

Nr kat.: MLT00080

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw przeznaczony jest do oznaczenia wrażliwości na antybiotyki bakterii rodzaju *Staphylococcus* na podstawie wzrostu bakterii w przypadku stężeń break-pointowych (wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących). Zestaw umożliwia przeprowadzenie 60 badań. Stężenia break-pointowe i interpretacje wrażliwości powstały na podstawie europejskiego standardu Eucast ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)) z dnia 05.01.2011. Test oparty jest na zasadzie ponownego nawodnienia antybiotyków w studzienkach za pomocą Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST i dodaniu zawiesziny bakterii. Po 18-24 godzinach inkubacji wyniki odczytywane są wizualnie.

**Zestaw zawiera:**

- 10 płytek testowych
- Pokrywe z nadrukiem
- 10 szt. PE torebek
- Formularz
- Torebkę do przechowywania
- 1 szt. Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST w postaci dehydrowanej – uwaga: przed rozpoczęciem pracy należy przygotować!

Aby uniknąć etapu samodzielnego przygotowania nośnika zawiesziny z jego odwodnionej postaci (dostarczonego w zestawie), można zamówić nośnik gotowy do użycia. Gotowy nośnik dostępny jest pod Nr kat. MLT00082 - Nośnik zawiesziny do SENSILATEST; każde opakowanie zawiera 20 probówek z nośnikiem zawiesziny do SENSILATEST (1 probówka przeznaczona jest do 1 paska dowolnego zestawu SENSI-LA-TEST i zawiera 4,4 ml gotowego nośnika zawiesziny).

**Przechowywanie i data ważności zestawu:**

Zestaw zaleca się przechowywać w temperaturze (+15 do +25) °C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu. Po otwarciu aluminiowego opakowania można niewykorzystane paski przechowywać w torebce do przechowywania wraz z pochłaniaczem wilgoci przez okres maksymalnie 8 dni w temperaturze pokojowej. Nie należy pozostawiać raz otwarte paski bez ochrony. Wilgoć w powietrzu zagraża funkcyjności antybiotyków !!!

**Przechowywanie i data ważności Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST:**

W postaci sproszkowanej zaleca się przechowywać w temperaturze (+15 do +25) °C do daty ważności wyznaczonej na opakowaniu. Po przygotowaniu ważność wynosi 6 miesięcy w temperaturze (+15 do +25) °C. Przygotowany nośnik nie zaleca się przechowywać w niższych temperaturach, mogłoby wtedy nastąpić niepożądane żelowanie nośnika. W przypadku wystąpienia takiej sytuacji, nośnik przed użyciem należy doprowadzić do temperatury pokojowej i dokładnie wstrząsnąć.

**Materiały potrzebne do pracy z zestawem, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Roztwór sterylnej soli fizjologicznej
- Probówki sterylne
- Pipeta dozująca na 100 µl
- Pipeta na 40 µl
- Densytometr (np. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Ciepłarka 37 °C
- Podstawowe wyposażenie laboratoryjne (ezy, markery, palnik, itd.)

**Materiały potrzebne do przygotowania Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Pałeczka do mieszania lub mieszadło
- Autoklaw

**Ostrzeżenie:** Zestaw przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego zastosowania.  
Należy przestrzegać zasad pracy z materiałem zakaźnym !

**Sposób postępowania****Ostrzeżenie: Przed rozpoczęciem pracy należy przygotować Nośnik zawiesziny dla SENSILATEST !**

Aby uniknąć etapu samodzielnego przygotowania nośnika zawiesziny z jego odwodnionej postaci (dostarczonego w zestawie), można zamówić nośnik gotowy do użycia. Gotowy nośnik dostępny jest pod Nr kat. MLT00082 - Nośnik zawiesziny do SENSILATEST; każde opakowanie zawiera 20 probówek z nośnikiem zawiesziny do SENSILATEST (1 probówka przeznaczona jest do 1 paska dowolnego zestawu SENSI-LA-TEST i zawiera 4,4 ml gotowego nośnika zawiesziny).

