

BD BBL™ CHROMagar™ MRSA***USO PREVISTO**

BBL CHROMagar MRSA è un terreno selettivo e differenziale per la rilevazione qualitativa diretta di colonizzazione da *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) per favorire la prevenzione e il controllo di infezioni MRSA in ambienti sanitari. Il test è eseguito su tamponi di narici anteriori, prelevati da pazienti e operatori sanitari per lo screening della colonizzazione da MRSA. **BBL CHROMagar MRSA** non è previsto per la diagnosi dell'infezione da MRSA né come guida o per il monitoraggio del trattamento di infezioni.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodica microbiologica.

MRSA è tra le cause primarie di infezioni nosocomiali e potenzialmente letali. Le infezioni da MRSA sono state associate a morbilità, mortalità e costi significativamente superiori rispetto a quelle da *S. aureus* meticillino-sensibile (MSSA).¹

La prevalenza dell'infezione MRSA ha registrato un incremento marcato in ambiente ospedaliero e la percentuale di portatori di MRSA in comunità è in via di aumento.² Secondo pubblicazioni recenti, una percentuale compresa tra il 25 e il 30% della popolazione in generale presenta colonizzazione da *S. aureus*.³

Negli ultimi quindici anni, i tassi di resistenza sono costantemente aumentati e i recenti dati NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) indicano che nei reparti di terapia intensiva la percentuale di MRSA tra le infezioni da *S. aureus* ha raggiunto il 60% nel 2003.⁴

Per controllare la trasmissione di MRSA, la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) ha raccomandato una serie di linee guida comprendenti 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 consente la rilevazione diretta e l'identificazione di MRSA mediante l'incorporazione di substrati cromogeni specifici e cefoxitin. In presenza di cefoxitin⁵, i ceppi MRSA crescono producendo colonie di colore rosa-malva derivanti dall'idrolisi del substrato cromogeno. Vengono incorporati altri agenti selettivi per la soppressione di microrganismi gram-negativi, lieviti e alcuni cocchi gram-positivi. I batteri diversi da MRSA possono utilizzare altri substrati cromogeni nel terreno dando luogo a colonie di colore blu - blu/verde; in alternativa, se non si utilizzano substrati cromogeni, le colonie appaiono bianche o incolori.

BBL CHROMagar MRSA è stato sviluppato da A. Rambach e BD. Questo prodotto utilizza **BD CHROMagar Staph aureus**, sviluppato da A. Rambach e venduto da BD ai sensi di un contratto di licenza di CHROMagar, Parigi, Francia.

REAGENTI**BBL CHROMagar MRSA**

Formula* per litro di acqua purificata

Cromopeptone	40,0 g
Cloruro di sodio	25,0
Mix cromogeno	0,5
Agenti inibitori	0,07
Cefoxitin	0,006
Agar	14,0

pH 6,8 ± 0,3

*Aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

* In attesa di brevetto USA

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, fissurazioni o altri segni di deterioramento.

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 liquidi biologici in conformità alle linee guide dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁶⁻⁹

Dopo l'uso, le piastre pronte per l'uso, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Per dettagli su procedure di manipolazione in asepsi, rischi biologici e smaltimento di prodotti usati, consultare il documento **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria, nella scatola di cartone, fino al momento dell'uso. Evitare il congelamento, il surriscaldamento e l'esposizione alla luce prima e durante l'incubazione in quanto la luce può distruggere i cromogeni. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (vedere l'etichetta della confezione) e incubate per i tempi di incubazione consigliati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C al buio.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Verificare che le piastre non presentino segni di deterioramento come descritto in

PRECAUZIONI. Controllare le prestazioni inoculando un campione rappresentativo di piastre con colture pure di microrganismi di controllo stabili che producono reazioni note e attese. Per determinare la capacità inibitoria del terreno, inoculare *S. aureus* ATCC 25923 a una concentrazione di 10^4 - 10^5 UFC/piastra.¹⁰ Per determinare la capacità nutritiva del terreno, inoculare *S. aureus* ATCC 43300 a una concentrazione di 10^3 - 10^4 UFC/piastra.¹⁰

