



BBL™ CHROMagar MRSA II*

USO PREVISTO

BBL CHROMagar MRSA II (CMRSaII) (MRSaII de BBL y CHROMagar) es un medio diferencial y selectivo para la detección directa cualitativa de *Staphylococcus aureus* (MRSA) resistentes a la meticilina a partir de muestras clínicas. El análisis se puede realizar en muestras de las vías respiratorias, gastrointestinales bajas (GI), de la piel y de heridas, así como de las fosas nasales, para detectar la colonización y así poder facilitar la prevención y el control de las infecciones por MRSA en entornos sanitarios y en frascos de hemocultivo positivo que contengan cocos grampositivos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

MRSA es una causa importante de infecciones intrahospitalarias potencialmente mortales. Las infecciones por MRSA se han asociado a una morbilidad, mortalidad y costes considerablemente más elevados en comparación con las infecciones por *S. aureus* sensible a la meticilina (MSSA)¹. La mayor selección de estos organismos se ha producido en entornos sanitarios. Sin embargo, MRSA también ha pasado a ser más frecuente en la comunidad^{2,3}.

Para controlar la transmisión de MRSA, la sociedad americana de epidemiología sanitaria (SHEA, Society for Healthcare Epidemiology of America) ha publicado directrices en las se incluyen un programa activo de vigilancia para identificar posibles reservorios y un riguroso programa de control de infecciones para controlar la propagación de MRSA¹.

BBL CHROMagar MRSA II es un medio diferencial y selectivo que incorpora cefoxitina para la detección de MRSA en muestras de las vías respiratorias (por ejemplo, fosas nasales, garganta y esputo), gastrointestinales bajas (por ejemplo, rectales y fecales), de la piel (por ejemplo, ingle/axila y perineo/perianal) y de heridas, así como en frascos de hemocultivo positivo que contengan cocos grampositivos.

BBL CHROMagar MRSA II es una versión modificada de la fórmula existente de CHROMagar que desarrollaron A. Rambach y BD. Lo suministra BD bajo acuerdo de licencia con CHROMagar, París, Francia.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico

El medio **BBL CHROMagar MRSA II** permite la detección e identificación directas de MRSA mediante la incorporación de sustratos cromógenos específicos y cefoxitina. Las cepas de MRSA crecen en presencia de cefoxitina⁴ y producen colonias de color malva que son el resultado de la hidrólisis del sustrato cromógeno. Se incorporan ciertos agentes selectivos adicionales para la supresión de organismos gramnegativos, levaduras y algunos otros cocos grampositivos. Otras bacterias diferentes de MRSA pueden utilizar otros sustratos cromógenos en el medio, lo que da lugar a colonias azules a azul verdoso o, en el caso de que no se utilicen sustratos cromógenos, las colonias aparecen blancas o incoloras.

*Patentes de Europa, EE. UU. y Canadá pendientes

REACTIVOS

BBL CHROMagar MRSA II

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Cromopeptona	35,0 g
Mezcla cromógena	0,5 g
Cloruro sódico	17,5 g
Agentes inhibidores	7,52 g
Cefoxitina	5,2 mg
Agar	14,0 g

pH: 7,0 +/- 0,2 a 25 °C

*Ajustada y/o complementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

IVD Solamente para uso profesional. 

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, entre los que se incluyen los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los artículos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁵⁻⁸ y las directrices del centro. Después de su uso, las placas preparadas, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados. Para obtener más detalles, véase el documento

INSTRUCCIONES GENERALES DE USO.

Deterioro del producto: No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Antes de utilizar **BBL CHROMagar MRSA II** por primera vez, se recomienda practicar en el aspecto de colonia característico de MRSA con cepas definidas, por ejemplo, las cepas mencionadas en **CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en la caja y en el envase originales a una temperatura de 2 – 8 °C hasta el momento de la inoculación. Reducir al mínimo la exposición (< 4 h) de **BBL CHROMagar MRSA II** a la luz antes y durante la incubación, ya que la exposición durante un período prolongado puede disminuir la recuperación y/o coloración de los aislados. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas se pueden inocular hasta la fecha de caducidad (véase la inscripción de la placa o la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de pilas abiertas de 10 unidades se pueden utilizar durante una semana si se conservan en lugar limpio y oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO*

Examinar las placas en busca de signos de deterioro tal y como se describe en "Deterioro del producto".

