

## Utilization of CHROMagar MRSA in the supervision of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Gabriella Corsi, Adriana Raddi, Francesco Labonia, Marcello Raffone, Mariano Bernardo, Mariarosaria Luongo, Erasmo Falco, Riccardo Smeraglia

U.O.C. Microbiologia e Virologia, A.O.R.N. "V. Monaldi" – Napoli

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, CHROMagar MRSA, Nosocomial infection

**Utilizzazione del CHROMagar MRSA per la sorveglianza dello *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente**

### SUMMARY

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most common pathogen responsible for nosocomial infections. Laboratory diagnosis and assays of antimicrobial susceptibility are basic in controlling and preventing infection by MRSA. Our study was conducted for one year (May 2008-April 2009) on patients hospitalized to monitor the eventual colonization by MRSA. The use of chromogenic agar MRSA allowed us to identify pink-mauve colonies of MRSA within 24 hours and to make a timely e careful diagnosis.

Gli stafilococchi sono largamente diffusi in natura e sono tra i più importanti commensali nell'uomo ritrovandosi frequentemente sulla cute e sulle mucose dei tratti respiratorio e gastrointestinale. La specie più importante in patologia è sicuramente lo *S. aureus* (1). Poiché questo germe è in grado di elaborare una notevole quantità di enzimi che gli consentono di colonizzare gli ambienti più disparati, non sorprende di ritrovarlo in ambiente ospedaliero, dove rappresenta un microrganismo tra i più frequentemente isolati nei reparti di terapia intensiva (2, 10). Nell'ambito delle patologie infettive ad eziologia batterica, esistono diverse problematiche relative al trattamento delle infezioni da stafilococchi, dovute al fenomeno dell'acquisizione di resistenza agli antibiotici. Dopo pochi anni dall'introduzione della penicillina in terapia, gli stafilococchi iniziavano a mostrare una ridotta sensibilità all'antimicrobico, grazie all'acquisizione di un plasmide che codifica la produzione di penicillinasi (6). In seguito fu realizzata una penicillina sintetica resistente alle beta-lattamasi denominata meticillina, tuttavia entro un anno vennero descritti i primi microrganismi resistenti al principio attivo (8). *S. aureus* acquisisce resistenza alla meticillina e ad altri antibiotici attraverso il trasferimento orizzontale di una cassetta genica mobile *SCCmec* e l'espressione del suo gene *mecA*, che codifica per una variante della penicillin binding protein (PBP2a) con una bassa affinità ai beta-lattamici. Il livello di meticillino resistenza (definito dalla sua concentrazione minima inibente, MIC) dipende dalla quantità di PBP2a prodotta, che è influenzata da diversi fattori genici (3). Confrontando con pazienti infetti da *S. aureus* meticillino-sensibili (MSSA), i pazienti con MRSA tendono a sviluppare condizioni cliniche più severe richiedendo tempi di ospedalizzazione più lunghi e terapie antibiotiche più aggressive (7). Considerando questi fattori, le infezioni da MRSA presentano un significativo aumento dei casi di morbilità e mortalità. In Europa la prevalenza media di MRSA è aumentata dall'1% del 1980 al 24% del 2006 e attualmente mostra una diversa distribuzione nei vari paesi europei che oscilla tra meno dell'1% dei Paesi Baltici e il 38% dell'Italia. Il controllo della diffusione di questi microrganismi, sia in ambiente nosocomiale che in ambiente comunitario, appare fondamentale (4). Negli ultimi anni sono stati introdotti terreni cromogeni che consentono la rapida rilevazione di MRSA. Nel nostro studio abbiamo testato un terreno solido selettivo cromogeno per la ricerca di *S. aureus* meticillino-resistente (BBL CHROMagar MRSA-BD). Da maggio 2008 ad aprile 2009 sono stati isolati, presso il laboratorio di microbiologia e virologia dell'AORN Monaldi, 248 ceppi di *S. aureus*. I campioni sono stati seminati sui comuni terreni di coltura (agar sangue, agar CNA, agar mannite) e sul CHROMagar

MRSA (BD). Il terreno MRSA presenta un substrato nutritivo costituito da differenti peptoni, un substrato cromogeno, un antibiotico (cefotitina) ed inoltre una miscela selettiva che inibisce la crescita della maggior parte dei microrganismi diversi dagli stafilococchi (5, 9). I ceppi di MRSA crescono producendo colonie di colore rosa-malva derivanti dall'idrolisi del substrato cromogeno. I batteri diversi da MRSA possono utilizzare altri substrati cromogeni dando luogo a colonie di colore blu-blu/verde; in alternativa, se non si utilizzano substrati cromogeni, le colonie appaiono bianche o incolori. Le colonie di MRSA, dopo 24h di incubazione ad una temperatura di 37°C in aerobiosi, appaiono di colore rosa-malva. Successivamente i ceppi sono stati caratterizzati per specie e per fenotipo di resistenza mediante il sistema VITEK2-bioMérieux (card ID-GP e card AST-P580). Dei 248 isolati, 63 sono cresciuti sul CHROMagar MRSA con il caratteristico colore rosa-malva delle colonie (figura I), ma di questi al sistema automatico VITEK sono risultati effettivamente meticillino-resistenti 60 ceppi, evidenziando una percentuale di colonizzazione del 23% (figura II).

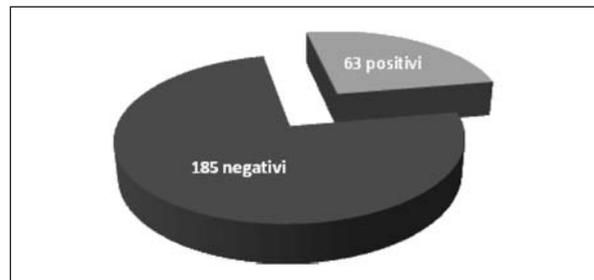


Figura I. Positività dei ceppi al CHROMagar MRSA

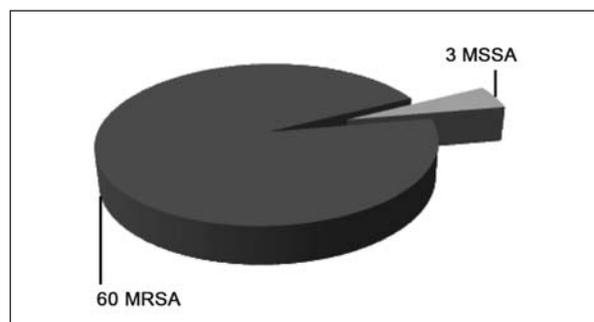


Figura II. Ceppi risultanti effettivamente meticillino-resistenti

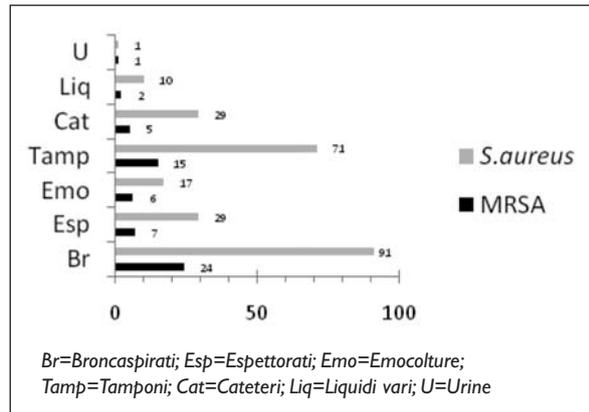
**Corresponding author: Gabriella Corsi**

Indirizzo: A.O.R.N. "V. Monaldi" – Napoli, via Leonardo Bianchi - Tel.: 081 7062418; Fax: 081 7064250;

E-mail: [gabriella.corsi@ospedalemonaldi.it](mailto:gabriella.corsi@ospedalemonaldi.it)

Nello specifico, come illustrato nella tabella 1, è stata riscontrata una maggiore prevalenza di ceppi MRSA nei broncoaspirati e nei tamponi.

**Tabella 1.** Isolamento di ceppi meticillino-resistenti e di *S.aureus* in materiali clinici di interesse batteriologico



## BIBLIOGRAFIA

1. Barber M. Methicillin-resistant staphylococci. J Clin Pathol 1961; 14: 385-93.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Pacific Islanders-Hawaii, 2002-2003. MMWR Morb Wkly Rep 2004; 53: 767-70.
3. Diekema DJ, et al. Genetic relatedness of multidrug-resistant, methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream isolates from SENTRY Antimicrobial Resistance Surveillance Centers world-wide, 1998. Microb Drug Resist 2000; 6: 213-21.
4. European antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS), Annual Report EARSS- 2006.
5. Felten A, et al. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with ceftioxin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clinical Microbiol 2002; 8: 2766-71.
6. Graffunder EM, et al. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. J. Antimicrob Chemother 2002; 49: 999-1005.
7. Kowalsky TJ, et al. Epidemiology, treatment and prevention of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Mayo Clin Proc 2005; 80: 1201-7.
8. Monnet DL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its relationship to antimicrobial use: possible implication for control. Infect Control Hosp Epidemiol 1988; 19: 552-9.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2007. Document M100-S17, 7<sup>th</sup> ed., vol. 27, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
10. Wisplinghoff H, et al. Nosocomial bloodstream infection in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004; 39: 309-17.

La sensibilità del terreno cromogeno si è dimostrata del 100%, la specificità del 98% e il valore predittivo positivo del 95% (tabella 2).

**Tabella 2.** Indici di sensibilità, specificità e valore predittivo positivo del CHROMagar MRSA

SENSIBILITÀ	VP/ (VP+FN)	100%
SPECIFICITÀ	VN/ (VN+FP)	98%
VPP	VP/ (VP+FP)	95%

VP:veri positivi;VN: veri negativi;FP: falsi positivi;FN: falsi negativi;

VPP: valore predittivo positivo

La nostra esperienza ha dimostrato che l'utilizzo del CHROMagar MRSA garantisce un'elevata sensibilità e specificità, permettendo di prevenire e/o combattere le infezioni ospedaliere rivelando la presenza di ceppi "allert" in sole 24h.