

BD Oxacillin Screen Agar

HASZNÁLATI JAVASLAT

A **BD Oxacillin Screen Agar** [oxacillin-szűrő agar; korábbi neve: MRSA Screen Agar (MRSA-szűrő agar)] a methicillin/oxacillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) kimutatására fejlesztették ki. Mivel az MRSA kimutatására szolgáló módszerhez ugyanaz az inokulátum szükséges, mint a Bauer-Kirby lemezes antibiotikumérzékenységi eljáráshoz, az oxacillin-szűrő tesztet kényelmesen el lehet végezni az izolátumokon a rutin érzékenységi tesztekkel egyidejűleg.

AZ ELJÁRÁS ELVE ÉS MAGYARÁZATA

Mikrobiológiai módszer.

A *S. aureus* penicillinrezisztenciáját megfigyelték nem sokkal a penicillinnek az 1940-es évek végén történt bevezetése után.¹ Az 1960-as évek végén kezdték izolálni az Egyesült Államokban a *S. aureus* methicillin/oxacillin -rezisztens törzseit.

A *S. aureus* oxacillin-rezisztenciáját három különböző mechanizmus okozhatja. Ezek: (1) a klasszikus típus, amely egy további penicillin kötő fehérje (PBP) termelésével jár, amelyet a kromoszóma *mecA* génje kódol, (2) a β -laktamáz fokozott mennyiségű termelése és (3) módosított PBP-k termelése, amelyek csökkentik a baktérium affinitását a β -laktám antibiotikumok iránt.³

A methicillin/oxacillin-rezisztencia három típusának elkülönítésében útmutatást adó jellemzőket ismertet a *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed.³

A *mec* génnel rendelkező törzsek (klasszikus típusú rezisztencia) rezisztensek a penicillináz-rezisztens penicillinekkel (PRP), például a methicillinnel, oxacillinnel és a nafcillinnel szemben, és a rezisztencia expressziójában vagy homogének, vagy heterogének. Homogén expresszió esetén gyakorlatilag az összes sejt rezisztenciát mutat a hagyományos *in vitro* tesztek során. Heterorezisztens expresszió esetén egyes sejtek érzékenyek, más sejtek pedig rezisztensek mutatkoznak. Gyakran a vizsgált sejtpopulációban 10^4 – 10^8 sejt közül csak egy mutat rezisztenciát. A heterogén expresszió esetenként határeseti MIC-értéket eredményez, például oxacillin esetében 4–8 $\mu\text{g/mL}$ -es MIC-t. A klasszikus rezisztenciával rendelkező izolátumok általában rezisztensek más szerekre, így az erythromycinre, a clindamycinre, a chloramphenicolra, a tetracyclinre, a trimethoprim-sulfamethoxazol kombinációra, a kinolonokra és az aminoglikozidokra.

A β -laktamáz fokozott termelése és a módosított PBP jelenléte által okozott rezisztencia is általában határeseti rezisztenciát eredményez. A β -laktamáz fokozott termelése vagy a módosított PBP jelenléte miatt rezisztens izolátumoknál általában nincs többszörös rezisztencia.³ Ezen kívül **ezek az izolátumok valószínűleg nem nőnek ki a szűrési agarlemezen.**

A methicillinrezisztens populáció lassabban nő, előnyben részesíti az alacsonyabb inkubációs hőmérsékletet és a nagy sókoncentrációt.

A **BD Oxacillin Screen Agar** Mueller Hinton agarból áll, amely táptalaj standardizálva van az aerob baktériumok antibiotikumérzékenységi teszteléséhez használt korongdiffúziós eljárásra.⁶ A táptalaj ki van egészítve nátrium-kloriddal, amely javítja a PRP-rezisztens részpopulációk növekedését. A PRP rezisztenciájának kimutatására az oxacillint kell előnyben részesíteni, mert stabilabb, és az alkalmazásával kapott eredmények megbízhatóbbak [lásd a 2C táblázatot az M100 (M2) és a 2C táblázatot az M100 (M7) CLSI-dokumentumban].^{7,8}

REAGENSEK

BD Oxacillin Screen Agar

1 liter szűrt vízre vonatkoztatott összetétel*

Marhahúskivonat	2,0 g	Oxacillin	0,006
Kazein savas hidrolizátuma	17,5	Agar	17,0
Keményítő	1,5	pH 7,3±0,2	
Nátrium-klorid	40,0		

*Úgy beállítva és/vagy összekeverve, hogy megfeleljen a működési követelményeknek.

FIGYELMEZTETÉS

IVD . Használata szakértelmet igényel. ⓧ

Ne használja a lemezeket, ha azokon mikrobiális szennyeződést, elszíneződést, kiszáradást és betöredezést, illetve a károsodás bármilyen más jelét észleli.

A steril munkával, a biológiai veszélyekkel és a használt termékek kidobásával kapcsolatban olvassa el az **ÁLTALÁNOS HASZNÁLATI ÚTMUTATÓT**.

TÁROLÁS ÉS ELTARTHATÓSÁG

Átvétel után felhasználásig, a lemezeket sötét helyen, 2-8°C-on az eredeti lezárt tasakban tárolja. Kerülni kell a lemezek megfagyását, illetve túlmelegedését. A lemezeket a lejáratú időn belül kell inokulálni (lásd: csomagolás címkéje) és az előírt inkubációs időt be kell tartani.

A felbontott 10-es csomagolás lemezeit, tiszta helyen, 2-8°C-on tárolva, egy héten belül fel kell használni.

FELHASZNÁLÓI MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Oltson be reprezentatív mintákat a lent felsorolt törzsekkel. Szuszpendáljon a tesztelendő mikroorganizmusból több, jól elkülönülő telepet egy 18–24 órás lemezes tenyészetéről **Tripticase Soy Broth** (triptikáz szójaleves) tápközeget tartalmazó csőben, és állítsa be a turbiditását úgy, hogy megegyezzen a 0,5 McFarland turbiditási standarddal. Mikropipettával egy ponton oltsa be a **BD Oxacillin Screen Agar** 10 µl tesztelendő szuszpenzióval. Másik lehetőség, hogy telítsen egy pamuttampont a tesztelendő szuszpenzióval, és óvatosan préselje ki belőle a folyadékot a cső belső falához nyomva. Szélessze szét az izolátumot a lemezen a tamponnal egy körülbelül 2,5 cm-es területen. Nem szelektív növekedési összehasonlításként használjon **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood** (triptikáz szójaagar II 5% juhvérral; **TSA II**) vagy **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Columbia agar 5% juhvérral) lemezt. Inkubálja a lemezeket 30–35°C-on aerob körülmények között. Az inkubáció hőmérséklete ne haladja meg a 35°C-t. Inkubálja a lemezeket teljes 24 óráig.

Törzsek	Növekedési eredmény
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Nincs növekedés 24 órás inkubáció után (érzékeny)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Van növekedés 24 órás inkubáció után (rezisztens)
Nem inokulált	Világos borostyánszínű, tiszta – enyhén opalizáló

ELJÁRÁS

Szállított anyagok

BD Oxacillin Screen Agar (90 mm-es **Stacker** lemezek). Mikrobiológiailag ellenőrizve.

Nem szállított anyagok

Kiegészítő táptalajok, reagensek és laboratóriumi eszközök, az előírásoknak megfelelően.

Minták típusa

Ez a tápközeget nem az MRSA/ORSA klinikai mintákból történő izolálására szolgál. A tápközeget a feltételezhetően *Staphylococcus aureus*ként azonosított izolátumok tiszta tenyészetével kell

beoltani (lásd **A vizsgálat kivitelezése** és a **TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI** részeket).

A vizsgálat kivitelezése

1. Előzetesen azonosítsa az izolátumot *Staphylococcus aureus*ként, például lemezen vagy csőben végzett koaguláz-teszteléssel (vagy teljes biokémiai azonosítással).
2. Az inokulátum előkészítéséhez szuszpendálja a *S. aureus* tesztelési izolátum több, jól elkülönülő telepét egy 18–24 órás lemezes tenyészetéről megfelelő táplevest tartalmazó csőben, például **Trypticase Soy Broth**-ban, és állítsa be a turbiditását úgy, hogy megegyezzen a 0,5 McFarland turbiditási standarddal.
3. Mikropipettával egy ponton oltsa be a **BD Oxacillin Screen Agar** táptalajt 10 µl tesztelendő szuszpenzióval.
4. Másik lehetőség, hogy telítsen egy tampon a tesztelendő szuszpenzióval, és óvatosan préselje ki belőle a folyadékot a cső belső falához nyomva. Szélessze szét az izolátumot a lemezen a tamponnal egy körülbelül 2,54 cm-es területen.
5. Nem szelektív növekedési összehasonlítóként használjon **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** vagy **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** lemezt.
6. A tesztelési és a kontrollemezek több ék alakú területre oszthatók a lemez alján történő jelöléssel. Egy lemezen több izolátumot is lehet tesztelni. Viszont minden lemezt csak egyszer szabad használni és beoltani. **NE HASZNÁLJA ÚJRA, ÉS NE INKUBÁLJA ÚJRA a BD Oxacillin Screen Agart.**
7. Inkubálja a lemezeket 30–35°C-on **teljes 24 óráig. Az inkubáció hőmérséklete ne haladja meg a 35°C-t.**