Evaluar el rendimiento inoculando muestras representativas con diluciones de los cultivos como se describe a continuación:

1. Extender las muestras en las placas para aislamiento. Para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, realizar una inoculación directa⁹.
1. Incubar las placas a 35 – 37 °C en una atmósfera aerobia.
2. Incluir las placas de agar Columbia con un 5% de sangre ovina como controles no selectivos para todos los organismos.
2. Examinar las placas después de 20 – 26 h para comprobar la recuperación, el tamaño de las colonias y el color. Consulte en la tabla los resultados previstos:

Cepa de prueba	Resultados previstos
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	Crecimiento de colonias de color malva
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC™ 29213 (MSSA)	Sin crecimiento

* Los requisitos del control de calidad se deben llevar a cabo conforme a la normativa local, estatal, federal o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y/o a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. El usuario puede consultar las instrucciones de CLSI para conocer las prácticas adecuadas de control de calidad.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BBL CHROMagar MRSA II (placas **Stacker** de 90 mm). Con control microbiológico.

Materiales necesarios pero no suministrados

Prueba de confirmación como, por ejemplo, reactivos de prueba de aglutinación de látex *Staphylococcus* (por ejemplo, **Staphyloslide**) o de coagulasa, microorganismos para el control de calidad, medios de cultivo auxiliares y otros equipos de laboratorio, según sea necesario.

Tipos de muestras

El medio se puede utilizar para muestras de las vías respiratorias (por ejemplo, garganta y esputo), gastrointestinales bajas (por ejemplo, rectales y fecales), de la piel (por ejemplo, ingle/axila y perineo/perianal), de las fosas nasales y de heridas, así como en frascos de hemocultivo positivo que contengan cocos grampositivos.

Recogida y preparación de las muestras

Se recomienda el uso de dispositivos de transporte aprobados para la recogida de las muestras clínicas microbiológicas. Seguir los procedimientos recomendados por el fabricante del dispositivo de transporte.

El usuario puede consultar también los textos oportunos para conocer más datos acerca de los procedimientos de recogida y preparación de las muestras^{10,11}.

Procedimiento de análisis

Cumplir las técnicas asépticas. La superficie del agar debe estar lisa y húmeda, pero sin exceso de humedad. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

- **Muestras de los orificios nasales:** Tan pronto como sea posible después de recibir la muestra en el laboratorio, inocularla en una placa con **BBL CHROMagar MRSA II** y extenderla para su aislamiento. Incubar las placas en condiciones aerobias a una temperatura de 35 – 37 °C durante 20 – 26 h en posición invertida.
- **Frascos de hemocultivo positivo que contienen cocos grampositivos:** Tan pronto como el frasco de hemocultivo se designe como positivo y la tinción de Gram confirme la presencia de cocos grampositivos, extraer una parte alícuota, inocular una placa **BBL CHROMagar MRSA II** y extenderla para su aislamiento. Incubar las placas en condiciones aerobias a una temperatura de 35 – 37 °C durante 18 – 28 h en posición invertida. No es necesaria una incubación superior a 18 – 28 h.
- **Todas las otras muestras (garganta, esputo, gastrointestinales bajas, de la piel y de heridas):** Tras la recepción de la muestra en el laboratorio, inocular una placa **BBL CHROMagar MRSA II** tan pronto como sea posible y extenderla para su aislamiento. Incubar las placas en condiciones aerobias a una temperatura de 35 – 37 °C durante 18 – 28 h en posición invertida. Si no se recuperan colonias de color malva, volver a incubar durante un total de 36 – 52 h.

No incubar en una atmósfera complementada con dióxido de carbono. Reducir al mínimo la exposición (< 4 h) de **BBL CHROMagar MRSA II** a la luz antes y durante la incubación, ya que la exposición durante un período prolongado puede disminuir la recuperación y/o coloración de los aislados. La exposición a la luz es aceptable después de la aparición del color en las colonias.