**Przygotowanie Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST:**

1 opakowanie wystarcza dla przygotowania 0,5 l nośnika zawiesziny. Dodać 0,5 l uprzednio ogrzanej wody destylowanej i zamieszać. Powstałą zawiesinę autoklawować przez 30 minut w 121 °C. Następnie doprowadzić do temperatury pokojowej i ponownie sterylnie wymieszać. Drobnny osad na dnie nie ma wpływu na funkcyjność nośnika. Przed zastosowaniem należy sprawdzić pH nośnika. pH nośnika powinno być w granicach 7,5 (± 0,1). W razie potrzeby dostosować pH.

**Sposób postępowania z zestawem:**

- 1) Przygotować probówkę z 2 - 5 ml sterylnej soli fizjologicznej pH 5,5 – 6,5.
- 2) Przygotować probówkę z Nośnikiem zawiesziny dla SENSILATEST optymalnie ogrzanym do temp. 37 °C
- 3) Z 18 – 24 godzinnej kultury na agarze krwawym pobrać kilka kolinii i przygotować w roztworze soli fizjologicznej zawiesinę bakteryjną o gęstości 0,5 McF.  
(Uwaga: Zastosowanie zawiesziny z wyższą gęstością jest mniejszym błędem niż zastosowanie inokulum, którego gęstość jest niewystarczająca.)
- 4) Pipetować 40 µl zawiesziny bakteryjnej do 4,4 ml Nośnika zawiesziny dla SENSILATEST i dokładnie homogenizować.

**Inokulacja:**

Płytkę wyjąć z aluminiowej torebki, następnie wyjąć wymaganą ilość pasków potrzebną do badania. Paski z opakowania nie wyjmować wcześniej niż 30 minut przed rozpoczęciem pracy. Resztę niewykorzystanych pasków natychmiast włożyć luzem lub w ramce do torebki do przechowywania (ZIP log torebka), z oryginalnego opakowania należy do torebki do przechowywania przełożyć pochłaniacz wilgoci i torebkę dokładnie zamknąć do kolejnego zastosowania. **W ten sposób przechowywane paski należy użyć najpóźniej do 8 dni ! Nie należy pozostawiać otwarte paski bez ochrony. Wilgoć w powietrzu zagraża funkcyjności antybiotyków !!!**

Wpisać numery badanych kultur na odpowiednie paski.

Inokulować 100 µl zawiesziny przygotowanej w Nośniku zawiesziny dla SENSILATEST do każdej studzienki paska, najlepiej za pomocą pipety dozującej.

**Inkubacja:**

Płytkę po inokulacji włożyć do PE torebki, zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby zapobiec wysychaniu inokulum.

Płytkę włożyć do ciepłarki w temp. 37 °C na 18 – 24 godz.

**Ocena:**

Płytkę wyjąć z torebki PE. Dla odczytu wzrostu w studzienkach należy wybrać najbardziej optymalny dla siebie sposób:

- 1) wykorzystać pokrywe z nadrukiem, który pokazuje kolejność antybiotyków na pasku.
- 2) odczytać na szarym tle.
- 3) odczytać na tle naturalnego lub sztucznego rozproszonego źródła światła – w tym przypadku można dobrze wykryć nawet ograniczone wzrosty w postaci ziarenek lub lekkiego zmętnienia.

## Prosimy o zwrócenie uwagi:

W studzience z kontrolą wzrostu powinien być wzrost !!! Jeżeli nie ma wzrostu, test **NIE MOŻNA OCENIAĆ** ! Kontrola wzrostu nie służy jako studzienka do porównania obecności wzrostu w poszczególnych studzienkach. Jako wzrost ocenia się każdą zmianę w stosunku do absolutnej przejrzystości, także w postaci ziarnistości w studzience, lekkiego zmętnienia lub niecałościowej błonki. Należy odróżnić ziarnistość od ewentualnych pęcherzyków powietrza ! Wyniki wpisać do formularza.

| H                | G                             | F               | E             | D          | C            | B          | A           |
|------------------|-------------------------------|-----------------|---------------|------------|--------------|------------|-------------|
| Kontrola wzrostu | Trimetoprim / sulfametoksazol |                 | Tigecyklina   | Linezolid  | Erytromycyna |            | Wankomycyna |
| GC               | T/S<br>2/38                   | T/S<br>4/76     | TGC<br>0,5    | LIZ<br>4   | ERY<br>1     | ERY<br>2   | VAN<br>2    |
| Ciprofloksacyna  | Cefoksytyna                   | Kwas fusydynowy | Rifampicyna   |            | Klindamycyna |            | Gentamicyna |
| CIP<br>1         | COX<br>4                      | FUS<br>1        | RAM<br>0,0625 | RAM<br>0,5 | CLI<br>0,25  | CLI<br>0,5 | GEN<br>1    |

