



BBL™ CHROMagar MRSA II*

USO PREVISTO

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSAII) è un terreno selettivo e differenziale per la rilevazione qualitativa diretta di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) da campioni clinici. È possibile eseguire il test su campioni prelevati dall'apparato respiratorio, dal tratto gastrointestinale inferiore, su campioni cutanei e su ferite, nonché su campioni prelevati da narici anteriori per lo screening della colonizzazione nasale, per agevolare la prevenzione e il controllo di infezioni da MRSA in ambienti sanitari, nonché su flaconi di emocolture positive per cocci gram-positivi.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La sindrome da MRSA è tra le cause principali di infezioni nosocomiali e potenzialmente letali. Le infezioni da MRSA sono state associate a morbidità, mortalità e costi significativamente maggiori, rispetto alle infezioni da *S. aureus* meticillino-sensibile (MSSA).¹ In ambito sanitario è stata effettuata un'eccezionale selezione di questi organismi, tuttavia la prevalenza di MRSA è aumentata nella comunità.^{2,3}

Per controllare la trasmissione di MRSA, la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) ha pubblicato una serie di linee guida, in cui rientrano un programma di sorveglianza attiva per identificare potenziali serbatoi e un programma rigoroso di controllo delle infezioni, per controllare la diffusione di MRSA.¹

BBL CHROMagar MRSA II è un terreno selettivo e differenziale che incorpora cefoxitina per la rilevazione di MRSA da campioni prelevati dall'apparato respiratorio (ad es., narici, faringe ed espettorato), dal tratto gastrointestinale inferiore (ad es., retto e feci), cutanei (ad es., inguine/ascella e regione perineale/perianale) e da ferite e di flaconi di emocolture positive per cocci gram-positivi.

BBL CHROMagar MRSA II costituisce una versione modificata della formulazione esistente di CHROMagar MRSA, sviluppata da A. Rambach e BD ed è venduto da BD su licenza di CHROMagar, Parigi, Francia.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Metodica microbiologica

Il terreno **BBL CHROMagar MRSA II** consente l'identificazione e la rilevazione diretta di MRSA, mediante l'incorporazione di substrati cromogeni specifici e cefoxitina. In presenza di cefoxitina⁴, i ceppi di MRSA crescono producendo colonie color malva, derivanti dall'idrolisi del substrato cromogeno. Si procede quindi con l'incorporazione di agenti selettivi aggiuntivi per la soppressione di microrganismi gram-negativi, lieviti e alcuni altri cocci gram-positivi. I batteri diversi da MRSA possono utilizzare altri substrati cromogeni nel terreno, dando luogo a colonie di colore blu-blu/verde oppure, qualora non si utilizzino substrati cromogeni, a colonie bianche o incolori.

*BREVETTI EUROPEI, STATUNITENSIS E CANADESI IN CORSO DI REGISTRAZIONE

REAGENTI

BBL CHROMagar MRSA II

Formula approssimativa* in un l di acqua purificata

Cromopeptone	35,0 g
Mix cromogeno	0,5 g
Cloruro di sodio	17,5 g
Agenti inibitori	7,52 g
Cefoxitina	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 a 25 °C

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

IVD Solo per uso professionale. 

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in ottemperanza alle linee guida e alle "Precauzioni standard" emanate dagli enti preposti.⁵⁻⁸ Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave le piastre preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati, prima dello smaltimento. Per ulteriori informazioni, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

Deterioramento del prodotto: non usare le piastre se presentano segni di contaminazione microbica, discromia, essiccamento, crepe o altri segni di deterioramento.

Prima di utilizzare **BD CHROMagar MRSA II** per la prima volta, si consiglia di acquisire familiarità con l'aspetto di una colonia MRSA formata da ceppi definiti, ad es., i ceppi citati in **CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla ricezione, conservare le piastre a 2 – 8 °C nella confezione originaria, fino al momento dell'inoculo. Ridurre al minimo l'esposizione (< 4 ore) di **BBL CHROMagar MRSA II** alla luce, prima e durante l'incubazione, poiché l'esposizione prolungata può determinare una riduzione del recupero e/o della colorazione degli isolati. Evitare congelamento e surriscaldamento. È possibile inoculare piastre sino alla data di scadenza (vedere la data impressa sulla piastra o l'etichetta della confezione) e incubarle rispettando i tempi di incubazione consigliati. È possibile utilizzare le piastre prelevate da confezioni da 10 già aperte per una settimana, se conservate in luogo pulito e buio a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE*

Verificare che le piastre non presentino segni di deterioramento, come descritto in "Deterioramento del prodotto".