Eredmények

Az inkubációs idő leteltével ellenőrizze a lemezeket a növekedés szempontjából. Vegye figyelembe, hogy ezt a táptalajt alaposan meg kell vizsgálni. Az igen kis méretű telepek, és egyetlen telep jelenléte is azt jelzi, hogy az izolátum methicillin/oxacillin-rezisztens. A növekedés elmaradása azt jelzi, hogy a mikroorganizmus érzékeny a PRP-kre (methicillin, nafcillin és oxacillin). Az Oxacillin Screen Agaron kinövő izolátumokat az összes β -laktám antibiotikumra rezisztensnek kell tekinteni, beleértve a β -laktám/ β

Megjegyzés: Az CLSI dokumentum M2 fejezetének kiegészítései, vagy az átdolgozott változatai, melyek az antimikrobiális korongok módosított táblázatait és az értelmezési standardokat tartalmazzák, időszakosan jelennek meg. Az aktuális ajánlásokról a legfrissebb táblázatokból értesülhet. A teljes standard és a kiegészítő anyagok megrendelhetők: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA. Telefon: ++1-610-688-1100.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK ÉS AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

A **BD Oxacillin Screen Agar** a methicillin/oxacillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) kimutatására szolgáló szabványos táptalaj.^{3,6-8}

A gyártó saját laboratóriumában elvégzett vizsgálatok eredményei szerint az inokulátum mérete eltérő a lemez 10 µl tesztelni való szuszpenzióval, illetve tamponnal történő inokulációja esetén. Nagy mennyiségű baktériumsejt jelenléte esetén nagyobb a rezisztens részpopuláció megjelenésének valószínűsége. A rezisztencia kimutatása, különösen a heterogén módon rezisztens populáció esetében, megbízhatóbban elvégezhető mikropipettával, nagyobb mennyiségű, 10 µl inokuláttal végzett inokuláció esetén.

A táptalajon mindegyik izolátumot kvantitatív módon tesztelni kell tápleves- vagy agarhígításos módszerrel vagy molekuláris módszerekkel (a *mecA* gén meghatározásával) az oxacillin-rezisztencia megállapításához, valamint az MRSA-ra jellemző más antibiotikum-rezisztenciák (például chloramphenicol, clindamycin, erythromycin, gentamicin és tetracyclin elleni rezisztencia) meghatározásához.

Teljesítményjellemzők⁹

Egy nagy városi kórházban végzett terepvizsgálat során 152 *S. aureus*-izolátumot teszteltek **BD Oxacillin Screen Agar** (korábban MRSA Screen Agar) táptalajon, és az eredményt összevetették a methicillin-rezisztencia agarhígításos módszerének eredményeivel. Összesen 121 izolátumot találtak érzékenynek mindkét módszerrel. 30 izolátumot találtak rezisztensnek

(MRSA) mindkét módszerrel. A fennmaradó egy izolátum kinőtt az MRSA Screen Agaron, azonban methicillin-érzékeny volt. Tehát a teszt szenzitivitása 100% és a specificitása 99,2%.

Az eljárás korlátai

Esetenként a határeseti rezisztenciára jellemző MIC-értékű *S. aureus*-izolátumok nem nőnek ki 24 órán belül. Javasolt a szűrőlemezen kapott nem teljesen egyértelmű eredményeket standard MIC-vizsgálattal megerősíteni.

Ez a tápközeg nem használható az MRSA/ORSA közvetlenül klinikai mintákból történő izolálására.

Nem javasolt a **BD Oxacillin Screen Agar** alkalmazása a methicillin/oxacillin-rezisztens, koaguláz-negatív staphylococcusok szűrésére.

IRODALOMJEGYZÉK

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

CSOMAGOLÁS/KISZERELÉS

BD Oxacillin Screen Agar

Kat. sz. 257658

Használatra kész táptalajok, 20 db/csomag

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

További információkért forduljon a BD helyi képviselőjéhez.



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