

INDEX, ÍNDICE, ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ, INDEKSAS	
1-15	ENGLISH
16-31	ESPAÑOL
32-46	ITALIANO
47-62	DEUTSCHE
63-79	ΕΛΛΗΝΙΚΟ
80-95	FRANÇAIS
96-109	CZECH
110-124	<i>LIETUVIŲ KALBA</i>
125-140	POLSKI
141-156	ROMÂNĂ
157-158	SYMBOLS SIMBOLOS SIMBOLI SYMBOL SYMBOLES ΣΥΜΒΟΛΟ SIMBOLIS SYMBOLY SYMBOLE



Instructions for Use

Thermo Scientific™ Sensititre™ Susceptibility Plates
for testing non-fastidious Gram negative and Gram
positive isolates

039-NFAST ROW Only -CID9494
Revision Date:13th December 2018

Sensititre Susceptibility Plates for testing non-fastidious Gram negative and Gram positive isolates

Sensititre 18-24 hour

For *in vitro* Diagnostic use

For full plate information, including plate layout, QC information, Interpretative criteria, performance data and references please refer to www.trekds.com/techinfo. The plate type and plate lot number will be required.

INTENDED USE

The Sensititre MIC and Breakpoint Susceptibility system is an *in vitro* diagnostic product for clinical susceptibility testing of non-fastidious Gram negative isolates, comprising of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and other non-*Enterobacteriaceae* and of non-fastidious Gram positive isolates, comprising of *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp., and Beta haemolytic *Streptococci* other than *S. pneumoniae*. The Sensititre ESBL confirmatory test plate is an *in vitro* diagnostic product for detection of ESBLs in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*. MIC and ESBL plates can either be read manually or automatically on the Sensititre Autoreader / OptiRead and/or ARIS. Thermo Scientific manufactured broths have only been validated with Sensititre products .

SUMMARY AND PRINCIPLES OF USE

Each plate is dosed with antimicrobial agents at appropriate dilutions. Results can be read manually by visual reading of growth or automatically on an ARIS / OptiRead /Autoreader using fluorescence.

The Sensititre Autoreader /OptiRead systems utilize fluorescence technology. The technology involves the detection of bacterial growth by monitoring the activity of specific surface enzymes produced by the test organism. Growth is determined by generating a fluorescent product from a non-fluorescent (fluorogenic) substrate. The non-fluorescent substrate is prepared by conjugating a fluorescent compound to the specific enzyme substrates with a bond, which prevents fluorescence. The fluorophore is then said to be quenched. Enzymatic action of the bacterial surface enzymes on the specific substrates cleaves this bond releasing the fluorophore which is now capable of fluorescence. The amount of fluorescence detected is directly related to the activity of the bacterial surface enzymes and, therefore, to the bacterial growth.

Only plates which have the format name suffixed with F can be read automatically.

PRECAUTIONS

Only instruments supported by Sensititre (i.e. a simple manual viewer, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader / OptiRead and ARIS) must be used to report results with CE IVD and FDA cleared Sensititre products. Any other system used will not be supported.

Results should be used as an aid in selecting the drug of choice for treatment. This product is for *in vitro* diagnostic use and should be used by properly trained personnel. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, media, and test plates after use. Directions should be read and followed carefully.

STORAGE AND SHELF LIFE

Store Sensititre susceptibility plates in original containers at 15 – 25°C and away from direct

sunlight and heat until used. Each plate is packaged in foil with a desiccant. Plates should not be used beyond their expiration date, if the foil pouch is damaged, or the desiccant color is not orange. Plates should be inoculated within 5 hours of removing from pouch.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.

Materials included

- 10 Sensititre™ plate with substrate in wells
- 10 adhesive seals

Materials not included [Product Code]:

Broth:

- Sensititre™ demineralised water [T3339]
- Sensititre™ Cation adjusted Mueller-Hinton broth with TES (CAMHBT) [T3462]

Turbidity:

- Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- 0.5 McFarland polymer turbidity standard [E1041]

Plate inoculation:

- Doseheads for Sensititre AIM for plate inoculation [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / Sensititre Autoinoculator*

Plate reading:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] or ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Sensititre Manual Viewbox [V4007]

Other supplies:

- Sterile inoculum reservoir
- Quality control strains (see Table 1)
- Incubator 34-36°C
- Vortex mixer
- Current CLSI, EUCAST, or local guideline documents

**No longer sold or supported*

SELECTION OF SUSCEPTIBILITY TEST BROTH

Thermo Scientific Sensititre broth is validated for use with Sensititre susceptibility plates.

INOCULATION PROCEDURES FOR SENSITITRE PLATES

Allow all broths equilibrate to room temperature before use.

Standard Inoculum

For all plates pick 3-5 colonies of non-fastidious isolates from fresh primary agar plate, emulsify in sterile water, and adjust to a 0.5 McFarland Standard. Mix well.

Transfer 10µl of the McFarland suspension into 11 ml tube of cation adjusted Muller Hinton broth with TES buffer. Proceed to step 2.

Increased inoculum method

Depending on the strains tested, an increase to 30 µl may aid in detecting resistance mechanisms.

For both Gram positive and negative isolates, the transfer of 30µl of the suspension into an 11 ml Sensititre Mueller-Hinton broth tube results in colony counts which fall within the cleared Sensititre range of 5.0×10^4 and 5.0×10^5 cfu/ml. Proceed to step 2.

Proteus, Providencia and Morganella

For tribe *Proteae* (including *Proteus* species, *Providencia* species and *Morganella morganii*), transfer 1µl into the broth.

2. Transfer 50µl of the broth suspension into the plate within 30 min of preparation by either:
 1. **Sensititre AutoInoculator / AIM.** Replace the tube cap with a Sensititre single-use dosehead and inoculate the plate according to the AutoInoculator / AIM instructions. Remove the test tube/dosehead combination from the AutoInoculator / AIM within 30 seconds of dosing a plate.
 2. **Manual pipette.** Pour the broth into a sterile seed trough and inoculate the plate using an appropriate pipette.
3. Perform a purity check on all final inocula after plate inoculation.
4. A periodic check of the colony count should be performed (see Appendix 1). Isolates should have an inoculum of 1×10^5 cfu/ml, (range 5.0×10^4 – 5.0×10^5) with the exception of tribe *Proteae* isolates which should be 1×10^4 cfu/ml (range 5.0×10^3 – 5.0×10^4).
5. Cover all wells of each plate with the adhesive seal provided. Avoid creases as these can lead to skips.
6. Plates should be inoculated within 5 hours of removal from their pouch.