Controllare le prestazioni, inoculando campioni rappresentativi contenenti le colture diluite, secondo quanto segue:

1. Strisciare le piastre per l'isolamento. Con *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, procedere per inoculazione diretta.⁹
2. Incubare le piastre a 35 – 37 °C in atmosfera aerobica.
3. Includere piastre di Columbia Agar con sangue ovino al 5%, come controlli non selettivi per tutti i microrganismi.
4. Esaminare le piastre dopo 20 – 26 ore per verificare il recupero, le dimensioni delle colonie e il colore. I risultati attesi sono riportati nella tabella che segue:

Ceppo	Risultati attesi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Crescita di colonie color malva
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Nessuna crescita

* Adottare le procedure prescritte per il controllo di qualità in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o regionali vigenti, ai requisiti di certificazione e/o alle prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per le procedure appropriate di controllo di qualità, è possibile fare riferimento alle linee guida CLSI.

PROCEDURA

Materiali forniti

BBL CHROMagar MRSA II (piastre **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali necessari ma non forniti

Test di conferma, ad esempio reagenti per test della coagulasi o di agglutinazione al lattice per l'individuazione dello *Staphylococcus* (ad es., **Staphyloslide**), microrganismi per controllo di qualità, terreni di coltura accessori e altre apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

È possibile usare il terreno di coltura per campioni prelevati dall'apparato respiratorio (ad es., faringe ed espettorato), dal tratto gastrointestinale inferiore (ad es., retto e feci), cutanei (ad es., inguine/ascella e regione perineale/perianale), da narici e ferite, nonché da flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi.

Raccolta e trattamento dei campioni

Si consiglia l'uso di dispositivi di trasporto approvati per la raccolta di campioni clinici microbiologici. Rispettare le procedure indicate dal produttore dei dispositivi di trasporto. Per dettagli relativi alle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, è possibile inoltre consultare la documentazione pertinente.^{10,11}

Procedura del test

Adottare tecniche asettiche. La superficie in agar deve essere omogenea e non eccessivamente umida. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

- **Campioni prelevati dalle narici anteriori:** non appena perviene in laboratorio, inoculare il campione su una piastra **BBL CHROMagar MRSA II** e strisciare per l'isolamento. Incubare le piastre in aerobiosi a 35 – 37 °C per 20 – 26 ore in posizione capovolta.
- **Flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi:** non appena il flacone di coltura viene considerato positivo e la colorazione di Gram conferma la presenza di cocchi gram-positivi, prelevare un'aliquota, inoculare una piastra **BBL CHROMagar MRSA II** e strisciare per l'isolamento. Incubare le piastre in aerobiosi a 35 – 37 °C per 18 – 28 ore in posizione capovolta. Non è necessaria un'incubazione di oltre 18 – 28 ore.
- **Tutti i campioni (prelevati da faringe, espettorato, tratto gastrointestinale inferiore, cutanei e da ferite):** non appena perviene in laboratorio, inoculare il campione su una piastra **BBL CHROMagar MRSA II** e strisciare per l'isolamento. Incubare le piastre in aerobiosi a 35 – 37 °C per 18 – 28 ore in posizione capovolta. Se non si recuperano colonie color malva, reincubare per un totale di 36 – 52 ore.

Non incubare in atmosfera supplementata con anidride carbonica. Ridurre al minimo l'esposizione (< 4 ore) di **BBL CHROMagar MRSA II** alla luce prima e durante l'incubazione, poiché l'esposizione prolungata può determinare un minore recupero e/o colorazione degli isolati. L'esposizione alla luce è consentita dopo lo sviluppo del colore della colonia.

RISULTATI

Dopo un'incubazione appropriata, leggere le piastre su uno sfondo bianco. Le colonie di MRSA sul terreno **BBL CHROMagar MRSA II** appariranno di color malva. Gli altri microrganismi (non MRSA) saranno inibiti o produrranno colonie di colore blu-blu/verde, bianco o incolori. Per l'interpretazione dei risultati consultare le Tabelle 1 – 3.