Incubare in aerobiosi a 35 – 37 °C per **24 ± 4 ore**. Non incubare in atmosfera supplementata con anidride carbonica.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (MSSA)	Nessuna crescita
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Crescita con colonie rosa-malva di dimensioni moderate
Non inoculate	Beige chiaro, trasparenti

PROCEDURA

Materiali forniti

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

Materiali necessari ma non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti per test della coagulasi, microrganismi per controllo di qualità e altre apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Le prestazioni di questo terreno sono state valutate con campioni di narici anteriori. Finora, è stato inoltre testato solo un numero limitato di campioni clinici di vari siti corporei (vedere **CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Si raccomanda l'uso di dispositivi di trasporto approvati per la raccolta di tali campioni. Seguire le procedure raccomandate dal produttore dei dispositivi di trasporto. Per dettagli sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, l'utente può inoltre consultare la documentazione appropriata.^{11,12}

Procedura del test

Non appena perviene in laboratorio, inoculare il campione su una piastra **BBL CHROMagar MRSA** e strisciare per l'isolamento usando un'ansa.

Incubare le piastre in aerobiosi a 35 – 37 °C per **24 ± 4 ore** in posizione invertita. Se non si recuperano colonie rosa-malva, reincubare per altre 24 h. Non incubare in atmosfera supplementata con anidride carbonica. Evitare l'esposizione alla luce durante l'incubazione (> 4 ore) in quanto la luce può distruggere i cromogeni. L'esposizione alla luce è consentita dopo lo sviluppo di colore delle colonie.

Nota importante: È stato riscontrato che una bassa temperatura di incubazione (<35 °C) e/o un periodo di incubazione ridotto (<20 ore) possono significativamente ridurre la capacità di **BBL CHROMagar MRSA** a far ottenere risultati dopo 1 giorno di lettura delle piastre. È perciò importante mantenere la temperatura di incubazione ideale di 36 °C (range accettabile: da 35 a 37 °C) durante l'intero periodo di incubazione (non meno di 20 ore; idealmente 22 ore per la lettura dei risultati al primo giorno). L'apertura ripetuta dello sportello dell'incubatore riduce la temperatura di incubazione effettiva. Si raccomanda perciò di aprire lo sportello dell'incubatore solo quando necessario e di tenerlo aperto il più brevemente possibile. Nell'impossibilità di farlo, si raccomanda di incubare **BBL CHROMagar MRSA** in un incubatore dedicato.

Risultati

Leggere le piastre su uno sfondo bianco. Le colonie di MRSA sul terreno **BBL CHROMagar MRSA** appariranno di colore rosa-malva. Gli altri microrganismi (non MRSA) saranno inibiti o produrranno colonie incolori, bianche, blu o blu/verde. Per l'interpretazione dei risultati vedere la Tabella 1.

Tabella 1

Incubazione di 24 h		Interpretazione/azione raccomandata
Colonie rosa-malva morfologicamente simili a stafilococchi*		Rilevato MRSA, refertare colonizzazione nasale da MRSA
Nessuna colonia rosa-malva		Nessun risultato disponibile, reincubare per altre 24 ore
Incubazione di 48 h	Azione raccomandata	Interpretazione
Colonie rosa-malva	Eseguire test della coagulasi	In caso di rilevazione di MRSA coagulasi-positivo, refertare MRSA. In caso di ceppo coagulasi-negativo, refertare assenza di MRSA.
Nessuna colonia rosa-malva	---	Refertare assenza di MRSA

*Sul terreno **BBL CHROMagar MRSA**, gli stafilococchi di norma producono colonie rosa-malva uniformi di medie dimensioni. Le colonie di color malva estremamente minuscole da individuare, sono in prevalenza bacilli gram-positivi, solitamente corinebatteri. In caso di morfologia non chiara, è possibile eseguire test di conferma come per esempio il test della coagulasi per confermare l'identificazione dopo 48 h.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BBL CHROMagar MRSA è usato per la rilevazione qualitativa diretta, l'isolamento e l'identificazione di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA) da campioni nasali di osservazione epidemiologica dopo 24 h di incubazione senza test di conferma oppure dopo 48 h di incubazione, con conferma mediante test della coagulasi (vedere **Limitazioni della procedura**).