RESULTADOS

Tras la incubación que corresponda, leer las placas contra un fondo blanco. Las colonias de MRSA aparecerán de color malva en el medio **BBL CHROMagar MRSA II**. Otros organismos (no MRSA) se verán inhibidos o producirán colonias incoloras, blancas, azules o verdes azuladas. Véase la interpretación de los resultados en las Tablas 1 – 3.

Tabla 1: Interpretación de los resultados de muestras de orificios nasales

Incubación de 20 – 26 h	Interpretación/acción recomendada
Colonias de color malva con aspecto morfológico de estafilococos*	Positivo - MRSA detectado
Detección de colonias de color distinto del malva	Negativo - Sin detección de MRSA
Sin crecimiento	Negativo - Sin detección de MRSA

* Véase LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Tabla 2: Interpretación de los resultados de los frascos de hemocultivo positivo que contienen cocos grampositivos

Incubación de 18 – 28 h	Interpretación/acción recomendada
Colonias de color malva con aspecto morfológico de estafilococos*	Positivo - MRSA detectado
Sin colonias de color malva	Negativo - Sin detección de MRSA

* Véase LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Tabla 3: Interpretación de los resultados de las muestras de garganta, esputo, gastrointestinales bajas, de la piel y de heridas

Incubación de 18 – 28 h		Interpretación/acción recomendada
Colonias de color malva con aspecto morfológico de estafilococos*		MRSA detectado
Sin colonias de color malva		Incubar nuevamente durante unas 18 a 24 h adicionales para alcanzar un tiempo total de incubación de 36 – 52 horas)
Incubación de 36 – 52 h	Acción recomendada	Interpretación
Colonias de color malva*	Realizar prueba de confirmación directa (por ejemplo, aglutinación de látex <i>Staphylococcus</i> o de coagulasa)	Aglutinación positiva de látex <i>Staphylococcus</i> o de coagulasa – MRSA detectado Aglutinación negativa de látex <i>Staphylococcus</i> o de coagulasa – Sin detección de MRSA
Sin colonias de color malva	N/A	Sin detección de MRSA

* Véase LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

N/A = No aplicable

VALORES PREVISTOS

La incidencia de las infecciones de MRSA ha aumentado de forma espectacular en los entornos médicos institucionales y la tasa de portadores de MRSA está aumentando en la comunidad. Las publicaciones recientes sugieren que las hospitalizaciones relacionadas con *S. aureus* han aumentado un 62% y el número estimado de hospitalizaciones por *S. aureus* resistentes a la metilicina ha aumentado en más del doble desde 1999 hasta 2005¹². Los datos del sistema de vigilancia nacional de infecciones intrahospitalarias (NNIS, National Nosocomial Infections Surveillance System) indican que en el entorno de pacientes de cuidados intensivos, la proporción de MRSA entre las infecciones por *S. aureus* ha aumentado hasta un 59,5 – 64,4%. Se determinaron aumentos espectaculares en la incidencia de infecciones de los tejidos blandos e infecciones cutáneas, lo que sugiere que MRSA extrahospitalario se está propagando en los hospitales^{12, 13}.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

BBL CHROMagar MRSA II es un medio selectivo y diferencial para la detección directa cualitativa de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina (MRSA) a partir de muestras

clínicas. El análisis se puede realizar en muestras de las vías respiratorias, gastrointestinales bajas (GI), de la piel y de heridas, después de 18 a 52 horas de incubación. El análisis se puede realizar también en muestras de los orificios nasales para detectar la colonización a fin de facilitar la prevención y el control de las infecciones por MRSA en entornos sanitarios después de 20 a 26 horas de incubación y en frascos de hemocultivo positivo que contengan cocos grampositivos después de 18 a 28 horas de incubación.

Evaluaciones de rendimiento externas

Se realizaron dos evaluaciones de rendimiento externas:

- En la primera evaluación, **BBL CHROMagar MRSA II** se evaluó en cuatro laboratorios clínicos distintos con restos de muestras de las vías respiratorias prospectivas (por ejemplo, fosas nasales, garganta y esputo), gastrointestinales bajas (por ejemplo, rectales y fecales), de la piel (por ejemplo, ingle/axila y perineo/perianal) y de heridas, así como en frascos de hemocultivo positivo que contengan cocos grampositivos (Tablas 4 y 5)¹⁴.

Las muestras se evaluaron mediante la comparación de la recuperación de MRSA en medios de cultivo tradicionales (por ejemplo, agar tripticasa de soja con un 5% de sangre ovina, agar Columbia con un 5% de sangre ovina o CNA (agar con colistina y ácido nalidíxico), según los tipos de muestra) y en placas **BBL CHROMagar MRSA II**. El *S. aureus* que se recuperó en los medios de cultivo tradicionales se analizó mediante el método de prueba de difusión por disco de cefoxitina. Los resultados de la prueba de difusión por disco de cefoxitina siguieron los criterios de interpretación de CLSI para determinar la resistencia a la meticilina (R) y la sensibilidad a la meticilina (S), ($R \leq 21$ mm y $S \geq 22$ mm)^{4, 15}. **BBL CHROMagar MRSA II** se interpretó como positivo para el MRSA a las 18 – 28 h según la detección de colonias de color malva o a las 36 – 52 h según la detección de colonias de color malva con confirmación como *S. aureus*.

La incidencia global de MRSA de **BBL CHROMagar MRSA II** fue del 15% (778/5051) o de alrededor del 65,6% (778/1186) de todos los *S. aureus*. Para la placa de cultivo tradicional (por ejemplo, agar tripticasa de soja con un 5% de sangre ovina, agar Columbia con un 5% de sangre ovina y CNA) la tasa de recuperación de MRSA fue de 79,8% (621/778), mientras que para **BBL CHROMagar MRSA II**, la tasa de recuperación de MRSA fue del 95,6% (744/778).

Tabla 4 Recuperación de MRSA: BBL CHROMagar MRSA II frente al cultivo tradicional

		Recuperación de MRSA	
Categoría de muestras	Tiempo de lectura ¹⁾	Cultivo tradicional	CMRSaII
Vías respiratorias	24 h	79,8% (182/228)	85,5% (195/228)
	48 h	76,8% (182/237)	92,4% (219/237)
Gastrointestinal baja	24 h	86,9% (93/107)	87,9% (94/107)
	48 h	77,5% (93/120)	98,3% (118/120)
Piel	24 h	68,6% (118/172)	88,4% (152/172)
	48 h	66,3% (118/178)	96,1% (171/178)
Herida	24 h	90,6% (115/127)	92,1% (117/127)
	48 h	88,5% (115/130)	94,6% (123/130)
Hemocultivo ²⁾	24 h	100% (113/113)	100% (113/113)
Combinadas 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 un intervalo de lectura de 18 – 28 h sin que se requiera ninguna prueba de confirmación y el intervalo de lectura de 48 h es de 36 – 52 h con prueba de confirmación.

²⁾ Hemocultivo positivo que contenga cocos grampositivos

³⁾ Incluye todos los tipos de muestras (de las vías respiratorias, gastrointestinales bajas, de la piel, de heridas y hemocultivo)

Tabla 5: Rendimiento de BBL CHROMagar MRSA II frente al cultivo tradicional y al disco de cefoxitina por tipo de muestra

Muestras Categoría	Tiempo de lectura ¹⁾	Disco de cefoxitina	
		Sensibilidad (IC 95%)*	Especificidad (IC 95%)*
Vías respiratorias	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%)
Gastrointestinal baja	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%)
Piel	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%)
Herida	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%)
Hemocultivo ²⁾	24 h	100% (113/113) (96,8%,100%)	100% (575/575) (99,4%,100%)
Combinadas 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 confianza

¹⁾ 24 h representa un intervalo de lectura de 18 – 28 h sin que se requiera ninguna prueba de confirmación y el intervalo de lectura de 48 h es de 36 – 52 h con prueba de confirmación.