Tabella 1: interpretazione dei risultati per i campioni prelevati dalle narici anteriori

Incubazione di 20 – 26 ore	Interpretazione/azione raccomandata
Colonie color malva morfologicamente simili a stafilococchi*	Positivo - MRSA rilevato
Presenza di colonie non color malva	Negativo - MRSA non rilevato
Nessuna crescita	Negativo - MRSA non rilevato

*Vedere LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Tabella 2: interpretazione dei risultati di flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi

Incubazione di 18 – 28 ore	Interpretazione/azione raccomandata
Colonie color malva morfologicamente simili a stafilococchi*	Positivo - MRSA rilevato
Nessuna colonia color malva	Negativo - MRSA non rilevato

*Vedere LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Tabella 3: Interpretazione dei risultati di campioni prelevati da faringe, espettorato, dal tratto gastrointestinale inferiore e da ferite

Incubazione di 18 – 28 ore		Interpretazione/azione raccomandata
Colonie color malva morfologicamente simili a stafilococchi*		MRSA rilevato
Nessuna colonia color malva		Reincubare per altre 18 – 24 ore, in modo da ottenere un tempo di incubazione totale pari a 36 – 52 ore
Incubazione di 36 – 52 ore	Azione raccomandata	Interpretazione
Colonie color malva*	Eseguire un test di conferma diretto (ad es., coagulasi o agglutinazione al lattice per l'individuazione dello <i>Staphylococcus</i>)	Se il test della coagulasi o di agglutinazione al lattice per l'individuazione dello <i>Staphylococcus</i> è positivo: è stato rilevato MRSA Se il test della coagulasi o di agglutinazione al lattice per l'individuazione dello <i>Staphylococcus</i> è negativo: non è stato rilevato MRSA
Nessuna colonia color malva	N/A	MRSA non rilevato

*Vedere LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

N/A = non pertinente

VALORI ATTESI

La prevalenza dell'infezione da MRSA ha registrato un incremento significativo in ambiente ospedaliero e la percentuale di portatori di MRSA nella comunità è in via di aumento. Secondo pubblicazioni recenti, le ospedalizzazioni associate a *S. aureus* sono aumentate del 62% e il numero stimato di ospedalizzazioni per *S. aureus* meticillino-resistente è più che raddoppiato dal 1999 al 2005 I dati del NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) indicano che nei reparti di terapia intensiva la percentuale di MRSA tra le infezioni da *S. aureus* è salita al 59,5 – 64,4%. Sono stati riscontrati incrementi notevoli dell'incidenza di infezioni cutanee e dei tessuti molli, che attestano la diffusione in ambiente ospedaliero di MRSA associato alla comunità.^{12, 13}

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il **BBL CHROMagar MRSA II** è un terreno selettivo e differenziale per la rilevazione qualitativa diretta di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) da campioni clinici. È possibile eseguire il test su campioni prelevati dall'apparato respiratorio, dal tratto gastrointestinale inferiore, cutanei e da ferite, dopo un'incubazione di 18 – 52 ore. È inoltre possibile eseguire il test su campioni prelevati dalle narici anteriori per lo screening della colonizzazione nasale, per agevolare la prevenzione e il controllo di infezioni da MRSA in ambienti sanitari dopo un'incubazione di 20 – 26 ore e su flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi dopo 18 – 28 ore.

Valutazione esterna delle prestazioni

Sono state condotte due valutazioni esterne delle prestazioni:

- Nel corso della prima valutazione, **BBL CHROMagar MRSA II** è stato valutato in quattro laboratori clinici diversi con campioni prospettici residui (ad es., da narici, faringe ed espettorato), dal tratto gastrointestinale inferiore (ad es., retto e feci), cutanei (ad es., inguine/ascella e regione perineale/perianale) e da ferite e flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi (Tabelle 4 e 5).¹⁴

I campioni sono stati valutati confrontando il recupero di MRSA in terreni di coltura tradizionali (ad es., Tryptic Soy Agar con sangue ovino al 5%, Columbia Agar con sangue ovino al 5% o CNA (agar colistina acido nalidixico), a seconda dei tipi di campione) e nelle piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Lo *S. aureus* recuperato nei terreni di coltura tradizionali è stato testato tramite il test di disco-diffusione di cefoxitina. I risultati del test di disco-diffusione hanno seguito i criteri interpretativi del CLSI per la determinazione della meticillino-resistenza (R) e della meticillino-sensibilità (S) ($R \leq 21\text{mm}$ e $S \geq 22\text{mm}$).^{4, 15} **BBL CHROMagar MRSA II** è stato interpretato come positivo per MRSA a 18 – 28 ore, in base alla rilevazione di colonie color malva o a 36 – 52 ore, in base alla rilevazione di colonie color malva con conferma di *S. aureus*.

La prevalenza complessiva di MRSA da **BBL CHROMagar MRSA II** è stata del 15% (778/5051), ovvero di circa il 65,6% (778/1186) di tutti gli isolati di *S. aureus*. Per la piastra di coltura tradizionale (ad es., Tryptic Soy Agar con sangue ovino al 5%, Columbia Agar con sangue ovino al 5% e CNA) e **BBL CHROMagar MRSA II** le percentuali di recupero di MRSA sono state rispettivamente dell' 79,8% (621/778) e del 95,6% (744/778).

Tabella 4 Recupero di MRSA: BBL CHROMagar MRSA II rispetto a coltura tradizionale

		Recupero di MRSA	
Categoria di campione	Tempo di lettura ¹⁾	Coltura tradizionale	CMRSaII
Apparato respiratorio	24 ore	79,8% (182/228)	85,5% (195/228)
	48 ore	76,8% (182/237)	92,4% (219/237)
Tratto gastrointestinale inferiore	24 ore	86,9% (93/107)	87,9% (94/107)
	48 ore	77,5% (93/120)	98,3% (118/120)
Cutaneo	24 ore	68,6% (118/172)	88,4% (152/172)
	48 ore	66,3% (118/178)	96,1% (171/178)
Da ferita	24 ore	90,6% (115/127)	92,1% (117/127)
	48 ore	88,5% (115/130)	94,6% (123/130)
Emocoltura ²⁾	24 ore	100% (113/113)	100% (113/113)
Combinato ³⁾	24 ore	83,1% (621/747)	89,8% (671/747)
	48 ore	79,8% (621/778)	95,6% (744/778)

¹⁾ 24 ore rappresenta l'intervallo di lettura di 18 – 28 ore, senza necessità di test di conferma, mentre l'intervallo di lettura di 48 ore corrisponde a 36 – 52 ore con test di conferma.

²⁾ Emocoltura positiva per cocchi gram-positivi.

³⁾ Include tutti i tipi di campioni (dall'apparato respiratorio, dal tratto gastrointestinale inferiore, cutanei, da ferite ed emocolture)

Tabella 5: prestazioni di BBL CHROMagar MRSA II rispetto a coltura tradizionale e disco di cefoxitina in base al tipo di campione

		Disco di cefoxitina	
Categoria di campione	Tempo di lettura ¹⁾	Sensibilità (CI 95%)*	Specificità (CI 95%)*
Apparato respiratorio	24 ore	85,5% (195/228) (80,3%,89,8%)	99,8% (1216/1218) (99,4%,100%)
	48 ore	92,4% (219/237) (88,3%,95,4%)	99,8% (1207/1209) (99,4%,100%)
Tratto gastrointestinale inferiore	24 ore	87,9% (94/107) (80,1%,93,4%)	100% (587/587) (99,4%,100%)
	48 ore	98,3% (118/120) (94,1%,99,8%)	100% (574/574) (99,4%,100%)
Cutaneo	24 ore	88,4% (152/172) (82,6%,92,8%)	100% (1103/1103) (99,7%,100%)
	48 ore	96,1% (171/178) (92,1%,98,4%)	100% (1097/1097) (99,7%,100%)
Da ferita	24 ore	92,1% (117/127) (86%,96,2%)	100% (821/821) (99,6%,100%)
	48 ore	94,6% (123/130) (89,2%,97,8%)	100% (818/818) (99,6%,100%)
Emocoltura²⁾	24 ore	100% (113/113) (96,8%,100%)	100% (575/575) (99,4%,100%)
Combinato³⁾	24 ore	89,8% (671/747) (87,4%,91,9%)	100% (4302/4304) (99,8%,100%)
	48 ore	95,6% (744/778) (93,9%,97%)	100% (4271/4273) (99,8%,100%)

* CI = Intervallo di confidenza

¹⁾ 24 ore rappresenta l'intervallo di lettura di 18 – 28 ore, senza necessità di test di conferma, mentre l'intervallo di lettura di 48 ore corrisponde a 36 – 52 ore con test di conferma.

