



BD Oxacillin Screen Agar

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Oxacillin Screen Agar** (originalmente denominado por MRSA Screen Agar) foi desenvolvido para a detecção de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina/oxacilina (MRSA, ORSA). Uma vez que o método utilizado para detectar os MRSA utiliza o mesmo inóculo que o procedimento do teste de sensibilidade em disco de antimicrobiano de Bauer-Kirby, o teste de rastreio de oxacilina poderá ser realizado sem qualquer inconveniente nos isolados ao mesmo tempo que os teste de sensibilidade de rotina.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

A resistência à penicilina nas espécies de *S. aureus* foi observada logo após a introdução da penicilina nos finais da década de 40.¹ Nos finais da década de 60, as estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina/oxacilina começaram a ser isoladas nos Estados Unidos.²

Existem três mecanismos de resistência diferentes que contribuem para a resistência à oxacilina na espécie *S. aureus*. Estes mecanismos são: (1) o tipo clássico que envolve a produção de uma proteína de ligação à penicilina (PLP) suplementar está codificado por um gene *mecA* cromossómico, (2) a hiperprodução de β -lactamase e (3) a produção de PLPs modificadas, que reduz a afinidade dos organismos quantos aos antibióticos β -lactâmicos.³

As características que poderão contribuir para a diferenciação entre os três tipos de resistência à oxacilina (meticilina) estão descritas em pormenor no *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed.³

As estirpes que contêm o gene *mec* (resistência clássica) são resistentes às penicilinas resistentes à penicilinase (PRP) como, por exemplo, a meticilina, oxacilina e nafcilina e podem ser homogéneas ou heterogéneas relativamente à sua expressão de resistência. No que respeita à expressão homogénea, quase todas as células demonstram resistência quando são analisadas através de testes padrão *in vitro*. Relativamente à expressão heterorresistente, determinadas células revelam-se aparentemente sensíveis e outras resistentes. Normalmente, apenas 1 em 10⁴ a 1 em 10⁸ células na população de teste demonstram resistência. A expressão heterogénea resulta ocasionalmente em CIM que se situam aparentemente no limite; ou seja, CIM de oxacilina de 4 a 8 μ g/mL. Os isolados que apresentam uma resistência clássica são normalmente resistentes a outros agentes como, por exemplo, a eritromicina, clindamicina, cloranfenicol, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol, uma quinolona ou um aminoglicosídeo.³ A resistência mediada pela hiper produção de β -lactamase ou pela presença de PLPs modificadas resulta também na resistência no limite. Os isolados que resistentes através da hiperprodução de β -lactamase ou do mecanismo de PLPs modificadas, não apresentam, normalmente, uma resistência a vários fármacos.³ Além disso, **é pouco provável que estes isolados se desenvolvam na placa de agar de rastreio.**³⁻⁵

A população resistente à meticilina desenvolve-se mais lentamente, prefere uma temperatura de incubação mais baixa e uma concentração de sal elevada.

O **BD Oxacillin Screen Agar** contém agar de Mueller Hinton que consiste num meio normalizado para o procedimento de difusão de disco para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias aeróbias.⁶ O cloreto de sódio é adicionado para reforçar o crescimento de sub-populações resistentes às PRP. A oxacilina é mais utilizada para a detecção da resistência às PRP, uma vez que é mais estável e apresenta resultados mais fiáveis (consultar a Tabela 2C [M100 (M2)] e a Tabela 2C no documento M100 [M7] do CLSI).^{7,8}

REAGENTES

BD Oxacillin Screen Agar

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Extracto de bovino	2,0 g	Oxacilina	0,006
Hidrolisado ácido de caseína	17,5	Agar	17,0
Amido	1,5	pH 7,3 ± 0,2	
Cloreto de sódio	40,0		

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

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional. 

