BD Oxacillin Screen Agar

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BD Oxacillin Screen Agar (първоначално наричан MRSA Screen Agar) бе разработен за откриване на резистентни към метицилин/оксацилин *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA). Тъй като метода за откриване на MRSA използва същия инокулат, като тестовата процедура на Bauer-Kirby за антимикробна дискова чувствителност, скрининговия тест с оксацилин може удобно да се провежда върху изолати по време на рутинно тестуване за чувствителност.

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Микробиологичен метод.
Резистентността на *S. aureus* към пеницилин бе наблюдавана скоро след представянето на пеницилина в края на 40-те години на миналия век.[1] В края на 60-те години на миналия век резистентни към метицилин/оксацилин щамове на *S. aureus* започнаха да бъдат изолирани в САЩ.[2]
Три различни механизма на резистентност способстват за резистентността към пеницилин на *S. aureus*. Това са (1) класическия тип, включващ производство на допълнителен свързващ пеницилина протеин (PBP), който се разшифрова от хромозомния *mecA* ген, (2) свръхпроизводство на ß-лактамаза и (3) производство на модифицирани PBP, които намаляват нивото на афинитет на организмите към ß-лактамни антибиотици.[3]

Характеристиките, помагащи за диференцирането на 3 типа резистентност към оксацилин (метицилин) могат да бъдат намерени в *Ръководство по клинична микробиология*, 9-мо изд.[3]
Щамовете, притежаващи гена *mec* (класическа резистентност) са резистентни към резистентни на пеницилиназа пеницилини (PRP), като метицилин, оксацилин и нафцилин и са или хомогенни, или хетерогенни при своето изразяване на резистентност. При хомогенна експресия практически всички клетки показват резистентност при тестуване със стандартни *ин витро* тестове. При хетерорезистентна експресия някои клетки се проявяват като чувствителни, а други – като резистентни. Често само от 1 на 10^4 до 1 на 10^8 клетки в тестуваната популация проявява резистентност. Хетерогенната експресия понякога резултира в гранични MIC, например оксацилин MIC от 4 до 8 µg/mL. Изолатите с класически тип резистентност обикновено са резистентни към други агенти, като еритромицин, клиндамицин, хлорамфеникол, тетрациклин, триметоприм-сулфаметоксазол, кинолон, или аминоглюкозид.[3]
Резистентност посредством свръхпроизводство на ß-лактамаза или присъствие на модифицирани PBP също резултира в гранична резистентност. Изолати, които са резистентни поради или свръхпроизводство на ß-лактамаза, или механизма на модифицирани PBP обикновено не притежават резистентност към множество лекарства.[3]
Освен това, **такива изолати едва ли растат в чашка със скринингов агар.**[3-5]
Резистентните към метицилин популации растат по-бавно, предпочитат по-ниска температура на инкубация и висока концентрация на сол.

BD Oxacillin Screen Agar се състои от Mueller Hinton Agar, който е стандартизирана среда за тестуване на антимикробна чувствителност на аеробни бактерии чрез процедура на дискова дифузия.[6] Натриевия хлорид се добавя за подобряване растежа на резистентните към PRP субпопулации. Оксацилин е предпочитан за откриване на PRP резистентност, тъй като е по-стабилен и резултатите са по-надеждни (вижте Таблица 2C [M100 (M2)] и таблица 2C в документа M100 [M7]) на CLSI.[7,8]

РЕАГЕНТИ

BD Oxacillin Screen Agar

Формула* на литър пречистена вода

Екстракт от говеждо месо	2,0 g	Оксацилин	0,006
Киселинен хидролизат на казеин	17,5	Агар	17,0
Нишесте	1,5	pH 7,3 ± 0,2	
Натриев хлорид	40,0		

*Пригоден и/или допълнен според изискванията за удовлетворяване на критериите за ефективно функциониране.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

IVD . Само за професионална употреба.

Не използвайте чашки, ако те съдържат признаци на микробно замърсяване, обезцветяване, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане.

За справка относно асептичните манипулационни процедури, биологичните опасности и изхвърлянето на използвания продукт вижте документа **ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА**.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

След получаване съхранявайте чашките на тъмно, при температура от 2 до 8° C, в оригиналната им маншетна опаковка до момента на непосредствената им употреба. Не допускайте замразяване и прегряване. Чашките могат да бъдат инокулирани до изтичане на срока на годност (виж етикета на опаковката) и инкубирани според препоръчваните инкубационни периоди.

Отворените комплекти от 10 чашки могат да се използват в продължение на една седмица при съхранение на чисто място при температура от 2 до 8° C.

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Инокулирайте представителни образци с изброените по-долу култури. Суспендирайте няколко добре изолирани колонии на тестувания организъм от 18-24 ч. чашка с култура в пробирка с **BD Trypticase Soy Broth** и регулирайте мътността до стандарта за мътност 0,5 McFarland. С помощта на микропипета инокулирайте **BD Oxacillin Screen Agar** на петна с 10 µl от тестовата суспензия. Като алтернатива, накиснете памучен тампон в тестовата суспензия и леко попийте излишната течност от вътрешната стена на пробирката. Посейте чашката чрез прекарване на тампона върху повърхност от приблизително 2,5 cm. Включете **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** или чашка с **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** като референтна за неселективен растеж. Инкубирайте чашките при температура 30 - 35°C аеробно. Не превишавайте температурата от 35°C. Инкубирайте чашките за пълни 24 ч.