INCUBATION

All non-fastidious aerobic organisms should be incubated at 34-36°C either in the ARIS or in a non-CO₂ incubator for 18 –24 hours.

- In order to ensure detection of vancomycin-resistant *Enterococci* and oxacillin- resistant *Staphylococci*, incubate for 24 hours.
- *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, and *Stenotrophomonas maltophilia* should be incubated for 20 -24 hours.

Sealed plates can be stacked up to 3 high in an incubator if not incubated in the ARIS.

Summary of set up and incubation

Organism group	McFarland Suspension medium	Intended Final Inoculum* (cfu/ml)	Inoculum transfer	Broth	Plate Reconstitution	Incubation conditions	Incubation Hours
Non-fastidious Gram negative	Water	1x10 ⁵	10µL	MHB	50µL	35°C O ₂	18-24
Non-fastidious Gram positive	Water	1x10 ⁵	10µL	MHB	50µL	35°C O ₂	18-24
Increased inoculum for both Gram negative and Gram positive organisms**	Water	3x10 ⁵	30µL	MHB	50µL	35°C O ₂	18-24
Tribe <i>Proteae</i>	Water	1x10 ⁴	1µL	MHB	50µL	35°C O ₂	18-24

* See appendix #1 for inocula ranges

** Depending on strains being tested, an increase to 30ul may aid in the detecting resistant mechanisms

READING TEST RESULTS

Check purity test plates. Results are invalid if a mixed culture is present

1. Automatically

Plates may be read on the AutoReader / OptiRead or the ARIS according to the instructions in the appropriate User Manual or by using the SWIN HELP files.

Sensititre plates with intended use of Manual, Sensitouch or Vizion only cannot be read on the AutoReader / OptiRead or ARIS.

2. Manually

After incubation, results can be read using the Sensititre manual viewer or Vizion. See User Manuals. It is not necessary to remove the adhesive seal. Growth appears as turbidity or as a deposit of cells at the bottom of a well. The MIC is recorded as the lowest concentration of antimicrobial that inhibits visible growth. Reading faint growth on the Vizion can be improved by adjusting the lighting. The positive growth control wells should be read first. If any show no growth, results are invalid.

The following points should be noted:

a. Fading End Points

Most organism / antimicrobial combinations give distinct end points. With some combinations there may be a gradual fading of growth over 2 to 3 wells. The end points should be taken as the first well that inhibits visible growth, except with sulphonamides and linezolid when the MIC must be read as an 80-90% decrease in growth compared to

the Positive Control well.

b. Contamination

Contamination may result in growth in a well bordered by wells showing no growth. Such a single well contamination can be ignored, but if multiple well contaminants are suspected, the test should be repeated.

c. Skips

Occasionally a “skip” may be seen - a well showing no growth bordered by wells showing growth. There are a variety of explanations for this including contamination, mutation, creased seal and misaligned dosing. A single skip can be ignored. However, in order to ensure effective antimicrobial therapy, NEVER read the skip well as the MIC; always read the lowest well concentration above which there is consistently no growth.

d. Mixed Cultures

Except as referred to in (a) above, if two end points are seen as a distinct “button” of cells followed by several wells of diffuse growth with the “button” no longer visible (or seen as smaller buttons), there may be a mixed bacterial population. Purity should be checked by sub-culturing growth onto suitable agar. Test results are invalid if a mixed culture is detected.

3. Additional Information

MIC Results for ESBL Confirmation

To confirm ESBLs a ≥ 3 twofold concentration decrease in an MIC for the antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid versus its MIC when tested alone = ESBL. Example: ceftazidime MIC = 8 µg/ml, ceftazidime/clavulanic acid MIC = 1 µg/ml. For more details refer to CLSI M7.

Cefoxitin Screen

The “Cefoxitin Screen (6 µg/ml)” can be used to predict the presence of *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus aureus*. Isolates for which the cefoxitin MIC is > 6 (positive growth) should be reported as oxacillin resistant. Those which have cefoxitin MICs of ≤ 6 (no growth) should be reported as oxacillin susceptible.

D Test

The D test for Broth Microdilution test is for *Staphylococcus* spp. resistant to (MIC's ≥ 8 µg/ml) erythromycin and susceptible or intermediate (MIC's ≤ 2 µg/ml) to clindamycin. With these isolates, a D test 1 (4/0.5 µg/ml) or D Test 2 (8/1.5 µg/ml) or both 1 or 2 are positive (growth), the test should be reported as inducible clindamycin resistance. If with these isolates there is no growth in both D test 1 and D test 2, the isolates should be reported as negative for inducible resistance. If erythromycin is resistant, clindamycin sensitive and the D test is negative after 18 hours incubation, reread after 24 hours incubation.

INTERPRETATION OF RESULTS

For interpretation of results, refer to the MIC interpretive guidelines provided by CLSI, EUCAST, or local standard guidelines.

There may be antimicrobial agents included in the plate that have not been proven to be

effective for treating infections for all organisms tested. Refer to the individual FDA approved pharmaceutical antimicrobial agent package insert for interpreting and reporting results of antimicrobial agents that have shown to be active against organism groups both *in vitro* and in clinical infections.

For automatically read results, the software applies interpretive criteria based on CLSI, EUCAST or FDA guidelines, depending on software configuration

When reporting these ESBL Confirmatory Test antimicrobial results, please refer to the CLSI M100: Screening and Confirmatory Tests for ESBL's in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*, for the appropriate interpretation of results.

Breakpoint Results

Breakpoint testing is a broth dilution method for qualitative susceptibility testing. The Sensititre breakpoint system has been developed to provide a simple standardized method for sensitivity testing based on the concept of breakpoint concentrations. A breakpoint is defined as the concentration of an antibiotic that inhibits the growth of sensitive, but not resistant, organisms. For most antimicrobics, two concentrations are used - a lower concentration, which represents the upper limit of the susceptible category; and a higher concentration, which represents the upper limit of the intermediate category.

Breakpoint interpretations for Antimicrobics present in 1 or 2 well concentrations.

Result	Interpretation One well	Interpretation Two well
No growth	Susceptible	-
Growth	Resistant	-
No growth in both wells	-	Susceptible
Growth in lower concentration only.	-	Intermediate
Growth in both wells	-	Resistant
Growth in higher concentration only.	-	Invalid - Repeat

QUALITY CONTROL

1. The frequency of quality control testing should be set according to laboratory standard guidelines.
2. The inoculum should be cultured onto a suitable medium to check for purity. Test results are invalid if a mixed culture is detected.
3. All Sensititre plates include positive control wells. Tests are invalid unless there is distinct growth in all positive control wells. Some plate formats also include a "negative growth" well. This well may, in some cases, be used for calibration of the AutoReader /Optiread and is not required for manual reading.
4. Several factors contribute to achieving the correct MICs including using 3-5 colonies from a pure 16-24 hour agar plate as well as a standardized inoculum density made using our Mcfarland standard and nephelometer, temperature and broth. In practice, replicate MICs will form a normal distribution with the majority of results lying within one dilution of the modal value.

5. The control organisms listed in the quality control tables are recommended for monitoring the susceptibility test procedure and checking the potency of antimicrobics. Refer to the quality control tables for expected quality control results. The test procedure can be considered satisfactory if the susceptibility results obtained with the control organisms are within the stated ranges. Results should **not** be reported if QC results are outside the stated ranges for a drug/bug combination.
6. The following organism/antimicrobial quality control ranges are different from the CLSI recommended ranges: *E. coli* (ATCC® 25922™) versus cefotetan , *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) versus mezlocillin, *S. aureus* (ATCC® 29213™) versus ampicillin, and penicillin.

Contact Thermo Fisher Microbiology Technical Support for assistance in the event that quality control discrepancies cannot be resolved. See page below for contact information.

LIMITATIONS

- Trained clinical personnel are necessary to make proper interpretations of test results.
- In common with all other methods of antimicrobial susceptibility testing, the results generated by Sensititre susceptibility plates are *in vitro* results.
- The testing of fastidious organisms requires specialized procedures and they should be tested by other methods. The Sensititre *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* MIC plate can be used for the testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. Refer to the Sensititre fastidious technical insert or CLSI M7 for appropriate modifications to susceptibility procedures.
- Studies were performed using the Autoinoculator/ AIM. When testing Minocycline, Doxycycline, Telavancin, Dalbavancin, Oritavancin, or Tedizolid if an alternative inoculation system is used, validate the performance of the alternative inoculation system with Quality Control testing and perform colony counts.

Gram Negative Limitations

1. Results obtained with *C. freundii* and cefotetan have shown discrepant MICs when compared with an overnight reference method, so the antimicrobial agent should not be reported. If the antimicrobial agent is critical to patient care, an alternative procedure should be used
2. Intra-laboratory reproducibility of amoxicillin/clavulanic acid results on Sensititre and a reference procedure was less than 95%. As the MIC is dependent on the level of β -lactamase produced, variability in MIC results may be attributed to variation in enzyme production. Intra-laboratory reproducibility of cefotetan and Gram negative organisms using Sensititre and the CLSI reference procedures was also less than 95 %.
3. Performance has not been established for *Proteus* spp., tested with piperacillin/tazobactam and cefepime. Results should not be reported for patient isolates.
4. *Klebsiella* spp., and non-fermenting organisms tested with piperacillin / tazobactam should be read manually due to lack of performance data on the Sensititre Autoreader / OptiRead system.
5. The Autoreader / OptiRead system should not be used to predict resistance to cefpodoxime with *Serratia* spp., since clinical trials produced an unacceptable error rate when reading this organism /antimicrobial combination.
6. There are no approved primary “Indications for Use” and the clinical significance of cefdinir is unknown. For reporting results which have been shown to be against groups of organisms both in vitro and in clinical infections, refer to CLSI M100 and FDA approved drug labelling.
7. Do not report resistance for the following antimicrobial/organism combinations due to lack

of resistant isolates at the time of testing

Organism	Antimicrobial Agent
<i>Citrobacter</i> species	Piperacillin/tazobactam
<i>Serratia</i> species	Piperacillin/tazobactam
<i>Proteus</i> species	Lomefloxacin and cefpodoxime
Non- <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacin

8. The ability of the Sensititre system to detect resistance to moxifloxacin and gatifloxacin is unknown because resistant strains were not available at the time of comparative testing.
9. Tigecycline has decreased *in vitro* activity against *Morganella* spp., *Proteus* spp and *Providencia* spp.
10. The current absence of resistant isolates to tigecycline and gemifloxacin precludes defining any results other than “susceptible”. Isolates yielding MIC results suggestive of “non-susceptible” category should be submitted to a reference laboratory for further testing.
11. Gemifloxacin exhibits *in vitro* MICs of 0.25µg/ml or less against most (≥ 90%) strains of the following micro-organisms: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* and *Proteus vulgaris*. However, the safety and effectiveness of gemifloxacin in treating clinical infections due to these micro-organisms has not been established in adequate and well-controlled clinical trials
12. The current absence of resistant isolates to Doripenem precludes defining any results other than “susceptible”. Isolates yielding MIC results suggestive of “Nonsusceptible” category, should be submitted to a reference laboratory for further testing.
13. The ability of the Sensititre system to detect resistance of *Acinetobacter* spp. to minocycline is unknown because resistant strains were not available at the time of comparative testing.
14. Studies were performed using the AutoInoculator / AIM. Use of an alternative inoculation system when testing Ceftaroline has not been evaluated.
15. The ability of the Sensititre system to detect resistance of *Citrobacter koseri* to Ceftaroline is unknown because resistance strains were not available at the time of comparative testing.
16. Ceftaroline is not active against Gram negative bacteria producing extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) from the TEM, SHV or CTX-M families, serine carbapenemases (such as KPC), class B metallo-beta-lactamases or class C (AmpC cephalosporins).
17. Performance has not been established for *Moraxella catarrhalis* with Ceftaroline. Results should not be reported for patient isolates.

Gram Positive Limitations

1. The Autoreader / OptiRead system can be used to read coagulase-negative *Staphylococci* and *Enterococci* providing the panel label states ‘For reading gram positives isolates’ and the wells contain fluorogenic substrates
2. The Autoreader / OptiRead should not be used to read nitrofurantoin with *Enterococcus*

