della Direttiva UE per Dispositivi Medico-Diagnostici in vitro (98/79/CE allegato 1 B 2.1) e alla direttiva stessa EC^{1,2}.</p> <p>Edito per chiarezza</p> <p>Riorganizzazione di parte del testo</p> <p>Piccole modifiche del testo.</p> |
| <p>Sezione per prelievo, trasporto, conservazione e procedura sul campione</p> | <p>Riorganizzato. Numerazione modificata.</p> |
| <p>Bibliografia</p> | <p>Bibliografia in parte aggiornata.</p> |

SMI del RU#: Obiettivo e Scopo

Utilizzatori delle SMI

Nel Regno Unito le SMI sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio e delle malattie infettive.

Le SMI forniscono ai clinici informazioni in merito allo standard dei servizi di laboratorio riferibili alle ricerche per la diagnosi delle infezioni nei loro pazienti e le documentazioni forniscono indicazioni che facilitano la prenotazione elettronica di tests appropriati da parte dei reparti ospedalieri.

Le SMI forniscono gli standard per le ricerche microbiologiche anche ai responsabili della sanità pubblica che devono considerarle come parte delle procedure da adottare per la salute (sia clinica che pubblica) per la propria popolazione

Informazioni di Base per le SMI

Le SMI comprendono algoritmi e procedure raccomandate che riguardano tutte le componenti del processo diagnostico dalla fase pre-analitica (sindrome clinica) alle diverse fasi analitiche (prove di laboratorio) e post-analitiche (interpretazione e comunicazione dei risultati). Gli algoritmi delle sindromi sono corredati da informazioni più dettagliate contenenti consigli sulle indagini per specifiche malattie e infezioni. Note orientative riguardano il contesto clinico, la diagnosi differenziale e indagini appropriate per particolari condizioni cliniche. Le note orientative descrivono metodologie di laboratorio essenziali che sono alla base della qualità, ad esempio la validazione della prova, la garanzia della qualità, la definizione dell'incertezza della determinazione.

La Standardizzazione del processo diagnostico conseguente all'adozione delle SMI consente di garantire in tutto il Regno Unito strategie d'indagine equivalenti nei diversi laboratori ed è una condizione essenziale per interventi nel campo della sanità pubblica, della sorveglianza, e per le attività di ricerca e di sviluppo.

Collaborazione Paritaria

La preparazione e stesura delle SMI è effettuata mediante collaborazione paritaria fra PHE, NHS, Royal College of Pathologists e le organizzazioni professionali. L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnershipshttp>. L'inclusione del logo di una organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del comitato direttivo e dei Gruppi di Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei rappresentanti possono non essere rigorosamente conformi a quelle dei membri delle organizzazioni a cui appartengono né a quelle delle loro organizzazioni. I rappresentanti prescelti rappresentano uno strumento bidirezionale per la consultazione e dialogo. Le opinioni espresse sono ricercate con un processo di consultazione.

Le SMI sono sviluppate, revisionate ed aggiornate con un ampio processo di consultazione

Assicurazione di Qualità

Il NICE (National Institute for Health and Care Excellence) ha accreditato la procedura utilizzata dai Gruppi di Lavoro per produrre le SMI. L'accREDITAMENTO è applicabile a tutte le linee guida prodotte dall'Ottobre del 2009. La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008. Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono accreditate dal NICE e non rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più

[#] Microbiologia è usato come termine generico per includere le due specialità di Microbiologia Medica riconosciute dal GMC (General Medical Council), (che comprende Batteriologia, Micologia e Parassitologia) e la Virologia Medica.

alto livello di complesse indagini di laboratorio disponibili nel Regno Unito. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche aggiuntive qualora opportune. Le SMI aiutano i laboratori a soddisfare i requisiti dell'accreditamento con la promozione di procedure d'elevata qualità che possono essere verificate. Le SMI forniscono inoltre un punto di riferimento per lo sviluppo del metodo. Le prestazioni della SMI dipendono dal personale ben addestrato e dalla qualità dei reagenti e delle attrezzature utilizzate. I laboratori dovrebbero assicurare che tutti i reagenti di tipo commerciale e quelli messi a punto in laboratorio siano stati validati e risultati idonei allo scopo. I laboratori devono partecipare a programmi di valutazione di qualità esterni ed eseguire le relative procedure del controllo di qualità interno.

Coinvolgimento del Paziente e della Comunità

Nello sviluppo delle SMI i rispettivi Gruppi di Lavoro sono impegnati per favorire il coinvolgimento dei pazienti e dell'opinione pubblica. Grazie al coinvolgimento pubblico, di operatori sanitari, ricercatori e organizzazioni di volontariato la SMI risultante sarà strutturalmente valida e atta a soddisfare le esigenze dell'utente. L'opportunità di partecipazione per contribuire alla consultazione è estesa al pubblico con l'accesso libero al nostro sito web

Informazione della Gestione e dei Dati Sensibili

La PHE è un'organizzazione che condivide le direttive Caldicott. Ciò significa prendere ogni possibile precauzione per prevenire la diffusione non autorizzata di informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni relative agli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza. Lo sviluppo di metodi SMI è assoggettato agli obiettivi PHE di Uguaglianza http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317133470313.

I Gruppi di Lavoro SMI sono impegnati a raggiungere gli obiettivi di parità di consultazione efficace con gli appartenenti al pubblico, i partner, le parti interessate ed i gruppi specialistici coinvolti.

Dichiarazione Legale

Mentre ogni cura è stata intrapresa per la preparazione delle SMI, PHE e ogni altra organizzazione di sostegno, deve, per quanto possibile in base a qualunque legge vigente, escludere la responsabilità per tutte le perdite, costi, reclami, danni o spese derivanti da o connessi all'uso di una SMI o con qualsiasi informazione ivi contenuta. Se si apportano modifiche a una SMI, si deve porre in evidenza dove e da chi sono state effettuate tali modifiche.

Le conoscenze di base e la tassonomia microbica per la SMI sono le più complete possibili, al momento della pubblicazione. Eventuali omissioni e nuove informazioni saranno considerate nel corso della prossima revisione. Queste procedure standard (SMI) possono essere sostituite solo da revisioni dello standard, azione legislativa, o in seguito ad indicazioni da parte dell'ente accreditato NICE.

I diritti d'autore delle SMI sono della "Crown" e questi dovrebbero essere riconosciuti quando appropriato.

Citazione Suggesta per questo Documento

Public Health England. (2014). Investigation of Specimens for Screening for MRSA. UK Standards for Microbiology Investigations. B 29 Emissione 6. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>

Scopo del Documento

Tipo di campioni

Screening per MRSA su campioni.

Scopo

Questo standard del RU per la Ricerca Microbiologica (SMI) descrive la procedura di screening per i campioni di origine umana per la ricerca di *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (MRSA) .

Questa SMI dovrebbe essere usata in combinazione con altre SMI . Di particolare rilevanza sono la SMI sul web www.hpa.org.uk/SMI/pdf/Bacteriology.

Linee guida per il controllo di MRSA nelle strutture sanitarie sono state prodotte da un gruppo di lavoro a cui hanno partecipato la Healthcare Infection Society (HIS), la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) e Infection Control Nurses Association (ICNA)³ Queste linee guida raccomandano un approccio alla valutazione del rischio e consigliano i Comitati di Controllo dell'Infezione ad adattarle localmente in caso di progettazione di politiche di controllo delle infezioni. Altre raccomandazioni sono state pubblicate dallo Scottish Infection Standards and Strategy Group (SISSG)⁴, e dal Department of Health (DH)⁵.

Nota : In questo documento " meticillin " è stato utilizzato al posto di " methicillina ", in conformità alle attuali linee guida della [International Pharmacopoeia guidelines](#)

Introduzione

La meticillina è stata la prima molecola penicillasi resistente ed è stata ampiamente utilizzata per saggiare la sensibilità di *S. aureus* ai composti β -lattamici resistenti alla penicillasi. Pertanto, nonostante la meticillina non sia più disponibile e sia stata sostituita da oxacillina e cefoxitina per le prove di sensibilità, i ceppi resistenti sono comunemente noti come MRSA. Gli MRSA possono anche essere refertati come *S.aureus* oxacillina resistente (ORSA).

I ceppi di MRSA sono un problema costante e crescente in ambito sanitario, con focolai epidemici che si verificano nella comunità. Lo screening per MRSA fornisce un mezzo per identificare i pazienti e il personale sanitario che può essere a rischio d'infezione e/o coinvolto nella trasmissione del microrganismo .

Al fine di conseguire un 'utilizzo più efficace delle limitate risorse ospedaliere e ridurre al minimo la morbilità sostenuta da questi organismi, è consuetudine disporre di una politica prestabilita di screening per gestire misure di controllo per proteggere i pazienti dalla colonizzazione e dall'infezione da MRSA. In particolare, a quale paziente e componente del personale si eseguirà lo screening dipenderà dalla situazione endemica e dalla casistica dell'unità. Se MRSA è consistentemente endemico, esercitando una pressione continua sulle unità di assistenza, è consigliabile un procedura di valutazione del rischio. Un approccio è quello di concentrarsi sui pazienti a maggior rischio . Lo screening può anche essere appropriato in aree a basso rischio per il paziente, in modo particolare quando vi è ampia interazione e trasferimento di pazienti con MRSA tra reparti per acuti o unità di terapia intensiva. Le raccomandazioni sono state pubblicate dal gruppo di lavoro del Working Party of the Healthcare Infection Society, dalla British Society for Antimicrobial Chemotherapy, dalla Infection Control Nurses Association, dal Scottish Infection Standards and Strategy Group, e dal Department of Health³⁻⁵. I Comitati di Controllo delle infezioni possono adattare queste linee guida alla loro situazione locale.

Emergenza e Prevalenza di Ceppi Meticillino Resistenti di *S. aureus*

Gli MRSA sono stati descritti per la prima volta negli anni 60⁶. Durante la fine del 1970 e all'inizio del 1980, i ceppi di *S. aureus* resistenti a più antibiotici, tra cui meticillina e gentamicina sono stati sempre più responsabili di focolai d'infezioni ospedaliere in tutto il mondo, e alcuni tipi di cloni hanno mostrato ampia diffusione internazionale^{7,8,9}.

In Inghilterra e Galles la diffusione di MRSA è stata ben controllata fino agli anni 90'. Tra il 1989 e il 1991 solo 1,6 % di *S. aureus* isolati da batteriemia erano meticillina resistenti¹⁰. Tuttavia, la percentuale di resistenza alla meticillina è aumentata costantemente nel corso degli anni '90, con isolati resistenti a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim e rifampicina¹¹. Gli MRSA isolati hanno raggiunto oltre il 40 % in alcune regioni nel 2001, provocando l'introduzione della sorveglianza obbligatoria per la batteriemia¹². Nel 2005 gli obiettivi avevano il compito di ridurre il numero di casi di MRSA e da quel momento sono diminuiti^{13,14}.

Le infezioni nosocomiali da MRSA sono ora la principale minaccia per i pazienti ricoverati in molti ospedali nel Regno Unito. La causa del drammatico aumento delle infezioni da MRSA nel RU è probabilmente multifattoriale. I ceppi prevalenti hanno una particolare capacità di diffusione. Ciò può anche essere legato al cambiamento della gestione ospedaliera con maggior mobilità inter-reparto e minore disponibilità di personale in alcuni reparti¹⁵. Inoltre, vi è ora nella comunità e in alcune case di cura in tutto il paese un significativo serbatoio di pazienti con MRSA. La maggior parte degli studi indicano che le infezioni da MRSA tendono a verificarsi sovrapponendosi alla percentuale dei casi di base che potrebbe essere prevista, sostenuta da *Staphylococcus aureus* meticillina sensibile (MSSA), ponendo in evidenza che il numero complessivo di casi è aumentato¹⁶.

Ad oggi sono state segnalate 5 linee clonali pandemiche di MRSA prevalenti a livello ospedaliero (Hospital-Acquired – HA-MRSA), oltre a differenti linee presenti in comunità (Community-Acquired – CA-MRSA) o a livello veterinario (Livestock-associated – LA-MRSA). L'appartenenza a una determinata linea clonale si riferisce alla nomenclatura concordata a livello internazionale ed è basata sia sulla tipizzazione del microrganismo con metodica MLST (Multi Locus Sequence Typing), che sulla tipizzazione delle cassette cromosomiche *mec* (SCC*mec*) (consultare http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1284475013224).