Щамове	**Темпове на растеж**
Staphylococcus aureus ATCC 29213	Няма растеж при 24-часова инкубация (чувствителен)
Staphylococcus aureus ATCC 43300	Растеж при 24-часова инкубация (резистентен)
Неинокулирани	Светлокехлибарени, бистри до много слабо непрозрачни

ПРОЦЕДУРА

Предоставяни материали

BD Oxacillin Screen Agar (90 mm **Stacker** чашки). Микробиологично проверени.

Непредоставяни материали
Допълнителна културална среда, реагенти и лабораторно оборудване според нуждите.

Видове материали
Тази среда не е предназначена за изолиране на MRSA/ORSA от клинични материали. Вместо тях средата е инокулирана с чисти култури на изолати, презумптивно идентифицирани като *Staphylococcus aureus* (вижте **Методика на тестуване** и **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**).

Методика на тестуване
1. Идентифицирайте презумптивно изолата като *Staphylococcus aureus*, например чрез тестуване за коагулаза върху предметно стъкло или в пробирка (или чрез пълно биохимично идентифициране).
2. Пригответе инокулат чрез суспендиране на няколко добре изолирани колонии на тестувания изолат на *S. aureus* от 18-24 ч. чашка с култура в пробирка с подходяща бульонна среда, като **Trypticase** Soy Broth и регулирайте мътността до стандарта за мътност 0,5 McFarland.
3. С помощта на микропипета инокулирайте **BD Oxacillin Screen Agar** на петна с 10 µl от тестовата суспензия.
4. Като алтернатива, накиснете тампон в тестовата суспензия и леко попийте излишната течност от вътрешната стена на пробирката. Посейте чашката чрез прекарване на тампона върху повърхност от приблизително 1 инч (2,54 cm).
   Включете **BD Trypticase Soy Agar II with 5% Sheep Blood (TSA II)** или чашка с **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** като контрола за неселективен растеж.
5. Тестуваната и контролната чашки могат да бъдат разделени на няколко клиновидни сектора чрез маркиране на дъното на чашката. Във всяка чашка могат да бъдат тествани няколко изолата. Въпреки това използвайте и инкубирайте всяка чашка само веднъж. НЕ ИЗПОЛЗВАЙТЕ И НЕ ИНКУБИРАЙТЕ ПОВТОРНО **BD Oxacillin Screen Agar**.
6. Инкубирайте чашките при температура 30-35°C за **пълни 24 ч**. **Не превишавайте температурата от 35°C**.

Резултати
След инкубиране изследвайте чашките за растеж. Имайте предвид, че чашките с тази среда трябва да бъдат внимателно преглеждани. Наличието на много малки колонии, дори една колония, сочат, че изолата е резистентен към метицилин (оксацилин). Липсата на растеж сочи, че организма е чувствителен към PRP (метицилин, нафцилин и оксацилин). Растящите в Oxacillin Screen Agar изолати трябва да бъдат докладвани като резистентни към всички ß-лактамни антимикробни агенти, включително инхибиторни комбинации на ß-лактам/ß-лактамаза и цефалоспорини.

Забележка: Информационни допълнения към документа M2 на CLSI, или ревизирани версии, съдържащи ревизирани таблици на антимикробните дискове и стандарти за интерпретиране, се публикуват периодично. Необходимо е да се консултирате с най-новите от тях относно текущите препоръки. Пълен комплект от стандарта и информационните допълнения може да бъде поръчан от Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA. Телефон: ++1-610-688-1100.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА
BD Oxacillin Screen Agar е стандартна среда за откриване на резистентни към метицилин/оксацилин *Staphylococcus aureus* (MRSA, ORSA).[3,6-8]
Вътрешните изследвания показаха, че съществува разлика в размера на инокулата при инокулиране с 10 µl от тестуваната суспензия чрез микропипета и инокулиране на чашката с тампон. Вероятността за поява на резистентна субпопулация е по-голяма при голяма популация от бактериални клетки. Откриването на резистентност, особено при хетерогенно резистентна популация, се подобрява при по-голям инокулат, получен с помощта на микропипета и инокулиране на чашката с 10µl.[9]
Всеки растящ в тази среда изолат трябва да бъде проверен количествено чрез разреждане в бульон или агар, или чрез молекулярни методи (определяне на *mec*A ген) за

потвърждаване на резистентността към оксацилин и други антимикрпобни агенти, характерни за MRSA, като хлорамфеникол, клиндамицин, еритромицин, гентамицин и тетрациклин.

Функционални резултати [9]
При полево проучване в голяма общинска болница бяха тестувани 152 изолата на *S. aureus* в **BD Oxacillin Screen Agar** (бивш MRSA Screen Agar) в сравнение с референтна процедура на агарно разреждане за чувствителност към метицилин. Общо 121 изолата показаха чувствителност и при двата метода. Бяха открити 30 резистентни (MRSA) изолата и при двата метода. Оставащия един изолат растеше в MRSA Screen Agar, но бе чувствителен към метицилин. Следователно, чувствителността на теста бе 100, а специфичността бе 99,2%.

Ограничения на процедурата
Рядко изолати на *S. aureus* с гранично резистентни MIC могат да не израстнат в рамките на 24 ч. Препоръчва се всички получени в скрининговата чашка двойствени резултати да бъдат потвърдени със стандартен MIC тест.
Тази среда не трябва да се използва за изолиране на MRSA непосредствено от клинични материали.
Използването на **BD Oxacillin Screen Agar** за определяне на резистентни към метицилин/оксацилин и коагулаза отрицателни стафилококи не се препоръчва.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

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

ОПАКОВКА/СЪДЪРЖАНИЕ
BD Oxacillin Screen Agar

Кат. № 257658	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ
За допълнителна информация моля свържете се с местния представител на 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