MIKROLATEST®

CE IVD

MIC G-II

CZ

Kat. č.: MLT00045 **Pro mikrobiologii**

Souprava je určena pro stanovení citlivosti k antibiotikům bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* na základě determinace MIC (minimální inhibiční koncentrace), tzn. nejnižší koncentrace, která zamezí viditelnému růstu bakterií. Obsahuje 10 stanovení.

Principem testu je rehydratace antibiotik v jamkách pomocí Mueller Hinton II bujonu a přidání bakteriální suspenze. Po 16–20 hodinové inkubaci jsou výsledky odečítány vizuálně nebo readrem. Tato souprava je určena pro testování citlivosti k antibiotikům určených pro léčbu závažných infekcí zejména u hospitalizovaných pacientů. Antibiotika pro méně vážné infekce jsou zahrnuta v soupravě MIC G-I.

Souprava obsahuje:

- 10 vyšetřovacích desek
- 1 víčko (nesterilní)
- 10 ks PE sáčků

Skladování a exspirace soupravy:

Skladování je doporučeno při (+2 až +25) °C, exspirace je vyznačena na obalu. Po vyndání z chladničky nechejte destičky temperovat při pokojové teplotě minimálně po dobu 30 minut k zamezení kondenzace vody. Po otevření hliníkového obalu a sejmutí fólie nenechávejte již otevřené destičky bez ochrany. Vzdušná vlhkost ohrožuje funkčnost antibiotik!!!

Potřeby pro práci se soupravou, které nejsou součástí soupravy:

- Sterilní nepufrovaný fyziologický roztok
- Mueller Hinton bujon II adjustovaný na kationty (např. suspenzní médium MIC kat. č. MLT00070)
- Etanol
- Sterilní zkumavky
- Inokulátor Erba Dip kat. č. 50004456
- Sterilní Petriho misky
- Sterilní vaničky 60 ml kat. č. 50004457
- Krokovací pipeta na 100 µl nebo multikanálová pipeta 100 µl
- Pipeta na 60–100 µl
- Densitometer (např. DENSILAMETER II kat. č. INS00062)
- Inkubátor 35±2 °C
- Běžné laboratorní vybavení (kličky, popisovače, kahan, atd.)

Upozornění: **Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití. Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiálem!**

Pracovní postup

Příprava bakteriální suspenze a inokulace:

A) Inokulace inokulátorem

1) Vyjměte destičku z hliníkového obalu a sejměte fólii. Označte destičku typem soupravy (G-II) a zaznamenejte číslo vyšetřované kultury. Rozpipetujte do všech jamek po 100 µl suspenzního média MIC.
2) Připravte zkumavku s 12 ml fyziologického roztoku. Přidejte 100 µl suspenzního média MIC ke snížení povrchového napětí inokula.
3) Z 18–24 hodinové kultury na krevním agaru setřete několik kolonií a připravte ve fyziologickém roztoku bakteriální suspenzi o denzitě 0,5 McFarland.
4) Tuto suspenzi vlijte do sterilní Petriho misky.
5) Inokulujte rozplněnou destičku pomocí sterilního inokulátoru: inokulátor smočte v Petriho misce s etanolem a ožehněte nad plamenem. Vychladlý inokulátor smočte v Petriho misce s bakteriální suspenzí. Přeneste inokulum do 1. poloviny destičky jemným kroužením v jamkách. Opět smočte inokulátor v Petriho misce s bakteriální suspenzí a opakujte inokulaci 2. poloviny destičky.

B) Inokulace pipetou

1) Připravte zkumavku s 2 ml fyziologického roztoku.
2) Z 18–24 hodinové kultury na krevním agaru setřete několik kolonií a připravte ve fyziologickém roztoku bakteriální suspenzi o denzitě 0,5 McFarland.
3) Přeneste 60 µl z bakteriální suspenze ve fyziologickém roztoku do zkumavky s 13 ml suspenzního média MIC a dobře homogenizujte.
4) Vyjměte destičku ze sáčku a sejměte fólii. Označte destičku typem soupravy (G-II) a zaznamenejte číslo vyšetřované kultury.

Rozplňte suspenzní médium MIC s inokulem po 100 µl do každé jamky.

Poznámka: Destičku zpracujte do 60 minut po vyjmutí ze sáčku.

Inkubace:

Nainokulovanou destičku vložte do PE sáčku, jehož okraje zahnete pod desku tak, aby nedocházelo k vysychání inokula.

Destičku vložte do termostatu 35±2 °C na 16–20 hod.

Vyhodnocení:

Destičku vyjměte z PE sáčku. Pro odečítání nárůstu v jamkách zvolte způsob, který je pro Vás nejoptimálnější:

1) Odečítejte proti šedému pozadí nebo proti tabulce destičky v návodu
2) Odečítejte proti přirozenému nebo umělému rozptýlenému světelnému zdroji.
3) Použití lupy není doporučováno.
4) Odečíteje s pomocí readeru a identifikačního softwaru.

Prosím věnujte pozornost:

V jamce s kontrolou růstu (K) musíte vidět nárůst! Jestliže nárůst není, test NELZE HODNOTIT! Jako MIC je hodnocena jamka s nejnižší koncentrací antibiotika, která zamezí okem viditelnému růstu bakterií. Odlište zrnění od případných bublin! Výsledky zaznamenejte.

Tab. 1: Rozložení antibiotik a jejich koncentračních řad v mg/l na destičce

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
A	128	128/4	8	16	64	64/32	16	16	2	8	16	8
B	64	64/4	4	8	32	32/16	8	8	1	4	8	4
C	32	32/4	2	4	16	16/8	4	4	0,5	2	4	2
D	16	16/4	1	2	8	8/4	2	2	0,25	1	2	1
E	8	8/4	0,5	1	4	4/2	1	1	0,12	0,5	1	0,5
F	4	4/4	0,25	0,5	2	2/1	0,5	0,5	0,06	0,25	0,5	0,25
G	2	2/4	0,12	0,25	1	1/0,5	0,25	0,25	0,03	0,12	0,25	0,12
H	1	1/4	0,06	0,12	0,5	0,5/0,25	0,12	0,12	0,015	0,06	0,12	K

10020296

Tab 2: Klinické breakpointy MIC (mg/l) pro *Enterobacteriaceae*

		EUCAST			CLSI		
Antibiotikum	**Zkratka**	**Citlivý S**	**Inter-mediární I**	**Rezistentní R**	**Citlivý S**	**Inter-mediární I**	**Rezistentní R**
Piperacilin	PIP	≤8	16	≥32	≤16	32-64	≥128
Piperacilin / tazobaktam	PIT	≤8/4	16/4*	≥32/4	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Cefotaxim	CTX	≤1	2	≥4	≤1	2	≥4
Ceftazidim	CAZ	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Cefoperazon	CPZ				≤16	32	≥64
Cefoperazon / sulbaktam	CPS						
Cefepim	CEP	≤1	2-4	≥8	≤2	4-8 (SDD)	≥16
Meropenem	MER	≤2	4-8	≥16	≤1	2	≥4
Ertapenem	ERT	≤0,5		≥1	≤0,5	1	≥2
Tigecyklin, E. coli a C. koseri	TGC	≤0,5		≥1			
Netilmicin	NET	≤2	4	≥8	≤8	16	≥32
Tobramycin (systémové infekce) Tobramycin (infekce močových cest)	TOB	(≤2) ≤2		(≥4) ≥4	≤4	8	≥16

* ATU (Areas of Technical Uncertainty) - před interpretací výsledků proveďte jednu z variant:
- Opakování testu
- Použití alternativního testu
- Snížení kategorie citlivosti
- Uvedení ATU v reportu

Více na www.eucast.org

Poznámky k interpretacím:

Dle stanovené MIC se testovaný kmen řadí do kategorie citlivý – intermediární – rezistentní k danému antibiotiku na základě aktuálních interpretačních tabulek EUCAST (1) nebo dle CLSI dokumentu M100 (2). Kategorie SDD je definována pro *Enterobacteriaceae* jako citlivý v závislosti na dávce (dávkování vede ke zvýšené expozici cefepimem).

