

# INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO – MEIOS EM PLACAS PRONTOS A USAR

 $\epsilon$ 

Rev.: Dec 2005

PA-257308,01

### BD BBL™ CHROMagar™ MRSA\*

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O BBL CHROMagar MRSA é um meio selectivo e diferencial usado para a detecção directa qualitativa de colonização por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) para ajudar na prevenção e controlo de infecções por MRSA em instalações de cuidados de saúde. O teste é executado em amostras da zona anterior das narinas, provenientes de doentes e técnicos de saúde, para despiste da colonização por MRSA. O BBL CHROMagar MRSA não se destina ao diagnóstico de infecção por MRSA nem a orientar ou monitorizar o tratamento de infecções.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

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 S. *aureus* sensíveis à meticilina (MSSA).<sup>1</sup> 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.<sup>2</sup> Publicações recentes sugerem que a população em geral apresenta taxas de colonização por *S. aureus* que variam entre 25 e 30%.<sup>3</sup>

As taxas de resistência aumentaram de forma mantida nos últimos quinze anos e dados recentes do NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) indicam que, nas instalações de cuidados intensivos, a proporção de MRSA entre infecções por *S. aureus* chegou aos 60% em 2003.<sup>4</sup>

Para controlar a transmissão de MRSA, a Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) recomendou normas que incluem um programa de vigilância activo que visa identificar potenciais reservatórios e um programa de controlo da infecção rigoroso para controlar a disseminação de MRSA.<sup>1</sup>

O BBL CHROMagar 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 cefoxitina<sup>5</sup> e produzir colónias de cor rosa a malva, resultantes da hidrólise do substrato cromogénico. São incorporados agentes selectivos adicionais para a supressão de microrganismos gram-negativos, leveduras e algum cocos gram-positivos. Bactérias diferentes de MRSA podem utilizar outros substratos cromogénicos no meio, resultando no aparecimento de colónias de cor azul a azul/esverdeadas ou, caso não se utilize nenhum substrato cromogénico, as colónias são de cor branca ou incolores.

O **BBL CHROMagar** MRSA foi desenvolvido por A. Rambach e BD. Este produto utiliza **BBL CHROMagar** Staph aureus, que foi desenvolvido por A. Rambach e é comercializado pela BD no âmbito de um acordo de licença com a CHROMagar, Paris, França.

#### **REAGENTES**

### **BBL CHROMagar MRSA**

Fórmula\* por litro de água purificada

Cromopeptona	40,0 g	Agentes inibidores	0,07 g
Cloreto de Sódio	25,0	Cefoxitina	0,006
Mistura de cromogénios	0,5	Ágar	14,0

pH  $6.8 \pm 0.3$ 

<sup>\*</sup>Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

<sup>\*</sup> Patente Pendente nos EUA

### **PRECAUÇÕES**

. Apenas para uso profissional.

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

Nas amostras podem existir microrganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão" e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, as placas preparadas, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados devem ser esterilizados em autoclave.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

### ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar <u>no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C</u>, dentro do invólucro original e caixa de cartão até ao momento da utilização. Evitar congelar, sobreaquecer e a exposição à luz antes e durante a incubação, uma vez que a luz poderá destruir os cromogénios. As placas podem ser inoculadas até terminar o prazo de validade (ver a 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 entre 2 e 8°C no escuro.

#### CONTROLO DE QUALIDADE DO UTILIZADOR:

Examine as placas, verificando se existem os sinais de deterioração descritos em **PRECAUÇÕES**. Verifique o desempenho inoculando uma amostra representativa das placas com culturas puras de microrganismos de controlo estáveis que produzam as reacções conhecidas e desejadas. Para determinar a capacidade inibidora do meio, S. *aureus* ATCC 25923 deve ser inoculado com uma concentração de 10<sup>4</sup>- 10<sup>5</sup> UFC/placa.<sup>10</sup> para determinar a capacidade nutritiva do meio, S. *aureus* ATCC 43300 deve ser inoculado com uma concentração de 10<sup>3</sup> -10<sup>4</sup> UFC/placa.<sup>10</sup>

Incubar em condições aeróbias durante  $24 \pm 4$  horas, entre 35 e 37°C. Não incubar numa atmosfera enriquecida com dióxido de carbono.