- spp. Nitrofurantoin should be read manually. A nitrocefin β -lactamase test should be performed to detect β -lactamase producing strains of *Enterococci*.
3. Sensititre susceptibility plates are configured to meet the CLSI recommendations to detect methicillin-resistant *Staphylococci*. A two per cent salt supplement is therefore included with oxacillin. Inoculum must be prepared directly from an overnight agar plate and not from a fresh broth culture. Be aware that most hetero-resistant *Staphylococci* are usually resistant to multiple antimicrobics including β -lactams, aminoglycosides, macrolides, clindamycin, chloramphenicol and tetracycline and this should be used as a clue to detecting cross-resistance among the penicillinase-resistant penicillins.
 4. *Staphylococci* tested against penicillin G should also be tested for β -lactamase production, especially in strains with borderline MICs (0.06 to 0.25 $\mu\text{g/mL}$). If these strains test β -lactamase positive, a repeat test should be done to ensure resistance is reported.
 5. Poor growth of non-enterococcal strains of *Streptococci* in Mueller-Hinton broth may give unreliable results with aminoglycosides.
 6. Results obtained for coagulase negative oxacillin susceptible *Staphylococci* with clarithromycin have shown discrepant MICs when compared with an overnight reference method. If the antimicrobial agent is critical to patient care, an alternative procedure should be used or the antimicrobial agent should not be reported.
 7. Cefdinir has been shown to be active against most strains of methicillin sensitive *S. aureus* (MSSA) and *Streptococcus pyogenes* in clinical infections. *In vitro* correlation was established for *S. epidermidis* (MSSE) and *Streptococcus agalactiae*. Such activity has not been established for any other organisms appropriate for the Gram positive plate.
 8. The Autoreader / OptiRead system should not be used to read Trimethoprim/sulphamethoxazole (SXT) with CNS. SXT should be read manually
 9. The clinical significance of cefdinir is unknown and there are no approved primary "Indications for Use". For reporting results which have been shown to be against groups of organisms both *in vitro* and in clinical infections, refer to CLSI M100.
 10. The current absence of resistant isolates to Tigecycline and Gemifloxacin precludes defining any results other than "susceptible". Isolates yielding MIC results suggestive of "Non-susceptible" category, should be submitted to a reference laboratory for further testing.
 11. Do not report resistance for the following organism/antimicrobial combinations due to lack of resistant isolates at the time of testing

Organism	Antimicrobial Agent
Gram positive	Linezolid, Moxifloxacin, Gatifloxacin, Tigecycline, Gemifloxacin
<i>Staphylococcus</i> species	Ampicillin/sulbactam
<i>Enterococcus</i> species	Amoxicillin/clavulanic acid
<i>Enterococcus</i> species <i>Staphylococcus</i> species <i>Streptococcus</i> species	Daptomycin

The ability of Sensititre system to detect resistance or non-susceptibility to the following antimicrobial is unknown because an insufficient number of resistant or non-susceptible strains were available at the time of comparative testing. If such a strain is observed, the strain should be sent to a reference laboratory for further testing.

Organism	Antimicrobial Agent
Gram positive	Moxifloxacin, Gatifloxacin,
<i>Staphylococcus aureus</i> (methicillin and erythromycin susceptible only isolates)	Telithromycin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxycycline
<i>Streptococcus</i> species	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxycycline
<i>Staphylococcus aureus</i> (both methicillin- resistant and methicillin-susceptible isolates)	Dalbavancin, Oritavancin, Telavancin
<i>Enterococcus faecalis</i> (VSE only)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Sensititre 18-24 hour MIC susceptibility plates are capable of detecting vancomycin resistance in the VRSA *S. aureus* strains available at the time of comparative testing. The ability of the Sensititre 18-24 hour MIC susceptibility plates to detect vancomycin resistance in other *S. aureus* strains is unknown due to the limited number of resistant strains available for comparative testing.
13. Gemifloxacin exhibits *in vitro* MICs of 0.25µg/mL or less against most (≥ 90%) strains of the following micro-organisms: *Staphylococcus aureus* (Methicillin-susceptible strains only) and *Streptococcus pyogenes*. However, the safety and effectiveness of gemifloxacin in treating clinical infections due to these micro-organisms has not been established in adequate and well-controlled clinical trials.
14. Use an alternative testing method with lysed horse blood to test *S. pyogenes* when no growth or poor growth is observed in the positive growth control well.
15. The ability of the Sensititre system to detect resistance of *S. aureus* to minocycline is unknown because resistant strains were not available at the time of comparative testing.
16. Use the Sensititre fastidious plate as a testing method with lysed horse blood to test *Streptococcus spp.* when no growth or poor growth is observed in the positive growth control well on the non-fastidious Sensititre plate.
17. Studies were performed using the Autolnoculator / AIM. When testing telavancin or

minocycline, if an alternative inoculation system is used, validate the performance of the alternative inoculation system with Quality Control testing and perform viable counts.

18. Studies were performed using the AutoInoculator / AIM. When testing Ceftaroline, if an alternative inoculation system is used, validate the performance of the alternate inoculation system with Quality Control testing and perform colony counts.
19. The performance of oritavancin with *S.aureus* and *E. faecalis* was performed using the AIM autoinocultuor. The use of an alternative inoculation system when testing oritavancin has not been evaluated.
20. Due to the lack of intermediate and resistant interpretations for Oritavancin, there is a potential very major error rate. There were 3 isolates out of 9 non susceptible isolates that reported one doubling dilution lower than the reference. Use an alternative testing method prior to reporting results for *S.aureus* and *E. faecalis* with Oritavancin when the Sensititre MIC is 0.12µg/mL (breakpoint) if critical to patient care.

PERFORMANCE

APPENDIX 1: Colony Count Procedure

The 2 methods outlined below can both be used to determine viable counts.

Direct Method

1. Immediately following inoculation of a plate, using a 1µl loop, sample from the positive growth control well and inoculate onto a blood agar.
2. Take another loop (1µl), sample from the same growth well and mix with 50µl sterile deionised water. Inoculate 1µl of this dilution onto a blood agar plate to obtain countable colonies.
3. Incubate both plates at 34–36°C overnight under appropriate conditions.
4. Read as follows:

Intended Inoculum dilution	Colony Count	Number of colonies	
		0.001 plate	0.001 of 1/50
1×10^4	$5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$	5-50	0
1×10^5	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$	50 - 500	1 - 10
5×10^5	$2.5 \times 10^5 - 2.5 \times 10^6$	250 - 2500	5 - 50

In-Direct Method

1. A. For an Inoculum of 1×10^5 cfu/ml

Using a sterile pipette tip, transfer 100µl of broth culture into a fresh 10ml tube of broth and label as tube A.

B. For an Inoculum of 5×10^5 cfu/ml

Using a sterile pipette tip, transfer 10µl of broth culture into a fresh 10ml tube of broth and label as tube A.

2. Using a sterile pipette tip, transfer 100µl from tube A to the surface of a suitable labelled

and dated blood plate.

3. Using a sterile inoculating loop, spread this 100µl of culture across the entire plate surface.
4. Incubate the plate at 34-36°C for 18-24 hours.
5. Count the colonies on the plate and multiply by 10^3 (1×10^5 cfu/ml) or 10^4 (5×10^5 cfu/ml) to obtain the viable count of the original suspension.

For an Inoculum of 1×10^5 cfu/ml	For an Inoculum of 5×10^5 cfu/ml
Viable count range = 5×10^4 - 5×10^5 cfu/ml	Viable count range = 2.5×10^5 - 2.5×10^6 cfu/ml

REFERENCES

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

DISCLAIMER

The information provided in this technical insert is current at the time of printing and may change without notice.