1) Rezistence k CTX a CAZ indikuje ESBL produkci. MER a ERT jsou doporučovány pro skríning produkce karbapenemáz. Konfirmační testy se provádí dle doporučení EUCAST (3) nebo CLSI dokumentu M100 (2).

2) Aminoglykosidy (EUCAST) – u systémových infekcí musí být aminoglykosidy používány v kombinaci s jinou aktivní terapií. Za těchto okolností lze breakpointy v závorkách použít k odlišení organismů se získanými mechanismy rezistence a bez nich. U izolátů bez mechanismů rezistence uveďte ve zprávě komentář: „Aminoglykosidy se často podávají v kombinaci s jinými látkami, a to buď na podporu aktivity aminoglykosidů, nebo na rozšíření spektra léčby. U systémových infekcí musí být aminoglykosid doplněn jinou aktivní terapií.“

V závislosti na národních nebo laboratorních standardech je nutné použít další interpertační kriteria, např. EUCAST Expert rules (4) nebo CLSI dokumenty M100 (2) a M07 (5). Při interpretaci výsledků je třeba zohlednit druhovou identifikaci kmene, původ vzorku, anamnézu pacienta, případně výsledky doplňujících testů.

Kontrola kvality:

Pro kontrolu kvality doporučujeme používat všechny níže uvedené kontrolní kmeny. Při vyhodnocení výsledků testování kontrolními kmeny se řiďte standardem EUCAST nebo CLSI. Pro kontrolu je nutné používat čerstvé, nepasážované kmeny.

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922) MIC (mg/l)											
PIP 1-4	PIT 1/4-4/4	CTX 0,03-0,12	CAZ 0,06-0,5	CPZ 0,12-0,5	CPS* 0,12-0,5	CEP 0,015-0,12	MER 0,008-0,06	ERT 0,004-0,015	TGC 0,03-0,25	NET ≤0,5-1	TOB 0,25-1

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) MIC (mg/l)											
PIP 1-8	PIT 1/4-8/4	CTX 8-32	CAZ 1-4	CPZ 2-8	CPS* 2-8	CEP 0,5-4	MER 0,125-1	ERT 2-8	TGC -	NET 0,5-8	TOB 0,25-1

CCM 4225 *Escherichia coli* (ATCC 35218) MIC (mg/l)											
PIP > 64	PIT 0,5/4-2/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* pro toto ATB kontrolní hodnoty v EUCAST nebo CLSI nejsou uvedeny, hodnoty byly stanoveny interním testování v Erba Lachema s.r.o.

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, Tel: 549 491 430, Fax: 549 498 289 http://www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Ochrana zdraví:

Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

Likvidace použitého materiálu:

Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a likvidujte dle vlastních interních předpisům, autoklávujte nebo zničte spálením.
Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

Literatura:

(1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, http://www.eucast.org
(2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
(3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, http://www.eucast.org
(4) EUCAST expert rules in antimicrobial suceptibility testing, http://www.eucast.org
(5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Datum revize: 0. 2. 2020

POUŽITÉ SYMBOLY

REF Katalogové číslo | IVD In vitro diagnostikum | Výrobce | Čtěte návod k použití

LOT Číslo šarže | Teplota skladování | Datum expirace

10020296

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

MIKROLATEST®

CE IVD

MIC G-II

EN

Cat. N.: MLT00045 **For microbiology**

The kit is designed to test antimicrobial susceptibility of bacteria from *Enterobacteriaceae* family on the basis of determination MIC (minimal inhibitory concentration), i.e. the lowest concentration, which inhibits bacterial growth. The kit contains 10 examinations (plates). The test is based on the rehydration of antibiotics in the wells with Mueller Hinton II broth and addition of bacterial suspension. The results are read visually or by reader after 16–20 hours of incubation. This kit is designed to test susceptibility to antibiotics used in treatment of serious infections especially in hospitalized patients. Antibiotics for less serious infections are included in the kit MIC G-I.

The kit contains:

- 10 plates for examination
- A lid (non-sterile)
- 10 pc of PE bags

Storage and expiration of the kit:

It is recommended to store the kit at (+2 to +25) °C. The date of expiration is indicated on each package. Leave plate at room temperature at least for 30 minutes before you open it to avoid water condensation. After the aluminium package is opened, don´t leave opened plates unprotected!!! Exposition to air humidity leads to antibiotic activity failure!!!

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

- Sterile physiological solution (unbuffered)
- Mueller Hinton broth II cations adjusted (e.g. suspension medium MIC Cat. N. MLT00070)
- Ethanol
- Sterile tubes
- Inoculator Erba Dip Cat. N. 50004456
- Sterile Petri dishes
- Sterile basins 60 ml Cat. N. 50004457
- A stepper or multichannel pippete for dosage of 100 µl
- A pippete for dosage of 60-100 µl
- Densitometer (e.g. DENSILAMETER II Cat. N. INS00062)
- Incubator 35±2 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, marker, burner, etc.)

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

Instructions for Use

Preparation of bacterial suspension and inoculation (recommended procedure):

A) Inoculation with inoculator

1) Remove a plate from aluminium bag and remove aluminium cover. Mark the frame with a type of kit (G-II) to avoid mistake in reading results after incubation. Record number of examined strain on the plate. Fill 100 µl of suspension medium MIC into each well.
2) Prepare a tube with 12 ml of physiological solution. Add 100 µl of suspension medium MIC to decrease surface tension.
3) Remove few colonies from 18–24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension of density of 0.5 on McFarland scale in physiological solution.
4) Pour the bacterial suspension into a sterile Petri dish.
5) Use sterile inoculator to inoculate the plate: dip inoculator into Petri dish with ethanol and flame it. Dip the cooled inoculator into a Petri dish with prepared bacterial suspension. A thin film of bacterial suspension is adhered to metal spikes of inoculator. Transfer inoculum to the first half of the plate by dipping into wells and carefull mixing. Make a new dip into the Petri dish with prepared bacterial inoculum and inoculate the second half of the plate.

B) Inoculation with pippete

1) Prepare a tube with 2 ml of physiological solution.
2) Remove few colonies from 18–24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension of density of 0.5 on McFarland scale in physiological solution.
3) Place 60 µl of bacterial suspension into a tube with 13 ml of suspension medium MIC, homogenise well.
4) Remove a plate from aluminium bag and remove aluminium cover from the plate. Mark the frame with a type of kit (G-II) to avoid mistake in reading results after incubation. Record number of the examined strain on the plate.
5) Inoculate each well of the plate with 100 µl of bacterial suspension prepared in suspension medium MIC.

