

BD Oxacillin Screen Agar

НАЗНАЧЕНИЕ

Среда **BD Oxacillin Screen Agar** (первоначальное название: MRSA Screen Agar) была разработана для обнаружения устойчивых к метициллину/оксациллину бактерий *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA). Поскольку в методе для обнаружения MRSA используется такой же посев, как в дисковой процедуре тестирования на чувствительность к противомикробным препаратам Бауэра-Кирби (Bauer-Kirby), отсеивающий тест на устойчивость к оксациллину может оказаться удобным для одновременного стандартного тестирования изолятов на чувствительность.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Устойчивость к пенициллину бактерий *S. aureus* была замечена сразу после выпуска пенициллина в конце 40-х годов.¹ С конца 60-х годов метициллин/оксациллин-устойчивые штаммы *S. aureus* начали изолировать в Соединенных Штатах.²

В микроорганизмах *S. aureus* бывают три различных механизма устойчивости к оксациллину. Бывают следующие механизмы: (1) классический тип, включающий выработку дополнительного пенициллинсвязывающего белка (PBP), который закодирован хромосомным геном *mecA*, (2) повышенная выработка бета-лактамазы и (3) выработка модифицированных пенициллинсвязывающих белков, которые снижают сродство микроорганизмов в присутствии бета-лактамных антибиотиков.³

Описание характеристик, которые могут помочь в дифференцировании трех типов устойчивости к оксациллину (метициллину), приведено в документе *Manual of Clinical Microbiology* (Руководство по клинической микробиологии), 9^{ое} издание, 1181 стр.³

Штаммы, имеющие ген *mec* (устойчивость классического типа), устойчивы к пенициллинам, устойчивым к действию пенициллиназы (PRP), таким как метициллин, оксациллин и нафциллин, и являются либо однородными, либо неоднородными в выражении устойчивости. В случае однородного выражения практически все клетки демонстрируют устойчивость во время тестирования стандартными методами *in vitro*. В случае неоднородного выражения некоторые клетки выглядят как чувствительные, а другие — как устойчивые. Чаще всего только 1 из 10⁴ или 1 из 10⁸ клеток в тестовой популяции выражает устойчивость. Неоднородное выражение периодически приводит к минимальным подавляющим концентрациям, которые кажутся пограничными; т. е. МПК оксациллина составляет от 4 до 8 мкг/мл. Изоляты, обладающие классической устойчивостью, обычно устойчивы к другим препаратам, таким как эритромицин, клиндамицин, хлорамфеникол, тетрациклин, триметоприм-сульфаметоксазол, хинолон или аминогликозид.³

Устойчивость, вызванная повышенной выработкой бета-лактамазы или наличием модифицированных пенициллинсвязывающих белков, также приводит к пограничной устойчивости. Изоляты, которые устойчивы за счет повышенной выработки бета-лактамазы или наличия модифицированных пенициллинсвязывающих белков, обычно не обладают устойчивостью к нескольким препаратам.³⁻⁵ Кроме того, **рост этих изолятов в чашке отсеивающего агара маловероятен.**

Устойчивые к метициллину популяции растут более медленно, предпочитают более низкую температуру инкубации и высокую концентрацию солей.

Агар **BD Oxacillin Screen Agar** состоит из агара Мюллера-Хинтона Mueller Hinton Agar, который является средой, стандартизированной для диско-диффузионной процедуры тестирования чувствительности аэробных бактерий к противомикробным препаратам.⁶ Хлорид натрия добавлен для улучшения роста PRP-устойчивых популяций. Оксациллин

предпочтительнее использовать для обнаружения PRP-устойчивости, поскольку он дает более стабильные и надежные результаты (см. табл. 2С [M100 (M2)] и табл. 2С в документе CLSI M100 [M7]).^{7,8}

РЕАГЕНТЫ

BD Oxacillin Screen Agar

Рецептура* на литр очищенной воды

Мясной экстракт	2,0 г	Оксациллин	0,006
Кислотный гидролизат казеина	17,5	Агар	17,0
Крахмал	1,5	pH 7,3 ± 0,2	
Натрия хлорид	40,0		

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD Только для профессионального применения. 

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °C в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °C.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы перечисленными ниже культурами. Подготовьте посевной материал путем суспендирования нескольких хорошо изолированных колоний тестового изолята *S. aureus* из выдержанной в течение 18 – 24 ч культуры в пробирке с подходящей питательной средой, такой как триптиказо-соевый бульон **BD Trypticase Soy Broth**, и отрегулируйте мутность до соответствия уровню 0,5 единиц по стандарту Макфарланда. С помощью микропипетки введите в агар **BD Oxacillin Screen Agar** 10 мкл тестовой суспензии. В качестве альтернативного способа пропитайте ватный тампон тестовой суспензией и осторожно прижмите к внутренней стенке пробирки, чтобы выжать избыток жидкости. Засейте штрихами путем проведения тампоном по площади, приблизительно равной 2,5 см. Включите в исследование триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** или колумбийский агар с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** в качестве неселективной эталонной среды роста.

Инкубируйте чашки в аэробных условиях при температуре 30 – 35 °C. Не превышайте предел в 35 °C. Инкубируйте чашки в течение полного 24-часового периода.

Штаммы	Результаты роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Отсутствие роста после 24 ч инкубации (чувствительные)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Рост после 24 ч инкубации (устойчивые)
Незасеянные	Светло-янтарный цвет, прозрачные или слегка матовые

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD Oxacillin Screen Agar (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов

Эта среда не предназначена для изоляции MRSA/ORSA из клинических образцов. Вместо этого среда засеивается чистыми культурами изолятов, предположительно идентифицированных как *Staphylococcus aureus* (см. также **Методика тестирования и ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**).

Методика тестирования

1. Предположительно идентифицируйте изолят как *Staphylococcus aureus*, например, с помощью теста на коагулазу на стеклах или в пробирках (или посредством полной биохимической идентификации).
2. Подготовьте посевной материал путем суспендирования нескольких хорошо изолированных колоний тестового изолята *S. aureus* из выдержанной в течение 18 – 24 ч культуры в пробирке с подходящей питательной средой, такой как триптиказо-соевый бульон **Trypticase Soy Broth**, и отрегулируйте мутность до соответствия уровню 0,5 единиц по стандарту Макфарланда.
3. С помощью микропипетки введите в среду **BD Oxacillin Screen Agar** 10 мкл тестовой суспензии.
4. В качестве альтернативного способа пропитайте тампон тестовой суспензией и осторожно прижмите к внутренней стенке пробирки, чтобы выжать избыток жидкости. Засейте штрихами путем проведения тампоном по площади, приблизительно равной 1 дюйму (2,54 см).
Включите в исследование триптиказо-соевый агар с 5 % овечьей крови **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** или колумбийский агар с 5 % овечьей крови **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** в качестве неселективной контрольной среды роста.
5. Тестовые и контрольные чашки должны быть поделены на несколько клинообразных секторов путем нанесения отметок на дно чашки. В каждой чашке можно тестировать несколько изолятов. Однако использовать и инкубировать каждую чашку можно только один раз. НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ ПОВТОРНО И НЕ ИНКУБИРУЙТЕ ПОВТОРНО агар **BD Oxacillin Screen Agar**.
6. Инкубируйте чашки при температуре 35 – 35 °C в течение **полного 24-часового периода. Не превышайте температуру 35 °C.**

Результаты

После инкубации исследуйте чашки на наличие роста. Обратите внимание, что чашки с этой средой должны быть тщательно исследованы. Кроме того, очень малочисленные колонии, даже одна колония, показывают, что изолят является устойчивым к метициллину (оксациллину). Отсутствие роста показывает, что микроорганизм чувствителен к пенициллинам, устойчивым к действию пенициллиназы (метициллину, нафциллину и оксациллину). Изоляты, которые растут в агаре Oxacillin Screen Agar, должны быть записаны, как устойчивые ко всем бета-лактамам противомикробным препаратам, включая комбинации бета-лактамов и ингибиторов бета-лактамазы и цефалоспорины.

Примечание. Периодически публикуются информационные дополнения к документу M2 CLSI, а также его пересмотренные версии, содержащие измененные таблицы с данными о противомикробных дисках и стандартах интерпретации. Текущие рекомендации см. в последних версиях таблиц. Полный текст стандартов и информационных дополнений можно запросить в Институте клинических и лабораторных стандартов США (CLSI) по адресу: 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA. Телефон: +1-610-688-1100. Сайт: www.clsi.org

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Среда **BD Oxacillin Screen Agar** — это стандартная среда для обнаружения устойчивых к метициллину/оксациллину бактерий *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA).^{3,6–8}

Внутренние исследования показали, что существует разница в размере засева между методами засева путем добавления 10 мкл тестовой суспензии с помощью микропипетки и засевом чашки тампоном. Вероятность появления устойчивой субпопуляции выше в крупной популяции бактериальных клеток. Обнаружение устойчивости, особенно в случае неоднородно устойчивой популяции, улучшается при более крупном засеве, который обеспечивается добавлением 10 мкл суспензии с помощью микропипетки.⁹

Любой изолят, который размножается в этой среде, должен быть протестирован с помощью количественного метода путем разведения бульона или агар а либо с помощью молекулярных методов (обнаружение гена *mecA*), чтобы подтвердить устойчивость к оксациллину, а также устойчивость к другим противомикробным препаратам, таким как хлорамфеникол, клиндамицин, эритромицин, гентамицин и тетрациклин, что является характерной особенностью MRSA (метициллин-устойчивого золотистого стафилококка).

Результаты определения эффективности⁹

В ходе испытаний в больнице крупного города 152 изолята *S. aureus* были протестированы на устойчивость к метициллину двумя способами: в среде **BD Oxacillin Screen Agar** (которая раньше называлась MRSA Screen Agar) и в растворе эталонного агара. С помощью обоих методов 121 изолят был признан чувствительным. 30 изолятов признаны устойчивыми к метициллину (MRSA) в обоих методах. Один оставшийся изолят показал рост в агаре MRSA Screen Agar, но оказался чувствительным к метициллину. Таким образом, чувствительность теста составила 100, а специфичность 99,2 %.

Ограничения применения методики

Иногда колонии изолятов *S. aureus* с минимальной подавляющей концентрацией (МПК) пограничной устойчивости могут не вырасти в течение 24 ч. Рекомендуется, чтобы любые неоднозначные результаты, продемонстрированные в чашке отсеивающего агара, были подтверждены с помощью стандартного теста МПК.

Эта среда не должна использоваться для изоляции MRSA непосредственно из клинических образцов.

Использование среды **BD Oxacillin Screen Agar** для обнаружения устойчивых к метициллину/оксациллину коагулаза-отрицательных стафилококков не рекомендуется.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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. Данные из архива. Компания BD Diagnostic Systems, г. Спаркс, Мэриленд, США

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD Oxacillin Screen Agar

№ по каталогу 257658 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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 property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD