

BD Oxacillin Screen Agar

TILSIGTET BRUG

BD Oxacillin Screen Agar (oprindeligt kaldt MRSA Screen Agar) blev udviklet til påvisning af methicillin-/oxacillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA). Da metoden til at påvise MRSA anvender samme inokulat som Bauer-Kirby proceduren til følsomhedstestning med antimikrobielle skiver, kan oxacillin screen-testen udføres på isolater samtidigt med rutinemæssig følsomhedstestning.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

Resistens mod penicillin i *S. aureus* blev hurtigt observeret, efter penicillin blev introduceret i slutningen af 1940'erne.¹ I slutningen af 1960'erne begyndte man at isolere methicillin-/oxacillin-resistente stammer af *S. aureus* i USA.²

Tre forskellige resistensmekanismer bidrager til oxacillin-resistens i *S. aureus*. Disse er (1) den klassiske type, som involverer produktion af et supplement af penicillinbindende protein (PBP), der indkodes af et kromosomalt *mecA*-gen, (2) hyperproduktion af β -lactamase og (3) produktion af modificerede PBP'er, som sænker organismers affinitet for β -lactam antibiotika.³

Karakteristika, der kan hjælpe med at differentiere de tre typer oxacillin- (methicillin-) resistens kan findes i *Manual of Clinical Microbiology*, 9. udg.³

Stammer, der har *mec*-genet (klassisk resistens), er resistente mod penicillinase-resistente penicilliner (PRP'er), såsom methicillin, oxacillin og nafcillin, og er enten homogene eller heterogene i deres resistensudtryk. Ved homogent udtryk udtrykker stort set alle celler resistens, når de testes med standard *in vitro* analyser. Ved heterogent udtryk forekommer nogle celler følsomme, og andre forekommer resistente. Ofte er det kun 1 ud af 10^4 til 1 ud af 10^8 celler i testpopulationen, der udtrykker resistens. Heterogent udtryk resulterer lejlighedsvis i MIC'er, der forekommer at være borderline, dvs. oxacillin MIC'er på 4-8 $\mu\text{g/mL}$. Isolater, der har klassisk resistens, er som regel resistente mod andre stoffer, såsom erythromycin, clindamycin, kloramfenikol, tetracyclin, trimethoprim-sulfamethoxazol, et quinolon eller et aminoglykosid.³ Resistens formidlet ved hyperproduktion af β -lactamase eller tilstedeværelse af modificerede PBP'er resulterer også i borderline-resistens. Isolater, der er resistente ved enten hyperproduktion af β -lactamase eller den modificerede PBP mekanisme, er som regel ikke resistente mod mange stoffer.³ Derudover, **vokser disse isolater sandsynligvis ikke på agar screenpladen.**³⁻⁵

Den methicillin-resistente population vokser langsommere, foretrækker en lavere inkubationstemperatur og en høj saltkoncentration.

BD Oxacillin Screen Agar består af Mueller Hinton Agar, som er et medium, der er blevet standardiseret til skivediffusionsproceduren til antimikrobiel følsomhedstestning af aerobe bakterier.⁶ Natriumklorid tilsættes for at forbedre væksten af de PRP-resistente subpopulationer. Oxacillin foretrækkes til påvisning af PRP resistens, fordi det er mere stabilt, og resultaterne er mere pålidelige (se Tabel 2C [M100 (M2)] og Tabel 2C i CLSI Document M100 [M7]).^{7,8}

REAGENSER

BD Oxacillin Screen Agar

Formel* pr. liter rensset vand

Oksekødsekstrakt	2,0 g	Oxacillin	0,006
Surt hydrolysat af kasein	17,5	Agar	17,0
Stivelse	1,5	pH 7,3 ± 0,2	
Natriumklorid	40,0		

* Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at leve op til funktionskriterier.

FORHOLDSREGLER

IVD . Kun til professionel brug. ⓧ

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på forringelse.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologisk risiko og bortskaffelse af det brugte produkt.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 – 8 °C i deres originale hylsterindpakning, lige indtil de skal bruges. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres op til udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokulér repræsentative prøver med nedenstående kulturer. Suspendér flere velisolerede kolonier af testorganismen fra en 18-24 timers pladekultur i et rør med **BD Trypticase Soy Broth** og justér klarheden til McFarland 0,5 standard. Plet-inokulér **BD Oxacillin Screen Agar** med 10 µL testsuspension med en mikropipette. Alternativt kan en vatpind mættes med testsuspension. Derefter presses overskydende væske forsigtigt ud mod rørets inderside. Udstryg pladen ved at trække vatpinden henover et område på ca. 2,5 cm. Inkluder en **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** eller **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** plade som ikke-selektiv vækstreference.

Inkubér pladerne aerobt ved 30 – 35 °C. Temperaturen må ikke overstige 35 °C. Pladerne inkuberes i fulde 24 timer.

Stammer	Vækstresultater
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Ingen vækst efter 24 timers inkubation (følsom)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Vækst efter 24 timers inkubation (resistent)
Ikke-inokuleret	Lys ravgul, klar til meget let opak

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD Oxacillin Screen Agar (90 mm **Stacker** plates). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Prøvetyper

Dette medium må ikke anvendes til isolering af MRSA/ORSA fra kliniske prøver. Dette medium skal i stedet inokuleres med rene kulturer af isolater, der er formodet identificeret som en *Staphylococcus aureus* (se **Testprocedure** og **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Testprocedure

1. Foretag formodet identifikation af isolatet som et *Staphylococcus aureus*, dvs. ved koagulase-testning med plader eller rør (eller ved fuldstændig biokemisk identifikation).

2. Klargør inokulatet ved at suspendere flere velisolerede kolonier af *S. aureus* testisolatet fra en 18-24 timers pladekultur ind i et rør med et velegnet bouillonmedium, såsom **Trypticase Soy Broth**, og justér klarheden til McFarland 0,5 standard.
3. Plet-inokulér **BD Oxacillin Screen Agar** med 10 µL testsuspension med en mikropipette.
4. Alternativt kan en vatpind mættes med testsuspension. Derefter presses overskydende væske forsigtigt ud mod rørets inderside. Udstryg pladen ved at trække vatpinden henover et område på ca. 2,5 cm.
Inkludér en **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** eller **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** plade som ikke-selektiv vækstkontrol.
5. Test- og kontrolpladerne kan indeles i flere kileformede sektorer ved at markere bunden af pladerne. Flere isolater kan testes på hver plade. Men hver plade må kun anvendes og inkuberes én gang. **BD Oxacillin Screen Agar MÅ IKKE GENBRUGES OG GENINKUBERES.**
6. Inkubér pladerne ved 30 – 35 °C i **fulde 24 timer. Temperaturen må ikke overstige 35 °C.**

Resultater

Efter inkubation observeres pladerne for vækst. Bemærk, at plader med dette medium skal undersøges grundigt. Meget små kolonier, selv én koloni, indikerer, at isolatet er methicillin- (oxacillin-) resistent. Ingen vækst indikerer, at organismen er følsom for PRP'er (methicillin, nafcillin og oxacillin). Isolater, der vokser på Oxacillin Screen Agar, skal rapporteres som resistente overfor alle β-lactam antimikrobielle stoffer, inklusive β-lactam/β-lactamase hæmningskombinationer og cefalosporiner.

Bemærk: Informative supplementer til CLSI Document M2 eller reviderede versioner, der indeholder reviderede tabeller over antimikrobielle skiver og tolkningsstandarder, udgives jævnligt. De nyeste tabeller bør konsulteres for aktuelle anbefalinger. De komplette standard- og informative supplementer kan bestilles fra Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA. Telefon: ++1-610-688-1100.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD Oxacillin Screen Agar er et standardmedium til påvisning af methicillin-/oxacillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA).^{3,6-8}

Interne undersøgelser har vist, at der er en forskel i inokulatstørrelse, hvis man hhv. inokulerer med 10 µL testsuspension med en mikropipette og inokulerer pladen med en vatpind.

Sandsynligheden for tilsynekomst af den resistente subpopulation er større i store populationer af bakterielle celler. Påvisning af resistens, specielt med den heterogent resistente population, forbedres med det større inokulat, der kan opnås ved at bruge en mikropipette og inokulere pladen med 10 µL.⁹

Ethvert isolat, der vokser på dette medium, skal testes kvantitativt med bouillon- eller agarfortynding eller med molekylære metoder (bestemmelse af *mecA*-genet) for at bekræfte oxacillin-resistens såvel som resistens mod andre antimikrobielle stoffer, der er karakteristiske for MRSA, såsom kloramfenikol, clindamycin, erythromycin, gentamicin og tetracyclin.

Præstationsresultater⁹

Ved en feltundersøgelse på et stort hospital i en storby blev 152 *S. aureus* isolater testet på **BD Oxacillin Screen Agar** (tidligere MRSA Screen Agar) og sammenlignet med en referenceagar-fortyndingsprocedure for methicillin-følsomhed. I alt 121 isolater blev fundet at være følsomme med begge metoder. Der var 30 isolater, der blev fundet resistente (MRSA) med begge metoder. Det ene tilbageblevne isolat voksede på MRSA Screen Agar, men var følsom for methicillin. Derfor var sensitiviteten af testen 100, og specificiteten var 99,2 %.

Procedurens begrænsninger

S. aureus isolater med borderline resistente MIC'er vokser nogle gange ikke indenfor 24 timer. Det anbefales, at equivokale resultater fra screeningpladen, bekræftes med en standard MIC-test.

Dette medium må ikke anvendes til isolering af MRSA direkte fra kliniske prøver.

Brugen af **BD Oxacillin Screen Agar** til påvisning af methicillin-/oxacillin-resistente koagulase-negative stafylokokker anbefales ikke.

LITTERATUR

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

EMBALLERING/BESTILLING

BD Oxacillin Screen Agar

Kat. nr. 257658 Plademedier klar til brug, 20 plader

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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