Note: Process a plate within 60 minutes after removing it from aluminium bag

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 35±2 °C for 16–20 hours.

Evaluation:

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

1) Read against a grey background or against plate layout in instructions
2) Read against natural or artifical dispersed light.
3) Usage of magnifying glass is not recommended.
4) Evaluate test using reader and identification software.

Please read with attention!

You must see a growth in the control well (K)! If the growth is not present, the test MUST NOT be evaluated! The MIC is the lowest concentration of antibiotic in a well where no visible growth of the organism is observed. Beware to differentiate grains of growth from media bubbles. Record the results.

Tab. 1: Plate layout: antibiotics dilution series (in mg/l)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
A	128	128/4	8	16	64	64/32	16	16	2	8	16	8
B	64	64/4	4	8	32	32/16	8	8	1	4	8	4
C	32	32/4	2	4	16	16/8	4	4	0.5	2	4	2
D	16	16/4	1	2	8	8/4	2	2	0.25	1	2	1
E	8	8/4	0.5	1	4	4/2	1	1	0.12	0.5	1	0.5
F	4	4/4	0.25	0.5	2	2/1	0.5	0.5	0.06	0.25	0.5	0.25
G	2	2/4	0.12	0.25	1	1/0.5	0.25	0.25	0.03	0.12	0.25	0.12
H	1	1/4	0.06	0.12	0.5	0.5/0.25	0.12	0.12	0.015	0.06	0.12	K

10020296

Tab 2: Clinical MIC breakpoints (in mg/l) for *Enterobacteriaceae*

		EUCAST			CLSI		
Antibiotics	**Abbr.**	**Sensitive S**	**Inter-mediate I**	**Resistent R**	**Sensitive S**	**Inter-mediate I**	**Resistent R**
Piperacillin	PIP	≤8	16	≥32	≤16	32-64	≥128
Piperacillin / tazobactam	PIT	≤8/4	16/4*	≥32/4	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Cefotaxime	CTX	≤1	2	≥4	≤1	2	≥4
Ceftazidime	CAZ	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Cefoperazone	CPZ				≤16	32	≥64
Cefoperazone / sulbactam	CPS						
Cefepime	CEP	≤1	2-4	≥8	≤2	4-8 (SDD)	≥16
Meropenem	MER	≤2	4-8	≥16	≤1	2	≥4
Ertapenem	ERT	≤0.5		≥1	≤0.5	1	≥2
Tigecycline, E. coli and C. koseri	TGC	≤0,5		≥1			
Netilmicin	NET	≤2	4	≥8	≤8	16	≥32
Tobramycin (systemic infections) Tobramycin (infections originating from the urinary tract)	TOB	(≤2) ≤2		(≥4) ≥4	≤4	8	≥16

* ATU (Areas of Technical Uncertainty) – before interpretation of results:
- Repeat the test
- Use an alternative test
- Downgrade the susceptibility category
- Include the uncertainty as part of the report

More on www.eucast.org

Interpretation:

The tested strain is categorised as sensitive-intermediate-resistant to a particular antibiotic on the basis of MIC determination. This categorisation is based on EUCAST: Breakpoint Tables (1) or according to CLSI document M100 (2).

1) Resistance to CTX and CAZ indicates ESBL production. MER and ERT are recommended to screen for carbapenemases production. Confirmation tests are recommended according to EUCAST guidelines (3) or CLSI document M100 (2).

2) Aminoglycosides (EUCAST) - for systemic infections, aminoglycosides must be used in combination with other active therapy. In this circumstance, the breakpoint in brackets can be used to distinguish between organisms with and without acquired resistance mechanisms. For isolates without resistance mechanisms, include a comment in the report: "Aminoglycosides are often given in combination with other agents, either to support the activity of the aminoglycoside or to broaden the spectrum of therapy. In systemic infections, the aminoglycoside must be supported by other active therapy."

Other interpretative criteria have to be used depending on national and laboratory standards, e.g. EUCAST Expert rules (4) or CLSI documents M100 (2) and M07 (5). It is necessary to take into consideration following parameters when interpreting results: species identification, sample origin, patient case history, or resuls of additional tests.

Quality control:

We recommended all following control strains for internal testing of functionality of the antibiotics in the laboratory. Follow EUCAST or CLSI standards when evaluating results. Fresh strains must be used for quality control.

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922) MIC (mg/l)											
PIP 1-4	PIT 1/4-4/4	CTX 0.03-0.12	CAZ 0.06-0.5	CPZ 0.12-0.5	CPS* 0.12-0.5	CEP 0.015-0.12	MER 0.008-0.06	ERT 0.004-0.015	TGC 0.03-0.25	NET ≤0.5-1	TOB 0.25-1

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) MIC (mg/l)											
PIP 1-8	PIT 1/4-8/4	CTX 8-32	CAZ 1-4	CPZ 2-8	CPS* 2-8	CEP 0.5-4	MER 0.125-1	ERT 2-8	TGC -	NET 0.5-8	TOB 0.25-1

CCM 4225 *Escherichia coli* (ATCC 35218) MIC (mg/l)											
PIP > 64	PIT 0.5/4-2/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* No EUCAST or CLSI control values, the values were set internally in Erba Lachema s.r.o

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ

Tel. +420 549 491 430, Fax +420 549 498 289, http://www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Health protection:

Components of the kit are not classified as dangerous.

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.

Literature:

(1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, http://www.eucast.org

(2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

(3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, http://www.eucast.org

(4) EUCAST expert rules in antimicrobial suceptibility testing, http://www.eucast.org

(5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

USED SYMBOLS

Date of revision: 0. 2. 2020

REF Catalogue number | IVD In vitro diagnostics | Manufacturer | See instruction for use

LOT Lot number | Storage temperature | Expiry date

10020296

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

MIKROLATEST®

CE IVD

MIC G-II

PL

Nr kat. MLT00045 **Do celów mikrobiologicznych**

Zestaw przeznaczony jest do oznaczenia wrażliwości na antybiotyki bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* na podstawie określenia MIC (minimalnego stężenia hamującego), tzn. najniższego stężenia, które zahamuje widoczny wzrost bakterii. Zestaw umożliwia przeprowadzenie 10 badań. Test oparty jest na zasadzie ponownego nawodnienia antybiotyków w studzienkach za pomocą Mueller Hinton II bulionu i dodaniu zawiesiny bakterii. Po 16–20 godzinach inkubacji wyniki odczytywane są wizualnie lub za pomocą czytnika. Zestaw ten zawiera antybiotyki przeznaczone do leczenia poważnych zakażeń, przede wszystkim w przypadku pacjentów hospitalizowanych. Antybiotyki podstawowe, przeznaczone do mniej poważnych stanów, znajdują się w zestawie MIC G-I.

Zestaw zawiera:

- 10 płytek testowych
- 1 niesterylne pokrywe
- 10 szt. PE torebek

Przechowywanie i data ważności zestawu:

Zestaw zaleca się przechowywać w temperaturze +2 do +25 °C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu. Po wyjęciu z lodówki należy płytki pozostawić w temperaturze pokojowej przez co najmniej 30 minut, w celu ograniczenia skraplania wody, żeby doprowadzić ich do temp. pokojowej. Po otwarciu aluminiowego opakowania i zdjęciu folii nie należy pozostawiać raz otwartą płytkę bez ochrony. Wilgoć w powietrzu zagraża funkcyjności antybiotyków !!!

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

- Roztwór sterylnej soli fizjologicznej (niebuforowanej)
- Mueller Hinton bulion II dostosowany do kationów (np. Nośnik zawiesiny MIC nr kat. MLT00070)
- Etanol
- Probówki sterylne
- Inokulator Erba Dip nr kat. 50004456
- Sterylne płytki Petriego
- Sterylne wanienki 60 ml nr kat. 50004457
- Pipeta (dozator) na 100 µl lub wielokanałowa pipeta 100 µl
- Pipeta na 60–100 µl
- Densytometr (np. DENSILAMETER II nr kat. INS00062)
- Cieplarka 35±2 °C
- Podstawowe wyposażenie laboratoryjne (ezy, markery, palnik, itd.)

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

Sposób postępowania

Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej oraz inokulacja:

A) Inokulacja za pośrednictwem inokulatora

1) Wyjąć płytkę z aluminiowego opakowania i zdjąć ochronną folię aluminiową z płytki (tuż przed rozpoczęciem inokulacji). Oznaczyć płytkę rodzajem zestawu (G-II), opisać numery badanych kultur. Pipetować do wszystkich studzienek po 100 µl nośnika zawiesiny MIC.
2) Przygotować probówkę z 12 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej (niebuforowanej). Podczas inokulacji dodać 100 µl nośnika zawiesiny MIC, żeby zmniejszyć napięcie powierzchniowe inokulum.
3) Z 18–24 godzinnej kultury na agarze krwawym pobrać kilka kolinii i przygotować w roztworze soli fizjologicznej zawiesinę bakteryjną o gęstości 0,5 McFarland.
4) Tak przygotowaną zawiesinę wlać na sterylną płytkę Petriego.
5) Inokulować napełnioną płytkę za pomocą sterylnego inokulatora: inokulator nawilżyć w płytce Petriego z etanolem i wyżarzyć nad płomieniem. Ostygły inokulator nawilżyć w płytce Petriego z zawiesiną bakteryjną. Przenieść inokulum do pierwszej połowy płytki delikatnym krążeniem inokulatora w studzienkach. Ponownie nawilżyć inokulator w płytce Petriego i powtórzyć inokulację drugiej połowy płytki.

B) Inokulacja za pośrednictwem pipety

1) Przygotować probówkę z 2 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej (niebuforowanej).
2) Z 18–24 godzinnej kultury na agarze krwawym pobrać kilka kolinii i przygotować w roztworze soli fizjologicznej zawiesinę bakteryjną o gęstości 0,5 McFarland.
3) Przenieść 60 µl z zawiesiny bakteryjnej w roztworze soli fizjologicznej do probówki z 13ml nośnika zawiesiny MIC i dokładnie zhomogenizować.
4) Wyjąć płytkę z aluminiowego opakowania i zdjąć ochronną folię aluminiową z płytki (tuż przed rozpoczęciem inokulacji). Oznaczyć płytkę rodzajem zestawu (G-II), opisać numery badanych kultur. Pipetować do wszystkich studzienek po 100 µl nośnika zawiesiny MIC z inokulum.

Uwaga: Przetwarzaj płytkę w ciągu 60 minut od wyjęcia z aluminiowego opakowania.

Inkubacja:

Płytkę po inokulacji włożyć do PE torebki, zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby zapobiec wysychaniu inokulum.
Płytkę włożyć do cieplarki w temp. 35±2 °C na 16–20 godz.

Ocena:

Płytkę wyjąć z torebki PE. Dla odczytu wzrostu w studzienkach należy wybrać najbardziej optymalny dla siebie sposób:
1/ odczytać za pomocą czytelnik i identyfikacji oprogramowania.
2/ odczytać wizualnie na szarym tle lub na tle tabelki płytki w instrukcji obsługi
3/ odczytać wizualnie na tle naturalnego lub sztucznego rozproszonego źródła światła
4/ użycie lupy nie zaleca się

Prosimy o zwrócenie uwagi:

W studzience z kontrolą wzrostu powinien być wzrost !!! Jeżeli nie ma wzrostu, test NIE MOŻNA OCENIAĆ!
Jako MIC ocenia się studzienkę z najniższym stężeniem antybiotyku, która zahamuje okiem widoczny wzrost bakterii. Należy odróżnić ziarnistość od ewentualnych pęcherzyków powietra ! Wyniki wpisać do formularza.
UWAGA: dla użytkowników systemu Mikrola wraz z programem MIKROB ocenę studzienki kontroli wzrostu przeprowadza program MIKROB automatycznie na podstawie odczytu za pomocą czytnika.

Tab. 1: Rozkład antybiotyków i ich stężeń na płytce w mg/l

	1 PIP	2 PIT	3 CTX	4 CAZ	5 CPZ	6 CPS	7 CEP	8 MER	9 ERT	10 TGC	11 NET	12 TOB
A	128	128/4	8	16	64	64/32	16	16	2	8	16	8
B	64	64/4	4	8	32	32/16	8	8	1	4	8	4
C	32	32/4	2	4	16	16/8	4	4	0,5	2	4	2
D	16	16/4	1	2	8	8/4	2	2	0,25	1	2	1
E	8	8/4	0,5	1	4	4/2	1	1	0,12	0,5	1	0,5
F	4	4/4	0,25	0,5	2	2/1	0,5	0,5	0,06	0,25	0,5	0,25
G	2	2/4	0,12	0,25	1	1/0,5	0,25	0,25	0,03	0,12	0,25	0,12
H	1	1/4	0,06	0,12	0,5	0,5/0,25	0,12	0,12	0,015	0,06	0,12	kontrola wzrostu

10020296

Tab 2: Numeryczne wyrażenie MIC (mg/l) dla *Enterobacteriaceae*

		EUCAST			CLSI		
Antybiotyk	**Skrót**	**Wrażliwy S**	**Średniowrażliwy I**	**Oporny R**	**Wrażliwy S**	**Średniowrażliwy I**	**Oporny R**
Piperacylina	PIP	≤8	16	≥32	≤16	32-64	≥128
Piperacylina/tazobaktam	PIT	≤8/4	16/4*	≥32/4	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Cefotaksym	CTX	≤1	2	≥4	≤1	2	≥4
Ceftazydym	CAZ	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Cefoperazon	CPZ				≤16	32	≥64
Cefoperazon/sulbaktam	CPS						
Cefepim	CEP	≤1	2-4	≥8	≤2	4-8 (SDD)	≥16
Meropenem	MER	≤2	4-8	≥16	≤1	2	≥4
Ertapenem	ERT	≤0,5		≥1	≤0,5	1	≥2
Tigecyklina, E. coli i C. koseri	TGC	≤0,5		≥1			
Netylmycyna	NET	≤2	4	≥8	≤8	16	≥32
Tobramycyna (infekcje ogólnoustrojowe) Tobramycyna (zakażenia dróg moczowych)	TOB	(≤2) ≤2		(≥4) ≥4	≤4	8	≥16

* ATU (Areas of Technical Uncertainty) – Wykonaj jeden z wariantów przed interpretacją wyników:
- Powtórzyć test
- Zastosowanie alternatywnego testu
- Zredukuj kategorię czułości
- Umieszczenie ATU w raporcie