Estirpes	Resultados de crescimento
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Ausência de crescimento
(MSSA)	
Staphylococcus aureus ATCC 43300	Crescimento com colónias de cor rosa a
(MRSA)	malva de tamanho moderado
Não inoculadas	Bege claro, transparente

### **PROCEDIMENTO**

**Material Fornecido** 

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

#### Material Necessário Mas Não Fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes para o teste da coagulase, microrganismos de controlo da qualidade e outro equipamento laboratorial, conforme necessário.

#### Tipos de amostra

Este meio foi avaliado relativamente ao desempenho com amostras da zona anterior das narinas. Até à data, foi apenas testado um número limitado de amostras clínicas de várias zonas do corpo (ver CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO). Recomenda-se a utilização de dispositivos de transporte aprovados para a colheita deste tipo de amostras. Siga os procedimentos para o transporte do dispositivo

recomendados pelo fabricante. Para obter pormenores sobre os procedimentos de colheita e manipulação de amostras, o utilizador pode também consultar os textos apropriados.<sup>11,12</sup>

#### Procedimento do teste

Logo após a recepção no laboratório, inocular a amostra numa placa com **BBL CHROMagar MRSA** e espalhar para obter o isolamento, utilizando uma ansa.

Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura de 35–37°C, durante **24 ± 4 h** numa posição invertida. Se não forem observadas colónias de cor rosa a malva, voltar a incubar durante mais 24 h. Não incubar numa atmosfera enriquecida com dióxido de carbono. Evitar a exposição à luz durante a incubação (> 4 h), uma vez que isso poderá destruir os cromogénios. A exposição à luz é permitida depois do desenvolvimento da cor das colónias.

**Nota importante:** Determinou-se que uma baixa temperatura de incubação (<35 °C) e/ou um curto período de incubação (<20 horas) podem reduzir significativamente a sensibilidade do **BBL CHROMagar MRSA** na obtenção de resultados após 1 dia da leitura das placas. Por isso, é importante manter a temperatura de incubação ideal de 36 °C (intervalo aceitável: 35 a 37 °C) durante o período de incubação (não inferior a 20 horas; o ideal é ler os resultados do primeiro dia após 22 horas). A abertura constante das portas da incubadora reduz a temperatura real da incubadora. Por isso, recomenda-se que seja reduzida ao mínimo a frequência e a duração da abertura das portas da incubadora. Quando isso não for possível, recomenda-se a incubação do **BBL CHROMagar MRSA** numa incubadora dedicada.

#### Resultados

Ler as placas contra um fundo branco. As colónias de MRSA terão uma cor rosa a malva no meio **BBL CHROMagar MRSA**. Outros microrganismos (não MRSA) serão inibido ou irão produzir colónias incolores, brancas, azuis ou azuis/esverdeadas. Consulte o Quadro 1 para a interpretação dos resultados.

#### Tabela 1

Incubação durante 24 h		Interpretação/Acção Recomendada		
Colónias de cor rosa a malva morfologicamente semelhantes a estafilococos*		Detectado MRSA, participar colonização nasal por MRSA		
Sem colónias de cor rosa a malva		Sem resultados disponíveis, voltar a incubar durante mais 24 horas		
Incubação durante 48 h	Acção Recomendada		Interpretação	
Colónias de cor rosa a malva	Realizar teste da coagulase		Se for detectado MRSA positivo para coagulase, participar MRSA. Se negativo para coagulase – participar não detectado MRSA	
Sem colónias de cor rosa a malva	N/A		Participar não detectado MRSA	

<sup>\*</sup> Os estafilococos produzem tipicamente colónias de tamanho moderado, lisas e de cor rosa a malva no meio **BBL CHROMagar MRSA**. As colónias malva, que são muito pequenas e difíceis de definir, são mais frequentemente bastonetes gram-positivos, habitualmente corinebactérias. Se a morfologia não for evidente, podem utilizar-se testes de confirmação como o teste da coagulase para confirmar a identificação às 48 h.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O BBL CHROMagar MRSA é usado para a detecção directa qualitativa, isolamento e identificação de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) a partir de amostras nasais de vigilância decorridas 24 h de incubação sem testes de confirmação ou decorridas 48 h de incubação com um teste de confirmação de coagulase (ver **Limitações do Procedimento**).

### Características do Desempenho<sup>13</sup>

### Avaliações do Desempenho

1. **BBL** CHROMagar MRSA foi avaliado em quatro hospitais dos EUA com localização geográfica diferentes, utilizando-se amostras de vigilância prospectiva frescas da zona anterior das narinas. Foi avaliado um total de 1974 amostras de vigilância das narinas, comparando a recuperação de MRSA em placas de referência de **Agar de Soja Trypticase** 

com 5% de Sangue de Ovelha (TSA II) com placas de CHROMagar MRSA. Os S. aureus recuperados em TSA II foram testados mediante utilizando um método de CMI de Oxacilina com diluição em microcaldo de carne e um método de Agar de Rastreio com Oxacilina, bem como com três métodos adicionais de teste de sensibilidade (ver a próxima secão). Os resultados de CMI de Oxacilina seguiram os critérios de interpretação do NCCLS, com MSSA ≤2 µg/mL e MRSA ≥4 µg/mL. O Agar de Rastreio com Oxacilina foi interpretado usando instruções do fabricante que incluíram a presença de qualquer crescimento de colónias como representante de MRSA. CHROMagar MRSA foi interpretado como positivo para MRSA às 24 h com base na deteccão de colónias cor de malva (isoladas) ou às 48 h com base na detecção de colónias malva com confirmação como S. aureus por um teste de coaqulase. A recuperação global de MRSA em CHROMagar MRSA foi mais elevada, de 95% (126), comparativamente com uma recuperação de 89% (117) em TSA II. A exactidão da identificação de MRSA foi comparada com o método de CMI de Oxacilina com diluição em microcaldo de carne e com o método de Agar de Rastreio com Oxacilina. Na leitura às 24 horas ler, foram registados 6 falsos positivos em que foram observadas colónias de cor malva em CHROMagar MRSA (2 S. epidermidis, 2 S. Haemolyticus e 2 Corynebacterium). Utilizando a cor das colónias isolada na leitura das 24 horas para CHROMagar MRSA e confirmando todas as colónias de cor malva com coagulase na leitura das 48 horas, a concordância global do teste CHROMagar MRSA face ao teste de CMI de Oxacilina foi de 96% (312/325). A categoria de concordância global entre CHROMagar MRSA e o Agar de Rastreio com Oxacilina foi de 96% (312/325). A concordância percentual positiva de MRSA e a concordância percentual negativa de MSSA do CHROMagar MRSA comparativamente com estes métodos de referência consta dos Quadros 2 a 5, que se mostram de seguida:

Tabela 2: Desempenho de BBL CHROMagar MRSA (resultado final combinado às 24 h malva / 48 h com coagulase) versus Resultado de Referência de CMI com Oxacilina:

		Resultado de TSA Crescimento de S. aureus Resultado de Referência de CMI com Oxacilina		\	
Resultado de CHROMagar MRSA	Identificação de MRSA	MRSA	MSSA	Sem crescimento de <i>S. aureus</i>	Total
Malva	Malva às 24 horas ou malva e coagulase positivo às 48 h	111	7	21*	139
	Coagulase negativo às 48 h	0	3	68**	71
Sem malva / sem crescimento	N/A	6	198	1560	1764
Total		117	208	1649	1974

<sup>\*</sup>Das 21 amostras em que não foi recuperado *S. aureus* no TSA II e foram identificados isolados de cor malva em **BBL CHROMagar MRSA**: 15 foram confirmadas como MRSA por resultados positivos no teste do látex PBP2'; 4 eram estafilococos negativos para coagulase e 2 eram bastonetes Gram-positivos.

Tabela 3

CHROMagar MRSA vs. CMI com Oxacilina				
Sensibilidade Especificidade				
(95%CI)	(95%CI)			
94,9% (111/117)	96,6% (201/208)			
(89,3%; 98,1%)	(93,2%; 98,6%)			

<sup>\*\*</sup>Das 68 amostras em que não foi recuperado *S. aureus* no TSA II e foram identificados isolados de cor malva em **BBL CHROMagar MRSA** às 48 horas: 45 foram confirmados como estafilococos negativos para coagulase; e 23 eram bastonetes Gram-positivos e outros microrganismos.

Tabela 4: Desempenho de BBL CHROMagar MRSA (resultado final combinado às 24 h malva / 48 h com coagulase) versus Resultado de Referência de Agar de Rastreio com Oxacilina:

Resultado de TSA II					
		Crescimento de <i>S. aureus</i> Resultado de Referência de  Agar de Rastreio com Oxacilina			
Resultado de CHROMagar MRSA	Identificação de MRSA	MRSA	MSSA	Sem crescimento de <i>S. aureus</i>	Total
Malva	Malva às 24 h ou malva e coagulase positivo às 48 h	110	7	21*	138
	Coagulase negativo às 48 h	0	3	68**	71
Sem malva / sem crescimento	N/A	6	199	1560	1765
Total		116	209	1649	1974

<sup>\*</sup>Das 21 amostras em que não foi recuperado *S. aureus* no TSA II e foram identificados isolados de cor malva em **BBL CHROMagar MRSA**: 15 foram confirmadas como MRSA por resultados positivos no teste do látex PBP2'; 4 eram estafilococos negativos para coagulase e 2 eram bastonetes Gram-positivos.

Tabela 5

CHROMagar MRSA vs. Agar de Rastreio com Oxacilina				
Sensibilidade (95%CI)	Especificidade (95%CI)			
94,8% (110/116)	96,7% (202/209)			
(89,1%; 98,1%)	(93,2%; 98,6%)			

Estes estudos também compararam **BBL CHROMagar MRSA** com outros métodos de teste para identificação de MRSA: o Teste de Aglutinação com Látex PBP 2', um teste de difusão de disco com cefoxitina (30  $\mu$ g) e a detecção por PCR do gene *mecA*. O teste de difusão de disco com cefoxitina seguiu os critérios de interpretação recentes do NCCLS (tamanho de zona de  $\leq$ 19 mm como MRSA ou  $\geq$  20 mm como MSSA). Os métodos PBP 2' e PCR seguiram as instruções da rotulagem para interpretação. A concordância percentual comparativamente com estes métodos adicionais é mostrada no Quadro 6 para isolados MRSA e MSSA. O número total de isolados testados difere entre os métodos devido a diferenças na conclusão dos métodos individuais ou à conformidade/taxas de avaliáveis.

Tabela 6

CHROMagar MRSA vs. Difusão CHROMaga		r MRSA vs.	CHROMagar MRSA vs. PCR		
de Disco co	m Cefoxitina	Aglutinação em Látex PBP 2'		(mecA)	
%	%	%	%	%	%
Concordância	Concordância	Concordância	Concordância	Concordância	Concordância
de MRSA	de MSSA	de MRSA	de MSSA	de MRSA	de MSSA
94,9%	98%	93,5%	98,5%	95,7%	97%
(112/118)	(200/204)	(115/123)	(198/201)	(111/116)	(196/202)
(89,3%; 98,1%)	(95,1%; 99,5%)	(87,6%; 97,2%)	(95,7%; 99,7%)	(90,2%; 98,6%)	(93,6%; 98,9%)

