



BD Oxacillin Screen Agar

POUŽITIE

BD Oxacillin Screen Agar (Pôda BD na skrining oxacilínu) (pôvodný názov MRSA Screen Agar) bola vyvinutá na detekciu organizmov *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) rezistentných voči metilicilínu/oxalicilínu. Pri tejto metóde detekcie baktérií MRSA sa používa rovnaká očkovacia kultúra ako pri diskovom teste citlivosti na antibiotiká Bauer-Kirby, oxacilínový skriningový test možno na izolátoch pohodlne vykonať zároveň s rutinným testovaním citlivosti.

PRINCÍPY A VYSVETLENIE POSTUPU

Mikrobiologická metóda.

Rezistencia baktérií *S. aureus* voči penicilínu bola pozorovaná čoskoro po uvedení penicilínu v druhej polovici 40. rokov 20. storočia.¹ V 60. rokoch 20. storočia sa v Spojených štátoch začalo s izoláciou kmeňov *S. aureus* rezistentných voči metilicilínu/oxacilínu.²

K rezistencii *S. aureus* voči oxacilínu prispievajú tri rôzne mechanizmy rezistencie. Patria sem (1) klasický typ, ktorý zahŕňa produkciu doplnkového proteínu viažuceho penicilín (PBP), ktorý je zakódovaný chromozómovým génom *mecA*, (2) rýchlu produkciu β -laktamázy a (3) produkciu modifikovaných PBP, ktoré znižujú afinitu organizmov pre β -laktámové antibiotiká.³

Charakteristiky, ktoré môžu pomôcť diferencovať tieto tri typy rezistencie voči oxacilínu (metilicilínu), sú popísané v príručke *Manual of Clinical Microbiology*, 9. vyd.³

Kmene obsahujúce gén *mec* (klasická rezistencia) sú rezistentné voči penicilináza-rezistentným penicilínom (PRP), ako je napríklad metilicilín, oxacilín a nafcilín, a vo vyjadrení rezistencie sú homogénne alebo heterogénne. V rámci homogénneho vyjadrenia v skutočnosti všetky bunky vykazujú rezistenciu pri testovaní štandardnými testmi *in vitro*. V rámci heterorezistentného vyjadrenia sa niektoré bunky javia ako citlivé a iné ako rezistentné. Často vykazuje rezistenciu len 1 bunka z 10^4 až 1 bunka z 10^8 v testovanej populácii. Heterogénne vyjadrenie má niekedy za následok MIC, ktoré sa javia ako hranične rezistentné, napríklad oxacilínové MIC s hodnotou 4 až 8 $\mu\text{g/ml}$. Klasicky rezistentné izoláty sú obvyčajne rezistentné voči iným činidlám, napríklad erythromycínu, klindamycínu, chloramfenikolu, tetracyklínu, trimethoprim-sulfametoxazolu, quinolónu alebo aminoglykozidu.³

Rezistencia sprostredkovaná rýchlou produkciou β -laktamázy alebo prítomnosťou modifikovaných PBP má tiež za následok hraničnú rezistenciu. Izoláty rezistentné rýchlou produkciou β -laktamázy alebo mechanizmom modifikovaného PBP obvyčajne nie sú rezistentné voči viacerým liečivám.³ Ďalej, **je nepravdepodobné, že tieto izoláty budú rásť na agare.**³⁻⁵ Populácia rezistentná voči metilicilínu rastie pomalšie, uprednostňuje nižšiu teplotu inkubácie a vysokú koncentráciu solí.

BD Oxacillin Screen Agar obsahuje pôdu Mueller Hinton Agar, čo je štandardizovaná pôda pre diskovú difúziu na testovanie citlivosti aeróbných baktérií na antibiotiká.⁶ Je v nej prídavok chloridu sodného na zlepšenie rastu subpopulácii rezistentných voči PRP. Na detekciu rezistencie voči PRP sa uprednostňuje oxacilín, pretože je stabilnejší a výsledky sú spoľahlivejšie (pozri Tabuľku 2C [M100 (M2)] a Tabuľku 2C v dokumente komisie CLSI M100 [M7]).^{7,8}

ZLOŽENIE

BD Oxacillin Screen Agar

Zloženie* na jeden liter deionizovanej vody

Hovädzí extrakt	2,0 g	Oxacilín	0,006
Kyslý kazeínový hydrolyzát	17,5	Agar	17,0
Škrob	1,5	pH 7,3 $\pm$ 0,2	
Chlorid sodný	40,0		

*Upravené alebo doplnené podľa potreby, aby boli splnené analytické parametre.

UPOZORNENIA

IVD . Iba na profesionálne použitie. 

Pôdu nepoužívajte, ak nesie známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia, prasknutia alebo iné znaky poškodenia.

Ďalšie informácie o postupoch pri práci s aseptikami, o biologicky nebezpečnom odpade a likvidácii použitého produktu nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Prijaté misky s pôdou uskladňujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C v pôvodnom obale až do začiatku používania. Nezmrazujte a nevystavujte nadmerným teplotám. Misky môžu byť naočkované až do dňa expirácie (uvedeného na obale) a môžu byť inkubované podľa odporúčaní.

Pôdy z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň (ak sú uskladnené na čistom mieste pri teplote 2 až 8 °C).

KONTROLA KVALITY UŽÍVATEĽOM

Naočkujte reprezentatívne vzorky kultúrami uvedenými nižšie. Suspendujte niekoľko dobre izolovaných kolónií testovaného organizmu z misky inkubovanej 18 až 24 hodín do skúmavky s bujónom **BD Trypticase Soy Broth** a prispôbte mieru zákalu norme zákalu 0,5 McFarlanda. Mikropipetou naočkujte na pôdu **BD Oxacillin Screen Agar** 10 µl testovanej suspenzie vo forme bodiek. Alebo navlhčite bavlnený tampón testovanou suspenziou a nadmernú tekutinu odstráňte jemným pritlačením tampónu proti vnútornej stene skúmavky. Pôdu naočkujte vytvorením približne 2,5 cm pásu pomocou tampónu. Za účelom rastu na neselektívnej referenčnej pôde použite aj pôdu **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** alebo **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**.

Misky aeróbne inkubujte pri teplote 30 až 35 °C. Neprekračujte teplotu 35 °C. Misky inkubujte celých 24 hodín.

Kmene	Výsledky rastu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Žiadny rast pri 24-hodinovej inkubácii (citlivý)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Rast pri 24-hodinovej inkubácii (rezistentný)
Nenaočkované	Svetlé smotanové, priehľadné až veľmi slabo nepriehľadné

POSTUP

Dodávaný materiál

BD Oxacillin Screen Agar (90 mm Petriho misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolované.

Nedodávaný materiál

Pomocné kultivačné pôdy, činidlá a potrebné laboratórne vybavenie.

Typy vzoriek

Táto pôda nie je určená na používanie na izoláciu MRSA/ORSA z klinických vzoriek. Namiesto toho sa pôda naočkuje čistou kultúrou izolátov pravdepodobne identifikovaných ako *Staphylococcus aureus* (pozri časť **Postup testu a VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU**).

Postup testu

1. Vykonajte pravdepodobnú identifikáciu izolátu ako *Staphylococcus aureus*, napríklad koagulázovým testovaním na sklíčku alebo v skúmavke (alebo úplnou biochemickou identifikáciou).
2. Pripravte očkovaciu kultúru suspendovaním niekoľkých dobre izolovaných kolónií testovaného izolátu *S. aureus* z misky inkubovanej 18 až 24 hodín do skúmavky s vhodným bujónom, ako je napríklad **Trypticase Soy Broth**, a prispôbte mieru zákalu norme zákalu 0,5 McFarlanda.
3. Mikropipetou naočkujte na pôdu **BD Oxacillin Screen Agar** 10 µl testovanej suspenzie vo forme bodiek.

4. Alebo navlhčíte tampón testovanou suspenziou a nadmernú tekutinu odstráňte jemným pritlačením tampónu proti vnútornej stene skúmavky. Pôdu naočkujte vytvorením približne 2,54 cm pásu pomocou tampónu.
Za účelom rastu na neselektívnej kontrolnej pôde použite aj pôdu **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** alebo **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**.
5. Testovacie a kontrolné misky možno pomocou označenia dna misky rozdeliť do viacerých sektorov v tvare klinu. Na každej miske možno testovať viacero izolátov. Každú misku však inkubujte len raz. Pôdu **BD Oxacillin Screen Agar** NEPOUŽÍVAJTE OPAKOVANE ANI JU NEINKUBUJTE OPAKOVANE.
6. Misky inkubujte pri teplote 30 až 35 °C **celých 24 hodín. Neprekračujte teplotu 35 °C.**

Výsledky

Po inkubácii zistíte rast na miskách. Berte do úvahy, že misky s touto pôdou je nutné dôkladne skontrolovať. Aj veľmi malé kolónie, dokonca aj jedna kolónia indikujú, že izolát je rezistentný voči meticilínu (oxacilínu). Ak sa nevyskytol žiadny rast, organizmus je citlivý na PRP (metecilín, nafcilín a oxacilín). Izoláty, ktoré rastú na pôde Oxacillin Screen Agar, zaznamenajte ako rezistentné voči všetkým β -laktámovým antibiotikám vrátane kombinácií β -laktám/ β -laktamázových inhibítorov a cefalosporínom.

Poznámka. Pravidelne sa vydávajú doplnené informácie k dokumentu CLSI Document M2 alebo aktualizované verzie obsahujúce upravené tabuľky bakteriostatických diskov a výkladové normy. Aktuálne odporúčania nájdete v najnovších tabuľkách. Úplnú normu a doplnené informácie si môžete objednať v Národnej komisii pre klinické laboratórne normy (CLSI): Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA. Telefón: ++1-610-688-1100.

VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU

BD Oxacillin Screen Agar je štandardná pôda na detekciu organizmu *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) rezistentného voči meticilínu/oxacilínu.^{3,6-8}

Štúdie vo firme preukázali, že existuje rozdiel vo veľkosti očkovacej kultúry medzi očkovaním s 10 μ l testovanej suspenzie pomocou mikropipety a očkovaním misky pomocou tampónu.

Pravdepodobnosť, že sa objaví rezistentná subpopulácia, je vyššia vo väčšej populácii bakteriálnych buniek. Detekcia rezistencie, najmä pri heterogénne rezistentnej populácii, je zlepšená v prípade väčšej očkovacej kultúry získanej pomocou mikropipety a naočkovania misky s 10 μ l.⁹

Všetky izoláty, ktoré rastú na tejto pôde, kvantitatívne otestujte zriedením bujónu alebo agaru alebo molekulárnymi metódami (stanovením génu *mecA*) na potvrdenie rezistencie voči oxacilínu a tiež rezistencie voči iným antibiotikám charakteristickým pre MRSA, ako je napríklad chloramfenikol, klindamycín, erythromycín, gentamicín a tetracyklín.

Výsledky účinku⁹

V teste vykonanom vo veľkej americkej metropolitnej nemocnici bolo na pôde **BD Oxacillin Screen Agar** (bývalý názov MRSA Screen Agar) testovaných 152 izolátov *S. aureus* v porovnaní so zriedením referenčnej pôdy pre citlivosť voči meticilínu. Pomocou obidvoch metód vykázalo citlivosť celkom 121 izolátov. Pomocou obidvoch metód vykázalo rezistenciu (MRSA) 30 izolátov. Na pôde MRSA Screen Agar rástol ešte jeden zvyšný izolát, bol však citlivý na meticilín. Citlivosť testu bola 100 % a špecificita 99,2 %.

Obmedzenia postupu

Izoláty *S. aureus* s hranične rezistentnými MIC niekedy nenarastú počas 24 hodín. Preto sa odporúča všetky nejasné výsledky vykázané na skriningovej miske potvrdiť štandardným testom MIC.

Táto pôda sa nesmie používať na izoláciu MRSA priamo z klinických vzoriek.

Používať pôdu **BD Oxacillin Screen Agar** na detekciu koaguláza-negatívnych stafylokokov rezistentných voči meticilínu/oxacilínu sa neodporúča.

POUŽITÁ LITERATÚRA

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

BALENIE/DOSTUPNOST'

BD Oxacillin Screen Agar

Kat. č. 257658

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 20 ks

ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ak máte záujem o ďalšie informácie, kontaktujte miestneho zástupcu firmy 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