Więcej na www.eucast.org

Uwagi do interpretacji:
Wg oznaczonego MIC badany szczep przyporządkowany jest do kategorii wrażliwy – średniowrażliwy – oporny na dany antybiotyk na podstawie tabeli interpretacyjnych EUCAST (1) lub na podstawie dokumentu CLSI M100 (2). Kategorię SDD ustalono dla *Enterobacteriaceae* jako wrażliwy w zależności od stężenia (dozowanie prowadzi do zwiększonej ekspozycji na cefepim).
1) Oporność na CTX i CAZ wskazuje na wytwarzanie ESBL. MER i ERT zalecane są dla przesiewowego badania do sprawdzenia wytwarzania karbapenemaz. Testy potwierdzające przeprowadza się według zalecenia EUCAST (3) lub dokumentu CLSI M100 (2).
2) Aminoglikozydy (EUCAST) – w zakażeniach ogólnoustrojowych aminoglikozydy muszą być stosowane w połączeniu z innymi aktywnymi terapiami. W tych okolicznościach punkty przerwania w nawiasach można wykorzystać do rozróżnienia organizmów z nabytymi mechanizmami oporności i bez nich. W przypadku izolatów bez mechanizmów oporności skomentuj w raporcie: „Aminoglikozydy są często podawane w połączeniu z innymi substancjami, albo w celu wspierania aktywności aminoglikozydów, albo w celu rozszerzenia spektrum leczenia. W zakażeniach ogólnoustrojowych aminoglikozyd musi być uzupełniony inną aktywną terapią.„
W zależności od krajowych lub laboratoryjnych standardów można użyć kolejne kryteria interpretacyjne, np. EUCAST Expert rules (4) lub dokument CLSI M100 (2) i M07 (5). Podczas interpretacji wyników należy wziąć pod uwagę identyfikację szczepu do gatunku, pochodzenie próbki i wywiad chorobowy pacjenta; ewentualnie wyniki testów uzupełniających.

Kontrola jakości:
Dla kontroli jakości zestawu zalecamy poniżej wymienione wszystkie szczepy kontrolne. Podczas oceny wyników testowania szczepami kontrolnymi należy kierować się standardem EUCAST lub CLSI. Do kontroli należy użyć świeżych szczepów.

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922) MIC (mg/l)											
PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS*	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
1-4	1/4-4/4	0,03-0,12	0,06-0,5	0,12-0,5	0,12-0,5	0,015-0,12	0,008-0,06	0,004-0,015	0,03-0,25	≤0,5-1	0,25-1

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) MIC (mg/l)											
PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS*	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
1-8	1/4-8/4	8-32	1-4	2-8	2-8	0,5-4	0,125-1	2-8	-	0,5-8	0,25-1

CCM 4225 *Escherichia coli* (ATCC 35218) MIC (mg/l)											
PIP	PIT										
> 64	0,5/4-2/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* dla tego ATB wartości kontrolne w EUCAST lub CLSI nie są wymienione, wartości zostały oznaczone podczas wewnętrznego testowania v Erba Lachema s.r.o.
ATCC – American Type Culture Collection
CCM – Czeska Kolekcja Mikroorganizmów, Uniwersytet Masaryka, Wydział Przyrodniczy (přírodovědecká fakulta), Kamenice 5, budynek A25, 625 00 Brno, CZ
Tel: +420 549 491 430, Faks: +420 549 498 289, http://www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Ochrona zdrowia:
Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne.

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.

Literatura:

(1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, http://www.eucast.org
(2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
(3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, http://www.eucast.org
(4) EUCAST expert rules in antimicrobial suceptibility testing, http://www.eucast.org
(5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

UŻYTE SYMBOLE

Data rewizji: 0. 2. 2020

REF Numer Katalogowy
IVD Urządzenie Diagnostyczne in Vitro
Producent
Patrz: Instrukcja Użycia
LOT Numer Partii
Temperatury Graniczne
Termin Ważności

10020296

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

CE IVD

RU

СЕНСИЛАТЕСТ Г- (МПК; Г-II)

Номер в каталоге № MLT00045 **Для микробиологических исследований**

Набор предназначен для определения чувствительности бактерий сем. *Enterobacteriaceae* к антибактериальным препаратам на основании определения МПК (минимальной подавляющей концентрации), т. е. наименьшей концентрации, которая подавляет бактериальный рост. Упаковка рассчитана на определение чувствительности 10 бактериальных культур (10 планшетов). Методика основана на регидратации антибиотика в лунках планшета с помощью бульона Мюллер-Хинтон II и внесении в лунки планшета бактериальной культуры. Результаты определения чувствительности учитывают визуально или с использованием автоматического анализатора-ридера через 16–20 часов инкубации. Этот набор предназначен для определения чувствительности в отношении антибиотиков, используемых для лечения тяжелых жизнеугрожающих инфекций, в особенности, у госпитализированных пациентов. Антибиотики для менее серьёзных инфекций включены в состав планшета MIC G-I.

Упаковка содержит:

- 10 планшетов для определения чувствительности
- Крышку (не стерильная)
- 10 шт. полиэтиленовых пакетиков

Хранение и срок годности:

Рекомендуется хранить упаковку при температуре от (+2–+25)°C. Срок годности указан на индивидуальной алюминиевой упаковке каждого планшета.

Внимание! Попадание в лунки планшета влаги воздуха или конденсата может привести к потере активности антибиотиков и ложным результатам теста!!!

- Для предотвращения попадания конденсата в лунки планшета необходимо вскрывать индивидуальную упаковку спустя не менее 30 минут её пребывания при комнатной температуре!
- После вскрытия индивидуальной алюминиевой упаковки не оставлять планшет открытым для предотвращения увлажнения и контаминации лунок!

Расходные материалы необходимые для выполнения исследования, не включенные в упаковку:

- Стерильный физиологический раствор (небуферизованный)
- Мюллер-Хинтона бульон II с регулируемым катионным составом (например: суспензионная среда MIC номер в каталоге № MLT00070)
- Этанол
- Стерильные пробирки
- Инокулятор Erba Dip номер в каталоге № 50004456
- Стерильные чашки Петри
- Стерильные ёмкости 60 мл номер в каталоге № 50004457
- Степпер или многоканальная пипетка до 100 мкл
- Пипетка с диапазоном дозирования 60–100 мкл
- Денситометр (напр.: Денси-Ла-Метр II номер в каталоге № INS00062)
- Термостат, 35±2°C
- Стандартное оснащение бактериологической лаборатории (петли, маркер, горелка и т. д.)

Внимание: набор предназначен только для профессионального использования! **Соблюдайте правила работы с инфицированным материалом!**

Инструкция по применению

Приготовление бактериальной суспензии и инокуляция (рекомендации по процедуре):

A. Инокуляция планшета с использованием инокулятора:

1) Достаньте планшет из индивидуальной алюминиевой упаковки и удалите алюминиевое покрытие с поверхности. Нанесите маркировку о типе планшета (напр.: G-II) на рамку для предотвращения ошибок при учёте результатов после инкубации. Запишите на планшете номер исследуемой бактериальной культуры. Внесите по 100 мкл суспензионной среды в каждую лунку планшета.
2) Подготовьте пробирку с 12 мл физиологического раствора. Добавьте 100 мкл суспензионной среды MIC для уменьшения поверхностного натяжения.
3) Приготовьте бактериальную суспензию с мутностью 0,5 по МакФарланду из нескольких колоний чистой 18–24 часовой культуры, выращенной на кровяном агаре.
Более высокая плотность бактериальной суспензии является меньшей ошибкой, чем недостаточная (менее 0,5 по МакФарланду) плотность.
4) Перенесите бактериальную суспензию в стерильную чашку Петри.
5) Используйте стерильный инокулятор для инокуляции в планшет: погрузите инокулятор в чашку Петри с этанолом и обожгите в племени горелки. Затем охладите инокулятор. Погрузите инокулятор в чашку Петри с бактериальной суспензией. Тонкая плёночка бактериальной суспензии адгезируется на поверхности металлических игл инокулятора. Перенесите инокулюм на половину планшета с уже добавленной суспензионной средой, погрузите иглы в лунки и аккуратно смешайте. Выполните такую же процедуру для второй половины планшета.

