



BBL™ CHROMagar MRSA II*

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BBL CHROMagar MRSA II** (CMRSAII) é um meio selectivo e diferencial usado para a detecção qualitativa directa de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) em amostras clínicas. O teste pode ser realizado em amostras das vias respiratórias, do tracto gastrointestinal inferior (GI), da pele e de feridas, da zona anterior das narinas para rastreio de colonização nasal com vista a auxiliar na prevenção e controlo de infecções por MRSA em instalações de cuidados de saúde e em frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os MRSA são uma causa importante de infecções nosocomiais e potencialmente letais. As infecções por MRSA foram associadas a uma morbilidade, mortalidade e custos significativamente superiores às provocadas por infecções por *S. aureus* sensíveis à metilina (MSSA).¹ A selecção destes organismos tem sido maior em instalações de cuidados de saúde; contudo, os MRSA também se tornaram mais prevalentes na comunidade.^{2,3}

Para controlar a transmissão de MRSA, a Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) publicou directrizes que incluem um programa de vigilância activa que visa identificar potenciais reservatórios e um programa de controlo da infecção rigoroso para controlar a disseminação de MRSA.¹

O **BBL CHROMagar MRSA II** é um meio selectivo e diferencial, que incorpora cefoxitina para a detecção de MRSA em amostras das vias respiratórias (p. ex., narinas, garganta e expectoração), do tracto GI inferior (p. ex., recto e fezes), da pele (p. ex., virilha/axila e períneo/perianal) e de feridas, e frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos.

O **BBL CHROMagar MRSA II** é uma versão modificada da formulação existente do CHROMagar MRSA desenvolvido por A. Rambach e pela BD e é comercializado pela BD no âmbito de um acordo de licença com a CHROMagar, Paris, França.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico

O meio **BBL CHROMagar MRSA II** permite a detecção e identificação directas de MRSA mediante a incorporação de substratos cromogénicos específicos e cefoxitina. As estirpes de MRSA irão crescer na presença de cefoxitina⁴ e produzir colónias malva resultantes da hidrólise do substrato cromogénico. São incorporados agentes selectivos adicionais para a supressão de microrganismos Gram-negativos, leveduras e outros cocos Gram-positivos. Bactérias diferentes de MRSA podem utilizar outros substratos cromogénicos no meio, resultando no aparecimento de colónias de cor azul a azul-verde ou, caso não se utilize nenhum substrato cromogénico, as colónias são de cor branca ou incolores.

*Patentes Pendentes na Europa, EUA & Canadá

REAGENTES

BBL CHROMagar MRSA II

Fórmula Aproximada* Por Litro de Água Purificada

Cromopeptona	35,0 g
Mistura de cromogénios	0,5 g
Cloreto de sódio	17,5 g
Agentes inibidores	7,52 g
Cefoxitina	5,2 mg
Ágar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 a 25°C

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

IVD Apenas para uso profissional. 

Nas amostras clínicas podem existir microrganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. Na manipulação de todos os itens contaminados com sangue e outros líquidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"⁵⁻⁸ e as directrizes institucionais. Após a utilização, as placas preparadas, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados devem ser esterilizados em autoclave antes de serem eliminados. Para mais detalhes, consultar o documento **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**.

Deterioração do produto: Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Antes da primeira utilização do **BBL CHROMagar MRSA II**, recomenda-se a familiarização com o aspecto típico de colónias de MRSA com estirpes definidas para treino, i.e., as estirpes descritas na secção **CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR**.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após a recepção das placas, conservar no invólucro e caixa originais a uma temperatura de 2 – 8°C, até ao momento da inoculação. Minimizar a exposição à luz (< 4h) do **BBL CHROMagar MRSA II** antes e durante a incubação, uma vez que a exposição prolongada pode conduzir à diminuição do isolamento e/ou coloração de isolados. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até terminar o prazo de validade (ver marca na placa ou etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado. As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura de 2 – 8°C no escuro.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR*

Examinar as placas, verificando se existem os sinais de deterioração descritos em "Deterioração do Produto".

Verificar o desempenho inoculando amostras representativas com diluições das culturas indicadas abaixo.

1. Espalhar nas placas para isolamento. Para *Staphylococcus aureus* ATCC™ 29213 e *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, utilizar inoculação directa.⁹
2. Incubar as placas a uma temperatura de 35 – 37°C numa atmosfera aeróbia.
3. Incluir placas de Columbia Agar with 5% Sheep Blood como controlos não selectivos para todos os organismos.
4. Examinar as placas após 20 – 26 h, verificando o isolamento, o tamanho e cor das colónias. Consultar o Quadro relativamente aos resultados esperados:

Estirpe de teste	Resultados esperados
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Crescimento de colónias malva
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (MSSA)	Ausência de crescimento

* Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectivados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais, nacionais e/ou federais aplicáveis e/ou com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório. O utilizador pode consultar as orientações do CLSI sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

PROCEDIMENTO

Material fornecido

BBL CHROMagar MRSA II (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Material Necessário Mas Não Fornecido

Teste de confirmação como o teste da coagulase ou o teste de aglutinação em látex para *Staphylococcus* (por ex., **Staphyloslide**), reagentes de teste, microrganismos de controlo de qualidade, meios de cultura auxiliares e outro equipamento laboratorial necessário.

Tipos de Amostra

O meio pode ser usado em amostras das vias respiratórias (p. ex., garganta e expectoração), do tracto GI inferior (p. ex., recto e fezes), da pele (p. ex., virilha/axila e períneo/perianal), das narinas e de feridas, e frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos.

Colheita e Preparação das Amostras

Recomenda-se a utilização de dispositivos de transporte aprovados para a colheita de amostras clínicas microbiológicas. Seguir os procedimentos recomendados pelo fabricante para o dispositivo de transporte.

Para obter pormenores sobre os procedimentos de colheita e preparação de amostras, o utilizador pode também consultar os textos apropriados.^{10,11}

Procedimento do Teste

Utilizar técnicas assépticas. A superfície do agar deve estar lisa e húmida, mas sem humidade excessiva. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

- **Amostras da zona anterior das narinas:** Logo após a recepção no laboratório, inocular a amostra numa placa com **BBL CHROMagar MRSA II** e espalhar para obter o isolamento. Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura de 35 – 37°C, durante 20 – 26 h numa posição invertida.
- **Frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos:** Logo que um frasco de cultura de sangue for considerado positivo e a coloração Gram confirme a presença de cocos Gram-positivos, retirar uma alíquota, inocular uma placa **BBL CHROMagar MRSA II** e espalhar para obter o isolamento. Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura de 35 – 37°C, durante 18 – 28 h numa posição invertida. Não é necessária a incubação para além das 18 – 28 h.
- **Todas as outras amostras (garganta, expectoração, tracto GI inferior, pele e feridas):** Logo após a recepção no laboratório, inocular uma placa **BBL CHROMagar MRSA II** e espalhar para obter o isolamento. Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura de 35 – 37°C, durante 18 – 28 h numa posição invertida. Se não forem observadas colónias malva, voltar a incubar por um período total de 36 – 52 h.

Não incubar numa atmosfera enriquecida com dióxido de carbono. Minimizar a exposição à luz (< 4h) do **BBL CHROMagar MRSA II** antes e durante a incubação, uma vez que a exposição prolongada pode conduzir à diminuição do isolamento e/ou coloração de isolados. A exposição à luz é permitida depois do desenvolvimento da cor das colónias.

RESULTADOS

Após uma incubação adequada, ler as placas contra um fundo branco. As colónias de MRSA terão uma cor malva no meio **BBL CHROMagar MRSA II**. Outros microrganismos (não MRSA) serão inibidos ou irão produzir colónias azuis a azul-verdes, brancas ou incolores. Consultar os Quadros 1 – 3 para a interpretação dos resultados.