## Interpretacja:

|                             |     |   |   |   |   |   |   |   |   | Wyniki (+/-) |   | Ocena (S, I, R) |
|-----------------------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|--------------|---|-----------------|
| Kontrola wzrostu            | GC  | + |   |   |   |   |   |   |   |              |   |                 |
| Cefoksytyna                 | COX | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Klindamycyna                | CLI | - | - | S | + | - | I | + | + | R            |   |                 |
| Ciprofloksacyna             | CIP | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Erytromycyna                | ERY | - | - | S | + | - | I | + | + | R            |   |                 |
| Gentamicyna                 | GEN | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Kwas fusydynowy             | FUS | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Linezolid                   | LIZ | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Rifampicyna                 | RAM | - | - | S | + | - | I | + | + | R            |   |                 |
| Tigecyklina                 | TGC | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |
| Trimetoprim/sulfametoksazol | T/S | - | - | S | + | - | I | + | + | R            |   |                 |
| Wankomycyna                 | VAN | - |   | S |   |   |   | + |   | R            | x |                 |

W przypadku jeżeli u wyższego stężenia antybiotyku pojawia się wzrost a u niższego stężenia nie, wrażliwość na ten antybiotyk nie należy oceniać. Ta kombinacja wskazuje na błąd w sposobie postępowania !

## Uwagi do interpretacji:

- W przypadku stwierdzonej oporności na **erytromycynę** i wrażliwości na **klindamycynę** należy za pomocą testu krążkowo-dyfuzyjnego (D – test) z krążkami erytromycyna i klindamycyna oznaczyć „indukcję” MLSb oporności a w razie dodatniego wyniku następnie wynik testu wrażliwości CLI korygować na „oporny”.
- Oporność na **cefoksytynę** zwraca uwagę w przypadku **S. aureus** na możliwość MRSA. MRSA należy weryfikować za pomocą kolejnych metod – wzrost na agarze chro-mogennym, lateks aglutynacja (PBP2a) lub PCR.
- Oporność na **wankomycynę** należy weryfikować za pomocą kolejnych metod (gradient MIC, PCR).

W zależności na krajowych lub laboratoryjnych standardach można zastosować kolejne kryteria EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing ([www.eucast.org](http://www.eucast.org))

## Kontrola jakości:

Dla kontroli jakości zestawu zalecamy poniżej wymieniony szczep kontrolny. Podczas oceny wyników testowania szczepami kontrolnymi należy kierować się standardem EUCAST.

| CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213) |               |               |                 |              |               |              |            |
|----------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|------------|
| GC+                                                | T/S –<br>2/38 | T/S –<br>4/76 | TGC –<br>0,5    | LIZ –<br>4   | ERY –<br>1    | ERY –<br>2   | VAN –<br>2 |
| CIP –<br>1                                         | COX –<br>4    | FUS –<br>1    | RAM –<br>0,0625 | RAM –<br>0,5 | CLI –<br>0,25 | CLI –<br>0,5 | GEN –<br>1 |

+ wzrost – brak wzrostu

## Ewentualnie także szczepy:

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922)

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

## Likwidacja zużytego materiału:

Po zużyciu wszystkie płytki należy włożyć do pojemnika dla materiałów zakaźnych i likwidować wg własnych wewnętrznych przepisów, autoklawować lub spalić. Puste papierowe opakowania należy przekazać do recyklingu.

## WYTWÓRCA:

### Przedstawicielstwo w Polsce:

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA CZESKA

ERBA POLSKA Sp. z o.o., WDC ul. Szyszkowa 35/37, 02-285 Warszawa, tel.: +48 510 251 115, +48 228 783 150, fax: +48 228 783 150, e-mail: [erbapolska@erbamannheim.com](mailto:erbapolska@erbamannheim.com)

Data rewizji: 0. 6. 2019

## UŻYTE SYMBOLE

**REF** Numer Katalogowy

**IVD** Urządzenie Diagnostyczne in Vitro

Producent

Patrz: Instrukcja Użycia

**LOT** Numer Partii

Temperatuty Graniczne

Termin Ważności

Набор предназначен для определения антимикробной чувствительности стафилококков на основе определения бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика и рассчитан на 60 культур.