B. Инокуляция планшета с использованием пипетки:

1) Подготовьте пробирку с 2 мл физиологического раствора.
2) Приготовьте бактериальную суспензию с мутностью 0,5 по МакФарланду из нескольких колоний чистой 18-24 часовой культуры, выращенной на кровяном агаре.
3) Поместите 60 мкл бактериальной суспензии в пробирку с 13 мл суспензионной среды MIC, тщательно перемешайте.
4) Достаньте планшет из индивидуальной алюминиевой упаковки и удалите алюминиевое покрытие с поверхности. Нанесите маркировку о типе планшета (напр.: G-I) на рамку для предотвращения ошибок при учёте результатов после инкубации. Запишите на планшете номер исследуемой бактериальной культуры. Инокулируйте в каждую лунку планшета по 100 мкл бактериальной суспензии, приготовленной в суспензионной среде MIC.

Примечание: Обработайте диск в течение 60 минут после вынимания из мешка.

Инкубация: Поместите планшет с внесённой в него бактериальной суспензией в полиэтиленовый пакетик. Подогните открытый край пакета под планшет для предотвращения испарения во время инкубации. Инкубируйте планшет в термостате при 35±2°C 16–20 часов.

Учет результатов: Достаньте планшет из полиэтиленового пакетика. Для учёта результатов роста в микролунках выберите наиболее подходящий для Вас способ:

1) Учитывайте результат на темном фоне или используйте для этого макет планшета, напечатанный в инструкции.
2) Учитывайте результаты в проходящих лучах естественного или искусственного освещения.
3) Использование увеличительного стекла (лупы) не рекомендуется.
4) Используйте атоматизированные системы учёта результатов.

ВНИМАНИЕ: **Наличие роста в контрольной лунке (К) является необходимым условием для интерпретации результатов определения чувствительности! Если рост в контрольной лунке отсутствует, то результаты теста не могут быть интерпретированы!**

МПК считается та наименьшая концентрация антибиотика, при которой в лунке отсутствует видимый рост бактериальной культуры. Исключением является тестирование. Будьте внимательны при оценке результатов: различайте зернистый рост бактериальной культуры и пузырьки суспензионной среды. Запишите результаты.

Таблица 1: Макет планшета: серийные разведения антибиотиков (мг/л)

	1 PIP	2 PIT	3 CTX	4 CAZ	5 CPZ	6 CPS	7 CEP	8 MER	9 ERT	10 TGC	11 NET	12 TOB
A	128	128/4	8	16	64	64/32	16	16	2	8	16	8
B	64	64/4	4	8	32	32/16	8	8	1	4	8	4
C	32	32/4	2	4	16	16/8	4	4	0,5	2	4	2
D	16	16/4	1	2	8	8/4	2	2	0,25	1	2	1
E	8	8/4	0,5	1	4	4/2	1	1	0,12	0,5	1	0,5
F	4	4/4	0,25	0,5	2	2/1	0,5	0,5	0,06	0,25	0,5	0,25
G	2	2/4	0,12	0,25	1	1/0,5	0,25	0,25	0,03	0,12	0,25	0,12
H	1	1/4	0,06	0,12	0,5	0,5/0,25	0,12	0,12	0,015	0,06	0,12	K

10020296

Таблица 2: Клинические критерии оценки МПК (мг/л) для *Enterobacteriaceae*

		EUCAST			CLSI		
Антибиотики	**Аббр.**	**Чувствительный S**	**Умеренно-резистентный I**	**Резистентный R**	**Чувствительный S**	**Умеренно-резистентный I**	**Резистентный R**
Piperacillin	PIP	≤8	16	≥32	≤16	32-64	≥128
Piperacillin / tazobactam	PIT	≤8/4	16/4*	≥32/4	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Cefotaxime	CTX	≤1	2	≥4	≤1	2	≥4
Ceftazidime	CAZ	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Cefoperazone	CPZ				≤16	32	≥64
Cefoperazone / sulbactam	CPS						
Cefepime	CEP	≤1	2-4	≥8	≤2	4-8 (SDD)	≥16
Meropenem	MER	≤2	4-8	≥16	≤1	2	≥4
Ertapenem	ERT	≤0,5		≥1	≤0,5	1	≥2
Tigecycline, E. coli и C. koseri	TGC	≤0,5		≥1			
Netilmicin	NET	≤2	4	≥8	≤8	16	≥32
Tobramycin (системная инфекция) Tobramycin (инфекции мочевыводящих путей)	TOB	(≤2) ≤2		(≥4) ≥4	≤4	8	≥16

* ATU (Зона технической неопределенности при определении чувствительности к антибиотикам) - до интерпретации результатов:
- повторите тестирование
- используйте альтернативные тесты
- понижайте категорию чувствительности
- включайте неопределенность в отчет

Более подробная информация на сайте HYPERLINK „http://www.eucast.org“ www.eucast.org

Интерпретация результатов:

Все изучаемые бактериальные культуры по отношению к тестируемым антибиотикам разделяют на категории Чувствительный (S), Умеренно-резистентный (I), Резистентный (R) на основании данных о МПК. Разделение на категории базируются на критериях EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – Европейский комитет по тестированию антимикробной чувствительности): Таблица пограничных значений для интерпретации данных МПК и диаметров зон (1) или CLSI документа M100 (2).

1) Резистентность к цефотаксиму и цефтазидиму указывает на продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (ESBL/БЛРС). Меропенем и эртапенем рекомендованы для скрининга продукции карбапенемаз. Тесты для подтверждения рекомендуется выполнять согласно EUCAST-руководству по определению механизмов резистентности, их клинического и эпидемиологического значения (3) или CLSI документ M100 (2).

2) Аминогликозиды (EUCAST) - При системных инфекциях аминогликозиды следует использовать в сочетании с другими активными препаратами. При этих обстоятельствах, концентрации, указанные в скобках, могут использоваться для дифференциации микроорганизмов с приобретенными механизмами устойчивости и без них. Для изолятов без механизмов устойчивости комментарий в отчете: „Аминогликозиды применяют в сочетании с другими препаратами для поддержания аминогликозидной активности, либо для расширения спектра лечения. При системных инфекциях аминогликозид должен быть дополнен другой активной терапией.“

Другие критерии интерпретации должны быть основаны на национальных и лабораторных стандартах, например: EUCAST Expert rules (4); CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing CLSI M100 (2) и M07 (5). При необходимости следует принять во внимание при интерпретации результатов следующие параметры: вид бактерий, тип биоматериала, особенности анамнеза пациента, а также результаты дополнительных исследований.