La maggior parte delle infezioni da MRSA sono associate all'assistenza sanitaria, ma un numero crescente di infezioni sono acquisite in comunità, in pazienti che non presentano definiti fattori di rischio per l'acquisizione di questo tipo d'infezione. Mentre le infezioni da MRSA acquisite in comunità (CA - MRSA) e dal bestiame (LA- MRSA) sono generalmente lievi, alcune di loro possono essere gravi. La presenza della leucocidina di Panton-Valentine (PVL) è comune tra i CA-MRSA e un'infezione più grave da CA-MRSA è principalmente legata alla produzione di PVL. Gli isolati CA - MRSA sono spesso resistenti solo agli antibiotici β -lattamici^{17,18}.

Rischi d'Infezione

Le ricerche hanno dimostrato che la maggioranza dei pazienti da cui sono isolati ceppi MRSA sono colonizzati anziché infettati dal organismo¹⁹. I fattori che favoriscono la colonizzazione superficiale includono procedure che coinvolgono la "trasmissione tramite le mani", soprattutto in chirurgia per acuti, dialisi renale e nelle unità di terapia intensiva²⁰. Il rischio di colonizzazione, con conseguente infezione, è aumentato in presenza di infrazioni cutanee, quali ferite chirurgiche e dispositivi che penetrano nella cute, ad esempio protesi e cateteri, che forniscono una porta d'ingresso ai

batteri²⁰. MRSA e MSSA sono simili per virulenza e questa è spesso correlata a elementi genetici mobili, la cui presenza o assenza determina l'esito clinico²¹.

L'eradicazione di *S. aureus* nel portatore nasale può essere utile in alcune condizioni cliniche quale la foruncolosi ricorrente. Il trattamento sistemico, oltre a quello topico, è appropriato nei pazienti colonizzati in sede nasale che manifestano infezione in altre parti corporee. Agenti antibatterici topici come mupirocina e clorexidina/neomicina sono preferiti ai farmaci sistemici quando un paziente è identificato come portatore.

Meccanismi di Resistenza

La resistenza intrinseca ai β -lattamici nei ceppi clinici di *S. aureus* è spesso eterogenea²². Un elevato livello di resistenza è espresso da una minoranza di cellule sui terreni comuni a 37° C, ma è più uniforme nei terreni ipertonici o a 30° C^{23,24}. Sebbene la maggior parte degli MRSA produca una β -lattamasi, questa non è responsabile della loro resistenza alla meticillina. L'MRSA classico contiene il gene *mecA* e questo è il fattore determinante per la resistenza alla meticillina. *MecA* è un segmento di 2.130 paia di basi di DNA codificante una proteina legante la penicillina (PBP2' o PBP2a), caratterizzata da una bassa affinità per la maggior parte dei β -lattamici, e che si ritiene possa vicariare le funzioni di tutte le altre PBP quando sono saturate dalla meticillina o da altri antibiotici β -lattamici. Gli MSSA non producono questa proteina e il loro DNA non si ibridizza la sonda specifica per il gene *mecA*. Il determinante genetico della PBP2a è trascritto in tutte le cellule di MRSA e in tutte le classi fenotipiche di MRSA, ma anche altri fattori influenzano l'espressione della meticillino-resistenza.

Il gene *mecA* fa parte di un elemento genetico mobile, il *SCCmec*, che è incorporato nel cromosoma²⁵. Ad oggi, sono stati descritti undici tipi distinti di *SCCmec*, classificati da I a XI²⁶⁻²⁸. La maggior parte dei tipi di MRSA nosocomiali produce tipi I, II o III, mentre la maggior parte dei tipi comunitari CA-MRSA sono di tipo IV o V, sebbene EMRSA-15 codifichi il tipo IV²⁹.

Più recentemente è stato descritto un gene simile a *mecA*, con il quale ha solo il 69% di omologia. Designato dapprima come *mecALGA251*, il gene è ora conosciuto come *mecC*. Esso è localizzato in un elemento mobile recentemente classificato come *SCCmecXI* che è stato identificato in MRSA isolati dall'uomo e dagli animali.

La presenza del gene *mecA*, oppure la valutazione delle MIC di oxacillina, meticillina o cefoxitina, secondo le raccomandazioni della BSAC o del NCCLS, sono indagini accettabili per definire la resistenza alla meticillina.

Resistenza Borderline

Si possono isolare alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus* che sono *mecA* negativi ma caratterizzati da una resistenza borderline. Alcuni di questi ceppi sono stati riscontrati essere *mecC* positivi (vedi sopra). Ciò può essere dovuto a iperproduzione di β -lattamasi (particolarmente evidente quando si saggia la sensibilità all'oxacillina) o ad alterazione delle PBP³⁰. Nei modelli animali si evidenzia che l'iperproduzione di β -lattamasi non è clinicamente significativa, ma sono necessari ulteriori risultati sulla virulenza e l'efficacia della terapia nei pazienti infettati con ceppi resistenti borderline per determinare se le misure di controllo sono sicure^{31,32}.

Resistenza multipla di farmaci

I ceppi epidemici più diffusi di MRSA nel Regno Unito rimangono sensibili ad alcuni antibiotici compresi glicopeptidi vancomicina e teicoplanina (consultare Appendice 1). Tuttavia, sono stati descritti ceppi di MRSA che mostrano ridotta sensibilità alla vancomicina³³. Questa eventualità deve essere considerata in ogni paziente con MRSA in cui si manifesta un apparente fallimento del

trattamento con un antibiotico con glicopeptidi. Alcuni ceppi ora dimostrano resistenza a ben 20 composti antimicrobici, compresi antisettici e disinfettanti, e questa tendenza all'acquisizione di resistenze supplementari sembra essere in aumento²². Nonostante ciò, diversi agenti sono appropriati per il trattamento delle infezioni da MRSA e nuovi farmaci sono in fase di studio e di prossima disponibilità³⁴.