The latest information can be downloaded from the www.TREKDS.com/techinfo or by contacting Thermo Fisher Scientific Microbiology Technical Support.



Legal Manufacturer:
 TREK Diagnostic Systems Ltd
 Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
 East Grinstead,
 West Sussex.
 RH19 1XZ,
 United Kingdom
 Tel: +44-1342-318777



The ATCC Licensed Derivative® Emblem, the ATCC Licensed Derivative® word mark, and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ATCC is a trademark of ATCC. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Technical Support email addresses

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgium	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Czech Republic	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Denmark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finland	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germany	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italy	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Netherlands	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norway	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spain	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Sweden	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
UK Technical Support	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Instrucciones de uso

Placas de sensibilidad Thermo Scientific™
Sensititre™ para el análisis de aislados
gramnegativos y grampositivos de cultivo poco
exigente

039-NFAST ROW Only-CID9494
Fecha de revisión: 13 de diciembre de 2018

Placas de sensibilidad Sensititre para el análisis de aislados gramnegativos y grampositivos de cultivo poco exigente

Sensititre 18-24 horas

Para uso diagnóstico *in vitro*

Para obtener información completa sobre las placas, como la disposición de las placas, la información de CC, los criterios interpretativos, los datos de prestaciones y las referencias, consulte www.trekds.com/techinfo. Para ello, necesitará el tipo y el número de lote de las placas.

INDICACIONES

El sistema de sensibilidad CIM y de valor crítico Sensititre es un producto de diagnóstico *in vitro* para pruebas de sensibilidad clínica de aislados de bacterias gramnegativas de cultivo poco exigente, como bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y otras bacterias que no pertenezcan a la familia *Enterobacteriaceae*, así como de aislados de bacterias grampositivas de cultivo poco exigente, como estafilococos, enterococos y estreptococos betahemolíticos distintos de *S. pneumoniae*. La placa de prueba confirmatoria de BLEA Sensititre es un producto de diagnóstico *in vitro* para la detección de BLEA en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Escherichia coli*. Las placas CIM y BLEA se pueden leer de forma manual o automática en los instrumentos Sensititre AutoReader, OptiRead o ARIS. Productos fabricado por Thermo Scientific sólo se ha validado con El caldo Sensititre.

RESUMEN Y PRINCIPIOS DE USO

Cada placa lleva una dosis de antibióticos en las diluciones adecuadas. Los resultados se pueden leer manualmente, mediante la lectura visual del crecimiento, o automáticamente, en un instrumento ARIS, OptiRead o AutoReader mediante fluorescencia.

Los instrumentos Sensititre AutoReader y OptiRead utilizan la tecnología de fluorescencia. Esta tecnología implica la detección del crecimiento bacteriano mediante la monitorización de la actividad de enzimas superficiales específicas producidas por el microorganismo de interés. El crecimiento se determina generando un producto fluorescente a partir de un sustrato (fluorogénico) no fluorescente. El sustrato no fluorescente se prepara mediante la conjugación de un compuesto fluorescente con los sustratos de las enzimas específicas con un enlace que impide la fluorescencia. Se dice entonces que el fluoróforo está desactivado. La acción enzimática de las enzimas superficiales bacterianas sobre los sustratos específicos rompe este enlace y libera el fluoróforo, lo que hace que este recupere su fluorescencia. La cantidad de fluorescencia detectada es directamente proporcional a la actividad de las enzimas superficiales bacterianas y, en consecuencia, al crecimiento bacteriano.

Solo se pueden leer automáticamente aquellas placas cuyo nombre de formato termine en F.

PRECAUCIONES

Solo deben usarse instrumentos admitidos por los productos Sensititre, como un visor manual sencillo o instrumentos Sensitouch, Vizion, Sensititre AutoReader/OptiRead y ARIS, para notificar resultados obtenidos con productos Sensititre de diagnóstico *in vitro* con marcado CE y aprobados por la FDA. No se admiten otros instrumentos.

Los resultados deben usarse como ayuda para seleccionar el fármaco de tratamiento. Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* y solo deben utilizarlo personas con la formación adecuada. Como precaución para evitar los peligros microbiológicos, las muestras, los recipientes, los medios y las placas de prueba deben esterilizarse después de su uso. Las instrucciones se deben leer y cumplir estrictamente.

ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Conserve las placas de sensibilidad en sus envases originales, a una temperatura entre 15 y 25 °C y alejadas de la luz solar directa y las fuentes de calor hasta el momento de usarlas. Cada placa está envasada en papel de aluminio con desecante. No utilice las placas si se ha superado la fecha de caducidad, si la bolsa de papel de aluminio está deteriorada o si el color del desecante no es naranja. Tras extraer las placas de sus bolsas, debe inocularlas dentro de las 5 horas siguientes.

TOMA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras deben tomarse y manipularse de acuerdo con las directrices siguientes.

Materiales incluidos

10 placas Sensititre™ con sustrato en los pocillos.
10 sellos adhesivos perforados.

Materiales no incluidos [código del producto]:

Caldo:

- Agua desmineralizada Sensititre™ [T3339].
- Caldo Sensititre™ de Mueller-Hinton con ajuste de cationes y tampón TES (CAMHBT) [T3462].

Turbidez:

- Sensititre Nephelometer™ [V3011].
- Patrón polimérico de turbidez McFarland 0,5 [E1041].

Inoculación de placas:

- Cabezales dosificadores de inoculación de placas para instrumentos Sensititre AIM [E3010].
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020]/Sensititre AutoInoculator*.

Lectura de placas:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] o ARIS™ [V3090].
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021].
- Lector manual Sensititre [V4007].

Materiales adicionales:

- Depósito estéril para inóculo.
- Cepas de control de calidad (véase la tabla 1).
- Incubador a 34-36 °C.
- Agitador vorticial.
- Directrices vigentes del CLSI, del EUCAST o del organismo local competente.

* Este producto ya no se comercializa ni cuenta con soporte.

SELECCIÓN DEL CALDO PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD

El caldo Thermo Scientific Sensititre ha sido validado para su uso con placas de sensibilidad Sensititre.

PROCEDIMIENTOS DE INOCULACIÓN PARA PLACAS SENSITITRE

Deje que todos los caldos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos.

Inóculo estándar

Para todas las placas, seleccione 3-5 colonias de aislados de cultivo poco exigente de una placa de agar primaria fresca, emulsiónelas en agua estéril y ajuste la turbidez a la del patrón McFarland 0,5. Mezcle bien.