Caratteristiche prestazionali¹³

Valutazioni delle prestazioni

1. **BBL CHROMagar MRSA** è stato valutato in quattro ospedali statunitensi, in aree geografiche diverse, con campioni freschi di osservazione epidemiologica prospettica di narici anteriori. Sono stati complessivamente valutati 1974 campioni di osservazione epidemiologica di narici, comparando il recupero di MRSA su piastre di riferimento **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** con piastre **CHROMagar MRSA**. I

microrganismi *S. aureus* recuperati su TSA II sono stati testati con una metodica MIC dell'oxacillina per microdiluizione in brodo e una metodica con agar di screening dell'oxacillina, nonché con altre metodiche di test di sensibilità (vedere la sezione più avanti). I risultati del test MIC dell'oxacillina hanno rispettato i criteri di interpretazione NCCLS, con MSSA ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ ed MRSA ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. L'agar di screening dell'oxacillina è stato interpretato seguendo le istruzioni del fabbricante, di ritenere la presenza di un'eventuale crescita di colonie come rappresentativa di MRSA. **CHROMagar MRSA** è stato interpretato come positivo per MRSA dopo 24 h in base alla rilevazione di colonie di (solo) color malva oppure dopo 48 h in base alla rilevazione di colonie malva con conferma di *S. aureus* mediante test della coagulasi. Il recupero complessivo di MRSA su **CHROMagar MRSA** è risultato superiore, avendo raggiunto il 95% (126) rispetto al recupero dell'89% (117) ottenuto su TSA II. La precisione dell'identificazione di MRSA è stata comparata alla metodica MIC dell'oxacillina per microdiluizione in brodo e alla metodica con agar di screening dell'oxacillina. Alla lettura dopo 24 h, sono stati riscontrati 6 falsi positivi con colonie malva osservate su **CHROMagar MRSA** (2 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus* e 2 *Corynebacterium*). Usando il solo colore delle colonie alla lettura dopo 24 h per **CHROMagar MRSA** e confermando tutte le colonie malva con il test della coagulasi alla lettura dopo 48 h, la concordanza complessiva del test **CHROMagar MRSA** con il test MIC dell'oxacillina è stata del 96% (312/325). La concordanza complessiva di categoria di **CHROMagar MRSA** con l'agar di screening dell'oxacillina è stata del 96% (312/325). La concordanza positiva di percentuale MRSA e la concordanza negativa di percentuale MSSA di **CHROMagar MRSA** rispetto a queste metodiche di riferimento sono illustrate nelle Tabelle 2 – 5.

Tabella 2: Prestazioni di BBL CHROMagar MRSA (risultato finale combinato 24 h color malva / 48 h con test della coagulasi) rispetto al risultato di riferimento MIC oxacillina

Risultato CHROMagar MRSA	Identificazione MRSA	Risultato TSA II			Totale
		Crescita di <i>S. aureus</i>		Nessuna crescita di <i>S. aureus</i>	
		Risultato di riferimento MIC oxacillina			
		MRSA	MSSA		
Malva	Malva dopo 24 h oppure malva e coag pos dopo 48 h	111	7	21*	139
	Coag neg dopo 48 h	0	3	68**	71
Non malva / nessuna crescita	N/A	6	198	1560	1764
Totale		117	208	1649	1974

*Su 21 campioni per cui non è stato recuperato *S. aureus* su TSA II e isolati malva sono stati recuperati su **BBL CHROMagar MRSA**, 15 sono stati confermati come MRSA da risultati positivi del test al latex PBP2', 4 sono risultati stafilococchi coagulasi-negativi e 2 bacilli gram-positivi.

** Su 68 campioni per cui non è stato recuperato *S. aureus* su TSA II e isolati malva sono stati recuperati su **BBL CHROMagar MRSA** dopo 48 h, 45 sono stati confermati come stafilococchi coagulasi-negativi e 23 come bacilli gram-positivi e altri microrganismi.