Quadro 1: Interpretação dos resultados para amostras da zona anterior das narinas

Incubação de 20 – 26 h	Interpretação/Ação Recomendada
Colónias malva morfologicamente semelhantes a estafilococos*	Positivo - MRSA detectado
Detecção de colónias de cor não-malva	Negativo - Sem detecção de MRSA
Ausência de crescimento	Negativo - Sem detecção de MRSA

*Ver LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Quadro 2: Interpretação dos resultados para frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos

Incubação de 18 – 28 h	Interpretação/Ação Recomendada
Colónias malva morfologicamente semelhantes a estafilococos*	Positivo - MRSA detectado
Sem colónias malva	Negativo - Sem detecção de MRSA

*Ver LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Quadro 3: Interpretação dos resultados para amostras da garganta, expectoração, do tracto GI inferior, de pele e de feridas

Incubação de 18 – 28 h		Interpretação/Ação Recomendada
Colónias malva morfologicamente semelhantes a estafilococos*		MRSA detectado
Sem colónias malva		Voltar a incubar por um período adicional de 18 – 24 h para alcançar um tempo total de incubação de 36 – 52 horas.
Incubação de 36 – 52 h	Ação Recomendada	Interpretação
Colónias malva*	Realizar teste de confirmação directo (p. ex., coagulase ou aglutinação em látex para <i>Staphylococcus</i>)	Se o resultado da coagulase ou aglutinação em látex para <i>Staphylococcus</i> for positivo – foram detectados MRSA Se o resultado da coagulase ou aglutinação em látex para <i>Staphylococcus</i> for negativo – sem detecção de MRSA
Sem colónias malva	N/A	Sem detecção de MRSA

*Ver LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

N/A = Não aplicável

VALORES ESPERADOS

A prevalência de infecção por MRSA aumentou dramaticamente nas instalações de cuidados de saúde e a taxa de portadores de MRSA está a aumentar na comunidade. Publicações recentes sugerem que as hospitalizações associadas a *S. aureus* aumentaram 62% e que o número estimado de hospitalizações associadas a *S. aureus* resistentes à metilina mais do que duplicou de 1999 a 2005.¹² Dados do NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) indicam que, nas instalações de cuidados intensivos, a proporção de MRSA entre infecções por *S. aureus* aumentou para 59,5 – 64,4%. Foram registados aumentos dramáticos na incidência de infecções da pele e dos tecidos moles, sugerindo que as infecções por MRSA adquiridas na comunidade se estão a disseminar em meio hospitalar.^{12, 13}

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

O **BBL CHROMagar MRSA II** é um meio selectivo e diferencial usado para a detecção qualitativa directa de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) em amostras clínicas. O teste pode ser realizado em amostras das vias respiratórias, do tracto

gastrointestinal inferior (GI), da pele e de feridas, após uma incubação de 18 – 52 horas. O teste pode também ser realizado em amostras da zona anterior das narinas para rastreio de colonização nasal com vista a auxiliar na prevenção e controlo de infecções por MRSA em instalações de cuidados de saúde, após incubação de 20 – 26 horas, e em frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos, após 18 – 28 horas.

Avaliações Externas do Desempenho

Foram realizadas duas avaliações externas do desempenho:

- Na primeira avaliação, o **BBL CHROMagar MRSA II** foi avaliado em quatro laboratórios clínicos diferentes com amostras prospectivas sobejantes das vias respiratórias (p. ex., narinas, garganta e expectoração), do tracto GI inferior (p. ex., recto e fezes), da pele (p. ex., virilha/axila e períneo/perianal) e de feridas, e frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos (Quadros 4 e 5).¹⁴

As amostras foram avaliadas comparando o isolamento de MRSA em meio de cultura tradicional (p. ex., Tryptic Soy Agar with 5% Sheep Blood, Columbia Agar with 5% Sheep Blood ou CNA (agar com colistina e ácido nalidíxico), consoante os tipos de amostra) e em placas **BBL CHROMagar MRSA II**. Os *S. aureus* identificados em meio de cultura tradicional foram testados através do método do teste de difusão de disco com cefoxitina. Os resultados do teste de difusão de disco com cefoxitina seguiram os critérios de interpretação do CLSI para a determinação da resistência à meticilina (R) e sensibilidade à meticilina (S), ($R \leq 2$ 1mm e $S \geq 22$ mm).^{4, 15} O **BBL CHROMagar MRSA II** foi interpretado como positivo para MRSA às 18 – 28 h com base na detecção de colónias malva ou às 36 – 52 h com base na detecção de colónias malva com confirmação como *S. aureus*.