Transfiera 10 µl de la suspensión de McFarland a un tubo de 11 ml de caldo de Mueller-Hinton con ajuste de cationes con tampón TES. Vaya al paso 2.

Método de inóculo incrementado

En función de las cepas analizadas, un aumento hasta 30 µl podría ayudar a detectar mecanismos de resistencia.

Para los aislados, tanto grampositivos como gramnegativos, la transferencia de 30 µl de la suspensión a un tubo con 11 ml de caldo de Mueller-Hinton Sensititre origina números de colonias dentro del rango de $5,0 \times 10^4$ a $5,0 \times 10^5$ UFC/ml aprobado para los productos Sensititre. Vaya al paso 2.

Bacterias *Proteus*, *Providencia* y *Morganella*

Para la tribu *Proteae* (incluidos los géneros *Proteus* y *Providencia* y la *Morganella morganii*), transfiera 1 µl al caldo.

2. Transfiera 50 µl de la suspensión del caldo a la placa en el plazo de 30 minutos a partir de su preparación mediante uno de estos procedimientos:

1. **Sensititre Autoinoculator/AIM:** sustituya el tapón del tubo por un cabezal dosificador Sensititre de un solo uso e inocule la placa de acuerdo con las instrucciones del instrumento Autoinoculator/AIM. Retire el conjunto de tubo de ensayo y cabezal dosificador del instrumento Autoinoculator/AIM como máximo 30 segundos después de inocular una placa.
2. **Pipeta manual:** vierta el caldo en una cubeta de inoculación estéril e inocule la placa con una pipeta adecuada.
3. Lleve a cabo una comprobación de pureza en todos los inóculos finales después de inocular las placas.
4. Debe realizar una comprobación periódica del número de colonias (véase el Apéndice 1). La concentración de los inóculos de aislados debe ser de 1×10^5 UFC/ml (rango: $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$), con la excepción de las colonias aisladas de la tribu *Proteae*, que debe ser de 1×10^4 UFC/ml (rango: $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$).
5. Cubra todos los pocillos de cada placa con el sello adhesivo incluido. Evite los pliegues, pues pueden producir omisiones.
6. Tras extraer las placas de sus bolsas, debe inocularlas dentro de las 5 horas siguientes.

INCUBACIÓN

Todos los microorganismos aeróbicos de cultivo poco exigente deben incubarse a 34–36 °C en el instrumento ARIS o en un incubador sin CO₂ durante 18–24 horas.

- Con el fin de garantizar la detección de enterococos resistentes a la vancomicina y estafilococos resistentes a la oxacilina, incube las muestras durante 24 horas.

- Detección de acinetobacterias, *Burkholderia cepacia* y *Stenotrophomonas maltophilia*: incuba las muestras durante 20-24 horas.

Las placas selladas se pueden apilar hasta tres alturas en un incubador si no se incuban en el instrumento ARIS.

Resumen de preparación e incubación

Grupo de microorganismos	Medio de suspensión de McFarland	Inóculo final previsto* (UFC/ml)	Transferencia de inóculo	Caldo	Reconstitución de la placa	Condiciones de incubación	Horas de incubación
Gramnegativos de cultivo poco exigente	Agua	1×10^7	10 µl	Caldo M-H	50 µl	35 °C, O ₂	18-24
Grampositivos de cultivo poco exigente	Agua	1×10^7	10 µl	Caldo M-H	50 µl	35 °C, O ₂	18-24
Inóculo incrementado para microorganismos gramnegativos y grampositivos**	Agua	3×10^5	30 µl	Caldo M-H	50 µl	35 °C, O ₂	18-24
Tribu <i>Proteae</i>	Agua	1×10^7	1 µl	Caldo M-H	50 µl	35 °C, O ₂	18-24

* En el Apéndice 1 se incluyen los rangos de los inóculos.

** En función de las cepas analizadas, un aumento hasta 30 µl podría ayudar a detectar mecanismos de resistencia.

LECTURA DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA

Compruebe las placas de la prueba de pureza. Los resultados no serán válidos si existe un cultivo mixto.

1. Lectura automática

Las placas pueden leerse en el instrumento AutoReader, OptiRead o ARIS según las instrucciones del manual del usuario correspondiente o mediante el uso de los archivos de ayuda del software SWIN.

Las placas Sensititre indicadas exclusivamente para visores manuales o instrumentos Sensitouch o Vizion no pueden leerse en instrumentos AutoReader, OptiRead o ARIS.

2. Lectura manual

Después de la incubación, los resultados se pueden leer con un visor manual Sensititre o un instrumento Vizion. Consulte los manuales del usuario. No es necesario retirar el sello adhesivo. El crecimiento se observará como turbidez o como un depósito de células en el fondo del pocillo. La CIM será la concentración mínima de antibiótico que inhibe el crecimiento visible. La lectura de un crecimiento débil en el instrumento Vizion puede mejorarse si se ajusta la iluminación. Los pocillos de control de crecimiento positivo deben leerse los primeros. Si ninguno presenta crecimiento, los resultados serán inválidos.

Deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos:

a. Puntos finales tenues

La mayoría de las combinaciones microorganismo-antibiótico producen puntos finales claros. Con algunas combinaciones, puede haber una atenuación progresiva del crecimiento en dos o tres pocillos. Debe considerarse como punto final el primer pocillo que inhiba el crecimiento visible, salvo para las sulfonamidas y el linezolid, para los que deberá leerse la CIM como una reducción del 80-90 % del crecimiento en comparación con el pocillo de control positivo.

b. Contaminación

La contaminación puede provocar crecimiento en un pocillo rodeado por pocillos que no muestren signos de crecimiento. Dicha contaminación de un solo pocillo puede pasarse por alto; sin embargo, si se sospecha que hay contaminantes en varios pocillos, la prueba deberá repetirse.

c. Omisiones

Ocasionalmente, podría observarse una “omisión”; es decir, un pocillo que no presenta crecimiento y está rodeado por pocillos en los que existe crecimiento. Existen diversas explicaciones para ello, como contaminación, mutación, pliegues en el sello y dosificación incorrecta. Una sola omisión puede pasarse por alto. No obstante, con el fin de garantizar un tratamiento antibiótico eficaz, NUNCA considere el pocillo “omitido” como CIM; siempre debe ser la concentración mínima del pocillo por encima de la cual hay una ausencia uniforme de crecimiento.

d. Cultivos mixtos

Con la excepción de lo indicado anteriormente en el apartado (a), si dos puntos finales se ven como un “botón” diferenciado de células seguido de varios pocillos con crecimiento difuso en los que el “botón” ya no se observa (o es más pequeño), puede haber una población bacteriana mixta. Deberá analizarse la pureza realizando un subcultivo en un agar adecuado. Los resultados no serán válidos si se detecta un cultivo mixto.