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

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 no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 placas 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.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular as amostras representativas com as culturas listadas abaixo. Suspende várias colónias bem isoladas do organismos de teste a partir de uma cultura em placa de 18 a 24 h para um tubo de **BD Trypticase Soy Broth** e ajustar a turvação até obter o padrão de turvação 0,5 de McFarland. Inocular aleatoriamente o **BD Oxacillin Screen Agar** com 10 µL de suspensão de teste utilizando uma micropipeta. Em alternativa, saturar uma zaragatoa de algodão com a suspensão de teste e pressionar suavemente contra a parede interior do tubo para retirar o fluido em excesso. Espalhar na placa deslocando a zaragatoa sobre uma área com aproximadamente 2,5 cm. Incluir uma placa de **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** (agar de soja Trypticase II com sangue de ovelha a 5%) ou de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) como um meio de referência de crescimento não selectivo.

Incubar as placas em condições aeróbias a uma temperatura entre 30 e 35°C. Não ultrapassar os 35°C. Incubar as placas durante um período completo de 24 h.

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Nenhum crescimento a 24 h de incubação (sensível)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Crescimento a 24 h de incubação (resistente)
Não inoculadas	Âmbar claro, transparente a opaco muito ligeiramente

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD Oxacillin Screen Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos de amostra

Este meio não se destina à utilização para o isolamento de MRSA/ORSA provenientes de amostras clínicas. Em vez disso, o meio é inoculado com culturas puras de isolados presumivelmente identificados como *Staphylococcus aureus* (consultar as secções **Procedimento do teste** e **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

Procedimento do teste

1. Identificar presumivelmente o isolado como um *Staphylococcus aureus*, por exemplo, através de testes de coagulase em lâmina ou em tubo (ou através de uma identificação bioquímica completa).
2. Preparar o inóculo, suspendendo várias colónias bem isoladas do isolado de teste *S. aureus* a partir de uma cultura em placa de 18 a 24 h para um tubo com um meio líquido adequado, como exemplo, o Caldo de Soja **Trypticase** e ajustar a turvação até obter o padrão de turvação 0,5 de McFarland.
3. Inocular aleatoriamente o **BD Oxacillin Screen Agar** com 10 µL da suspensão de teste utilizando uma micropipeta.
4. Em alternativa, saturar uma zaragatoa com a suspensão de teste e pressionar suavemente contra a parede interior do tubo para retirar o fluido em excesso. Espalhar na placa deslocando a zaragatoa sobre uma área com aproximadamente 2,54 cm. Incluir uma placa de **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** (agar de soja Trypticase II com sangue de ovelha a 5%) ou de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) como um controlo de referência de crescimento não selectivo.
5. As placas de teste e de controlo podem ser divididas em vários sectores cuneiformes marcando a parte inferior da placa. É possível testar vários isolados em cada placa. No entanto, deve-se utilizar e incubar cada placa apenas uma vez. **NÃO VOLTAR A UTILIZAR NEM A INCUBAR um BD Oxacillin Screen Agar.**
6. Incubar as placas a uma temperatura entre 30 e 35°C durante um **período completo de 24 h. Não ultrapassar os 35°C.**

Resultados

Após a incubação, examinar as placas para verificar se existem indícios de crescimento. Convém referir que as placas neste meio deverão ser cuidadosamente inspeccionadas. Além disso, a presença de colónias muito pequenas, ou até mesmo de uma colónia, indica que o isolado é resistente à metilina (oxacilina). O facto de não existir qualquer indício de crescimento significa que o organismo é sensível às PRP (metilina, nafcilina e oxacilina). Os isolados que se desenvolvem no Oxacillin Screen Agar deverão ser referidos como resistentes a todos os agentes antimicrobianos β-lactâmicos, incluindo combinações de inibidores de β-lactamase/β-lactâmicos e cefalosporinas.

Nota: Periodicamente são publicadas informações suplementares ao Documento M2 do CLSI, ou versões revistas, que contêm revisões de tabelas de discos de antimicrobianos e de padrões de interpretação. Para conhecer as recomendações actuais, deverão ser consultadas as últimas tabelas disponíveis. O padrão completo e os suplementos informativos podem ser encomendados ao Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 EUA. Telefone: +1-610-688-1100.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD Oxacillin Screen Agar** consiste num meio padrão para a detecção de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina/oxacilina (MRSA, ORSA).^{3,6-8}

Estudos internos demonstraram que existe uma diferença no tamanho do inóculo entre inocular com 10 µL da suspensão de teste utilizando uma micropipeta e inocular a placa com uma zaragatoa. A probabilidade de aparecimento da sub-população resistente é maior numa população de células bacterianas de grande dimensão. A detecção de resistência, especialmente com a população heterogeneamente resistente, é reforçada com o inóculo de maior dimensão obtido através da utilização de uma micropipeta e da inoculação da placa como 10 µL.⁹

Qualquer isolado que se desenvolva neste meio deverá ser testado de forma quantitativa através da diluição num caldo ou agar ou através de métodos moleculares (determinação do gene *mecA*) para confirmar a resistência à oxacilina e ainda a resistência a outros agentes antimicrobianos que são característicos do MRSA como, por exemplo, o cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, gentamicina e tetraciclina.

Resultados do desempenho⁹

Num ensaio de campo num hospital metropolitana de grandes dimensões, foram testados 152 isolados de *S. aureus* no **BD Oxacillin Screen Agar** (inicialmente MRSA Screen Agar) em comparação com um procedimento de diluição em agar de referência relativamente à resistência à meticilina. No total, 121 isolados foram considerados sensíveis por ambos os métodos. 30 isolados revelaram ser resistentes (MRSA) por ambos os métodos. O único isolado que restou desenvolveu-se no MRSA Screen Agar mas era sensível à meticilina. Assim, a sensibilidade do teste foi de 100% e a especificidade de 99,2%.

Limitações do procedimento

Ocasionalmente, os isolados de *S. aureus* com CIM resistentes no limite poderão não se desenvolver no período de 24 h. Recomenda-se que quaisquer resultados ambíguos demonstrados na placa de rastreio sejam confirmados com um teste de CIM padrão. Este meio não deve ser utilizado para o isolamento de MRSA directamente a partir de amostras clínicas.

Não se recomenda a utilização do **BD Oxacillin Screen Agar** para a detecção de estafilococos negativos para a coagulase resistentes à meticilina/oxacilina.

BIBLIOGRAFIA

1. Chain, E., H.W. Florey, and M.A. Jennings. 1949. Acquired resistance of micro-organisms to penicillin, p. 1111-1136. In H.W. Florey, E. Chain, N.G. Heatley, M.A. Jennings, A.G. Sanders, E.P. Abraham, and M.E. Florey (ed.), Antibiotics, vol. II. Oxford University Press, London.
2. Barrett, F.F., R.F. McGehee, Jr., and M. Finland. 1968. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations. N. Engl. J. Med. 279:444-448.
3. Swenson, J.M., J.B. Patel, and J.H. Jorgensen. 2007. Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. L. Landry, and M.A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. USA.
4. Leitch, C., and S. Boonlayangoor. 1994. Test to detect oxacillin (methicillin)-resistant staphylococci with an oxacillin screen plate, p. 5.5.1-5.5.7. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures manual, vol. 1 (suppl.1). American Society for Microbiology, Washington, D.C. USA.
5. Haberberger, R.L., A. J. Kallen, T.J. Driscoll, and M.R. Wallace. 1998. Oxacillin-resistant phenotypes of *Staphylococcus aureus*. Lab. Med. 29: 302-305.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Approved standard: M7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. CLSI, Wayne, PA, USA. Search for latest version at www.clsi.org
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Disk diffusion supplemental tables: M100 (M2). CLSI, Wayne, PA, USA. Search for latest version at www.clsi.org
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). MIC testing supplemental tables: M100 (M7). CLSI, Wayne, PA, USA. Search for latest version at www.clsi.org
9. Data on file. BD Diagnostic Systems. Sparks, MD. USA

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD Oxacillin Screen Agar

No. de cat. 257658 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

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



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD