

ISTRUZIONI PER L'USO

OXACILLIN-SALT SCREEN AGAR

Piastre pronte all'uso


Oxacillin-Salt Screen Agar: crescita di un ceppo MRSA

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Dispositivo diagnostico *in vitro*. Per la rilevazione della resistenza all'oxacillina di *Staphylococcus aureus*, mediata dal gene *mecA*.

2 - COMPOSIZIONE

Estratto di carne	2,0 g
Digerito acido di caseina	17,5 g
Amido solubile	1,5 g
Agar	17,0 g
Sodio cloruro	40,0 g
Oxacillina	6,0 mg
Acqua purificata	1000 mL

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Staphylococcus aureus resistente alla meticillina (MRSA) è un importante agente eziologico delle infezioni acquisite in ambiente ospedaliero ed in comunità. I ceppi resistenti all'oxacillina ed alla meticillina, storicamente definiti come "S. aureus resistente alla meticillina-(MRSA)", sono resistenti a tutti gli agenti β -lattamici, comprese le cefalosporine e i carbapenemi, sebbene possano essere sensibili alla nuova classe di cefalosporine attive su MRSA (es. ceftarolina).¹

I ceppi MRSA sono resistenti a tutti i β -lattamici a causa della presenza del gene *mecA*, che codifica per una nuova proteina legante la penicillina (PBP2a) con bassa affinità per gli antibiotici β -lattamici. Questa resistenza consente alla biosintesi della parete cellulare, bersaglio dei β -lattamici, di proseguire anche in presenza di concentrazioni tipicamente inibitorie di antibiotico. Le resistenze non mediate da *mecA* (produzione di proteina PBP da parte del gene *mecC*, inattivazione del farmaco mediante aumento della produzione di β -lattamasi, produzione di PBP intrinseche modificate con affinità alterata per il farmaco) si verificano solo raramente in *S.aureus*.²

Una caratteristica distintiva della resistenza alla meticillina è la sua natura eterogenea, con il livello di resistenza che varia a seconda delle condizioni di coltura e degli antibiotici β -lattamici utilizzati. Tutte le cellule in coltura possono trasportare le informazioni genetiche (*mecA*) per la resistenza, ma solo un piccolo numero può esprimere la resistenza *in vitro* (eteroresistenza).²

Oltre al test di microdiluzione in brodo, il Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) raccomanda una piastra contenente 6 μ g/ml di oxacillina in agar Mueller-Hinton addizionato con il 4% di NaCl o il test di diffusione con disco di cefoxitina, come metodi alternativi per riconoscere i ceppi MRSA.³

Oxacillin-Salt Screen Agar è costituito da Mueller Hinton Agar addizionato di cloruro di sodio per migliorare la crescita delle popolazioni MRSA. L'oxacillina è inclusa come penicillina antistafilococcica stabile alla β -lattamasi; il suo utilizzo è preferito alla meticillina perché è più resistente alla degradazione durante la conservazione e perché è più probabile che rilevi ceppi di stafilococchi eteroresistenti. Oxacillin-Salt Screen Agar viene utilizzato per il rilevamento della resistenza all'oxacillina di *S.aureus* mediata da *mecA* ed i risultati applicati ad altri agenti β -lattamici, ovvero penicilline, combinazioni di β -lattamici, cefemi (ad eccezione della ceftarolina) e carbapenemi.³

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in piastra	terreno limpido di colore giallo chiaro
pH finale a 25 °C	7,3 \pm 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Oxacillin-Salt Screen Agar	Piastre pronte all'uso	549510	2 x 10 piastre \varnothing 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio, anse e tamponi sterili da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

7 - CAMPIONI

 Oxacillin-Salt Screen Agar è inoculato con colture pure di ceppi clinici identificati presuntivamente come *S.aureus*. Il terreno non è da utilizzare per l'isolamento microbico da campioni clinici.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

- Preparare la sospensione dell'inoculo selezionando le colonie da una crescita *overnight* su piastra di terreno non selettivo.
- Trasferire le colonie in Tryptic Soy Broth o soluzione salina per preparare una sospensione con torbidità pari a McFarland 0,5.
- Utilizzando un'ansa da 1 μ L immersa nella sospensione, seminare un'area di 10-15 mm di diametro. In alternativa, utilizzando un tampone immerso nella sospensione ed eliminando il liquido in eccesso, seminare un'area simile o strisciare su un intero quadrante.
- Incubare per 24 ore complete a 33-35°C in condizioni aerobiche (i ceppi MRSA potrebbero non essere rilevati con l'incubazione a temperatura superiore a 35°C)





9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare attentamente le piastre incubate con luce trasmessa.

Ceppo resistente (MRSA): presenza di più di 1 colonia o leggero film di crescita.

Ceppo suscettibile (MSSA): assenza di colonie o presenza di una sola colonia.

Nella refertazione dei risultati considerare che i ceppi MRSA sono resistenti a tutti gli antibiotici β -lattamici ad eccezione della ceftarolina.³

10 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità³

CEPPI DI CONTROLLO		INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>S.aureus</i>	ATCC 29213	33-35°C / 24H / A	Sensibile: assenza di crescita
<i>S.aureus</i>	ATCC 43300	33-35°C / 24H / A	Resistente: presenza di crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di piastre pronte per l'uso di Oxacillin-Salt Screen Agar è testato per le caratteristiche prestazionali con un ceppo sensibile all'oxacillina (*S.aureus* ATCC 29213) e con un ceppo resistente (*S.aureus* ATCC 43300). Dopo incubazione a 33-35 ° C per 24 ore in aerobiosi, *S.aureus* ATCC 43300 sviluppa una crescita mentre *S.aureus* ATCC 29213 è completamente inibito.

12 - LIMITI DEL METODO

- Se eseguito correttamente, il metodo di screening con Oxacillin-Salt Screen Agar rileva la maggior parte dei ceppi di *S.aureus mecA*-positivi. Occasionalmente non vengono rilevati ceppi *mecA*-positivi eteroresistenti, in parte a causa della bassa frequenza di espressione della resistenza.^{4,5}
- Il terreno potrebbe non rilevare ceppi con resistenza *borderline* non mediata da *mecA*.²
- Le cellule che esprimono eteroresistenza crescono più lentamente rispetto alla popolazione sensibile all'oxacillina e possono essere perse a temperature superiori a 35°C.¹
- Occasionalmente, ceppi di *S.aureus* con MIC *borderline* possono non crescere entro 24 ore. Si consiglia di confermare eventuali risultati ambigui, mediante la determinazione della MIC con metodo standard.
- Oxacillin-Salt Screen Agar non può essere utilizzato per rilevare la resistenza all'oxacillina negli stafilococchi coagulasi negativi.⁶
- Insieme a Oxacillin-Salt Screen Agar, inoculare una piastra di agar sangue per valutare la vitalità e la purezza dei ceppi in esame.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).



**15 - BIBLIOGRAFIA**

- Centers for Disease Control. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Laboratory Testing. <https://www.cdc.gov/mrsa/lab/index.html>. Page last reviewed: February 6, 2019.
- Limbago BM, Swenson JM. Special phenotypic methods for detecting antimicrobial resistance. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 30th ed. CLSI supplement M100-S30. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
- Cavassini M, Wenger A, et al. Evaluation of MRSA-Screen, a simple anti-PBP 2a slide latex agglutination Kit, for rapid detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 1999; 37:1591
- Resende CA, Figueiredo AM. Discrimination of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from borderline-resistant and susceptible isolates by different methods. J Med Microbiol 1997; 46:145
- Tenover FC, Jones RN, Swenson JM, Zimmer B, McAllister S, Jorgensen JH. Methods for improved detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci: results of a multicenter study. J Clin Microbiol 1999; 37:4051

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Non riutilizzare	 Fragile maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	10/2020
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Rimozione della classificazione obsoleta	03/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