3. Información adicional**Resultados de CIM para la confirmación de BLEA**

Para confirmar la existencia de BLEA, la reducción de la concentración debe ser como mínimo igual a seis veces entre la CIM para el antibiótico probado en combinación con ácido clavulánico y la CIM cuando se analiza solo. Por ejemplo: CIM de la ceftazidima = 8 g/ml; y CIM de la ceftazidima con ácido clavulánico = 1 µg/ml. Para obtener más información, consulte la norma M7 del CLSI.

Detección de cefoxitina

Se puede usar la “detección de cefoxitina (6 µg/ml)” para predecir la presencia de resistencia mediada por el gen *mecA* en *Staphylococcus aureus*. Los aislados para los que la CIM de cefoxitina sea superior a 6 (crecimiento positivo) deben notificarse como resistentes a la oxacilina. Aquellos para los que la CIM de cefoxitina sea igual o inferior a 6 (ausencia de crecimiento) deberán notificarse como sensibles a la oxacilina.

Prueba D

La prueba D para la prueba de microdilución en caldo es para estafilococos resistentes a la eritromicina (CIM ≥ 8 µg/ml) y sensibles o intermedio (CIM ≤ 2 µg/ml) a la clindamicina. Con estos aislados, si la prueba D 1 (4/0,5 µg/ml), la prueba D 2 (8/1,5 µg/ml) o ambas pruebas son positivas (crecimiento), el resultado

notificado debe ser que existe resistencia inducible a la clindamicina. Si con estos aislados no hay crecimiento en la prueba D 1 ni en la D 2, los aislados deben notificarse como negativos en cuanto a resistencia inducible. Si existe resistencia a la eritromicina y sensibilidad a la clindamicina, y la prueba D es negativa tras una incubación de 18 horas, repita la lectura tras 24 horas de incubación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para interpretar los resultados, consulte las directrices correspondientes del CLSI o el EUCAST, o bien las directrices normalizadas del organismo local competente.

La placa puede incluir antibióticos que no hayan demostrado su eficacia para el tratamiento de infecciones producidas por todos los microorganismos analizados. Consulte el prospecto del antibiótico específico aprobado por la FDA para interpretar y notificar los resultados de antibióticos que hayan demostrado su eficacia contra grupos de microorganismos tanto *in vitro* como en infecciones clínicas.

Para la lectura automática de resultados, el software aplica criterios interpretativos basados en las directrices del CLSI, el EUCAST o la FDA, en función de la configuración del software.

Al notificar los resultados de las pruebas confirmatorias de BLEA para antibióticos, consulte el documento CLSI M100, "Screening and Confirmatory Tests for BLEA's in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*", para realizar una adecuada interpretación de los resultados.

Resultados de valor crítico

Las pruebas de valor crítico son un método de dilución en caldo para la determinación cualitativa de la sensibilidad. El sistema de valor crítico Sensititre se ha desarrollado para proporcionar un método normalizado sencillo para pruebas de sensibilidad, basado en el concepto de los valores críticos de concentración. El valor crítico se define como la concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento de microorganismos sensibles pero no resistentes. Para la mayoría de los antibióticos se utilizan dos concentraciones: una menor, que representa el límite superior de la categoría sensible; y otra mayor, que representa el límite superior de la categoría intermedia.

Interpretaciones del valor crítico para antibióticos presentes en 1 o 2 pocillos.

Resultado	Interpretación Un pocillo	Interpretación Dos pocillos
Ausencia de crecimiento	Sensible	-
Crecimiento	Resistente	-
Sin crecimiento en ninguno de los pocillos	-	Sensible
Crecimiento solo en la concentración menor	-	Intermedio
Crecimiento en ambos pocillos	-	Resistente
Crecimiento solo en la concentración mayor	-	Inválido (repetir)

CONTROL DE CALIDAD

1. La frecuencia de las pruebas de control de calidad debe fijarse de acuerdo con las directrices normalizadas del laboratorio.
2. El inóculo debe cultivarse en un medio adecuado para comprobar su pureza. Los resultados no serán válidos si se detecta un cultivo mixto.
3. Todas las placas Sensititre incluyen pocillos de control positivo. Las pruebas no serán válidas si no hay un crecimiento claro en todos los pocillos de control positivo. Algunos formatos de placas también incluyen un pocillo de “crecimiento negativo”. En algunos casos, este pocillo puede utilizarse para calibrar el instrumento AutoReader u OptiRead; no es necesario para la lectura manual.
4. Existen diversos factores que contribuyen a conseguir las CIM correctas, incluido el uso de 3-5 colonias cultivadas en una placa de agar puro durante 16-24 horas, así como el uso de temperaturas, caldos y densidades de inóculo (obtenidas con nuestro patrón McFarland y un nefelómetro) normalizados. En la práctica, las CIM de las réplicas formarán una distribución normal, con la mayoría de los resultados dentro de una dilución del valor modal.
5. Los microorganismos de control indicados en las tablas de control de calidad se recomiendan para monitorizar el procedimiento de la prueba de sensibilidad y comprobar la potencia de los antibióticos. Consulte las tablas de control de calidad para conocer los resultados esperados para el control de calidad. El procedimiento de prueba puede considerarse satisfactorio si los resultados de sensibilidad obtenidos con los microorganismos de control se encuentran dentro de los rangos indicados. Los resultados **no** deberán notificarse si los resultados de CC están fuera de los rangos indicados para una combinación fármaco-microorganismo.
6. Los rangos de control de calidad de las siguientes combinaciones microorganismo-antibiótico son diferentes de los recomendados por el CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) frente a cefotetán,
Ps. aeruginosa (ATCC® 27853™) frente a mezlocilina y *S. aureus* (ATCC® 29213™) frente a ampicilina y penicilina.

Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de la división de Microbiología de Thermo Fisher Scientific para solicitar ayuda si no consigue solucionar divergencias asociadas al control de calidad. Más adelante se incluyen los datos de contacto correspondientes.

LIMITACIONES

- Es necesario recurrir a personal clínico formado para realizar una correcta interpretación de los resultados de las pruebas.
- Al igual que en todos los demás métodos de pruebas de sensibilidad a antibióticos, los resultados generados por las placas de sensibilidad Sensititre son resultados *in vitro*.
- Las pruebas de microorganismos de cultivo exigente requieren procedimientos especializados, por lo que deben analizarse mediante otros métodos. La placa CIM Sensititre para *Haemophilus influenzae*/*Streptococcus pneumoniae* se puede usar para el análisis de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. Consulte la nota técnica sobre microorganismos de cultivo exigente de los productos Sensititre o la norma M7 del CLSI para conocer las modificaciones que hay que hacer en los procedimientos de determinación de la sensibilidad.
- Los estudios se llevaron a cabo con un sistema AutoInoculator/AIM. Si usa un sistema de inoculación alternativo para realizar pruebas con minociclina, doxiciclina, telavancina, dalbavancina, oritavancina o tedizolid, valide los resultados de dicho sistema con pruebas de control de calidad y lleve a cabo recuentos de colonias.