A prevalência global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi de 15% (778/5051), ou cerca de 65,6% (778/1186) do total de *S. aureus*. Para a placa de cultura tradicional (p. ex., Tryptic Soy Agar with 5% Sheep Blood, Columbia Agar with 5% Sheep Blood e CNA) a taxa de isolamento de MRSA foi de 79,8% (621/778), enquanto para o **BBL CHROMagar MRSA II** a taxa de isolamento de MRSA foi de 95,6% (744/778).

Quadro 4 Isolamento de MRSA: BBL CHROMagar MRSA II vs. Cultura Tradicional

		Isolamento de MRSA	
Categoria da Amostra	Hora da Leitura ¹⁾	Cultura Tradicional	CMRSaII
Respiratória	24 h	79,8% (182/228)	85,5% (195/228)
	48 h	76,8% (182/237)	92,4% (219/237)
GI Inferior	24 h	86,9% (93/107)	87,9% (94/107)
	48 h	77,5% (93/120)	98,3% (118/120)
Pele	24 h	68,6% (118/172)	88,4% (152/172)
	48 h	66,3% (118/178)	96,1% (171/178)
Ferida	24 h	90,6% (115/127)	92,1% (117/127)
	48 h	88,5% (115/130)	94,6% (123/130)
Cultura de Sangue ²⁾	24 h	100% (113/113)	100% (113/113)
Combinada ³⁾	24 h	83,1% (621/747)	89,8% (671/747)
	48 h	79,8% (621/778)	95,6% (744/778)

¹⁾ 24 h representa o intervalo de leitura das 18 – 28 h sem testes de confirmação e o intervalo de leitura das 48 h é 36 – 52 h com teste de confirmação.

²⁾ Cultura de sangue positiva contendo cocos Gram-positivos

³⁾ Inclui todos os tipos de amostra (respiratória, GI inferior, pele, ferida e cultura de sangue)

Quadro 5: Desempenho do BBL CHROMagar MRSA II vs. Cultura Tradicional e Disco com Cefoxitina por Tipo de Amostra

Categoria da Amostra	Hora da Leitura ¹⁾	Disco com Cefoxitina	
		Sensibilidade (IC 95%)*	Especificidade (IC 95%)*
Respiratória	24 h	85,5% (195/228) (80,3%,89,8%)	99,8% (1216/1218) (99,4%,100%)
	48 h	92,4% (219/237) (88,3%,95,4%)	99,8% (1207/1209) (99,4%,100%)
GI Inferior	24 h	87,9% (94/107) (80,1%,93,4%)	100% (587/587) (99,4%,100%)
	48 h	98,3% (118/120) (94,1%,99,8%)	100% (574/574) (99,4%,100%)
Pele	24 h	88,4% (152/172) (82,6%,92,8%)	100% (1103/1103) (99,7%,100%)
	48 h	96,1% (171/178) (92,1%,98,4%)	100% (1097/1097) (99,7%,100%)
Ferida	24 h	92,1% (117/127) (86%,96,2%)	100% (821/821) (99,6%,100%)
	48 h	94,6% (123/130) (89,2%,97,8%)	100% (818/818) (99,6%,100%)
Cultura de Sangue ²⁾	24 h	100% (113/113) (96,8%,100%)	100% (575/575) (99,4%,100%)
Combinada ³⁾	24 h	89,8% (671/747) (87,4%,91,9%)	100% (4302/4304) (99,8%,100%)
	48 h	95,6% (744/778) (93,9%,97%)	100% (4271/4273) (99,8%,100%)

* IC = Intervalo de confiança

¹⁾ 24 h representa o intervalo de leitura das 18 – 28 h sem testes de confirmação e o intervalo de leitura das 48 h é 36 – 52 h com teste de confirmação.

²⁾ Cultura de sangue positiva contendo cocos Gram-positivos

³⁾ Inclui todos os tipos de amostra (respiratória, GI inferior, pele, ferida e cultura de sangue)

Amostras das vias respiratórias:

Foram avaliadas no total 1446 amostras das vias respiratórias, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi mais elevado com 92,4% (219/237), comparativamente ao isolamento de 76,8% (182/237) em placas de cultura tradicional às 48 h. No intervalo de leitura das 18 – 28 h, foram observados dois falsos positivos em **BBL CHROMagar MRSA II**, para uma especificidade de 99,8% (1216/1218). Utilizando a cor das colônias na leitura das 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** e confirmando todas as colônias malva com um teste de confirmação na leitura das 36 – 52 h, a concordância global do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para amostras respiratórias foi de 98,6% (1426/1446).

Amostras do tracto GI inferior:

Foram avaliadas no total 694 amostras do tracto GI inferior, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi mais elevado com 98,3% (118/120), comparativamente ao isolamento de 77,5% (93/120) em placas de cultura tradicional às 48 h. Não foram observados falsos positivos em **BBL CHROMagar MRSA II**. Utilizando a cor das colónias na leitura das 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** e confirmando todas as colónias malva com um teste de confirmação na leitura das 36 – 52 h, a concordância global do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para amostras do tracto GI inferior foi de 99,7% (692/694).

Amostras de pele:

Foram avaliadas no total 1275 amostras de pele, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi mais elevado com 96,1% (171/178), comparativamente ao isolamento de 66,3% (118/178) em placas de cultura tradicional às 48 h. Não foram observados falsos positivos em **BBL CHROMagar MRSA II**. Utilizando a cor das colónias na leitura das 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** e confirmando todas as colónias malva com um teste de confirmação na leitura das 36 – 52 h, a concordância global do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para amostras de pele foi de 99,5% (1268/1275).

Amostras de feridas:

Foram avaliadas no total 948 amostras de feridas, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi mais elevado com 94,6% (123/130), comparativamente ao isolamento de 88,5% (115/130) em placas de cultura tradicional às 48 h. Não foram observados falsos positivos em **BBL CHROMagar MRSA II**. Utilizando a cor das colónias na leitura das 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** e confirmando todas as colónias malva com um teste de confirmação na leitura das 36 – 52 h, a concordância global do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para amostras de ferida foi de 99,3% (941/948).

Frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos:

Foram avaliados no total 688 frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** e em placas de cultura tradicional foi equivalente com 100% (113/113) às 18 – 28 h. Não foram observados falsos positivos em **BBL CHROMagar MRSA II**. Utilizando a cor das colónias na leitura das 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II**, a concordância global do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para frascos de culturas de sangue positivas foi de 100% (688/688).

Tipos de amostras combinadas:

Foi avaliado um total global combinado de 5051 amostras, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II**. O isolamento global de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II** foi mais elevado com 95,6% (744/778), comparativamente ao isolamento de 79,8% (621/778) em placas de cultura tradicional para todos os tipos de amostras combinadas (respiratórias, GI inferior, pele, feridas e frascos de culturas de sangue positivas contendo cocos Gram-positivos). Na leitura realizada às 18 – 28 h, foram observados 2 falsos positivos com colónias malva em **BBL CHROMagar MRSA II**, para uma especificidade de 99,9% (4271/4273). Utilizando a cor das colónias na leitura das 18 – -28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** e confirmando todas as colónias malva com um teste de confirmação na leitura das 36 – 52 h, a concordância global

combinada do **BBL CHROMagar MRSA II** face ao teste de difusão de disco com cefoxitina para todos os tipos de amostra foi de 99,3% (5015/5051).

Teste de Provocação

Procedeu-se ao teste de vinte (20) estirpes de provocação de *S. aureus* em três locais clínicos. O painel incluiu 14 MRSA e 6 MSSA. As concordâncias dos locais individuais e dos locais combinados foram de 100%.

- Na segunda avaliação, o **BBL CHROMagar MRSA II** foi avaliado em três laboratórios clínicos com localização geográfica diferente, utilizando-se amostras de vigilância da zona anterior das narinas. As amostras foram avaliadas comparando o isolamento de MRSA em placas com meio Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) e o procedimento de rotina de cada local para identificação de *S. aureus* (cultura tradicional) com as placas **BBL CHROMagar MRSA II**. (O procedimento de rotina para dois locais incluiu o teste de aglutinação em látex para estafilococos e o terceiro teste incluiu o teste da coagulase. Todos os *S. aureus* identificados foram testados quanto à resistência à oxacilina mediada por *mec-A* pelo teste de difusão de disco com cefoxitina.) Os resultados do teste de difusão de disco com cefoxitina (30µg) seguiram os métodos e critérios de interpretação do CLSI.^{4, 15} O **BBL CHROMagar MRSA II** foi interpretado como positivo para MRSA às 20 – 26 h, com base na detecção de colônias malva.