²⁾ Emocoltura positiva per cocci gram-positivi.

³⁾ Include tutti i tipi di campioni (dall'apparato respiratorio, dal tratto gastrointestinale inferiore, cutanei, da ferite ed emocolture)

Campioni dall'apparato respiratorio:

Sono stati complessivamente valutati 1446 campioni prelevati dall'apparato respiratorio, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali a quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato superiore, avendo raggiunto il 92,4% (219/237) rispetto al recupero del 76,8% (182/237) ottenuto su piastre di coltura tradizionali a 48 ore. Alla lettura nell'intervallo 18 – 28 ore sono stati riscontrati due falsi positivi sul **BBL CHROMagar MRSA II**, per una specificità del 99,8% (1216/1218). Usando il colore delle colonie alla lettura nell'intervallo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II** e confermando tutte le colonie color malva con un test di conferma alla lettura dopo 36 – 52 ore, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i campioni respiratori è stata del 98,6% (1426/1446).

Campioni prelevati dal tratto gastrointestinale inferiore:

Sono stati complessivamente valutati 694 campioni prelevati dal tratto gastrointestinale inferiore, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali con quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato superiore, avendo raggiunto il 98,3% (118/120) rispetto al recupero del 77,5% (93/120), ottenuto su piastre di coltura tradizionali a 48 ore. Non sono stati riscontrati falsi positivi sul **BBL CHROMagar MRSA II**. Usando il colore delle colonie alla lettura dopo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II** e confermando tutte le colonie color malva con un test di conferma alla lettura dopo 36 – 52 ore, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i campioni del tratto GI inferiore è stata del 99,7% (692/694).

Campioni cutanei:

Sono stati complessivamente valutati 1275 campioni cutanei, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali con quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato superiore, avendo raggiunto il 96,1% (171/178) rispetto al recupero del 66,3% (118/178), ottenuto su piastre di coltura tradizionali a 48 ore. Non sono stati riscontrati falsi positivi sul **BBL CHROMagar MRSA II**. Usando il colore delle colonie alla lettura dopo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II** e confermando tutte le colonie malva con un test di conferma alla lettura dopo 36 – 52 ore, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i campioni cutanei è stata del 99,5% (1268/1275).

Campioni prelevati da ferite:

Sono stati complessivamente valutati 948 campioni prelevati da ferite, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali con quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato superiore, avendo raggiunto il 94,6% (123/130) rispetto al recupero del 88,5% (115/130), ottenuto su piastre di coltura tradizionali a 48 ore. Non sono stati riscontrati falsi positivi sul **BBL CHROMagar MRSA II**. Usando il colore delle colonie alla lettura dopo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II** e confermando tutte le colonie malva con un test di conferma alla lettura dopo 36 – 52 ore, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i campioni cutanei è stata del 99,3% (941/948).

Flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi:

Sono stati complessivamente valutati 688 campioni di flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali con quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** e quello su piastre di coltura tradizionali è risultato equivalente al 100% (123/123) nell'intervallo 18 – 28 ore. Non sono stati riscontrati falsi positivi sul **BBL CHROMagar MRSA II**. Usando il colore delle colonie alla lettura dopo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II**, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i campioni di emocoltura positiva è stata del 100% (688/688).

Tipi di campioni combinati:

Sono stati complessivamente valutati 5051 campioni combinati, confrontando il recupero di MRSA su piastre di coltura tradizionali con quello su piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Il recupero complessivo di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato superiore, avendo raggiunto il 95,6% (744/778) rispetto al recupero del 79,8% (621/778) ottenuto su piastre di coltura tradizionali per tutti i tipi di campioni combinati (respiratori, tratto gastrointestinale inferiore, cutanei, di ferite e flaconi di emocolture positive per cocchi gram-positivi). Alla lettura dopo 18 – 28 ore, sono state riscontrate 2 colonie color malva falsamente positive su **BBL CHROMagar MRSA II**, equivalenti a una specificità del 99,9% (4271/4273). Usando il colore delle colonie alla lettura dopo 18 – 28 ore per **BBL CHROMagar MRSA II** e

confermando tutte le colonie color malva con un test di conferma alla lettura dopo 36 – 52 ore, la concordanza complessiva di **BBL CHROMagar MRSA II** con il test di disco-diffusione di cefoxitina per i tutti i tipi di campioni è stata del 99,3% (5015/5051).

Test di confronto

In tre dei centri clinici è stato condotto un test di venti (20) ceppi di confronto di *S. aureus*. Il gruppo comprendeva 14 MRSA e 6 MSSA. Le concordanze tra i siti combinati e i siti singoli sono risultate pari al 100%.

- Durante la seconda valutazione, **BBL CHROMagar MRSA II** è stato valutato in tre laboratori clinici, in aree geografiche diverse, con campioni di osservazione epidemiologica prelevati dalle narici anteriori. I campioni sono stati valutati confrontando il recupero di MRSA su terreni di coltura tradizionali Trypticase Soy Agar con sangue ovino al 5% (TSA II) e procedure di routine di ciascun sito per l'individuazione di *S. aureus* (coltura tradizionale) a quello sulle piastre **BBL CHROMagar MRSA II**. Nella procedura di routine di due siti rientrava il test di agglutinazione al lattice per l'individuazione degli stafilococchi, mentre in quella del terzo sito rientrava il test di coagulasi. Tutti gli *S. aurei* recuperati sono stati testati con il test di disco-diffusione di cefoxitina per la resistenza all'oxacillina mec-A mediata. Il test di disco-diffusione di cefoxitina ha rispettato i criteri di interpretazione e i metodi di CLSI.^{4, 15} **BBL CHROMagar MRSA II** è stato interpretato come positivo a MRSA a 20 – 26 ore, in base al rilevamento di colonie color malva.

Per entrambe le valutazioni esterne, sono stati complessivamente valutati 1613 campioni conformi prelevati dalle narici anteriori, confrontando il recupero di MRSA su piastre tradizionali a quello su **CHROMagar MRSA II** dopo un'incubazione di 20 – 26 ore (Tabella 6). La concordanza positiva e negativa di percentuale di **CHROMagar MRSA II** a 20 – 26 ore rispetto ai terreni tradizionali era rispettivamente dell'87,9% e del 98,6%. La sensibilità e la specificità rispetto al test di disco-diffusione della cefoxitina sono state rispettivamente dell'88,8% e del 99,8%.

Tabella 6: BBL CHROMagar MRSA II rispetto a coltura tradizionale e disco di cefoxitina per campioni prelevati dalle narici

Coltura tradizionale			
Tipo di campione	Tempo di lettura	Percentuale di concordanza positiva (CI 95%)	Percentuale di concordanza negativa (CI 95%)
Narici	24 ore ¹	87,9% (181/206) (82,6%, 92,0%)	98,6% (1387/1407) (97,8%, 99,1%)

Test della disco-diffusione di cefoxitina (CLSI)			
Tipo di campione	Tempo di lettura	Sensibilità (CI 95%)	Specificità (CI 95%)
Narici	24 ore ¹	88,8% (198/223) (83,9%, 92,6%)	99,8% (1387/1390) (99,4%, 100%)

¹24 ore rappresenta un intervallo di lettura di 20 – 26 ore senza la necessità di test di conferma

Valutazione interna delle prestazioni

Limite di rilevazione (LOD)

BBL CHROMagar MRSA II è stato valutato allo scopo di determinare il limite di rilevazione (LOD) del recupero di *S. aureus* meticillino-resistente. Il recupero delle colonie di quattro ceppi di test, rappresentanti due MRSA eterogenei e due omogenei, sono stati valutati su **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁶ Per la determinazione della concentrazione di organismi espressa in unità formanti colonie (UFC) per ciascuna determinazione sono stati utilizzate piastre di Columbia Agar con sangue ovino al 5%. Il LOD per **BBL CHROMagar MRSA II** è risultato compreso tra 4 e 116 UFC dopo 24 ore e 4 e 24 UFC dopo 48 ore.¹⁷

Studio di interferenza

Le potenziali interferenze e l'inibizione di MRSA su **BBL CHROMagar MRSA II** sono state valutate su un totale di 30 sostanze, comprendenti preparati farmacologici comunemente usati, dispositivi di trasporto, brodo di arricchimento e terreni di emocoltura. Alcuni colluttori, instillatori faringei, acido acetilsalicilico, lubrificanti personali e ibuprofene possono ridurre il recupero di MRSA. Gli spray nasali contenenti fluticasone propionato, azelastina idrocloruro, fenilefrina cloridrato e ossimetazolina cloridrato e le gocce per gola da banco contenenti mentolo hanno mostrato attività antibatterica.

Nessun altro preparato, dispositivo o terreno testato è stato associato a interferenze con il recupero di MRSA in **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Ridurre al minimo l'esposizione (< 4 ore) di **BBL CHROMagar MRSA II** alla luce, prima e durante l'incubazione, poiché l'esposizione prolungata può determinare un minore recupero e/o colorazione degli isolati.
- L'incubazione in CO₂ non è consigliata e può determinare colture falsamente negative.
- Non si raccomanda un'incubazione superiore a 36 – 52 ore.
- Per i campioni prelevati dalle narici anteriori, le prestazioni di **BBL CHROMagar MRSA II** sono state ottimizzate per l'incubazione a 35 – 37 °C per 20 – 26 ore. Temperature di incubazione inferiori (<35 °C) e/o tempi di incubazione più brevi (<20 ore) possono ridurre la sensibilità di **BBL CHROMagar MRSA II**. Notare che l'apertura ripetuta dello sportello dell'incubatore può ridurre la temperatura di incubazione effettiva. Si raccomanda pertanto di aprire lo sportello dell'incubatore solo quando necessario e di tenerlo aperto il meno possibile.
- Dopo un'incubazione di almeno 24 ore, alcuni ceppi di *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* e di *Bacillus cereus* possono produrre colonie color malva. Se necessario, è possibile eseguire una colorazione di Gram.
- Dopo un'incubazione di almeno 24 ore, i ceppi di *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis*, e di *Staphylococcus aureus* meticillino-sensibile possono inoltre raramente produrre colonie color malva. Se non si sospetta MRSA, è possibile eseguire un test di coagulasi e un test di suscettibilità antimicrobica (AST).
- Rari ceppi di MRSA hanno dimostrato sensibilità alla base **BBL CHROMagar MRSA II**.
- Tale sensibilità non è correlata alla meticillino-resistenza, ma è dovuta a un componente della base. Questi ceppi possono pertanto apparire come falsamente meticillino-sensibili.
- Esistono rari ceppi di MRSA che possono produrre colonie non color malva sul **BBL CHROMagar MRSA II**. In caso di sospetto di MRSA, procedere con i test di identificazione e suscettibilità delle colonie non color malva delle colture secondarie, secondo necessità.
- Una carica batterica elevata e/o alcuni campioni possono produrre una colorazione non specifica del quadrante primario del terreno. Ciò può dar luogo allo sviluppo sul terreno di una colorazione malva, porpora, verde o blu oppure a un leggero alone sul terreno, ma senza comparsa di colonie distinte. Una colorazione non specifica del terreno va interpretata come un risultato negativo.
- Se le MIC di oxacillina o cefoxitina sono uguali o prossime al breakpoint di resistenza, è possibile la crescita di *S. aureus mecA*-negativo.
- I meccanismi di resistenza non *mecA* (ad es, il borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*-BORSA, e il modified *Staphylococcus aureus*-MODSA), non sono stati sottoposti a valutazione estensiva con CMRSA II, pertanto le prestazioni del CMRSA II con tali meccanismi di resistenza non sono note.
- Poiché l'isolamento di MRSA dipende dal numero di organismi presenti nel campione, i risultati affidabili dipendono dalla sua corretta raccolta, manipolazione e conservazione.
- Un singolo risultato negativo non può costituire l'unica base per le decisioni relative alla diagnosi, al trattamento e alla gestione. Per l'identificazione degli organismi, i test di

suscettibilità e la tipizzazione epidemiologica possono rendersi necessarie colture concomitanti.

Prima di utilizzare **BD CHROMagar MRSA II** per la prima volta, si consiglia di acquisire familiarità con l'aspetto di una colonia MRSA formata da ceppi definiti, ad es., i ceppi citati in **CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE**.

DISPONIBILITÀ

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (terreni su piastra pronti per l'uso), confezioni da 20

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (terreni su piastra pronti per l'uso), confezioni da 120

BIBLIOGRAFIA

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/bmb15/bmb15toc>
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. Krisner, 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. Kleven 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. Dati in archivio presso BD Diagnostics.

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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.