Metodi di Screening per MRSA

In teoria, un metodo di screening dovrebbe consentire la crescita di tutti gli MRSA, inibire o differenziare altri microrganismi, e consentire prove di identificazione dirette da eseguire sulle colonie. Purtroppo alcuni di questi requisiti sono contrastanti, ed è necessario un compromesso.

I metodi convenzionali utilizzati per lo screening dovrebbero rilevare i ceppi di MRSA inibendo i contaminanti e selezionando ceppi di *S. aureus* resistenti alla meticillina. La semina diretta su terreno selettivo ha il vantaggio che i risultati possono essere disponibili entro 24 ore, ma la maggior parte delle ricerche indicano che la semina diretta è meno sensibile dell'arricchimento in brodo, seguita dalla semina su terreno solido³⁵. Se ciò si verifica anche con i terreni cromogeni prodotti recentemente resta ancora da stabilire. Per ridurre la contaminazione dei terreni possono essere aggiunti cloruro di sodio, antibiotici e altri agenti selettivi. Anche se questi potrebbero inibire i ceppi di *S. aureus*, per selezionare quelli resistenti alla meticillina, si aggiungono oxacillina o cefoxitina^{36,37}.

Il brodo di arricchimento contenente 7 % di NaCl può inibire la crescita di alcuni MRSA se presenti in numero ridotto³⁸. Per questo motivo questo documento raccomanda la concentrazione di 2,5% NaCl, che ha dimostrato una buona resa quando si effettuano sottocolture in agar cromogeno³⁹.

Sono state diffusamente utilizzati il Mannitol Salt Agar (MSA) e sue variazioni, ma manifestano lo stesso svantaggio dei test diretti d'identificazione, con prove di agglutinazione dello *S. aureus* cresciuto su MSA che risultano inaffidabili, o la crescita degli MRSA si realizza lentamente. Il terreno di Baird - Parker (BPC) è stato utilizzato dove la maggior parte degli MRSA noti per essere ciprofloxacina resistenti e, sebbene fossero sensibili alla ciprofloxacina gli MRSA non sono stati persi eseguendo lo screening con questo terreno; è stato segnalato che la percentuale di isolamento con BPC è risultata superiore rispetto a quella con MSA. Il gruppo di lavoro HIS / BSAC / ICNA e altre segnalazioni dimostrano in modo evidente che i terreni cromogeni sono efficaci anche se alcuni di loro richiedono un periodo di incubazione più prolungato rispetto ad altri e non può essere utilizzata la conferma dei ceppi cresciuti su questi terreni con la prova di agglutinazione al lattice^{35,40,41}.

Una significativa limitazione di tutti i metodi di coltura basati sullo screening è condizionata dalle richieste di crescita delle colonie. Il valore dello screening sarebbe maggiore se i risultati fossero disponibili più rapidamente, e non vi è una chiara richiesta per sviluppare strategie di screening rapide. Le tecniche molecolari per l'individuazione del *mecA* per la determinazione della resistenza sono in corso di definizione, ma i metodi sono ancora costosi rispetto alla coltura. Tuttavia, i benefici clinici per una definizione più rapida possono superare il loro costo^{42,43}. I metodi molecolari per l'individuazione di *S. aureus* e del gene *mecA* sono disponibili³⁵. È stata descritta, ed è commercialmente disponibile, l'identificazione diretta degli MRSA su tamponi di screening con metodi molecolari che consentono la loro identificazione e la presenza di *mecA*. Le valutazioni evidenziano buone prestazioni e risultati sono disponibili in 2 – 3 ore anche utilizzando metodi in house⁴². Devono essere monitorate le variazioni delle regioni conservate degli elementi SCCmec in quanto alcune confezioni commerciali non riescono a rilevare gli MRSA quando sono presenti polimorfismi in questa sede⁴⁴.

Possono essere considerati altri metodi che forniscono risultati più rapidi, come quello di agglutinazione con lattice basato agglutinazione che rileva la proteina PBP2a

commercialmente disponibile⁴⁵. Quando si utilizzano questi metodi si devono considerare le percentuali di prevalenza locale degli MRS⁴⁶.

Metodi Raccomandati

Screening di routine con semina diretta :

Agar cromogeno selettivo per MRSA.

Screening con metodi molecolari :

Se sono richiesti risultati molto rapidi può essere considerato l'uso di un metodo commerciale applicato direttamente ai tamponi di screening.

Screening per arricchimento :

In particolari circostanze (ad esempio, controllo di pazienti per l'eliminazione degli MRSA) può essere utilizzato lo screening con metodo di arricchimento. Possono essere associati più tamponi dello stesso paziente nella stesso brodo nutriente con 2,5 % di NaCl Questo è un metodo conveniente quando lo scopo è quello di determinare la presenza, piuttosto che la sede degli MRSA

Possono essere usati sia la semina diretta che i metodi di arricchimento. L'arricchimento ritarda la segnalazione dei risultati di 24 ore, ma i risultati negativi con una tecnica più sensibile (arricchimento) possono essere richieste prima che siano interrotti i controlli per MRSA in un paziente⁴⁷. Il vantaggio dell'arricchimento rispetto alla semina diretta deve ancora essere confermato con i terreni cromogeni .

Test di sensibilità agli antibiotici

Il presunto rilevamento di un ceppo MRSA dovrebbe essere seguito dall'identificazione completa come *S. aureus*, conferma della resistenza alla meticillina e test di suscettibilità per altri agenti antimicrobici. Le prove convenzionali di sensibilità alla oxacillina con disco diffusione sono notevolmente influenzate da condizioni di prova e l'uso del saggio con cefoxitina nei test di disco diffusione hanno dimostrato di essere meno suscettibili alle condizioni di prova e di essere più affidabili del saggio con oxacillina^{48,49}. Sono ampiamente utilizzati sia la diffusione del disco che metodi breakpoint.

Informazioni Tecniche / Limitazioni

Staphylococcus sciuri può dare risultati positivi con il DNA e test al lattice per *Stafilococco aureus* e può possedere il gene *mecA* e quindi crescere su terreno MRSA cromogenico con un pigmento verde blu. Su agar sangue forma una grande colonia gialla simile a *S. aureus*. Si distingue facilmente dagli altri *Staphylococci* perché è Ossidasi positivo.