A partir das duas avaliações externas, um total de 1613 amostras em conformidade da zona anterior das narinas foram avaliadas, comparando o isolamento de MRSA em placas de cultura tradicional com placas **BBL CHROMagar MRSA II** após 20 a 26 h de incubação (Quadro 6). A concordância percentual positiva e a concordância percentual negativa entre **BBL CHROMagar MRSA II** às 20 – 26 h e a cultura tradicional foi de 87,9% e 98,6%, respectivamente. A sensibilidade e especificidade, comparadas com o teste de difusão de disco com cefoxitina, foram de 88,8% e 99,8%, respectivamente.

Quadro 6: Desempenho do BBL CHROMagar MRSA II vs. Cultura Tradicional e Disco com Cefoxitina para Amostras das Narinas

Cultura tradicional			
Tipo de Amostra	Hora da Leitura	Concordância Percentual Positiva (IC 95%)	Concordância Percentual Negativa (IC 95%)
Narinas	24 h ¹	87,9% (181/206) (82,6%, 92,0%)	98,6% (1387/1407) (97,8%, 99,1%)

Teste de difusão de disco com cefoxitina (CLSI)			
Tipo de Amostra	Hora da Leitura	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)
Narinas	24 h ¹	88,8% (198/223) (83,9%, 92,6%)	99,8% (1387/1390) (99,4%, 100%)

¹24 h representa um intervalo de leitura 20 –26 h sem testes de confirmação

Avaliação Interna do Desempenho

Limites de Detecção (LOD)

O **BBL CHROMagar MRSA II** foi avaliado para determinar o limite de detecção (LOD) do isolamento de *S. aureus* resistentes à meticilina. Quatro estirpes de teste, representando duas estirpes homogêneas e duas estirpes heterogêneas de MRSA, foram avaliadas relativamente ao isolamento em **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁶ Foram utilizadas placas com meio Columbia Agar with 5% Sheep blood para determinar a concentração de microrganismos expressa em unidades formadoras de colônia (UFC) para cada diluição. Os LOD para **BBL CHROMagar MRSA II** variaram de 4 – 116 UFC às 24 h e 4 – 24 UFC às 48 h¹⁷.

Estudo de Interferência

Foram avaliadas no total 30 substâncias incluindo substâncias medicinais habitualmente usadas, dispositivos de transporte, caldo de enriquecimento e meios de cultura de sangue relativamente à potencial interferência e inibição do MRSA no **BBL CHROMagar MRSA II**. Alguns produtos para lavar a boca, pastilhas para a garganta, ácido acetilsalicílico, lubrificantes e ibuprofeno podem reduzir o isolamento de MRSA. Os sprays nasais com propionato de fluticasona, cloridrato de azelastina, cloridrato de fenilefrina e cloridrato de oximetazolina, assim como pastilhas para a garganta sem receita com mentol, demonstraram actividade antibacteriana. Nenhuma outra substância, dispositivo ou meio testado revelou interferir com o isolamento de MRSA em **BBL CHROMagar MRSA II**.¹⁷

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Minimizar a exposição à luz do **BBL CHROMagar MRSA II** (< 4h) antes e durante a incubação, uma vez que a exposição prolongada pode conduzir à diminuição do isolamento e/ou coloração de isolados.
- Não se recomenda a incubação em CO₂ e tal pode dar origem a culturas falsas negativas.
- Não se recomenda a incubação neste meio para além das 36 – 52 h.
- Relativamente às amostras da zona anterior das narinas, o desempenho do **BBL CHROMagar MRSA II** foi optimizado para incubação durante 20 – 26 h a 35 – 37°C. Temperaturas de incubação mais baixas (<35° C) e/ou períodos de incubação mais curtos (<20 h) poderão reduzir a sensibilidade do **BBL CHROMagar MRSA II**. Ter em atenção que a abertura frequente das portas da incubadora pode reduzir a temperatura da incubadora. Por este motivo, recomenda-se que seja reduzida ao mínimo a frequência e a duração da abertura das portas da incubadora.
- Após incubação de 24 h, ou mais, algumas estirpes de *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* e *Bacillus cereus* podem produzir colónias de cor malva. Se desejável, é possível realizar uma coloração de Gram.
- Após incubação de 24 h, ou mais, os organismos *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* e *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina poderão raramente produzir colónias de cor malva. Se não houver suspeita de MRSA, é possível realizar um teste da coagulase e um teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA).
- Estirpes raras de MRSA demonstraram sensibilidade à base **BBL CHROMagar MRSA II**. Esta sensibilidade não está relacionada com a resistência à meticilina, mas deve-se a um componente da base. Em consequência, estas estirpes podem aparecer como falsamente sensíveis à meticilina.
- Existem estirpes raras de MRSA que podem produzir colónias não-malva em **BBL CHROMagar MRSA II**. Se houver suspeita de MRSA, efectuar uma repicagem das colónias não-malva para mais testes de identificação e de sensibilidade, se necessário.
- Uma carga bacteriana pesada e/ou algumas amostras podem produzir coloração não específica do quadrante principal do meio. Isto poderá originar uma coloração malva, púrpura, verde ou azul do meio ou uma ligeira névoa no topo do meio, mas sem colónias distintas. Uma coloração não específica do meio deverá ser interpretada como um resultado negativo.
- Se as CMI de oxacilina ou cefoxitina estiverem no ponto de rotura de resistência ou na sua proximidade, poderá crescer *S. aureus* negativo para *mecA*.
- Os mecanismos de resistência para além de *mecA* (i.e., *Staphylococcus aureus* com resistência borderline à oxacilina – BORSA e *Staphylococcus aureus* modificado – MODSA) não foram avaliados extensivamente com o CMRSA II e, por este motivo, o desempenho do CMRSA II com estes mecanismos de resistência é desconhecido.
- Uma vez que o isolamento de MRSA está dependente do número de microrganismos presentes na amostra, a fiabilidade dos resultados depende de uma colheita, preparação e armazenamento correctos das amostras.

- Um único resultado negativo não deverá constituir a base exclusiva das decisões de diagnóstico, tratamento ou gestão. Podem ser necessárias culturas concomitantes para a identificação do microrganismo, teste de sensibilidade e tipagem epidemiológica.

Antes da primeira utilização do **BBL CHROMagar MRSA II**, recomenda-se a familiarização com o aspecto típico de colónias de MRSA com estirpes definidas para treino, p. ex., as estirpes descritas na secção **Controlo de Qualidade Pelo Utilizador**.

APRESENTAÇÃO

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Meios em placas prontos a usar), 20 cpu

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media (Meios em placas prontos a usar), 120 cpu

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. Krisher, and H.T. Holmes. 2007. General principles of specimen collection and handling. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (eds.), *Manual of clinical microbiology*. 9th ed., ASM, Washington DC.
12. Huckabee C.M., W.C. Huskins, and P.R. Murray. 2009. Predicting Clearance of Colonization with Vancomycin- Resistant Enterococci and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by use of weekly surveillance cultures. *J. Clin. Microbiol.*, 47: 1229-1230.
13. Klevens R. M., M. A. Morrison, and J. Nadle et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the US. *JAMA*, 298 (15) 1763-1771 (summary on MRSA – Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.)

14. Wendt C., N. L. Havill, and K. C. Chapin et al. Evaluation of a new selective medium, BD BBL CHROMagar MRSA II, for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in different specimens. J. Clin. Microbiol., 48: 2223-2227.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Approved Standard M2-A9. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 9th ed., CLSI, Wayne, PA.
16. Tomasz A., S. Nachman, and H. Leah 1991. Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. Antimicro. Agents Chemother, 35:124-129.
17. Dados em arquivo, BD Diagnostics.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter mais informações, contacte o representante local da BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.