Контроль качества:

Для внутреннего лабораторного контроля качества рекомендуются следующие штаммы (см. табл.). При оценке результатов используйте стандарты EUCAST или CLSI. Для контроля использовать свежепересеянные штаммы.

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922) МПК (мг/л)											
PIP 1-4	PIT 1/4-4/4	CTX 0,03-0,12	CAZ 0,06-0,5	CPZ 0,12-0,5	CPS* 0,12-0,5	CEP 0,015-0,12	MER 0,008-0,06	ERT 0,004-0,015	TGC 0,03-0,25	NET ≤0,5-1	TOB 0,25-1

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) МПК (мг/л)											
PIP 1-8	PIT 1/4-8/4	CTX 8-32	CAZ 1-4	CPZ 2-8	CPS* 2-8	CEP 0,5-4	MER 0,125-1	ERT 2-8	TGC -	NET 0,5-8	TOB 0,25-1

CCM 4225 *Escherichia coli* (ATCC 35218) МПК (мг/л)											
PIP > 64	PIT 0,5/4-2/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*В стандартах EUCAST или CLSI нет данных для контрольных штаммов, приведены данные для контрольных штаммов, используемые в Erba Lachema s.r.o.

CCM – Czech Collection of Microorganisms / Чешская Коллекция Микробов, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ.
Tel. +420 549 491 430, Fax +420 549 498 289, http://www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz

ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

Охрана здоровья:

Набор реагентов не относится к категории опасных.

Утилизация использованного материала:

Использованный планшет поместите в ёмкость для сбора инфицированных отходов и дезинфицируйте автоклавированием или путем сжигания.
Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

Литература:

(1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, http://www.eucast.org
(2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
(3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, http://www.eucast.org
(4) EUCAST expert rules in antimicrobial suceptibility testing, http://www.eucast.org
(5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
MLT00045	СЕНСИЛАТЕСТ Г- (МПК; Г-II)	ФСЗ 2011/09959	от 21.06.2011

Используемые символы

Дата проведения контроля: 0. 2. 2020

REF Каталожный номер
LOT Номер партии
Срок годности
Перед использованием внимательно изучайте инструкцию
IVD Ин витро диагностика
Производитель
Температура хранения
CONT Содержание

10020296

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

MIKROLATEST®

CE IVD

MIC G-II

SK

Kat. č.: MLT00045

Pre mikrobiológu

Súprava je určená na stanovenie citlivosti k antibiotikám baktérií čeľadi *Enterobacteriaceae* na základe determinácie MIC (minimálna inhibičná koncentrácia), tzn. najnižšej koncentrácie, ktorá zabráni viditeľnému rastu baktérií. Obsahuje 10 stanovení.

Princípom testu je rehydratácia antibiotík v jamkách pomocou Mueller Hinton II bujonu a pridania bakteriálnej suspenzie. Po 16 – 20 hodinovej inkubácii sú výsledky odčítané vizuálne alebo readrom. Táto súprava je určená na testovanie citlivosti k antibiotikám určených na liečbu závažných infekcií hlavne u hospitalizovaných pacientov. Antibiotiká na menej vážne infekcie sú zahrnuta v súprave MIC G-I.

Súprava obsahuje:

- 10 vyšetrovacích doštičiek
- 1 viečko
- 10 ks PE sáčkov

Skladovanie a expirácia súpravy:

Skladovanie sa doporučuje pri (+2 až +25) °C, expirácia je vyznačená na obale. Po vybraní z chladničky nechajte doštičky temperovať pri izbovej teplote minimálne po dobu 30 minút, aby sa zamedzilo kondenzácii vody. Po otvorení hliníkového obalu a odstránení fólie nenechávajte už otvorené doštičky bez ochrany. Vzdušná vlhkosť ohrozuje funkčnosť antibiotík !!!

Potreby pre prácu so súpravou, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Sterilný nepufrovaný fyziologický roztok
- Mueller Hinton bujon II adjustovaný na kationy (napr. suspenzné médium MIC kat. č. MLT00070)
- Etanol
- Sterilné skúmavky
- Inokulátor Erba Dip kat. č. 50004456
- Sterilné Petriho misky
- Sterilné vaničky 60 ml kat. č. 50004457
- Krokovacia pipeta na 100 µl alebo multikanálová pipeta 100 µl
- Pipeta na 60–100 µl
- Denzitometer (napr. DENSILAMETER II kat. č. INS00062)
- Inkubátor 35±2 °C
- Bežné laboratórne vybavenie (kľučky, popisovače, kahan, atd.)

Upozornenie: **Súprava je určená iba na profesionálne použitie. Dodržujte zásady pre prácu s infekčným materiálom !**

Pracovný postup

Príprava bakteriálnej suspenzie a inokulácia:

A) Inokulácia inokulátorom:

1) Vyberte doštičku z alumíniového sáčku a odstráňte fóliu. Označte doštičku typom súpravy (G-II). Zaznamenajte číslo vyšetrovanej kultúry na príslušnú doštičku. Rozpipetujte do všetkých jamiek doštičky po 100 µl suspezného média MIC.
2) Pripravte skúmavku s 12 ml fyziologického roztoku. Pridajte 100 µl suspenzného média MIC aby sa znížilo povrchové napätie inokula.
3) Z 18–24 hodinovej kultúry na krvnom agare zoberte niekoľko kolónií a pripravte vo fyziologickom roztoku bakteriálnu suspenziu s hustotou 0,5 McFarland.
4) Túto suspenziu vlejte do sterilnej Petriho misky.
5) Inokulujte rozplnenú doštičku pomocou sterilného inokulátora: inokulátor namočte v Petriho miske s etanolom a opáľte nad plameňom. Vychladnutý inokulátor namočte v Petriho miske s bakteriálnou suspenziou. Preneste inokulum do 1. polovičky doštičky jemným krúžením v jamkách. Znova namočte inokulátor v Petriho miske s bakteriálnou suspenziou a opakujte inokuláciu 2. polovičky doštičky.

B) Inokulácia pipetou:

1) Pripravte skúmavku s 2 ml fyziologického roztoku.
2) Z 18–24 hodinovej kultúry na krvnom agare zoberte niekoľko kolónií a pripravte vo fyziologickom roztoku bakteriálnu suspenziu s hustotou 0,5 McFarland.
3) Z bakteriálnej suspenzie vo fyziologickom roztoku preneste 60 µl do skúmavky s 13 ml suspenzného média MIC a dobre homogenizujte.
4) Vyberte doštičku z alumíniového sáčku a odstráňte fóliu. Označte doštičku typom súpravy (G-II). Zaznamenajte číslo vyšetrovanej kultúry na príslušnú doštičku. Rozplňte suspenzné médium MIC s inokulom po 100 µl do každej jamky doštičky.

Poznámka: Doštičku spracujte do 60 minút po vybratí z alumíniového sáčku.

Inkubácia:

Nainokulovanú doštičku vložte do PE sáčku, ktorého okraje zahnete pod doštičku tak, aby nedochádzalo k vysýchaniu inokula.
Doštičku vložte do termostatu 35±2 °C na 16–20 hod.