Tabella 3

CHROMagar MRSA vs. MIC oxacillina	
Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)
94,9% (111/117) (89,3%; 98,1%)	96,6% (201/208) (93,2%; 98,6%)

Tabella 4: Prestazioni di BBL CHROMagar MRSA (risultato finale combinato 24 h color malva / 48 h con test della coagulasi) rispetto al risultato di riferimento agar di screening dell'oxacillina

	Identificazione MRSA	Risultato TSA II			Totale
		Crescita di <i>S. aureus</i>		Nessuna crescita di <i>S. aureus</i>	
		Risultato di riferimento agar di screening dell'oxacillina			
Risultato CHROMagar MRSA		MRSA	MSSA		
Malva	Malva dopo 24 h oppure malva e coag pos dopo 48 h	110	7	21*	138
	Coag neg dopo 48 h	0	3	68**	71
Non malva / nessuna crescita	N/A	6	199	1560	1765
Totale		116	209	1649	1974

* Su 21 campioni per cui non è stato recuperato *S. aureus* su TSA II e isolati malva sono stati recuperati su **BBL CHROMagar MRSA**, 15 sono stati confermati come MRSA da risultati positivi del test al latex PBP2', 4 sono risultati stafilococchi coagulasi-negativi e 2 bacilli gram-positivi.

** Su 68 campioni per cui non è stato recuperato *S. aureus* su TSA II e isolati malva sono stati recuperati su **BBL CHROMagar MRSA** dopo 48 h, 45 sono stati confermati come stafilococchi coagulasi-negativi e 23 come bacilli gram-positivi e altri microrganismi.

Tabella 5

CHROMagar MRSA vs. agar di screening dell'oxacillina	
Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)
94,8% (110/116) (89,1%; 98,1%)	96,7% (202/209) (93,2%; 98,6%)

Questi studi hanno inoltre comparato **BBL CHROMagar MRSA** ad altre metodiche di test per l'identificazione di MRSA: il test di agglutinazione al latex PBP 2', un test di disco-diffusione di cefoxitin (30 µg) e la rilevazione PCR del gene *mecA*. Il test di disco-diffusione di cefoxitin ha rispettato i recenti criteri di interpretazione NCCLS (dimensioni zona ≤19 mm come MRSA o ≥ 20 mm come MSSA).⁵ Le metodiche PBP 2' e PCR hanno seguito le rispettive istruzioni per l'interpretazione. La Tabella 6 illustra la concordanza percentuale rispetto a queste ulteriori metodiche per gli isolati MRSA ed MSSA. Il numero totale di isolati testati differisce da una metodica all'altra a causa di differenze nel completamento della singola metodica o delle percentuali di compliance/valutabilità.

Tabella 6

CHROMagar MRSA vs. disco-diffusione cefoxitin		CHROMagar MRSA vs. agglutinazione latex PBP 2'		CHROMagar MRSA vs. PCR (<i>mecA</i>)	
% concordanza di MRSA	% concordanza di MSSA	% concordanza di MRSA	% concordanza di MSSA	% concordanza di MRSA	% concordanza di MSSA
94,9% (112/118) (89,3%; 98,1%)	98% (200/204) (95,1%; 99,5%)	93,5% (115/123) (87,6%; 97,2%)	98,5% (198/201) (95,7%; 99,7%)	95,7% (111/116) (90,2%; 98,6%)	97% (196/202) (93,6%; 98,9%)

- In uno studio europeo, sono stati testati campioni di osservazione epidemiologica e altri campioni clinici. Per la ricerca di laboratorio di routine ai fini della rilevazione di MRSA, i campioni sono stati seminati su piastre di Columbia CNA Agar con sangue di montone al 5%, mentre i campioni sospetti per *S. aureus* sono stati sottoposti a PCR per *S. aureus* ed MRSA. Dopo il trattamento, i campioni sono stati refrigerati. Non appena ottenuto il risultato PCR, sono stati seminati su piastre di **CHROMagar MRSA** e su Columbia CNA con sangue di montone al 5%. Le piastre sono state incubate in aerobiosi a 36 +/- 1° C e lette dopo 22 - 24 ore di incubazione. In assenza di crescita di colonie sospette per *S. aureus* su uno o entrambi i terreni, le piastre sono state reincubate per altre 20 - 24 ore.