²⁾ Hemocultivo positivo que contenga cocos grampositivos

³⁾ Incluye todos los tipos de muestras (de las vías respiratorias, gastrointestinales bajas, de la piel, de heridas y hemocultivo)

Muestras de las vías respiratorias:

Se evaluó un total de 1446 muestras de las vías respiratorias en las que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II** fue superior con un 92,4% (219/237), en comparación con la recuperación del 76,8% (182/237) en las placas de hemocultivo tradicionales a las 48 h. En la lectura de 18 – 28 h se observaron dos falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II** para una especificidad del 99,8% (1216/1218). Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** y confirmar todas las colonias de color malva con una prueba de confirmación en la lectura de 36 – 52 h, la concordancia general de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para las muestras de las vías respiratorias fue del 98,6% (1426/1446).

Muestras gastrointestinales bajas:

Se evaluó un total de 694 muestras gastrointestinales bajas en las que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II** fue superior con un 98,3% (118/120), en comparación con la recuperación del 77,5% (93/120) en las placas de hemocultivo tradicionales a las 48 h. No se observaron muestras de falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II**. Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** y confirmar todas las colonias de color malva con una prueba de confirmación en la lectura de 36 – 52 h, la concordancia general de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para las muestras gastrointestinales bajas fue del 99,7% (692/694).

Muestras de la piel:

Se evaluó un total de 1275 muestras de la piel en las que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II** fue superior con un 96,1% (171/178), en comparación con la recuperación del 66,3% (118/178) en las placas de hemocultivo tradicionales a las 48 h. No se observaron muestras de falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II**. Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** y confirmar todas las colonias de color malva con una prueba de confirmación en la lectura de 36 – 52 h, la concordancia general de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para las muestras de la piel fue del 99,5% (1268/1275).

Muestras de heridas:

Se evaluó un total de 948 muestras de heridas en las que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II** fue superior con un 94,6% (123/130), en comparación con la recuperación del 88,5% (115/130) en las placas de hemocultivo tradicionales a las 48 h. No se observaron muestras de falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II**. Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** y confirmar todas las colonias de color malva con una prueba de confirmación en la lectura de 36 – 52 h, la concordancia general de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para las muestras de heridas fue del 99,3% (941/948).

Frascos de hemocultivo positivo que contienen cocos grampositivos:

Se evaluó un total de 688 frascos de hemocultivo positivo que contenían cocos grampositivos en los que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en las placas de hemocultivo tradicionales y **BBL CHROMagar MRSA II** equivalía al 100% (113/113) a las 18 – 28 h. No se observaron muestras de falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II**. Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II**, la concordancia general de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para los frascos de hemocultivo positivo fue del 100% (688/688).

Tipos de muestras combinadas:

Se evaluó un total global combinado de 5051 muestras en las que se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II**. La recuperación general de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II** fue superior con un 95,6% (744/778), en comparación con la recuperación del 79,8% (621/778) en las placas de hemocultivo tradicionales para todos los tipos de muestras combinadas (de las vías respiratorias, gastrointestinales bajas, de la piel, de heridas y de frascos de hemocultivo positivo que contienen cocos grampositivos). En la lectura de 18 – 28 h se observaron 2 colonias de color malva de falsos positivos en **BBL CHROMagar MRSA II** para una especificidad del 99,9% (4271/4273). Al utilizar el color de las colonias en la lectura de 18 – 28 h para **BBL CHROMagar MRSA II** y confirmar todas las colonias de color malva con una prueba de confirmación en la lectura de 36 – 52 h, la concordancia general combinada de **BBL CHROMagar MRSA II** en comparación con la prueba de difusión por disco de cefoxitina para todos los tipos de muestras fue del 99,3% (5015/5051).

Prueba de provocación

Se llevó a cabo el análisis de veinte (20) cepas de provocación de *S. aureus* en tres centros clínicos. En las pruebas se incluyeron 14 MRSA y 6 MSSA. Las concordancias de lugares combinados y lugares individuales fueron del 100%.