Altri specie non-*S. aureus* come *S. intermedius* potrebbero essere erroneamente identificate come MRSA/MSSA .

I terreni cromogeni sono sensibili alla luce e le piastre devono essere conservate al buio e non stazionare alla luce prima o dopo la semina . I tempi di incubazione per i terreni cromogeni dovrebbero essere quelli raccomandati dai produttori .

La natura dei terreni selettivi richiede un equilibrio tra sensibilità e specificità tenendo conto dell'implicazione dei costi. I terreni selettivi potrebbero non consentire la crescita di tutti i ceppi circolanti. Fare riferimento alle istruzioni del produttore e recenti acquisizioni per le limitazioni di crescita.

Limiti delle SMI del RU

Le raccomandazioni formulate nel Regno Unito sulle SMI sono basate su prove (ad esempio sensibilità e specificità), se disponibili, sulle opinioni degli esperti e sul pragmatismo, tenendo in considerazione anche delle risorse disponibili. I laboratori dovranno tenere in considerazione le esigenze locali, e, nel caso, intraprendere ricerche aggiuntive. Prima dell'uso, i laboratori dovrebbero assicurare che tutte le prove di tipo commerciale e i test in-house siano stati validati e che siano idonei allo scopo.

Terreni Selettivi per Procedure di screening

I terreni selettivi che non consentono la crescita di tutti i ceppi circolanti di microrganismi possono essere raccomandati sulla base delle evidenze disponibili. Deve quindi essere ricercato un equilibrio tra evidenze disponibili e richiesta di risorse necessarie nel caso si usi più di una piastra di terreno.

Contenitori per Campioni^{1,2}

Le SMI usano il termine " contenitore a chiusura ermetica con marchiatura CE " per descrivere quelli contrassegnati con la marchiatura CE per la raccolta e il trasporto dei campioni clinici. I requisiti per i contenitori dei campioni sono riportati nella Direttiva UE per i Dispositivi Sanitari Diagnostici in vitro (98/79/CE allegato 1 B 2.1) in cui si stabilisce: " La progettazione deve consentire un'agevole manipolazione e, se necessario, ridurre per quanto possibile la contaminazione dei, e perdite dal dispositivo durante l'uso e, nel caso di recipienti per campioni, il rischio di contaminazione degli stessi. Le procedure di fabbricazione devono essere adatte a questi scopi".

1 Considerazioni sulla Sicurezza^{1,2,50-64}

1.1 Prelievo, Trasporto e Conservazione del Campione^{1,2,50-63}

Usare tecnica asettica

Raccogliere i campioni in appropriati contenitori con marchiatura CE a tenuta ermetica e trasportarli in sacchetti di plastica sigillati.

Raccogliere i tamponi in appropriati terreni di trasporto e inserirli in sacchetti di plastica sigillati

E' essenziale la conformità alle normative postali e dei trasporti.

1.2 Procedura sul Campione^{1,2,50-64}

Livello di Contenimento 2.

Le procedure di laboratorio che si ritiene possano generare aerosol infettivi devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza⁵⁶

Le linee guida precedentemente esplicitate devono essere supplementate con la COSHH locale e con la valutazione del rischio.

2 Prelievo del Campione

2.1 Tipo di Campioni

Campioni per screening di MRSA

2.2 Tempo Ottimale e Metodo di Prelievo⁶⁵

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.1

Se non altrimenti definito, I tamponi per colture di batteri e funghi devono essere inseriti in appropriati terreni di trasporto⁶⁶⁻⁷⁰.

Screening di tamponi, cateteri urinari, etc come appropriato.

I tamponi per esame colturale di batteri e funghi devono essere inseriti in appropriati terreni di trasporto.^{67,71,72}

Raccogliere i campioni diversi dai tamponi in appropriati contenitori impermeabili e inserirli in sacchetti di plastica sigillati

Per campioni da saggiare con metodi molecolari seguire la raccomandazioni del metodo.

2.3 Adequata Quantità e Appropriato Numero di Campioni⁶⁵

N/D

3 Trasporto e Conservazione del Campione

3.1 Trasporto Ottimale e Condizioni di Conservazione^{1,2}

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.1

Prelevare i campioni prima della terapia antimicrobica, quando possibile⁶⁵.

I campioni devono essere trasportati e processati il più presto possibile⁶⁵.

Se la procedura è ritardata, la refrigerazione è preferibile alla conservazione a temperatura ambiente⁶⁵.

I tamponi devono essere inseriti direttamente nel brodo in corsia. I tamponi nel brodo di arricchimento non devono essere refrigerati. Se coinvolto, il personale di reparto deve essere adeguatamente addestrato.

4 Processo/Procedura sui Campioni^{1,2}

4.1 Selezione Prova

N/D

4.2 Aspetto

N/D

4.3 Preparazione Campione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.2

4.4 Microscopia

N/D

4.5 Coltura e ricerca

Coltura diretta

Seminare ciascuna piastra di agar con il tampone o altro campione ([Q 5 – Inoculation of Culture Media for Bacteriology](#)).

Coltura di arricchimento

Togliere asetticamente il tappo dal contenitore e inserire il tampone(i) nel brodo, rompere (o tagliare) il bastoncino(i) del tampone e riposizionare il tappo.

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi per tutti i campioni:

| Per tutti i campioni*: | | | | | | | |
|--|---|---|-------------|-----------|----------------|--------------------|-------------------------------|
| Aspetti clinici/ condizioni | Campioni | Terreni standard | Incubazione | | | Letture colture | Microrganismo(i) ricercato |
| | | | Temp* C° | Atmosfera | Tempo | | |
| Coltura diretta | MRSA screening campioni | Terreno selettivo cromogeno per MRSA | 37 | Aerobica | 18-48 ore** | giornaliera | MRSA |
| E/O | | | | | | | |
| Coltura di arricchimento | Brodo nutriente-con 7% NaCl *** poi sottocoltura in | | 30 | Aerobica | 18-24 ore | N/D | |
| | Terreno selettivo cromogeno per MRSA Terreno MRSA | | 37 | Aerobica | 18-48 ore** | giornaliera | MRSA |
| <p>* Per esami urgenti considerare un metodo molecolare</p> <p>**Per terreni cromogeni fare riferimento alle istruzioni del produttore per i tempi di incubazione raccomandati</p> <p>***Nel contenitore deve essere presente un volume di brodo sufficiente a ricoprire i tamponi. La concentrazione di NaCl può essere ridotta se i ceppi localmente presenti sono noti per essere inibiti da 2,5% di NaCl</p> | | | | | | | |

4.6 Identificazione

4.6.1 Livello minimo di identificazione in laboratorio

S. aureus livello di specie, meticillino resistente.

I microrganismi possono essere ulteriormente identificati su indicazione clinica o epidemiologica

4.7 Prova di Sensibilità agli Antimicrobici

Fare riferimento alle linee guida della British [Society for Antimicrobial Chemotherapy \(BSAC\)](#) e /o linee guida [EUCAST](#).

4.8 Invio per Ricerche su Focolaio Epidemico

N/D

4.9 Invio ai Laboratori di Riferimento

Per informazioni sulle prove disponibili, tempi di risposta, procedure per il trasporto e altre richieste del laboratorio di riferimento, [click here for user manuals and request forms](#).

Microrganismi con resistenze insolite o inattese, o qualora sussista un problema clinico o di laboratorio, o anomalie che richiedano approfondimenti devono essere inviati agli appropriati laboratori di riferimento.

Per informazioni su accertamenti disponibili, tempi di risposta, procedure di trasporto ed altre informazioni riguardanti gli accertamenti disponibili, il tempo di risposta, procedure di trasporto ed altre richieste per l'invio del campione al laboratorio di riferimento rivolgersi a:

Inghilterra e Galles

<http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1158313434370?p=1158313434370>

Scozia

<http://www.hps.scot.nhs.uk/reflab/index.aspx>

Irlanda del Nord

<http://www.publichealth.hscni.net/directorate-public-health/health-protection>

5 Procedura di Refertazione

5.1 Microscopia

N/D

5.2 Coltura

Negativa

“Non isolato MRSA”

Positiva

“isolato MRSA”

5.2.1 Tempo di refertazione della coltura

Risultati colturali urgenti possono essere trasmessi per via telefonica o informatica quando disponibili.

Referto scritto, 16 – 72 ore segnalando, se appropriato, l'invio di un referto successivo

5.3 Sensibilità agli antimicrobici

Refertare le sensibilità come clinicamente suggerito. Uso prudente degli antibiotici secondo i protocolli locali e nazionali raccomandati.

Gli MRSA non devono essere refertati come sensibili a qualsiasi β -lattamico disponibile in quanto nuovi β -lattamici saranno a breve disponibili che presentano un certo grado di attività nei confronti degli MRSA.

5.4 Ricerca della Tossina

N/D

6 Notifica al PHE^{74,75} o Equivalente⁷⁶⁻⁷⁹

Le Norme di Denuncia del 2010 rendono obbligatorio ai laboratori diagnostici di denunciare alla Public Health England (PHE) tutti i casi nei quali s'identificano gli agenti causali elencati nella Scheda 2 della Direttiva. Le denunce devono pervenire per scritto, su carta o per via elettronica, entro sette giorni. I casi urgenti devono essere notificati il più presto possibile verbalmente: si raccomanda entro le 24 ore. Questi stessi devono essere in seguito denunciati in forma scritta entro sette giorni.

Secondo la Notification Regulations il laboratorio ricevente la notifica è l'ufficio locale della PHE. Se il caso è già stato notificato da un professionista medico abilitato, al laboratorio diagnostico è ancora richiesta la denuncia del caso qualora si riscontrino evidenze d'infezione imputabili ad agenti causali soggetti a tale disposizione.

La denuncia secondo la Direttiva dell'Health Protection (Notification) Regulations 2010 non sostituisce l'informazione volontaria alla PHE. La maggior parte dei laboratori del NHS segnala spontaneamente al PHE gran parte delle diagnosi di laboratorio sostenute da vari agenti eziologici e molte sezioni della PHE hanno definito accordi con i laboratori locali per segnalazioni urgenti di alcuni tipi d'infezione. Queste iniziative devono continuare.

Nota: La linea guida dell'Health Protection Legislation Guidance (2010) include la segnalazione per HIV & Sexually Transmitted Infections STIs, Healthcare Associated Infections e HCAs e Creutzfeldt–Jakob disease CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners', e non nel 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories'.

<http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/HealthProtectionRegulations/>

Esistono accordi diversi in Scozia^{76,77}, Galles⁷⁸ e Irlanda del Nord⁷⁹.

Tare riferimento a:

Health Protection Agency publications:

"Laboratory reporting to the HPA. A guide for diagnostic laboratories".