Per conferma, le colonie rosa – malva da **CHROMagar MRSA** e le colone sospette per *S. aureus* su Columbia CNA Agar sono state sottoposte a test della coagulasi in provetta e testate per la crescita su agar di screening dell'oxacillina e per la resistenza a cefoxitin con un test di disco-diffusione, usando i criteri NCCLS (dimensioni di zona \leq 19 mm indicano MRSA).⁵

Tra i campioni di osservazione epidemiologica PCR-positivi (n = 50) sono stati riscontrati 37 tamponi nasali, 1 tampone nasale/faringeo, 9 tamponi faringei e 3 tamponi cutanei.

Gli altri campioni PCR-positivi (n = 30) hanno evidenziato 2 campioni da ascessi e 3 campioni chirurgici, 23 tamponi da ferita e 2 campioni da ulcere.

I campioni PCR-negativi (n = 55) hanno incluso 3 campioni di ascessi, 9 tamponi cutanei, 1 tampone da decubito, 15 tamponi nasali, 10 tamponi faringei, 5 tamponi perineali, 1 campione da puntura, 3 tamponi da catetere, 1 campione da secrezioni tracheali e 7 tamponi da ferita.

Sono stati complessivamente testati 135 campioni.

Tutti e 80 i campioni PCR-positivi hanno evidenziato crescita di colonie rosa – malva su **CHROMagar MRSA** e colonie sospette per *S. aureus* su Columbia CNA Agar con sangue di montone al 5% dopo 22 - 24 h, mentre i 55 campioni PCR-negativi non hanno evidenziato le rispettive crescite sui due terreni dopo 22 - 24 h e dopo 42 - 48 h. Due isolate dai campioni PCR-negativi ottenuto su Columbia CNA ma non su **CHROMagar MRSA** è stato confermato come *S. aureus* da un test positivo della coagulasi; questo isolato non sono cresciuto su agar di screening dell'oxacillina, è risultato sensibile a cefoxitin (dimensione della zona 30 mm) e non ha prodotto colonie rose – malva su **CHROMagar MRSA**. Un altro isolato da un campione PCR-negativo ha prodotto colonie violette su **CHROMagar MRSA** differenziabili dalla colorazione rosa – malva delle colonie di *S. aureus*.

Tutti e 80 i campioni MRSA-positivi hanno evidenziato crescita su Oxacillin Screen Agar sia da **CHROMagar MRSA** che da Columbia CNA Agar con sangue di montone al 5%.

Nel test di disco-diffusione di cefoxitin, due isolati hanno evidenziato sensibilità allorché posti in subcoltura da **CHROMagar MRSA** e Columbia CNA Agar con sangue di montone al 5%; quattro ceppi hanno a loro volta presentato resistenza se posti in subcoltura da **CHROMagar MRSA** e sensibilità se posti invece in subcoltura da Columbia CNA Agar con sangue di montone al 5%. Tutti gli altri isolati hanno evidenziato resistenza sia da **CHROMagar MRSA** che da Columbia CNA Agar.

La sensibilità e la specificità rispetto a PCR e all'agar di screening dell'oxacillina sono state del 100%. La sensibilità rispetto al test di disco-diffusione di cefoxitin è stata del 91,4%.

Test di confronto

In tre dei centri clinici statunitensi è stato condotto un test di venti (20) ceppi di confronto di *S. aureus*. Il pannello comprendeva 9 MRSA resistenti eterogenei, 5 MRSA resistenti omogenei e 6 MSSA. Le sensibilità per singolo centro e per i centri combinati e le specificità per centro e complessiva sono state tutte pari al 100%.

Espressione di resistenza

È stata valutata la capacità di **BBL CHROMagar MRSA** di rilevare ceppi eterogenei ed omogenei. MRSA può essere omogeneamente od eterogeneamente resistente. I ceppi eterogenei possono avere anche 1 sola cellula su 1 milione con espressione di resistenza, rendendo così difficile la rilevazione mediante test di sensibilità convenzionali.¹⁴ Il recupero e la conta delle colonie di quindici ceppi di test, rappresentanti 10 MRSA eterogenei e 5 omogenei, sono stati valutati su **BBL CHROMagar MRSA** rispetto a un terreno non selettivo, TSA II con sangue di montone al 5%. **BBL CHROMagar MRSA** e TSA II hanno entrambi recuperato tutti e 15 i ceppi. La conta delle colonie su **BBL CHROMagar MRSA** è risultata pari al 64-99% per i ceppi eterogenei e al 71-100% per i ceppi omogenei rispetto al TSA II. Questi risultati attestano la capacità di **BBL CHROMagar MRSA** di rilevare ceppi sia omogenei che eterogenei.¹⁴

Studio di interferenza

Le potenziali interferenze della reazione cromogena sul terreno **BBL CHROMagar MRSA** sono state valutate su otto preparati farmacologici comunemente usati, sangue umano e cinque tipi di dispositivi di trasporto campioni. A una concentrazione del 10%, uno spray nasale contenente

fenilefrina cloridrato ha dimostrato attività antibatterica sia su **BBL CHROMagar MRSA** che sul controllo non selettivo, TSA II con sangue di montone al 5%. Nessun altro preparato o dispositivo testato è stato associato a interferenze con le prestazioni del terreno **BBL CHROMagar MRSA**.¹³

Valori attesi

Nella valutazione esterna delle prestazioni di **CHROMagar MRSA** (vedere **Caratteristiche prestazionali**), la prevalenza complessiva di colonizzazione da *S. aureus* è stata del 17,2% (340/1974), rilevata sia con le piastre **CHROMagar MRSA** che **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)**. La prevalenza complessiva di campioni MRSA-positivi (non in duplicato) è stata del 6,7% (132/1974), ovvero di circa il 39% (132/340) di tutti gli isolati di *S. aureus*. La percentuale di rilevazione di colonizzazione da MRSA sulle piastre TSA II è stata del 6,5% (117/1974), mentre la percentuale **CHROMagar MRSA** di colonizzazione da MRSA è risultata pari al 7,0% (126/1974). Le percentuali di colonizzazione possono variare da un paese all'altro e tra gruppi di popolazioni diversi.^{3,4}

Limitazioni della procedura

Ridurre al minimo l'esposizione di **BBL CHROMagar MRSA** alla luce prima e durante l'incubazione, in quanto la luce può distruggere i cromogeni. Conservare le piastre all'interno della scatola di cartone e della confezione originarie per tutto il periodo di conservazione.

Il test di sorveglianza determina lo stato di colonizzazione in un determinato momento e può variare a seconda del trattamento del paziente (es. terapia di decolonizzazione), dello stato del paziente (es. MRSA a diffusione non attiva) o dell'esposizione ad ambienti ad alto rischio (es. contatto con portatori di MRSA, ospedalizzazione prolungata). Eseguire il monitoraggio dello stato di colonizzazione in conformità al protocollo ospedaliero.

Usare i risultati ottenuti con **CHROMagar MRSA** come integrazione alle misure di controllo delle infezioni nosocomiali al fine di identificare i pazienti che necessitano di precauzioni particolari. Questo terreno può essere usato per identificare pazienti candidati all'isolamento o alla revoca dell'isolamento ai fini del controllo della trasmissione nosocomiale di MRSA. Un risultato **CHROMagar MRSA** negativo dopo un precedente test con risultato positivo può indicare il successo del trattamento di eradicazione oppure essere dovuto a una diffusione intermittente.

Se si esaminano campioni clinici, è necessario inoculare terreni aggiuntivi con questi campioni, soprattutto una piastra agar sangue non selettiva (es. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) e, per migliorare il recupero di microrganismi gram-positivi implicati nell'infezione, **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

Alcuni ceppi *Enterococcus* sono resistenti agli agenti inibitori inclusi in **BBL CHROMagar MRSA**. Ciò può raramente determinare una crescita eccessiva di colonie blu – blu-verde, rendendo difficile la rilevazione di MRSA. Qualora si osservasse una forte crescita di colonie di colore blu-verde, si raccomanda di comparare la crescita ottenuta su **BBL CHROMagar MRSA** con quella sulla piastra agar sangue per la presenza di *S. aureus*.

Attenersi rigorosamente ai tempi e alle temperature di incubazione indicate in **PROCEDURA – Procedura del test**.

Dopo 48 h, ceppi occasionali di stafilococchi coagulasi-negativi (quali *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. hominis* e *S. schleiferi*), *Acinetobacter* spp. e corinebatteri e lieviti, possono produrre colonie color malva che richiedono un test della coagulasi ai fini della conferma di MRSA. Ciò può verificarsi anche, a una percentuale molto inferiore, dopo 24 h. In studi clinici con campioni di osservazione epidemiologica, circa il 5% (6/120) delle colonie color malva rilevate dopo 24 h è risultato costituito da stafilococchi coagulasi-negativi e/o corinebatteri sul terreno **BBL CHROMagar MRSA**. Se lo si desidera, per aumentare la specificità è possibile eseguire una colorazione di Gram e/o un test della coagulasi dopo 24 h sulle colonie color malva.

Se le MIC di oxacillina o cefoxitin di un isolato sono uguali o prossime al breakpoint resistente, è possibile la crescita di *S. aureus mecA*-negativo (Borderline Resistant *S. aureus* o BORSA).

L'incubazione in CO₂ al 5% non è raccomandata e può determinare colture falsamente negative.

L'uso di fenilefrina cloridrato, un componente di alcuni spray nasali, a una concentrazione $\geq 10\%$ mostra un effetto inibitore sulla crescita di microrganismi non correlata alle prestazioni del terreno.

Rari ceppi di MRSA hanno dimostrato sensibilità alla base **BBL CHROMagar MRSA**. Tale sensibilità non è correlata alla resistenza a meticillina, ma è dovuta a un componente della base. Questi ceppi possono pertanto apparire come falsamente sensibili a meticillina.

CHROMagar MRSA non è destinato alla rilevazione di *S. aureus* diverso da MRSA o di altre specie di stafilococchi.

Prima di utilizzare **BD CHROMagar MRSA** per la prima volta, si raccomanda di acquisire familiarità con l'aspetto tipico di una colonia utilizzando ceppi definiti, es. i ceppi citati nella sezione **CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE**.

BIBLIOGRAFIA

1. Muto, C. A., J. A. Jernigan, B. E. Ostrowosky, H. M. Richet, W. R. Jarvis, J. M. Boyce, B. M. Farr. 2003. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control and Hospital Epidemiol.* May 362-386.
2. Bannerman, T. L. 2003. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (eds.), *Manual of clinical microbiology*. ASM, Washington DC.
3. MRSA - Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*: Fact Sheet. CDC website, <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Aresist/mrsafaq.htm>.
4. Proportion of *S. aureus* Nosocomial Infections Resistance to Oxacillin (MRSA) Among Intensive Care Unit Patients, 1989 - 2003 (graph). CDC website, http://www.cdc.gov/ncidod/hip/ARESIST/ICU_MRSA.pdf.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement, M100- S15., Wayne, PA.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed., NCCLS, Wayne, PA.
7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practice Advisory Committee. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17: 53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. 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 89/139/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1996. Approved Guideline M22-A2. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media. NCCLS, Wayne, PA.
11. Ramsay-Shea, Y. 1992. Specimen collection and transport. In Isenberg, H.D. (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*. ASM, Washington DC.
12. Miller, J. M., H. T. Holmes, K. Krisner. 2003. General principles of specimen collection and handling. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller and R. H. Tenover (eds.), *Manual of clinical microbiology*. ASM, Washington DC.
13. Data on file, BD Diagnostics.
14. Tomasz A., Nachman S., Leah H. 1991. Stable classes of Phenotypic Expression in Methicillin Resistant Clinical isolates of *Staphylococci*. *Antimicro. Agents Chemother.* 35: 124-129.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD BBL CHROMagar MRSA

N. di cat. 257308

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

N. di cat. 257333

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 120

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



Becton Dickinson GmbH

BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

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

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

BD, BD logo, BBL, Trypticase and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2005 BD