- En la segunda evaluación, **BBL CHROMagar MRSA II** se evaluaron en tres laboratorios clínicos ubicados en diversos lugares geográficos con muestras de vigilancia prospectiva de los orificios nasales. Las muestras se evaluaron mediante la comparación de la recuperación de MRSA en placas de agar de soja Trypticase con sangre de carnero al 5% (TSA II) y el procedimiento de rutina de cada centro para la identificación de *S. aureus* (hemocultivo tradicional) en placas **BBL CHROMagar MRSA II**. (El procedimiento de rutina de dos centros incluía prueba de aglutinación de látex estafilocócico y el del tercer centro incluía prueba de coagulasa. Todos los *S. aureus* recuperados se analizaron para determinar la resistencia a la oxacilina mediada por *mec-A* con la prueba de difusión por disco de cefoxitina.) Los resultados de la prueba de difusión por disco de cefoxitina (30 µg) siguieron los métodos y criterios de interpretación de CLSI^{4, 15}. **BBL CHROMagar MRSA II** se interpretó como positivo para MRSA a las 20 – 26 h con base en la detección de colonias de color malva.

De ambas evaluaciones externas, se analizaron un total de 1613 muestras válidas de orificios nasales y se comparó la recuperación de MRSA en placas de hemocultivo tradicionales con las placas **BBL CHROMagar MRSA II** después de 20 a 26 h de incubación (Tabla 6). La concordancia porcentual positiva y la concordancia porcentual negativa de **BBL CHROMagar MRSA II** a las 20 – 26 h respecto al hemocultivo tradicional fue del 87,9% y del 98,6%, respectivamente. La sensibilidad y especificidad en comparación con a prueba de difusión por disco de cefoxitina fue del 88,8 y del 99,8%, respectivamente.

Tabla 6: Rendimiento de BBL CHROMagar MRSA II frente al cultivo tradicional y al disco de cefoxitina para muestras de fosas nasales

Cultivo tradicional			
Tipo de muestra	Tiempo de lectura	Concordancia porcentual positiva (IC 95%)	Concordancia porcentual negativa (IC 95%)
Orificios nasales	24 h ¹	87,9% (181/206) (82,6%, 92,0%)	98.6% (1387/1407) (97,8%, 99,,1%)

Prueba de difusión por disco de cefoxitina (CLSI)			
Tipo de muestra	Tiempo de lectura	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)
Orificios nasales	24 h ¹	88,8% (198/223) (83,9%, 92,6%)	99.8% (1387/1390) (99,4%, 100%)

¹24 h representa un intervalo de lectura de 20 – 26 h sin que se requiera ninguna prueba de confirmación

Evaluación de rendimiento interna

Límites de detección (LOD)

Se evaluó **BBL CHROMagar MRSA II** para determinar el límite de detección (LOD) de la recuperación de *S. aureus* resistente a la metilicina. Se evaluó la recuperación de cuatro cepas de prueba que representaban dos MRSA heterogéneos y dos MRSA homogéneos en **BBL CHROMagar MRSA II**¹⁶. Se utilizaron placas no selectivas agar Columbia con un 5% de sangre ovina para determinar la concentración del organismo expresada en unidades formadoras de colonias (CFU) para cada dilución. El LOD para **BBL CHROMagar MRSA II** oscilaba entre 4 – 116 CFU a las 24 h y 4 – 24 CFU a las 48 h¹⁷.

Estudio de interferencia

Se evaluó un total de 30 sustancias, entre las que se incluían sustancias medicinales que se usan habitualmente, dispositivos de transporte, caldo de enriquecimiento y medios de hemocultivo para comprobar la posible interferencia e inhibición de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II**. Es posible que algunos colutorios, las gotas para la garganta, el ácido acetilsalicílico, los lubricantes personales y el ibuprofeno disminuyan la recuperación de MRSA. Las pulverizaciones nasales que contienen propionato de fluticasona, clorhidrato de azelastina, clorhidrato de fenilefrina y clorhidrato de oximetazolina, así como los caramelos para la garganta que contienen mentol mostraron actividad antibacteriana.

Ninguna otra sustancia, dispositivo o medio probado interfirió en la recuperación de MRSA en **BBL CHROMagar MRSA II**¹⁷.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Reducir al mínimo la exposición de **BBL CHROMagar MRSA II** a la luz (< 4 h) antes y durante la incubación, ya que la exposición durante un período prolongado puede disminuir la recuperación y/o coloración de los aislados.
- No se recomienda la incubación en CO₂ y puede dar lugar a cultivos falsos negativos.
- No se recomienda un período de incubación superior a 36 – 52 h.
- Para muestras de orificios nasales, el rendimiento de **BBL CHROMagar MRSA II** se ha optimizado para una incubación a una temperatura de 35 – 37 °C durante un período de 20 – 26 h. Las temperaturas de incubación más bajas (<35° C) y/o los períodos de incubación inferiores (<20 h) pueden reducir la sensibilidad de **BBL CHROMagar MRSA II**. Tenga en cuenta que la apertura repetida de las puertas de la incubadora puede reducir la temperatura de la incubadora. Se recomienda por tanto reducir al mínimo la apertura de las puertas de la incubadora y mantener los períodos de apertura lo más breves posible.

- Después de una incubación de 24 h o más prolongada, algunas cepas de *Chryseobacterium meningosepticum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Enterococcus faecalis* (VRE), *Rhodococcus equi* y *Bacillus cereus* pueden producir colonias de color malva. Si se desea, se puede realizar la tinción de Gram.
- Después de una incubación de 24 h o más prolongada, *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis* y *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina pueden producir también colonias de color malva en raras ocasiones. Si no se sospecha MRSA, puede realizarse una prueba de coagulasa y una prueba de susceptibilidad antimicrobiana (AST).
- Ciertas cepas raras de MRSA han mostrado sensibilidad a la base del **BBL CHROMagar MRSA II**. Esta sensibilidad no tiene relación con la resistencia a la meticilina, sino que se debe a un componente de la base. Como consecuencia, estas cepas pueden parecer equivocadamente sensibles a la meticilina.
- Existen algunas cepas raras de MRSA que pueden producir colonias de color distinto del malva en **BBL CHROMagar MRSA II**. Si se sospecha MRSA, se deben realizar subcultivos de colonias de color distinto del malva para la identificación y pruebas de susceptibilidad en caso necesario.
- Una carga bacteriana densa y/o algunas muestras pueden producir un colorido no específico del cuadrante principal del medio. Esto puede dar lugar a que el medio presente una coloración malva, morada, verde o azul o, una ligera sombra sobre el medio, pero que carezca de colonias definidas. Un colorido no específico del medio debe interpretarse como negativo.
- Puede que crezca *S. aureus de mecA* negativos si las CMI de oxacilina o cefoxitina se sitúan cerca o en el punto límite de resistencia.
- Los mecanismos de resistencia diferentes de *mecA* (es decir, *Staphylococcus aureus* de resistencia dudosa o BORSA, y *Staphylococcus aureus* modificado o MODSA), no se han evaluado ampliamente con el CMRSA II, por lo que se desconoce el rendimiento de CMRSA II con esos mecanismos de resistencia.
- Como el aislamiento de MRSA depende del número de organismos presentes en la muestra, la obtención de resultados fiables depende de una recogida, una preparación y un almacenamiento correctos de las muestras.
- Un único resultado negativo no debe utilizarse como la única base para decidir el tratamiento o tomar otras decisiones relacionadas con el mismo. Puede ser necesario realizar cultivos concomitantes para la identificación del microorganismo, las pruebas de sensibilidad o la pruebas de tipificación epidemiológica.

Antes de utilizar **BBL CHROMagar MRSA II** por primera vez, se recomienda practicar en el aspecto de colonia característico de MRSA con cepas definidas, por ejemplo, las cepas mencionadas en **Control de calidad del usuario**.

DISPONIBILIDAD

REF 257434 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media, cpu 20

REF 257435 **BBL CHROMagar MRSA II** Ready-to-use Plated Media, cpu 120

REFERENCIAS

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/bmbl5/bmbl15toc>
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. Datos en los archivos, BD Diagnostics.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, póngase en contacto con su representante local de 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.