Выбор концентраций антибиотика и интерпретация результатов базируется на стандартах EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)) от 05.01.2011. Методика включает регидратирование лунок с антибиотиками с помощью суспензионной среды и внесение в них бактериальной суспензии. Результаты чувствительности микроорганизмов учитываются через 18-24 ч инкубации визуально или фотометрически по наличию бактериального роста в микролунках планшета.

#### Набор СТАФИ включает:

- 10 планшетов для определения чувствительности;
- крышку с нанесенными на нее сокращенными названиями антибиотиков;
- 10 полиэтиленовых пакетиков;
- бланки для записи результатов;
- пакет для хранения неиспользованных стрипов;
- 1 флакон сухой суспензионной среды. **ВНИМАНИЕ!** Необходимо приготовить перед началом исследования.

Если при работе с набором Вы не хотите или не имеете возможность самостоятельно готовить суспензионную среду из навески, входящей в набор, мы предлагаем использовать готовую (жидкую, стерильную) суспензионную среду для СЕНСИ-ЛА-ТЕСТОВ (кат. номер MLT00082).

Среда разлита в стеклянные пробирки по 4,4 мл, в упаковке 20 пробирок (на 20 определений соответственно).

#### Хранение и срок годности набора:

Рекомендовано хранение набора при 15-25°C. Предельный срок годности обозначен на индивидуальной упаковке каждого планшета. После открытия алюминиевой упаковки необходимо поместить неиспользуемые стрипы в пакет для хранения (пригодны к использованию в случае хранения при комнатной температуре не более 8 суток). При перекладывании неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем.

**Хранение открытых планшетов в течение более длительного времени может привести к полной потере активности антибиотиков!**

Если температура в лаборатории превышает 25°C, набор или невскрытые пакеты лучше переложить в холодильник. В таком случае перед началом работы их следует достать заранее, чтобы довести их температуру до комнатной (в течение 2 ч), чтобы избежать негативного воздействия влажности на антибиотики.

Вскрытые пакеты следует хранить только при комнатной температуре.

#### Хранение и срок годности суспензионной среды:

Сухая суспензионная среда хранится при температуре 15-25°C до достижения предельного срока годности, обозначенного на упаковке. Приготовленную суспензионную среду можно использовать в течение 6 мес. при температуре 15-25°C. Не следует хранить приготовленную среду при более низкой температуре, так как это может привести к образованию геля. Если же гель образовался, согреть среду при комнатной температуре и встряхнуть перед использованием. Для дальнейшей работы суспензионную среду можно разлить в стерильные пробирки по 4,4 мл.

#### Материалы и оборудование, необходимые для выполнения теста, которые не входят в набор:

- стерильный физиологический раствор;
- стерильные пробирки;
- механический или автоматический дозатор/степпер;
- прибор для определения мутности бактериальной суспензии (например, Денси-Ла-Метер II) или стандарты мутности;
- термостат, 37°C;
- традиционное оборудование микробиологической лаборатории (петля, маркер, горелка и т. д.)

#### Материалы и оборудование, необходимые для приготовления суспензионной среды, которые не входят в набор:

- шпатель для смешивания или мешалка;
- автоклав.

#### ВНИМАНИЕ:

**Набор предназначен только для профессионального использования!**

**Соблюдайте правила при работе с инфекционным материалом!**

## Методика исследования антибиотикочувствительности с применением СЕНСИЛАТЕСТ СТАФИ

#### ВНИМАНИЕ:

**Перед началом исследования приготовьте суспензионную среду!**

Если при работе с набором Вы не хотите или не имеете возможность самостоятельно готовить суспензионную среду из навески, входящей в набор, мы предлагаем использовать готовую (жидкую, стерильную) суспензионную среду для СЕНСИ-ЛА-ТЕСТОВ (кат. номер MLT00082).

Среда разлита в стеклянные пробирки по 4,4 мл, в упаковке 20 пробирок (на 20 определений соответственно).

#### Приготовление суспензионной среды:

Один флакон с сухой суспензионной средой рассчитан на приготовление 0,5 л жидкой суспензионной среды. Необходимо добавить 0,5 л подогретой дистиллированной воды, перемешать, проавтоклавировать при температуре 121°C в течение 30 мин. Охладить до комнатной температуры, перемешать в стерильных условиях. Незначительный осадок в нижней части флакона не оказывает влияние на качество среды. Перед применением суспензионной среды измерить pH. Для применения пригодна среда с pH 7,5 (±0,1). При необходимости скорректировать pH.

#### Приготовление бактериальной суспензии:

1. Приготовить пробирки с 2 - 5 мл физиологического раствора pH 5,5-6,5.
2. Приготовить пробирки с 4,4 мл суспензионной среды с оптимальной для процедуры температурой 37°C.
3. Снять несколько колоний 18-24 часовой культуры с кровяного агара и в физиологическом растворе приготовить бактериальную суспензию плотностью: 0,5 McF. **Приготовление суспензии более высокой степени мутности не так критично для получаемых результатов, чем менее густая суспензия.**
4. Для приготовления инокулюма в пробирки с суспензионной средой (4,4 мл) добавить **40 мкл** бактериальной суспензии.

#### Инокуляция:

Удалите алюминиевую упаковку с планшета. **Внимание! Не вскрывать упаковку планшета ранее, чем за 30 мин до начала инокуляции, чтобы предотвратить негативное влияние влажности на антибиотики.** Отломите необходимое для исследования количество стрипов. Неиспользуемые стрипы и осушитель сразу поместите в пакет для хранения и плотно закройте пластиковую застёжку. При перекладывании неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем.

**Длительное хранение вскрытого планшета может привести к полной потере активности антибиотиков!**

**После вскрытия упаковки используйте стрипы в течение 8 дней!**

На стрипе напишите номер исследуемого штамма. Наряду с номером анализа на стрипе необходимо указать и название набора (например, Г-I или Г-II), чтобы избежать возможных ошибок при учете результатов после инкубации.

Инокулируйте по 100 мкл приготовленной суспензии в каждую микролунку стрипа с помощью механического или автоматического дозатора/степпера.

#### Инкубация:

Заполненный планшет вложите в полиэтиленовый пакет, подвернув край пакета для предотвращения испарения во время инкубации (при 37°C в течение 18-24 ч).

#### Учет результатов:

Достаньте планшет из полиэтиленового пакета, оцените рост в микролунках визуально, выбрав наиболее подходящий способ:

- используя крышку с нанесенными на ней названиями антибиотиков;
- используя темный фон под планшетом;
- проанализировав признаки бактериального роста в проходящем искусственном или естественном свете, таким образом можно учесть даже слабый рост в виде зерен или в виде незначительного помутнения.

Для регистрации бактериального роста в лунках планшета также может быть использована автоматизированная методика с использованием планшетного фотометра и ПК, оснащенного программой «Микроб-Автомат» (с последующим переносом данных в «Микроб-2»).

**ВНИМАНИЕ!**  
Для достоверной оценки чувствительности к антибиотику необходимо контролировать наличие бактериального роста в контрольной лунке. Если в ней роста нет, то результаты не должны учитываться!  
Степень мутности в контрольной лунке не должна использоваться для сравнения с мутностью в лунках с антибиотиками.  
Любое изменение полной прозрачности следует оценивать как рост, включая небольшие крупинки на дне лунок, легкую опалесценцию или частичный рост в части микролунки. Необходимо отличать пузырьки воздуха в среде от микрогранул. Запишите результаты.

| H                    | G                                 | F                     | E             | D          | C           | B          | A          |
|----------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------------|------------|-------------|------------|------------|
| Контроль роста<br>КР | Триметоприм /<br>сульфаметоксазол |                       | Тигециклин    | Линезолид  | Эритромицин |            | Ванкомицин |
| GC                   | T/S<br>2/38                       | T/S<br>4/76           | TGC<br>0,5    | LIZ<br>4   | ERY<br>1    | ERY<br>2   | VAN<br>2   |
| Ципрофлоксацин       | Цефокситин                        | Фузидиевая<br>кислота | Рифампицин    |            | Клиндамицин |            | Гентамицин |
| CIP<br>1             | COX<br>4                          | FUS<br>1              | RAM<br>0,0625 | RAM<br>0,5 | CLI<br>0,25 | CLI<br>0,5 | GEN<br>1   |