2. Num estudo Europeu foram testadas amostras de vigilância e outras amostras clínicas. Para investigação laboratorial de rotina da detecção de MRSA, as amostras foram colocadas em placas em Agar Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha, e amostras com suspeita de S. aureus foram sujeitas a PCR para S. aureus e MRSA. As amostras foram mantidas refrigeradas depois do processamento. Directamente depois do resultado da PCR estar disponível, foram colocadas e placas em CHROMagar MRSA e em Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha. As placas foram incubadas em atmosfera aeróbia a 36 + / - 1° C e lidas após 22 a 24 horas de incubação. No caso de ausência de crescimento de colónias

<sup>\*\*</sup>Das 68 amostras em que não foi recuperado *S. aureus* no TSA II e foram identificados isolados de cor malva em **BBL CHROMagar MRSA** às 48 horas: 45 foram confirmados como estafilococos negativos para coagulase; e 23 eram bastonetes Gram-positivos e outros microrganismos.

suspeitas de *S. aureus* em um ou ambos os meios, as placas foram novamente incubadas durante mais 20 a 24 horas.

Para confirmação, as colónias de cor rosa a malva de **CHROMagar MRSA** e as colónias suspeitas de *S. aureus* em Agar Columbia CNA foram sujeitas a um teste de coagulase em tubo e testadas relativamente ao crescimento em Agar de Rastreio com Oxacilina e relativamente à resistência com um teste de difusão de disco com cefoxitina, usando os critérios do NCCLS (tamanhos de zona </ = 19 mm indicam MRSA).<sup>5</sup>

As amostras de vigilância positivas na PCR (n = 50) incluíram: 37 zaragatoas nasais, 1 zaragatoa de garganta/nariz, 9 zaragatoas de garganta e 3 zaragatoas de pele. As outras amostras positivos na PCR (n = 30) incluíram 2 amostras de abcesso e 3 amostras de cirurgia, 23 zaragatoas de ferida e 2 amostras de úlcera.

As amostras negativas na PCR (n = 55) incluíram 3 amostras de abcesso, 9 zaragatoas de pele, 1 zaragatoa de escara de decúbito, 15 zaragatoas nasais, 10 zaragatoas da garganta, 5 zaragatoas perineais, 1 amostra de punção, 3 zaragatoas de cateter, 1 amostra de secreções traqueais e 7 zaragatoas de ferida.

No total, foram testadas 135 amostras.

Todas as 80 amostras positivas na PCR produziram crescimento de colónias de cor rosa a malva no **CHROMagar MRSA** e colónias suspeitas de *S. aureus* em Agar de Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha decorridas 22 a 24 horas, enquanto que as 55 amostras negativas na PCR não evidenciaram o crescimento respectivo nos dois meios decorridas 22 a 24 horas e decorridas 42 a 48 horas. Dois isolados das amostras negativas na PCR obtidas em Columbia CNA mas não em **CHROMagar MRSA** foi confirmados como *S. aureus* por um teste de coagulase positivo; estes isolados não cresceu em Agar de Rastreio com Oxacilina e era sensível a cefoxitina (tamanho da zona de 30 mm) e não produziu colónias de cor rosa a malva em **CHROMagar MRSA**. Outro isolado de uma amostra negativa na PCR produziu colónias violetas em **CHROMagar MRSA** que era possível diferenciar pela cor da colónia da coloração rosa a malva de S. aureus.

Todas as 80 amostras positivas para MRSA produziram crescimento em Agar de Rastreio com Oxacilina a partir de **CHROMagar MRSA** e Agar de Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha.

No teste de disco de cefoxitina, dois isolados apresentaram sensibilidade, ambos quando objecto de subcultura de **CHROMagar MRSA** e Agar de Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha, e quatro estirpes mostraram resistência quando objecto de subcultura de **CHROMagar MRSA** mas sensibilidade quando objecto de subcultura de Agar Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha. Todos os outros isolados mostraram resistência de CHROMagar MRSA e Agar de Columbia CNA.

A sensibilidade e especificidade, conforme comparadas com PCR e Agar de Rastreio com Oxacilina foi de 100%. A sensibilidade conforme comparada com o teste de disco de cefoxitina foi de 91.4%.

### Teste de Provocação

Procedeu-se ao teste de vinte (20) estirpes de provocação de S. *aureus* em três dos locais clínicos dos EUA. Neste painel, 9 eram resistentes a MRSA heterogéneos, 5 eram resistentes a MRSA homogéneos e 6 eram MSSA. As sensibilidades dos locais individuais e combinadas foram todas de 100% e as especificidades globais e do local foram de 100%.

### Expressão de Resistência

O BBL CHROMagar MRSA foi avaliado relativamente à sua capacidade para detectar estirpes heterogéneas e homogéneas. O MRSA pode ser homogeneamente ou heterogeneamente resistente. As estirpes heterogéneas podem ter tão poucas como 1 em 1 milhão de células exprimindo resistência, tornando difícil a detecção mediante testes de sensibilidade antimicrobiana convencionais. <sup>14</sup> Quinze estirpes de teste, representando 10 MRSA heterogéneos e 5 MRSA homogéneos, foram avaliadas em termos de recuperação e contagem de colónias com o BBL CHROMagar MRSA comparativamente com um meio não selectivo, TSA II com 5% de Sangue de ovelha. Tanto BBL CHROMagar MRSA como TSA II recuperaram as 15 estirpes. As contagens de colónias em BBL CHROMagar MRSA variaram

de 64-99% para as estirpes heterogéneas e de 71-100% para as estirpes homogéneas comparativamente com o TSA II. Estes resultados apoiam o facto de **BBL CHROMagar MRSA** ter capacidade para detectar estirpes homogéneas e heterogéneas.<sup>14</sup>

#### Estudo de Interferência

Oito substâncias medicinais habitualmente usadas, sangue humano e cinco tipos de dispositivos de transporte de amostras, foram avaliadas relativamente à potencial interferência da reacção de chromogenic no meio **BBL CHROMagar MRSA**. Numa concentração de 10%, um spray nasal contendo cloridrato de fenilefrina demonstrou actividade antibacteriana em **BBL CHROMagar MRSA**, bem como no controlo não selectivs, TSA II com 5% de Sangue de ovelha. Nenhuma outra substância ou dispositivo testados interferiu com o desempenho do meio **BBL CHROMagar MRSA**.<sup>13</sup>

### **Valores Esperados**

Na avaliação do desempenho externa de **CHROMagar MRSA** (ver **Características de Desempenho**), a prevalência global de colonização por *S. aureus* foi de 17,2% (340/1974), conforme detectado pelas placas de **CHROMagar MRSA** ou de **Agar de Soja Trypticase com 5% de Sangue de Ovelha (TSA II)**. A prevalência global de amostras positivas para MRSA (doentes não duplicados) foi de 6,7% (132/1974), ou aproximadamente 39% (132/340) de todos os *S. aureus*. A taxa de detecção de colonização por MRSA em placa de TSA II foi de 6,5% (117/1974), enquanto que a colonização por MRSA em **CHROMagar MRSA** foi de 7,0% (126/1974). As taxas de colonização podem variar consoante o país e grupo da população.<sup>3,4</sup>

### Limitações do Procedimento

Minimizar a exposição de **BBL CHROMagar MRSA** à luz antes e durante a incubação, uma vez que a luz poderá destruir os cromogénios. Manter as plcas dentro do invólucro de manga e caixa originais durante todo o período de armazenamento.

O <u>teste de vigilância</u> determina o estado da colonização em determinado momento e pode variar dependendo do tratamento do doente (por exemplo, regime de descolonização), estado do doente (por exemplo, não disseminando activamente MRSA) ou da exposição a ambientes de alto risco (por exemplo, contacto com portador de MRSA, hospitalização prolongada). A monitorização do estado da colonização deve ser feita de acordo com as políticas hospitalares. Os resultados do **CHROMagar MRSA** devem ser usados como adjuvante para esforços de controlo da infecção nosocomial, visando identificar doentes que necessitam de maiores precauções.

Este meio pode ser usado para identificar os doentes para isolamento ou remoção de isolamento, visando controlar a transmissão nosocomial de MRSA. Um resultado negativo em **CHROMagar MRSA** após um resultado positivo num teste prévio pode indicar sucesso do tratamento de erradicação ou pode ocorrer por disseminação intermitente.

Caso se analisem amostras clínicas, é necessário inocular meios adicionais com estas amostras, especialmente uma placa de agar de sangue não selectiva (por exemplo, **Agar BD Columbia com 5% de Sangue de Ovelha**) e, para melhorar a recuperação de microrganismos Gram-positivos envolvidos na infecção, **Agar BD Columbia CNA com 5% de Sangue de Ovelha**.

Algumas estirpes de *Enterococcus* são resistentes aos agentes inibidores incluídos no **BBL CHROMagar MRSA**. Raramente, tal pode dar origem a um crescimento excessivo de colónias de cor azul a azul-esverdeada, tornando difícil a detecção de MRSA. Caso se observe um crescimento forte de colónias azul-esverdeadas, recomenda-se a comparação do crescimento obtido em **BBL CHROMagar MRSA** com o crescimento verificado na placa de agar do sangue para a presença de *S. aureus*.

Seguir rigorosamente os tempos e as temperaturas de incubação indicados em **PROCEDIMENTO - Procedimento de Teste**.

Às 48 horas, estirpes ocasionais de estafilococos negativos para coagulase S. *epidermidis*, S. *cohnii*, S. *intermedius*, S. *haemolyticus*, S. *capitis*, S. *hominis* and S. *schleiferi*), *Acinetobacter* sp., corinebactérias e leveduras podem produzir colónias de cor malva que requerem um teste

de coagulase para confirmação de MRSA. Tal também pode ocorrer com uma taxa muito menor, às 24 horas. Em estudos clínicos efectuados com amostras de vigilância, aproximadamente 5% (6/120) das colónias de cor malva detectadas às 24 h eram corinebactérias e/ou estafilococos negativos para coagulase no meio **BBL CHROMagar MRSA**. Se desejado, pode efectuar-se um teste de coloração de Gram e/ou um teste de coagulase às 24 horas nas colónias de cor malva, visando aumentar a especificidade.

Se as CMIs de oxacilina ou cefoxitina de um isolado estiverem no ponto de rotura de resistência ou na sua proximidade, poderá crescer S. *aureus* negativo para *mecA* (*S. aureus* com resistência borderline ou BORSA).

Não se recomenda incubação em 5% de CO<sub>2</sub> e tal pode dar origem a culturas falsas negativas.

A utilização de cloridrato de fenilefrina, um componente de alguns sprays nasais, numa concentração ≥10%, exerce um efeito inibidor no crescimento de microrganismos que não está relacionado com o desempenho do meio.

Estirpes raras de MRSA demonstraram sensibilidade à base **BBL CHROMagar MRSA**. Esta sensibilidade não está relacionada com a resistência a meticilina, mas deve-se a um componente da base. Em consequência, estas estirpes podem aparecer como falsamente sensíveis a meticilina.

O **CHROMagar MRSA** não se destina a detectar *S. aureus* diferentes de MRSA ou de outras espécies de *Staphylococcus*.

Antes da primeira utilização do **BBL CHROMagar MRSA**, recomendamos que seja treinado o surgimento de colónias típicas de MRSA com estirpes definidas, por exemplo, as estirpes descritas na secção **CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR**.

### **REFERÊNCIAS**

- 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. Yolken (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.
- 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.
- 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 891391/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, PΔ
- 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. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Yolken (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.

## EMBALAGEM / APRESENTAÇÃO BD BBL CHROMagar MRSA

Cat. No. 257308 Meios em placas prontos a usar, 20 cpu Cat. No. 257333 Meios em placas prontos a usar, 120 cpu

### **INFORMAÇÕES ADICIONAIS**

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



### 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