



BD Oxacillin Screen Agar

USO PREVISTO

BD Oxacillin Screen Agar (agar de detección con oxacilina BD) (denominado originalmente MRSA Screen Agar) fue desarrollado para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina/oxacilina (MRSA, ORSA). Dado que el método para detectar MRSA utiliza el mismo inóculo que la prueba de sensibilidad con disco antimicrobiano de Bauer-Kirby, la prueba de detección de oxacilina puede realizarse cómodamente en aislados al mismo tiempo que las pruebas de sensibilidad sistemáticas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

La resistencia a la penicilina en *S. aureus* comenzó a observarse poco después de la introducción de la penicilina, en los últimos años de la década del 40¹. Para fines de los 60, en Estados Unidos comenzaron a aislarse cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina/oxacilina². Tres mecanismos de resistencia diferentes contribuyen a la resistencia a la oxacilina en *S. aureus*: (1) el tipo clásico, que conlleva la producción de una proteína complementaria fijadora de penicilina (PBP), codificada por un gen *mecA* cromosómico; (2) superproducción de β -lactamasa y (3) producción de PBP modificadas, que reducen la afinidad de los organismos por los antibióticos β -lactámicos³.

Las características que podrían favorecer la diferenciación de los tres tipos de resistencia a la oxacilina (meticilina) se pueden encontrar en el *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed.³

Las cepas que poseen el gen *mec* (resistencia clásica) son resistentes a las penicilinas resistentes a las penicilinasas (PRP), tales como la meticilina, oxacilina y nafcilina, y presentan una expresión de resistencia homogénea o heterogénea. En los casos de expresión homogénea, prácticamente todas las células expresan resistencia cuando se analizan mediante pruebas *in vitro* estándar. En los casos de expresión heterorresistente, algunas células parecen sensibles y otras, resistentes. A menudo, sólo entre 1 de 10⁴ y 1 de 10⁸ células en la población de prueba manifiesta resistencia. La expresión heterogénea de vez en cuando presenta CMI con valores dudosos; es decir, CMI de 4 a 8 μ g/mL. Los aislados que presentan resistencia clásica generalmente son resistentes a otros agentes tales como la eritromicina, la clindamicina, el cloranfenicol, la tetraciclina, la trimetoprima-sulfametoxazol, una quinolona o un aminoglucósido³.

La resistencia mediada por la superproducción de β -lactamasa o la presencia de PBP modificadas también causa resistencia con valores dudosos. Los aislados resistentes mediante el mecanismo de superproducción de β -lactamasa o de PBP modificadas por lo general no presentan resistencia a múltiples antibióticos³. Además, **es poco probable que estos aislados crezcan en la placa de detección de agar**³⁻⁵.

La población resistente a la meticilina crece más lentamente, prefiere una temperatura de incubación más baja y una alta concentración de sal.

BD Oxacillin Screen Agar está formado por agar Mueller Hinton, que es un medio estandarizado para el procedimiento de difusión en disco para pruebas de sensibilidad antimicrobiana de las bacterias aerobias⁶. El cloruro sódico se añade para favorecer el crecimiento de las subpoblaciones resistentes a PRP. Se prefiere oxacilina para la detección de la resistencia a PRP, dado que es más estable y los resultados son más fiables (véase la Tabla 2C [M100 (M2)] y la Tabla 2C en el documento M100 [M7] de CLSI)^{7,8}.

REACTIVOS

BD Oxacillin Screen Agar

Fórmula* por litro de agua purificada

Extracto de carne bovina	2,0 g	Oxacilina	0,006
Hidrolizado ácido de caseína	17,5	Agar	17,0
Almidón	1,5	pH 7,3 ± 0,2	
Cloruro sódico	40,0		

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

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional. ⓧ

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

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación. Suspender varias colonias bien aisladas del organismo de prueba obtenidas de un cultivo en placa de 18 – 24 h en un tubo de **BD Trypticase Soy Broth** y ajustar la turbidez a un patrón de 0,5 de McFarland. Inocular una zona del **BD Oxacillin Screen Agar** con 10 µL de suspensión de prueba con una micropipeta. También es posible empapar una torunda de algodón con la suspensión de prueba y ejercer presión suavemente para eliminar el exceso de líquido contra la pared interna del tubo. Extender la muestra moviendo la torunda sobre la placa en una zona de aproximadamente 2,5 cm. Incluir una placa de **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** o **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** como medio de referencia de crecimiento no selectivo.

