



BD™ Iso-Res Agar

AVSEDD ANVÄNDNING

BD Iso-Res Agar är ett semidefinierat medium för resistensbestämning av kliniska isolat med diskdiffusionsmetoden (Kirby-Bauer).

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

Medan Mueller Hinton II-agar har rekommenderats i många standarder för resistensbestämning, har flera frågeställningar rests angående dess användning, såsom otillräcklig reproducerbarhet mellan olika partier och problem med testning av tetracykliner och trimetoprim.¹⁻³ Iso-Res-agar (också beskriven som Iso-Sensitest-medium) har speciellt utvecklats för att undanröja dessa problem.⁴⁻⁶ Beståndsdelarna har noggrant utvalts för att ge tydliga och reproducerbara inhibitionszoner. Mediet innehåller endast låga nivåer av tymin eller tymidin så att testningen av sulfonamider och trimetoprim inte påverkas av dessa antagonister. Följaktligen är **BD Iso-Res-agar** ett utmärkt alternativ till Mueller Hinton II-agar för resistensbestämning med diskdiffusion. Storlekarna på inhibitionszonerna beskrivna i NCCLS Standard M2-A7 gäller för Mueller hinton II. Således kan de skilja sig från de som bestäms på **BD Iso-Res Agar**.⁸ Detta medium rekommenderas av Dutch WRG-systemet.⁹

Kasein och speciellt utvalda peptoner tillhandahåller basal näring, medan många av de definierade föreningarna i mediet tillhandahåller näring, vitaminer och spårmineraler.

REAGENSER

BD Iso-Res-agar

Sammansättning* per liter aqua purif

Hydrolyserat kasein	11,0 g	Menadion (vitamin K3)	0,001 g
Peptoner	3,0	Cyanokobalamin (vitamin B12)	0,001
Glukos	2,0	L-Cystein	0,02
Natriumklorid	3,0	L-tryptofan	0,02
Stärkelse	1,0	Pyridoxin (vitamin B6)	0,003
Dinatriumvätefosfat	2,0	Pantotenat	0,003
Natriumacetat	1,0	Nikotinamid	0,003
Magnesiumglycerofosfat	0,2	Biotin	0,0003
Kalciumglukonat	0,1	Tiamin	0,00004
Kobalt-II-sulfat	0,001	Adenin	0,01
Koppar-II-sulfat	0,001	Guanin	0,01
Zincksulfat	0,001	Xantin	0,01
Järnsulfat	0,001	Uracil	0,01
Manganes-II-klorid	0,002	Agar	8,0

pH 7,4 +/- 0,2

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD . Endast för professionellt bruk. ⓘ

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettning och nedfrysning skall undvikas. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

För detaljer avseende inokulation och avläsning av resultaten, se avsnitten **Testförfarande** och **Resultat**.

BD Iso-Res Agar-plattor och de antimikrobiella diskarna som rutinmässigt används bör testas åtminstone två gånger i veckan avseende korrekt prestanda med användande av de teststammar som angivits i avsnittet **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS**

BEGRÄNSNINGAR.

Utseende av icke-inokulerat medium: färglöst till ljust bärnstensfärgat.

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

BBL Iso-res-agar (90 mm **Stacker™**-plattor)

Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som ej medföljer

1. Inokulationsbuljong i rör, såsom **BD Trypticase™ Soy Broth** (**BD Trypticase**-sojabuljong) (soyabönskaseinspjälkad buljong) eller Mueller Hinton II-buljong (katjonjusterad), för beredningen av ett standardinokulat och steril buljong eller koksalt för spädning av inokulat.
2. Bariumsulfat, jämförande standard (0,5 mL 0,048 M BaCl₂ [1,175 % vikt/volym BaCl₂ · 2H₂O] till 99,5 mL 0,18 M [0,36 N] H₂SO₄ [1 % volym/volym]).
3. Fotometrisk utrustning för justering av inokulatsuspensionens grumlighet till motsvarande 0,5 McFarland standard.
4. Som ett alternativ till ovanstående material (1-3), kan **BBL Prompt™ Inoculation System** (**BD Prompt Inoculation-systemet**) (utrustning för volumetrisk beredning av inokulat) användas.^{6,18}
5. Papperslappar impregnerade med specificerade mängder antimikrobiella ämnen,⁶ såsom **BD Sensi-Disc™**-lappar för resistensbestämning.
6. Fördelade anordning, såsom **BD Sensi-Disc** 6-, 8- eller 12-platsfördelare. En lämplig fördelare finns också tillgänglig för de fyrkantiga plattorna med Mueller Hinton II-agar.
7. Linjal eller annan mätutrustning för att mäta zonstorlekar i millimeter.
8. Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provytyper

Denna produkt används endast för resistensbestämning av rena kulturer och är inte avsedd för användning direkt med kliniska prover (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**).

Testförfarande

Suspendera teststammen i Trypticase-sojabuljong eller koksalt och justera grumligheten så att den matchar McFarland med standard 0.5. Inom 15 minuter efter det att inokulatets grumlighet har justerats skall en steril odlingspinne sänkas ned i det korrekt spädda inokulatet och pressas och vridas ordentligt mot rörets övre insida flera gånger, så att överskottsvätska pressas ut.

Alternativt kan **BD Prompt Inoculation-systemet** användas.

Inokulera plattans hela agaryta tre gånger, vrid plattan 60° mellan utstryken för en jämn inokulation.

Applicera de antimikrobiella lapparna med hjälp av en applikator för antimikrobiella lappar under iakttagande av aseptiska försiktighetsåtgärder. Placera lapparna så att mittpunkterna är minst 24mm från varandra. Efter att lapparna har placerats på agarn skall de tryckas ned med en steril nål eller pincett så att de erhåller fullständig kontakt med mediets yta. Detta steg är

inte nödvändigt om lapparna avsatts med användning av **BD Sensi-Disc** 6-, 8-, eller 12-plats självnedtryckande fördelare.

Inom 15 minuter efter det att lapparna har applicerats, vänd plattorna upp och ned och inkubera dem i en aerob miljö vid 35° till 37 °C under 24 h.

Resultat

Efter inkubation, mät diametern på zonerna med fullständig hämning (enligt bedömning med blotta ögat), inklusive lappens diameter, till närmaste hela millimeter med ett skjutmått, en linjal eller mall som iordningsställts i detta syfte. Mätinstrumentet hålls på botten av den uppochnedvända plattan, vilken hålls över en svart, icke-reflekterande bakgrund och belyses från ovan.

Slutpunkten skall tas där området inte visar någon tydlig tillväxt som kan detekteras med blotta ögat. Bortse från svag tillväxt av små kolonier som endast kan detekteras med svårighet nära hämningszonens markerade kant.

Resultat rapporteras antingen som resistent, intermediära eller känsliga. Observera att zonstorlekarna inte alltid är jämförbara med dem som ses på Mueller Hinton II-agar (se **Metodens begränsningar**)

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

Detta medium har utvärderats internt. Zonstorlekarnas områden baseras på resultaten från åtminstone 3 olika partier av **BD Iso-Res-agar**:

Stammar	BD Sensi-Disc	Förväntat område (mm)	Stammar	BD Sensi-Disc	Förväntat område (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC™ 25922	Ampicillin AM-10	14 - 25	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Ampicillin AM-10	24 - 28
	Mezlocillin MZ-30	20 - 29		Mezlocillin MZ-30	27 - 33
	Cefalotin CF-30	15 - 21		Erytromycin E-15	18 - 25
	Cefotaxim CTX-30	28 - 37		SXT	28 - 34
	Imipenem IPM-10	30 - 36	<i>E. faecalis</i> ATCC 33186	Ampicillin AM-10	24 - 30
	Gentamicin GM-10	19 - 26		Mezlocillin MZ-30	27 - 33
	Amikacin AN-30	19 - 26		Erytromycin E-15	18 - 25
	Ofloxacin OFX-5	29 - 33		SXT	24 - 32
	Ciprofloxacin CIP-5	30 - 40			
	SXT	24 - 32			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Penicillin G P-10	30 - 40	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Ticarcillin TIC-75	20 - 28
	Oxacillin OX-1	18 - 24		Azlocillin AZ-75	21 - 29
	Cefalotin CF-30	33 - 44		Aztreonam ATM-30	26 - 31
	Cefotaxim CTX-30	27 - 34		Amikacin AN-30	18 - 28
	Tetracyklin TE-30	25 - 34		Gentamicin GM-10	18 - 25
	Gentamicin GM-10	23 - 30		Ceftazidim CAZ-30	23 - 31
	Erytromycin E-15	26 - 35			
	Linkomycin L-15	25 - 33			
	Ofloxacin OFX-5	24 - 30			
	SXT	24 - 32			

Diskdiffusionen kan endast användas med bakteriestammar som *Enterobacteriaceae*, stafylokocker, enterokocker eller andra som producerar utvecklade kolonier inom en inkubationsperiod på 18 till 24 h på blodfri media och som växer aerobt. För detaljer, se NCCLS-standard.⁷

Testerna och metoderna beskrivna ovan kan bara användas med rena bakteriekulturer.

Metoden som beskrivs här för beredning av inokulat och inokulation är densamma som beskrivits i NCCLS-standard.⁷ Andra nationella standarder har utvecklats för antimikrobiell resistensbestämning i enlighet med Bauer-Kirby-proceduren. I dessa standarder, kan inokulatens densiteter och inokulationsmetoden skilja sig från NCCLS-standard. Så länge vanliga europeiska standarder för resistensbestämning inte finns, bör lokal nationella standarder användas om ej NCCLS-riktlinjerna är tillämpliga.

Resistenstestens zonstorlekar erhållna på detta medium är inte nödvändigtvis i överensstämmelse med de som erhålls på Mueller Hinton II-agar i NCCLS-standarden M2-A6.^{7,8} Det rekommenderas följaktligen att jämföra zonstorlekarna erhållna på båda medierna med användning av de antimikrobiella lapparna som rutinmässigt testas innan rutinmässig användning av **BD Iso-Res-agar**.

Olämplig inokulatkoncentration kan producera felaktiga resultat. Hämningszonerna kan vara för små om inokulatet är för tungt och för stora och svåra att mäta om inokulatet är för lätt. Felaktig förvaring av antimikrobiella lappar kan orsaka försvagad läkemedelskoncentration och ett falskt resistent resultat.

Bakterier som behöver tymin eller tymidin kan påträffas. Dessa organismer behöver inte växa tillfredsställande på detta medium eftersom det innehåller låga nivåer av tymin eller tymidin. En organisms känslighet in vitro mot ett specifikt antimikrobiellt ämne betyder inte nödvändigtvis att ämnet kommer att vara effektivt in vivo.

REFERENSER

1. Ericsson, H.M, and J.C. Sherris 1971. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 217: 1-90.
2. Garrod, L.P., and P.M. Waterworth. 1971. J. Clin. Pathol. 24: 779-789.
3. Reller, L.B., et al. 1974. J. Infect. Dis. 130: 454-463.
4. Reynolds, A.V., et al. 1974. Brit. Med. J. II: 778.
5. Stewart, S.M., et al. 1975. J. Clin. Pathol. 28: 195-197.
6. Bell, S.M. 1975. Pathology 7, Suppl.: 1-48.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Approved standard: M2-A7. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
8. Jorgensen, J.H., and J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. USA.
9. Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen. 1981. Standaardisatie van Gevoeligheidsbepalingen. Bilthoven, The Netherlands.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD Iso-Res Agar

Kat.nr 254021

Färdiga odlingsplattor, 20 plattor

Kat.nr 254076

Färdiga odlingsplattor, 120 plattor

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8-12

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/>

Trademarks are the property of their respective owners.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.