

BD Oxacillin Screen Agar

KULLANIM AMACI

BD Oxacillin Screen Agar (orijinal adı MRSA Screen Agar) metisilin/oksasiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) saptanması için geliştirilmiştir. MRSA saptama yöntemi, Bauer-Kirby antimikrobiyal disk duyarlılık test prosedürü ile aynı inokulumu kullandığından, oksasilin tarama testi izolatlar üzerinde rutin duyarlılık testi ile aynı anda gerçekleştirilebilir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

1940'ların sonlarında penisilinin kullanılmaya başlanmasından sonra kısa süre içerisinde *S. aureus*'da penisiline direnç gözlenmiştir.¹ 1960'ların sonlarında, metisilin/oksasiline dirençli *S. aureus* suşları Birleşik Devletler'de izole edilmeye başlanmıştır.²

S. aureus'ta oksasilin direncine üç farklı direnç mekanizması katkıda bulunur. Bunlar (1) kromozomal *mecA* geni tarafından kodlanan tamamlayıcı penisiline-bağlanan protein (PBP) üretimi içeren klasik tip, (2) hiper β -laktamaz üretimi (3) organizmaların β -laktam antibiyotiklere afinitesini düşüren modifiye edilmiş PBP'lerin üretimidir.³

Üç oksasilin (metisilin) direnç tipini ayırtırmaya yardımcı olan özellikler *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. de özetlenmiştir.³

Mec geni içeren suşlar (klasik direnç), metisilin, oksasilin ve nafsilin gibi penisilinaze dirençli penisilinlere (PRP'ler) dirençlidir ve homojen veya heterojen direnç gösterirler. Homojen direnç gösteren hemen hemen bütün hücreler standart *in vitro* testlerle test edildiklerinde direnç gösterir. Heteroresistant direnç gösteren bazı hücreler duyarlı ve diğerleri dirençli görünür. Genellikle, test popülasyonunda 10^4 'te 1 veya 10^8 'te 1 hücre direnç gösterir. Heterojen direnç zaman zaman sınırdaki görünen MIC'lere yol açar (oksasilin MIC'leri 4 ila 8 $\mu\text{g/mL}$ 'dir). Klasik dirence sahip izolatlar genellikle eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazol bir kinolon veya bir aminoglikozit gibi diğer ajanlara karşı dirençlidir.³

Hiper β -laktamaz üretimi veya modifiye PBP'lerin varlığından kaynaklanan direnç aynı zamanda sınır direncine de yol açar. Hiper β -laktamaz üretimi veya modifiye edilmiş PBP mekanizması ile dirençli olan izolatlar genellikle birden çok ilaç direnci göstermez.³ Ayrıca, **bu izolatların agar tarama plağında gelişmesi olası değildir.**³⁻⁵

Metisiline dirençli popülasyon daha yavaş gelişir, daha düşük inkübasyon sıcaklığı ve yüksek tuz konsantrasyonunu tercih eder.

BD Oxacillin Screen Agar, aerobik bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık testi için disk difüzyon prosedüründe standardize edilen bir besiyeri olan Mueller Hinton Agar içerir.⁶ PRP'ye dirençli alt popülasyonların gelişimini artırmak için sodyum klorür eklenir. PRP direncinin saptanması için daha dirençli olduğundan ve sonuçlar daha güvenilir olduğundan oksasilin tercih edilir (bkz. Tablo 2C [M100 (M2)] ve CLSI belge M100'da [M7] Tablo 2C).^{7,8}

REAKTİFLER

BD Oxacillin Screen Agar

1 Litre Saf Su için Formül*

Sığır Eti Ekstraktı	2,0 g	Oksasilin	0,006
Kazein Asit Hidrolizatı	17,5	Agar	17,0
Nişasta	1,5	pH 7,3 $\pm$ 0,2	
Sodyum Klorür	40,0		

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak **GENEL KULLANIM TALİMATLARI**'na bakın.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir.

10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Aşağıda listelenen kültürler ile temsili örnekleri inoküle edin. 18 ila 24 saatlik plak kültürden alınan birkaç iyi izole edilmiş test organizması kolonisini **BD Trypticase Soy Broth** tüpüne süspanse edin ve türbiditeyi 0,5 McFarland türbidite standardına ayarlayın. **BD Oxacillin Screen Agar**'ı bir mikropipet kullanarak 10 µl test süspansiyonu ile inoküle edin. Alternatif olarak, pamuk bir swabı test süspansiyonu ile doyurun ve aşırı sıvıyı tüpün iç duvarına karşı hafifçe basın. Swab'ı yaklaşık olarak 2,5 cm alana çizerek ekim yapın. Seçici olmayan gelişim referansı olarak **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** veya **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** kullanın.

Plakları aerobik olarak 30 – 35 °C'de inkübe edin. 35 °C'yi geçmeyin. Plakları tam 24 saat inkübe edin.

Suşlar	Gelişim Sonuçları
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	24 saatlik inkübasyonda gelişim yok (duyarlı)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	24 saatlik inkübasyonda gelişim (dirençli)
Inoküle edilmemiş	Açık kehribar, berrak ila çok hafif opak

PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler

BD Oxacillin Screen Agar (90 mm **Stacker** plaklar). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Türleri

Bu besiyeri klinik örneklerden MRSA/ORSA izolasyonu için tasarlanmamıştır. Besiyeri *Staphylococcus aureus* olarak tahminleyici tespiti yapılan izolatların saf kültürleri ile inoküle edilir (bkz. **Test Prosedürü** ve **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**).

Test Prosedürü

- İzolatın *Staphylococcus aureus* olarak tahmini tanımlamasını yapın (örn., lam veya tüp koagülaz testi ile (veya tam biyokimyasal tanımlama ile)).
- 18 ila 24 saatlik plak kültürden birkaç iyi izole edilmiş *S. aureus* test izolatını **Trypticase Soy Broth** gibi uygun bir broth besiyerine süspanse ederek inokulumu hazırlayın ve türbiditeyi 0,5 McFarland türbidite standardına ayarlayın.
- BD Oxacillin Screen Agar**'ı bir mikropipet kullanarak 10 µL test süspansiyonu ile inoküle edin.
- Alternatif olarak, bir swabı test süspansiyonu ile doyurun ve aşırı sıvıyı tüpün iç duvarına karşı hafifçe basın. Swab'ı yaklaşık olarak 1 inç (2,54 cm) alana çizerek ekim yapın. Seçici olmayan gelişim kontrolü olarak **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** veya **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** kullanın.

5. Test ve kontrol plakları, plağın tabanı işaretlenerek kama şeklinde farklı bölümlere ayrılabilir. Her plak üzerinde birkaç izolat test edilebilir. Ancak her plağı bir kez kullanın ve inkübe edin. **BD Oxacillin Screen Agar**'ı TEKRAR KULLANMAYIN VE TEKRAR İNKÜBE ETMEYİN.
6. Plakları 30-35 °C'de **tam 24 saat** inkübe edin. **35 °C'yi aşmayın**.

Sonuçlar

İnkübasyonu takiben, plaklardaki gelişimi inceleyin. Bu besiyeri plaklarını dikkatle incelemeye özen gösterin. Çok küçük kolonilerin, hatta tek bir koloninin varlığı, izolatın metisiline (oksasiline) dirençli olduğunu gösterir. Gelişim olmaması organizmanın PRP'lere duyarlı olduğunu gösterir (metisilin, nafsilin ve oksasiline). Oxacillin Screen Agar'da gelişen izolatlar, β -laktam/ β -laktamaz inhibitör kombinasyonları ve sefalosporinleri içeren bütün β -laktam antimikrobiyal ajanlara dirençli olarak bildirilmelidir.

Not: Antimikrobiyal disklerin revize edilmiş tablolarını ve yorumlayıcı standartları içeren, CLSI Belge M2'ye ek bilgiler veya revize edilmiş versiyonlar periyodik olarak yayınlanmaktadır. Güncel öneriler için son tablolara bakılmalıdır. Standardın tamamı veya ek bilgiler 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 ABD adresindeki Clinical and Laboratory Standards Institute'tan (CLSI) sipariş edilebilir. Telefon: ++1-610-688-1100.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD Oxacillin Screen Agar metisilin/oksasiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA) saptanması için standart bir besiyeridir.^{3,6-8}

Dahili çalışmalarda plağın mikropipet kullanılarak 10 μ L test süspansiyonu ile inoküle edilmesi ve swab ile inoküle edilmesi arasında inokulum boyutu açısından farklılık olduğunu görülmüştür. Yüksek bakteri hücresi popülasyonlarında dirençli alt popülasyonların ortaya çıkma olasılığı daha fazladır. Özellikle heterojen dirençli popülasyon ile direnç saptanması, mikropipet kullanılarak ve plak 10 μ L hacim ile inoküle edilerek daha geniş bir inokulum sağlanması yoluyla geliştirilmiştir.⁹

Bu besiyeri üzerinde gelişen herhangi bir izolat, oksasiline direnci ve aynı zamanda kloramfenikol, klindamisin, eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin gibi MRSA özelliğinde diğer antimikrobiyal ajanlara direnci doğrulamak için broth ile veya agar seyreltimi veya moleküler yöntemlerle (*mecA* geninin belirlenmesi) kalitatif olarak test edilmelidir.

Performans Sonuçları⁹

Büyük bir metropoliten hastanesinde gerçekleştirilen bir saha deneyinde, 152 *S. aureus* izolatı metisilin duyarlılığı için referans agar seyreltme prosedürüne kıyasla **BD Oxacillin Screen Agar** (önceki adı MRSA Screen Agar) üzerinde test edilmiştir. Her iki yöntemle toplam 121 izolat duyarlı bulunmuştur. Her iki yöntemle de 30 izolat dirençli (MRSA) bulunmuştur. MRSA Screen Agar'da gelişen bir izolat metisiline duyarlıdır. Bu sebeple, testin duyarlılığı 100 ve özgünlüğü %99,2'dir.

Prosedürün Kısıtlı Olduğu Alanlar

Zaman zaman, sınırda dirençli MIC'leri olan *S. aureus* izolatları 24 saat içerisinde gelişmeyebilir. Tarama plağında gösterilen herhangi bir belirsiz sonucun standart MIC testi ile doğrulanması önerilir.

Bu besiyeri, doğrudan klinik örneklerden MRSA izolasyonu için kullanılmamalıdır.

Metisilin/oksasiline dirençli koagülaz negatif stafilokokların saptanması için **BD Oxacillin Screen Agar** kullanılması önerilmez.

REFERANSLAR

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

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD Oxacillin Screen Agar

Kat. No. 257658

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



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