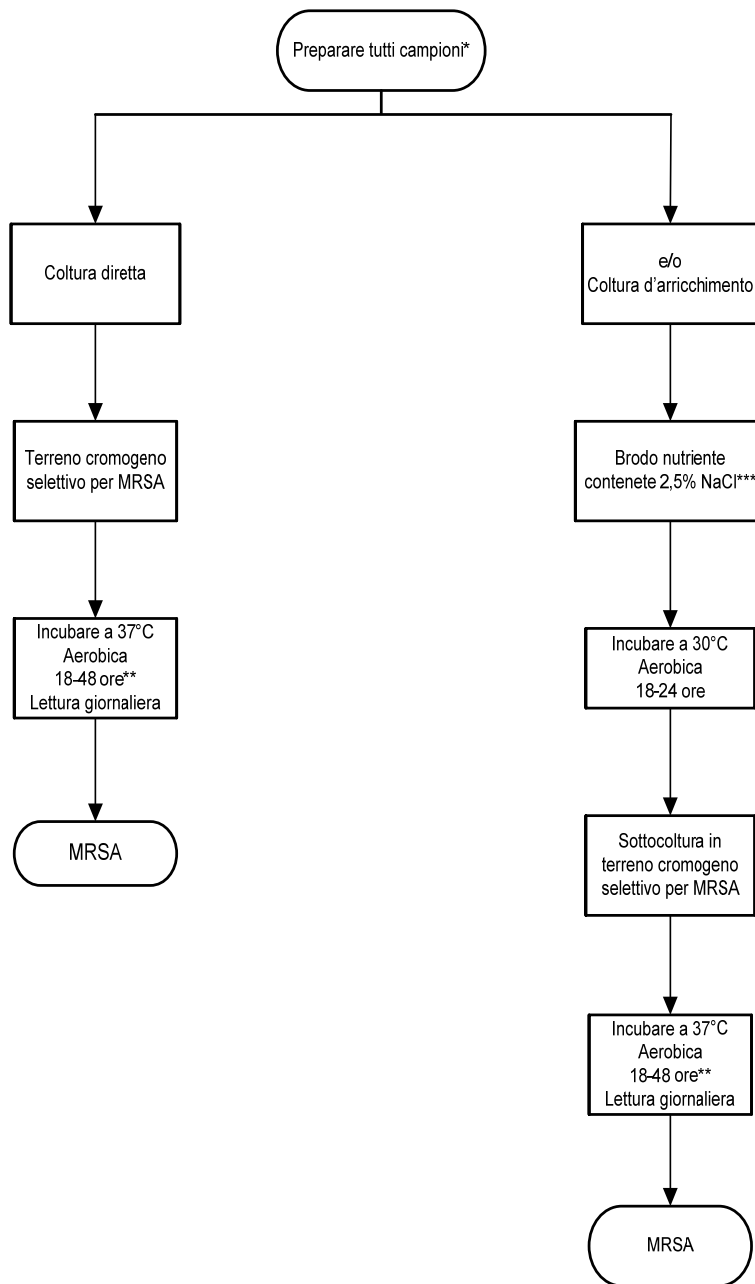
"Hospital infection control : Guidance on the control of infection in hospitals".

Local guidelines including Infection Control Policy and Memorandum of Understanding.

Appendice 1 Caratteristiche degli MRSA del RU

http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1284475013224

Appendice 2: Ricerca su campioni per Screening di MRSA



*Considerare un metodo molecolare se sono richiesti risultati urgenti

** Per i tempi di incubazione consigliati dei terreni cromogeni fare riferimento alle istruzioni del produttore

*** I flaconi devono contenere un sufficiente volume di brodo per ricoprire il tampone.

Bibliografia

1. European Parliament. UK Standards for Microbiology Investigations (SMIs) use the term "CE marked leak proof container" to describe containers bearing the CE marking used for the collection and transport of clinical specimens. The requirements for specimen containers are given in the EU *in vitro* Diagnostic Medical Devices Directive (98/79/EC Annex 1 B 2.1) which states: "The design must allow easy handling and, where necessary, reduce as far as possible contamination of, and leakage from, the device during use and, in the case of specimen receptacles, the risk of contamination of the specimen. The manufacturing processes must be appropriate for these purposes".
2. Official Journal of the European Communities. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices. 7-12-1998. p. 1-37.
3. Coia JE, Duckworth GJ, Edwards Di, Farrington M, Fry C, Humphreys H, et al. Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities. *J Hosp Infect* 2006;63 Suppl 1:S1-44.
4. Scottish Infections Standards and Strategies (SISS) Group. Guidance for the management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The Royal College of Physicians of Edinburgh and the Royal College of Physicians and Surgeons of Glasgow. 2006.
5. Department of Health. Saving Lives: a delivery programme to reduce Healthcare Associated Infection including MRSA. Screening for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonisation: A strategy for NHS trusts: a summary of best practice. Department of Health. 2006.
6. Jevons P. "Celbenin" - resistant Staphylococci. *British Medical Journal* 1961;1:124.
7. Schaeffler S, Jones D, Perry W, Ruvinskaya L, Baradet T, Mayr E, et al. Emergence of gentamicin- and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in New York City hospitals. *J Clin Microbiol* 1981;13:754-9.
8. Pavillard R, Harvey K, Douglas D, Hewstone A, Andrew J, Collopy B, et al. Epidemic of hospital-acquired infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in major Victorian hospitals. *Med J Aust* 1982;1:451-4.
9. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated *mec* elements. *Microb Drug Resist* 2001;7:349-61.
10. Cookson BD. Nosocomial antimicrobial resistance surveillance. *J Hosp Infect* 1999;43 Suppl:S97-103.
11. Speller DC, Johnson AP, James D, Marples RR, Charlett A, George RC. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989-95. *Lancet* 1997;350:323-5.
12. CDSC. *Staphylococcus aureus* bacteraemia: England and Wales, 2001. *CDR Weekly* 2002;12:1-17.
13. Johnson AP, Davies J, Guy R, Abernethy J, Sheridan E, Pearson A, et al. Mandatory surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in England: the first 10 years. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:802-9.
14. Enoch DA, Cargill JS, Sismey A, Karas JA. MRSA surveillance in a UK district hospital: measuring clinical isolates with MRSA is more useful than measuring MRSA bacteraemias. *J Hosp Infect* 2011;79:287-91.

15. Jernigan JA, Clemence MA, Stott GA, Titus MG, Alexander CH, Palumbo CM, et al. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a university hospital: one decade later. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:686-96.
16. Stamm AM, Long MN, Belcher B. Higher overall nosocomial infection rate because of increased attack rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control* 1993;21:70-4.
17. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:616-87.
18. Ellington MJ, Ganner M, Warner M, Cookson BD, Kearns AM. Polyclonal multiply antibiotic-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leucocidin in England. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:46-50.
19. Muder RR, Brennen C, Wagener MM, Vickers RM, Rihs JD, Hancock GA, et al. Methicillin-resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility. *Ann Intern Med* 1991;114:107-12.
20. Byrne FM, Wilcox MH. MRSA prevention strategies and current guidelines. *Injury* 2011;42 Suppl 5:S3-S6.
21. Gill SR, McIntyre LM, Nelson CL, Remortel B, Rude T, Reller LB, et al. Potential associations between severity of infection and the presence of virulence-associated genes in clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *PLoS One* 2011;6:e18673.
22. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. [Review] [559 refs]. *Microbiological Reviews* 1987;51:88-134.
23. Annear DI. The effect of temperature on resistance of *Staphylococcus aureus* to methicillin and some other antibiotics. *Med J Aust* 1968;1:444-6.
24. Hartman BJ, Tomasz A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;29:85-92.
25. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1549-55.
26. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat* 2003;6:41-52.
27. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:2637-51.
28. Garcia-Alvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2011;11:595-603.
29. Kluytmans-Vandenbergh MF, Kluytmans JA. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. *Clin Microbiol Infect* 2006;12 Suppl 1:9-15.
30. Barg N, Chambers H, Kernodle D. Borderline susceptibility to antistaphylococcal penicillins is not conferred exclusively by the hyperproduction of beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1975-9.

31. Thauvin-Eliopoulos C, Rice LB, Eliopoulos GM, Moellering RC, Jr. Efficacy of oxacillin and ampicillin-sulbactam combination in experimental endocarditis caused by beta-lactamase-hyperproducing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:728-32.
32. de Lencastre H, Tomasz A. Reassessment of the number of auxiliary genes essential for expression of high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2590-8.
33. Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2006;12 Suppl 1:16-23.
34. Gould IM, David MZ, Esposito S, Garau J, Lina G, Mazzei T, et al. New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39:96-104.
35. Brown DF, Edwards Di, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemother* 2005;56:1000-18.
36. Wood W, Harvey G, Olson ES, Reid TM. Aztreonam selective agar for gram positive bacteria. *J Clin Pathol* 1993;46:769-71.
37. Morton CE, Holt HA. A problem encountered using staphylococcus/streptococcus supplement. *Med Lab Sci* 1989;46:72-3.
38. Jones EM, Bowker KE, Cooke R, Marshall RJ, Reeves DS, MacGowan AP. Salt tolerance of EMRSA-16 and its effect on the sensitivity of screening cultures. *J Hosp Infect* 1997;35:59-62.
39. Bruins MJ, Juffer P, Wolfhagen MJ, Ruijs GJ. Salt tolerance of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2007;45:682-3.
40. Morris K, Wilson C, Wilcox MH. Evaluation of chromogenic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* media: sensitivity versus turnaround time. *J Hosp Infect* 2012;81:20-4.
41. Yang HY, Suh JT, Lee HJ. Evaluation of commercial selective agars in screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Clin Lab Sci* 2010;40:252-6.
42. Danial J, Noel M, Templeton KE, Cameron F, Mathewson F, Smith M, et al. Real-time evaluation of an optimized real-time PCR assay versus Brilliance chromogenic MRSA agar for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from clinical specimens. *J Med Microbiol* 2011;60:323-8.
43. Polisena J, Chen S, Cimon K, McGill S, Forward K, Gardam M. Clinical effectiveness of rapid tests for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized patients: a systematic review. *BMC Infect Dis* 2011;11:336.
44. Roisin S, Laurent C, Nonhoff C, Deplano A, Hallin M, Byl B, et al. Positive predictive value of the Xpert MRSA assay diagnostic for universal patient screening at hospital admission: influence of the local ecology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:873-80.
45. Akcam FZ, Tinaz GB, Kaya O, Tigli A, Ture E, Hosoglu S. Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in mecA-positive *Staphylococcus aureus*, and comparison of mecA with femA, femB, femX positivities. *Microbiol Res* 2009;164:400-3.
46. Weist K, Cimbal AK, Lecke C, Kampf G, Ruden H, Vonberg RP. Evaluation of six agglutination tests for *Staphylococcus aureus* identification depending upon local prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). *J Med Microbiol* 2006;55:283-90.

47. British Society for Antimicrobial Chemotherapy HISatICNA. Revised guidelines for the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals. *J Hosp Infect* 1998;39:253-90.
48. Skov R, Smyth R, Clausen M, Larsen AR, Frimodt-Moller N, Olsson-Liljequist B, et al. Evaluation of a cefoxitin 30 microg disc on Iso-Sensitest agar for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:204-7.
49. Cauwelier B, Gordts B, Descheemaecker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:389-92.
50. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
51. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
52. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
53. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
54. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
55. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
56. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
57. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological Agents: Managing the Risks in Laboratories and Healthcare Premises. Appendix 1.2 Transport of Infectious Substances - Revision. Health and Safety Executive. 2008.
58. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. *MMWR Surveill Summ* 2012;61:1-102.
59. Health and Safety Executive. Control of Substances Hazardous to Health Regulations. The Control of Substances Hazardous to Health Regulations 2002. 5th ed. HSE Books; 2002.
60. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
61. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
62. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
63. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
64. British Standards Institution (BSI). BS 5726:2005 - Microbiological safety cabinets. Information to be supplied by the purchaser and to the vendor and to the installer, and siting and use of cabinets. Recommendations and guidance. 24-3-2005. p. 1-14

65. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, Jr., et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22-e121.
66. Rishmawi N, Ghneim R, Kattan R, Ghneim R, Zoughbi M, Abu-Diab A, et al. Survival of fastidious and nonfastidious aerobic bacteria in three bacterial transport swab systems. *J Clin Microbiol* 2007;45:1278-83.
67. Barber S, Lawson PJ, Grove DI. Evaluation of bacteriological transport swabs. *Pathology* 1998;30:179-82.
68. Van Horn KG, Audette CD, Sebeck D, Tucker KA. Comparison of the Copan ESwab system with two Amies agar swab transport systems for maintenance of microorganism viability. *J Clin Microbiol* 2008;46:1655-8.
69. Nys S, Vijgen S, Magerman K, Cartuyvels R. Comparison of Copan eSwab with the Copan Venturi Transystem for the quantitative survival of *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* and *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:453-6.
70. Tano E, Melhus A. Evaluation of three swab transport systems for the maintenance of clinically important bacteria in simulated mono- and polymicrobial samples. *APMIS* 2011;119:198-203.
71. Smismans A, Verhaegen J, Schuermans A, Frans J. Evaluation of the Copan ESwab transport system for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a laboratory and clinical study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65:108-11.
72. Human RP, Jones GA. Survival of bacteria in swab transport packs. *Med Lab Sci* 1986;43:14-8.
73. Widmer AF. Ceftobiprole: a new option for treatment of skin and soft-tissue infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2008;46:656-8.
74. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.
75. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.
76. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).
77. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.
78. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.
79. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).