Vyhodnotenie:

Doštičku vyberte z PE sáčku. Na odčítanie nárastu v jamkách zvoľte spôsob, ktorý je pre Vás najoptimálnejší:

1) Odčítajte oproti šedému pozadiu alebo oproti tabuľke doštičky v návode.
2) Odčítajte oproti prirodzenému alebo umelému rozptýlenému svetelnému zdroju.
3) Použitie lupy sa nedoporučuje.
4) Odčítajte pomocou readeru a identifikačného softwaru.

Prosím venujte pozornosť:

V jamke s kontrolou rastu musíte vidie nárast! Ak nárast nie je, test NEMOŽNO HODNOTIŤ! Ako MIC je hodnotená jamka s najnižšou koncentráciou antibiotika, ktorá zamedzí okom viditeľnému rastu baktérií. Odlíšte zrnenie od prípadných bublin! Výsledky zaznamenajte.

Tab. 1: Rozloženie antibiotík a ich koncentračných radov na doštičke (v mg/l)

	1 PIP	2 PIT	3 CTX	4 CAZ	5 CPZ	6 CPS	7 CEP	8 MER	9 ERT	10 TGC	11 NET	12 TOB
A	128	128/4	8	16	64	64/32	16	16	2	8	16	8
B	64	64/4	4	8	32	32/16	8	8	1	4	8	4
C	32	32/4	2	4	16	16/8	4	4	0,5	2	4	2
D	16	16/4	1	2	8	8/4	2	2	0,25	1	2	1
E	8	8/4	0,5	1	4	4/2	1	1	0,12	0,5	1	0,5
F	4	4/4	0,25	0,5	2	2/1	0,5	0,5	0,06	0,25	0,5	0,25
G	2	2/4	0,12	0,25	1	1/0,5	0,25	0,25	0,03	0,12	0,25	0,12
H	1	1/4	0,06	0,12	0,5	0,5/0,25	0,12	0,12	0,015	0,06	0,12	K

10020296

Tab 2: Klinické breakpointy MIC (mg/l) pre *Enterobacteriaceae*

		EUCAST			CLSI		
Antibiotikum	**Skratka**	**Citlivý S**	**Inter-mediárny I**	**Rezistentný R**	**Citlivý S**	**Inter-mediárny I**	**Rezistentný R**
Piperacilin	PIP	≤8	16	≥32	≤16	32-64	≥128
Piperacilin / tazobaktam	PIT	≤8/4	16/4*	≥32/4	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Cefotaxim	CTX	≤1	2	≥4	≤1	2	≥4
Ceftazidim	CAZ	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Cefoperazon	CPZ				≤16	32	≥64
Cefoperazon / sulbaktam	CPS						
Cefepim	CEP	≤1	2-4	≥8	≤2	4-8 (SDD)	≥16
Meropenem	MER	≤2	4-8	≥16	≤1	2	≥4
Ertapenem	ERT	≤0,5		≥1	≤0,5	1	≥2
Tigecyklin, E. coli a C. koseri	TGC	≤0,5		≥1			
Netilmicin	NET	≤2	4	≥8	≤8	16	≥32
Tobramycin (systémové infekcie) Tobramycin (infekcie močových ciest)	TOB	(≤2) ≤2		(≥4) ≥4	≤4	8	≥16

* ATU (Areas of Technical Uncertainty) – pred interpretáciou výsledkov vykonajte jeden z variantov:
- Opakovanie testu
- Použitie alternatívneho testu
- Zníženie kategórie citlivosti
- Uvedenie ATU v reporte

Viac na www.eucast.org

Poznámky k interpretáciám:
Podľa stanovenej MIC sa testovaný kmeň radí do kategórie citlivý – intermediárny – rezistentný k danému antibiotiku na základe aktuálnych interpretačných tabuliek EUCAST (1) alebo podľa CLSI dokumentu M100 (2). Kategória SDD je definována pre *Enterobacteriaceae* ako citlivá v závislosti na dávke (dávkovanie vedie ku zvýšenej expozícii cefepimom).
1) Rezistencia k CTX a CAZ indikúje ESBL produkciu. MER a ERT sú doporučované na skríning produkcie karbapenemáz. Konfirmačné testy sa vykonávajú podľa doporučenia EUCAST (3) alebo CLSI dokumentu M100 (2).
2) Aminoglykozidy (EUCAST) – u systémových infekcií musí byť aminoglykozidy používané v kombinácii s inou aktívnou terapiou. Za týchto okolností je možno breakpoint v zátvorkách použiť na odlíšenie organizmov so získanými mechanizmy rezistencie a bez nich. U izolátov bez mechanizmov rezistencie uveďte v správe komentár: „Aminoglykozidy sa často podávajú v kombinácii s inými látkami, a to buď na podporu aktivity aminoglykozidov, alebo na rozšírenie spektra liečby. Pri systémových infekcií musí byť aminoglykozid doplnený inou aktívnou terapiou."
V závislosti od národných alebo laboratórnych štandárd je možné použiť ďalšie interpretačné kritériá, napr. EUCAST Expert rules in antimicrobial suceptibility testing (4), alebo CLSI dokumenty M100 (2) a M07 (5). Pri interpretácii výsledkov je potrebné zohľadniť druhovú identifikáciu kmeňa, pôvod vzorky, anamnézu pacienta, prípadne výsledky doplňujúcich testov.

Kontrola kvality:
Na kontrolu kvality súpravy odporúčame používať všetky nižšie uvedené kontrolné kmene. Pri vyhodnotení výsledkov testovania kontrolnými kmeňmi sa riaďte aktuálnym štandardom EUCAST alebo CLSI. Pre kontrolu je nutné používať čerstvé, nepasážované kmene.

CCM 3954 *Escherichia coli* (ATCC 25922) MIC (mg/l)											
PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS*	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
1-4	1/4-4/4	0,03-0,12	0,06-0,5	0,12-0,5	0,12-0,5	0,015-0,12	0,008-0,06	0,004-0,015	0,03-0,25	≤0,5-1	0,25-1

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) MIC (mg/l)											
PIP	PIT	CTX	CAZ	CPZ	CPS*	CEP	MER	ERT	TGC	NET	TOB
1-8	1/4-8/4	8-32	1-4	2-8	2-8	0,5-4	0,125-1	2-8	-	0,5-8	0,25-1

CCM 4225 *Escherichia coli* (ATCC 35218) MIC (mg/l)											
PIP	PIT										
> 64	0,5/4-2/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* pre toto ATB kontrolné hodnoty v EUCAST alebo CLSI nie sú uvedené, hodnoty boli stanovené interným testovaním v Erba Lachema s.r.o.

ATCC – American Type Culture Collection
CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, Tel: 549 491 430, Fax: 549 498 289 http://www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz

Ochrana zdravia:
Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

Likvidácia použitého materiálu:
Po použití vložte doštičku do nádoby pre infekčný materiál a likvidujte podľa vlastných interných predpisov, autoklávujte alebo zničte spálením.
Prázdne papierové obaly sa odovzdajú do zberu na recykláciu.

Literatúra:
(1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, http://www.eucast.org
(2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
(3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, http://www.eucast.org
(4) EUCAST expert rules in antimicrobial suceptibility testing, http://www.eucast.org
(5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Dátum revízie: 0. 2. 2020

POUŽITÉ SYMBOLY

REF Katalógové číslo
IVD In vitro diagnostikum
Výrobca
Čítajte návod k použitiu
LOT Číslo šarže
Teplota skladovania
Dátum expirácie

10020296

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com