Incubar las placas en atmósfera aerobia a 30 – 35 °C. No superar los 35 °C. Incubar las placas durante un total de 24 h.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Ausencia de crecimiento a las 24 h de incubación (resultado sensible)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Crecimiento a las 24 h de incubación (resistente)
Sin inocular	Ambar claro, de transparente a muy ligeramente opaco

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Oxacillin Screen Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Material no suministrado

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Este medio no está diseñado para el aislamiento de MRSA/ORSA a partir de muestras clínicas. En cambio, el medio se inocula con cultivos puros de aislados presuntivos de *Staphylococcus*

aureus (véase **Procedimiento de análisis y CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

1. Identificar presuntivamente el aislado como *Staphylococcus aureus*, por ejemplo, mediante análisis en portaobjetos o prueba de coagulasa en tubo (o por medio de una identificación bioquímica completa).
2. Preparar el inóculo suspendiendo varias colonias bien aisladas del aislado de prueba de *S. aureus* obtenido de un cultivo en placa de 18 a 24 h en un tubo de medio de caldo adecuado, tal como caldo de soja **Trypticase** y ajustar la turbidez a un patrón de turbidez de 0,5 de McFarland.
3. Inocular una zona del **BD Oxacillin Screen Agar** con 10 µL de suspensión de prueba con una micropipeta.
4. También es posible empapar una torunda de algodón con la suspensión de prueba y ejercer presión suavemente para eliminar el exceso de líquido contra la pared interna del tubo. Extender la muestra moviendo la torunda sobre la placa en una zona de aproximadamente 2,5 cm.
Incluir una placa de **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** o **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** como control de crecimiento no selectivo.
5. Las placas de prueba y de control pueden dividirse en varios sectores con forma de cuña marcando la parte inferior de cada placa. Se pueden analizar varios aislados en cada placa. Sin embargo, es necesario utilizar e incubar cada placa sólo una vez. **NO REUTILIZAR NI VOLVER A INCUBAR un BD Oxacillin Screen Agar.**
6. Incubar las placas a 30 – 35 °C durante un **total de 24 h. No superar los 35 °C.**

Resultados

Después de la incubación, observar si las placas presentan crecimiento. Es necesario inspeccionar atentamente las placas de este medio. Tener en cuenta que la presencia de colonias muy pequeñas, incluso de una sola colonia, indica que el aislado es resistente a la meticilina (oxacilina). La ausencia de crecimiento indica que el organismo es sensible a PRP (metilina, naftilina y oxacilina). Los aislados que crecen en **Oxacillin Screen Agar** deben notificarse como resistentes a todos los agentes antimicrobianos β-lactámicos, incluidas las combinaciones de inhibidores β-lactámicos/β-lactamasa y cefalosporinas.

Nota: Se publican periódicamente suplementos informativos al documento M2 del CLSI, o sus versiones revisadas, con tablas actualizadas de discos antimicrobianos y normas de interpretación. Consultar en las tablas más recientes las recomendaciones vigentes. La norma completa y sus suplementos informativos pueden obtenerse del Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 EE.UU. Teléfono: +1-610-688-1100.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Oxacillin Screen Agar es un medio estándar para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina/oxacilina (MRSA, ORSA)^{3,6-8}.

Estudios internos han demostrado que existe una diferencia en el tamaño de inóculo entre la inoculación de 10 µL de suspensión de prueba con una micropipeta y la inoculación de la placa con una torunda. La probabilidad de aparición de la subpoblación resistente es mayor en una población grande de células bacterianas. La detección de resistencia, en especial de la población con resistencia heterogénea, es mejor cuando se utiliza un inóculo más grande (obtenido con una micropipeta) y se inocula la placa con 10 µl del mismo⁹.

Los aislados que crecen en este medio deben analizarse cuantitativamente mediante dilución en caldo o agar o por métodos moleculares (determinación del gen *mecA*) con el fin de confirmar la resistencia a la oxacilina y otros agentes antimicrobianos característicos de MRA, tal como el cloranfenicol, la clindamicina, la eritromicina, la gentamicina y la tetraciclina.

Resultados de rendimiento⁹

En un estudio práctico en un hospital metropolitano grande, se analizaron 152 aislados de *S. aureus* en **BD Oxacillin Screen Agar** (anteriormente MRSA Screen Agar) en comparación con un procedimiento de dilución de agar de referencia para determinar la sensibilidad a la

metecilina. Se determinó la sensibilidad de un total de 121 aislados mediante ambos métodos. Se determinaron 30 aislados como resistentes (MRSA) mediante ambos métodos. El único aislado restante creció en el MRSA Screen Agar, pero era sensible a la metecilina. Por tanto, la sensibilidad de la prueba fue del 100% y la especificidad, del 99,2%.

Limitaciones del procedimiento

De vez en cuando, los aislados de *S. aureus* con CMI de resistencia dudosa tal vez no crezcan en el plazo de 24 h. Se recomienda que los resultados dudosos mostrados en la placa de detección se confirmen con una prueba de CMI estándar.

Este medio no debe utilizarse para el aislamiento de MRSA directamente de muestras clínicas. No se recomienda utilizar **BD Oxacillin Screen Agar** para la detección de estafilococos coagulasa negativos resistentes a la metecilina/oxacilina.

REFERENCIAS

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

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Oxacillin Screen Agar

Nº de cat. 257658 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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