Таблица интерпретации:

|                                |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   | Результат: +/- | Оценка (S, I, R) |
|--------------------------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----------------|------------------|
| контроль роста                 | КР  | + |   |   |   |   |   |   |   |   |                |                  |
| цефокситин                     | COX | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| клиндамицин                    | CLI | - | - | S | + | - | I | + | + | R |                |                  |
| ципрофлоксацин                 | CIP | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| эритромицин                    | ERY | - | - | S | + | - | I | + | + | R |                |                  |
| гентамицин                     | GEN | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| фузидиевая к-та                | FUS | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| линезолид                      | LIZ | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| рифампин                       | RAM | - | - | S | + | - | I | + | + | R |                |                  |
| тигециклин                     | TGC | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |
| триметоприм / сульфаметоксазол | T/S | - | - | S | + | - | I | + | + | R |                |                  |
| ванкомицин                     | VAN | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x              |                  |

Если зарегистрирован рост в лунке с высокой концентрацией антибиотика при отсутствии роста в лунке с низкой концентрацией того же препарата, то оценивать такие результаты нельзя, поскольку это свидетельствует об ошибке тестирования. Исследование необходимо повторить.

Интерпретация результатов:

**Клиндамицин:** в случае обнаружении устойчивости к эритромицину при чувствительности к клиндамицину (или при умеренной устойчивости к нему), следует подтвердить наличие MLSb-типа резистентности (устойчивость к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В) диско-диффузионным методом (диски с клиндамицином и эритромицином) и откорректировать результаты по клиндамицину.

Устойчивость *S. aureus* к цефокситину — признак обнаружения MRSA. Это необходимо подтвердить другими методами (рост на хромогенном агаре, латекс-агглютинация (ПСБ2а) или ПЦР).

Устойчивость к ванкомицину необходимо также подтверждать другими методами (методом МПК, например, на Е-тесте, ПЦР).

Для интерпретации данных могут быть также использованы другие национальные правила и стандарты.

Контроль качества:

Для проведения внутреннего контроля качества могут быть использованы следующие контрольные штаммы.  
Предпочтение следует отдать результатам по контрольным штаммам, указанным в рекомендациях EUCAST.

| CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213) |               |               |                 |              |               |              |            |
|----------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|------------|
| GC+                                                | T/S –<br>2/38 | T/S –<br>4/76 | TGC –<br>0,5    | LIZ –<br>4   | ERY –<br>1    | ERY –<br>2   | VAN –<br>2 |
| CIP –<br>1                                         | COX –<br>4    | FUS –<br>1    | RAM –<br>0,0625 | RAM –<br>0,5 | CLI –<br>0,25 | CLI –<br>0,5 | GEN –<br>1 |

+ Наличие роста      – Отсутствие роста

Другие рекомендуемые штаммы:

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922)  
CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

ATCC – American Type Culture Collection (Американская коллекция микроорганизмов)  
CCM – Чешская коллекция микроорганизмов  
ГМСК – Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

Меры предосторожности:

Компоненты набора не содержат опасных веществ.

Дезинфекция:

После употребления тест-системы подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем растворе либо автоклавированию.  
Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

Дата проведения контроля: 0. 6. 2019

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ

REF

Каталожный номер

IVD

Ин витро диагностика

Производитель

Перед использованием  
внимательно изучайте инструкцию

LOT

Номер партии

Температура хранения

Срок годности

The kit is designed to test antimicrobial susceptibility of staphylococci on the basis of bacterial growth at breakpoint concentrations. The kit contains 60 detection strips. Breakpoint concentrations and interpretation of sensitivities were determined on the basis of the European standard EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)) dated from 5.1.2011. The test is based on the rehydration of antibiotics in the wells with Suspension medium for SENSILATEST and addition of bacterial suspension. The results are read visually after 18-24 hours of incubation.

**The kit contains:**

- 10 plates for examination
- A lid
- 10 pc of PE bags
- Record sheet
- Storage bag
- 1 pc of Suspension medium for SENSILATEST in dehydrated form – Attention: It is necessary to prepare it before testing!

To avoid preparation of suspension media from dehydrated form, it is possible to order ready to use media. Ready to use media are available as item MLT00082 - Suspension medium for SENSILATEST. Each kit contains 20 glass tubes. One tube contains 4.4 ml of suspension media, which allows one examination on any type of SENSILATEST strip.

**Storage and expiration of the kit:**

It is recommended to store the kit at (+15 to +25) °C. The date of expiration is indicated on each package. After the aluminium package is opened, it is possible to insert any unused strips into a storage bag with desiccant at the room temperature for a period of maximum 8 days. Mark the storage bag with a type of stored strips (e.g. G-I, G-II etc.) to avoid mistake in their further usage. **Don't leave opened strips unprotected!!! Exposition to open air leads to antibiotic activity failure!!!** In case that laboratory is not able to keep kits at recommended room temperature (not exceeding 25 °C), it is better to keep kits in refrigerator (+2 to +8) °C. Then it is necessary to leave plate at room temperature for 2 hours before the use to avoid water condensation.

**Storage and expiration of Suspension medium for SENSILATEST:**

It can be stored in powder form at (+15 to +25) °C till the date indicated on the package. The expiration of the Suspension medium for SENSILATEST is 6 months at (+15 to +25) °C after it was prepared into a liquid form. Do not store the prepared medium at lower temperatures as it can lead to formation of gel in the media. If such a situation occurs, adjust the medium to room temperature and shake it thoroughly before the use.

**Material required to perform a test, not included in the kit:**

- Sterile physiological solution
- Sterile tubes
- An stepper pipette for dosage of 100 µl
- A pipette for dosage of 40 µl
- Densitometer (e.g. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Incubator 37 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, marker, burner, etc.)

**Material required to prepare Suspension medium for SENSILATEST, not included in the kit:**

- A mixing stick or a stirrer
- Autoclave

**Caution:**

**The kit is for professional use only!**  
**Respect the rules for work with infectious material!**

## Instructions for Use

**Caution:**

**Prepare the Suspension medium for SENSILATEST before you start testing!**

To avoid preparation of suspension media from dehydrated form, it is possible to order ready to use media. Ready to use media are available as item MLT00082 - Suspension medium for SENSILATEST. Each kit contains 20 glass tubes. One tube contains 4.4 ml of suspension media, which allows one examination on any type of SENSILATEST strip.

**Preparation of Suspension medium for SENSILATEST:**

One pack is sufficient to prepare 0.5 L of Suspension medium for SENSILATEST. Add 0.5 L of preheated distilled water and stir it. Autoclave the prepared suspension for 30 minutes at 121 °C. Cool it to room temperature and stir it again under sterile conditions. A small precipitate at the bottom does not influence the function of the medium. Check the pH of the medium before the use. pH of the medium must be 7.5 (± 0.1). Adjust pH if necessary.

**Instructions to use the kit:**

- 1) Prepare a tube with 2 - 5 ml of physiological solution of pH 5.5 – 6.5.
- 2) Prepare a tube with Suspension medium for SENSILATEST optimally preheated to 37 °C.
- 3) Remove few colonies from 18 – 24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension of density of 0.5 on McF scale in physiological solution.  
**Overestimation of suspension density is smaller error than its underestimation.**
- 4) Inoculate **40 µl** of bacterial suspension into 4.4 ml of Suspension medium for SENSILATEST and homogenise well.

**Inoculation:**

Remove a plate from aluminium bag. Remove required number of strips for examination. Do not remove the strips from the package earlier than 30 minutes before you start the work. Insert any unused strips into a ZIP log bag. Transfer a desiccant bag from the original package into a ZIP log bag and close it for later use. Mark the storage bag with a type of stored strips (e.g. G-I, G-II etc.) to avoid mistake in their further usage. **Use the strips stored in this way within 8 days! Don't leave opened strips unprotected!!! Exposition to open air leads to antibiotic activity failure!!!**

Record numbers of the examined strains on the corresponding strips. Mark the frame with a type of strip (e.g. G-I, G-II etc.) to avoid mistake in reading results after incubation.

Inoculate **100 µl** of suspension in Suspension medium for SENSILATEST into each well of the strip with the help of automatic stepper pipette.

**Incubation:**

Insert the inoculated plate into a PE bag. Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation. Incubate the plate at 37 °C for 18 – 24 hours.

**Evaluation:**

Remove the plate from the PE bag. To read the growth in the microwells, choose a way which is the most convenient for you:

- 1) Use the lid with imprinted antibiotics sequence.
- 2) Read against a grey background.
- 3) Read against natural or artificial dispersed light – you can detect even limited growth in a form of grains or light turbidity.



**Please read with attention:**

You must see a growth in a control well! If the growth is not present, the test **MUST NOT** be evaluated! However, the growth control is not used to compare the presence of the growth in individual wells with antibiotics. Every change from a total transparency is evaluated as growth, including small grains of growth in a well, light turbidity or partial growth covering only a part of a well. Beware to differentiate grains of growth from media bubbles. Record the results.

| H              | G                             | F            | E             | D          | C            | B          | A          |
|----------------|-------------------------------|--------------|---------------|------------|--------------|------------|------------|
| Growth control | Trimetoprim / sulfamethoxazol |              | Tigecycline   | Linezolid  | Erythromycin |            | Vancomycin |
| GC             | T/S<br>2/38                   | T/S<br>4/76  | TGC<br>0,5    | LIZ<br>4   | ERY<br>1     | ERY<br>2   | VAN<br>2   |
| Ciprofloxacin  | Cefoxitin                     | Fusidic acid | Rifampicin    |            | Clindamicin  |            | Gentamicin |
| CIP<br>1       | COX<br>4                      | FUS<br>1     | RAM<br>0,0625 | RAM<br>0,5 | CLI<br>0,25  | CLI<br>0,5 | GEN<br>1   |

**Interpretation table:**

|                               |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   | Results: +/- | Evaluation (S, I, R) |
|-------------------------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------------|----------------------|
| Growth control                | GC  | + |   |   |   |   |   |   |   |   |              |                      |
| Cefoxitin                     | COX | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Clindamicin                   | CLI | - | - | S | + | - | I | + | + | R |              |                      |
| Ciprofloxacin                 | CIP | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Erythromycin                  | ERY | - | - | S | + | - | I | + | + | R |              |                      |
| Gentamicin                    | GEN | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Fusidic acid                  | FUS | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Linezolid                     | LIZ | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Rifampicin                    | RAM | - | - | S | + | - | I | + | + | R |              |                      |
| Tigecycline                   | TGC | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |
| Trimetoprim / sulfamethoxazol | T/S | - | - | S | + | - | I | + | + | R |              |                      |
| Vancomycin                    | VAN | - |   | S |   |   |   | + |   | R | x            |                      |

If there is a growth at a higher concentration of an antibiotic and no growth at a lower concentrations of the same antibiotic, do not evaluate susceptibility to this antibiotic. This combination shows an error in the procedure!

In case of **ERY** resistant along with **CLI** sensitive or intermediate, it is necessary to determinate “induction“ of **MLSb** (macrolides-lincosamides-streptogramins B) resistance with disks ERY and CLI and correct the result for CLI.

Resistance to **COX** in **S. aureus** indicates possibility of MRSA. MRSA is necessary to be confirmed by other methods – growth on chromogenic agar, latex agglutination (PBP2a) or PCR.

Resistance to **VAN** is necessary to be confirmed by other methods (gradient MIC, e.g. E-test, or PCR).

Depending on national or laboratory standards, other criteria described in EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing can be used.

**Quality control:**

Control strains can be used for internal testing of functionality of the antibiotics in the laboratory. Please refer to the acceptable limits for quality control strains according to EUCAST.

| CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213) |               |               |                 |              |               |              |            |
|----------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|------------|
| GC+                                                | T/S –<br>2/38 | T/S –<br>4/76 | TGC –<br>0,5    | LIZ –<br>4   | ERY –<br>1    | ERY –<br>2   | VAN –<br>2 |
| CIP –<br>1                                         | COX –<br>4    | FUS –<br>1    | RAM –<br>0,0625 | RAM –<br>0,5 | CLI –<br>0,25 | CLI –<br>0,5 | GEN –<br>1 |

+ growth – no growth

**Other recommended control strains:**

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922)

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Czech Collection of Microorganisms

**Health protection:**

Components of the kit do not contain any dangerous substances.

**Disposal of the used material:**

Insert the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.

Put paper packaging waste to recycling.

Date of revision: 0. 6. 2019

**USED SYMBOLS**



Catalogue number



In vitro diagnostics



Manufacturer



See instruction for use



Lot number



Storage temperature



Expiry date