Limitaciones para bacterias gramnegativas

1. Los resultados obtenidos con *C. freundii* y cefotetán han mostrado unas CIM discrepantes al compararlos con un método de referencia con análisis al día siguiente, por lo que los resultados para este antibiótico no se deben notificar. Si este antibiótico es esencial para el cuidado del paciente, deberá usarse un procedimiento alternativo.
2. La reproducibilidad dentro de un mismo laboratorio de los resultados con amoxicilina y ácido clavulánico para los productos Sensititre y un procedimiento de referencia fue inferior al 95 %. Dado que la CIM depende del nivel de betalactamasa producido, la variabilidad en los resultados de CIM puede atribuirse a la variación en la producción enzimática. Asimismo, la reproducibilidad dentro de un mismo laboratorio de los resultados con cefotetán y microorganismos gramnegativos utilizando productos Sensititre y los procedimientos de referencia del CLSI también fue inferior al 95 %.
3. No se han determinado las prestaciones para la prueba de bacterias del género *Proteus* con piperacilina/tazobactam y cefepima. Por tanto, no deben notificarse resultados para aislados de pacientes.
4. Los resultados de las bacterias del género *Klebsiella* y los microorganismos no fermentadores ensayados con piperacilina/tazobactam deben leerse manualmente debido a la falta de datos sobre prestaciones en los instrumentos Sensititre AutoReader u OptiRead.
5. Los instrumentos AutoReader y OptiRead no deben usarse para predecir la resistencia a la cefpodoxima de las bacterias del género *Serratia*, dado que los ensayos clínicos produjeron una tasa de errores inaceptable al leer esta combinación microorganismo-antibiótico.
6. No existen “indicaciones” primarias aprobadas y se desconoce la importancia clínica del cefdinir. Para notificar resultados de actividad contra grupos de microorganismos tanto *in vitro* como en infecciones clínicas, consulte la norma M100 del CLSI y la ficha técnica del fármaco aprobada por la FDA.
7. No notifique resistencia para las siguientes combinaciones antibiótico-microorganismo debido a la falta de aislados resistentes en el momento del ensayo:

Microorganismo	Antibiótico
Género <i>Citrobacter</i>	Piperacilina/tazobactam
Género <i>Serratia</i>	Piperacilina/tazobactam
Género <i>Proteus</i>	Lomefloxacin y cefpodoxima
Bacterias que no pertenezcan a la familia <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacin

8. Se desconoce la capacidad del sistema Sensititre para detectar resistencia a la moxifloxacina y la gatifloxacina porque en el momento de la prueba comparativa no había disponibles cepas resistentes.
9. La tigeciclina presenta una menor actividad *in vitro* contra las bacterias de los géneros *Morganella*, *Proteus* y *Providencia*.
10. La inexistencia actual de aislados resistentes a la tigeciclina y la gemifloxacina impide la definición de resultados diferentes de “sensible”. Los aislados que produzcan resultados de CIM que sugieran la categoría “no sensible” deben remitirse a un laboratorio de referencia para someterlos a pruebas adicionales.
11. La gemifloxacina presenta una CIM *in vitro* igual o inferior a 0,25 µg/ml contra la mayoría

(≥ 90 %) de las cepas de los siguientes microorganismos: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus vulgaris*. No obstante, la seguridad y la eficacia de la gemifloxacina para tratar infecciones clínicas debidas a estos microorganismos no se han determinado en ensayos clínicos adecuados y controlados.

12. La inexistencia actual de aislados resistentes al doripenem impide la definición de resultados diferentes de “sensible”. Los aislados que produzcan resultados de CIM que sugieran la categoría “no sensible” deben remitirse a un laboratorio de referencia para someterlos a pruebas adicionales.
13. Se desconoce la capacidad del sistema Sensititre para detectar resistencia de las bacterias del género *Acinetobacter* a la minociclina porque en el momento de la prueba comparativa no había disponibles cepas resistentes.
14. Los estudios se llevaron a cabo con un sistema AutoInoculator/AIM. No se ha evaluado el uso de un sistema de inoculación alternativo al ensayar la ceftarolina.
15. Se desconoce la capacidad del sistema Sensititre para detectar resistencia de la *Citrobacter koseri* a la ceftarolina porque en el momento de la prueba comparativa no había disponibles cepas resistentes.
16. La ceftarolina no es activa contra bacterias gramnegativas que producen betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) de tipo TEM, SHV o CTX-M, carbapenemasas de serina (como KPC) o metalobetalactamasas de clase B o C (cefalosporinas AmpC).
17. No se han determinado las prestaciones para la combinación de *Moraxella catarrhalis* y ceftarolina. Por tanto, no deben notificarse resultados para aislados de pacientes.

Limitaciones para bacterias grampositivas

1. El sistema AutoReader/OptiRead se puede usar para leer resultados de estafilococos y enterococos negativos a la coagulasa siempre que la etiqueta del panel indique “Para la lectura de aislados grampositivos” y los pocillos contengan sustratos fluorogénicos.
2. El sistema AutoReader/OptiRead no debe usarse para leer resultados para la combinación de nitrofurantoína y enterococos. La nitrofurantoína debe leerse manualmente. Debe realizarse una prueba de betalactamasa con nitrocefina para detectar cepas de enterococos productoras de betalactamasa.
3. Las placas de sensibilidad Sensititre están configuradas para satisfacer las recomendaciones del CLSI para detectar estafilococos resistentes a la meticilina. En consecuencia, con la oxacilina se incluye un suplemento salino al dos por ciento. El inóculo debe prepararse directamente a partir de una placa de agar incubada durante la noche y no con un cultivo fresco en caldo. Tenga en cuenta que la mayoría de los estafilococos heterorresistentes normalmente son resistentes a varios antibióticos, como betalactamas, aminoglicósidos, macrólidos, clindamicina, cloranfenicol y tetraciclina; esto debe usarse como referencia para detectar la resistencia cruzada en penicilinas resistentes a la penicilinasas.
4. Los estafilococos ensayados con bencilpenicilina también deben ensayarse en lo que respecta a la producción de betalactamasa, en especial en cepas con CIM en el límite (entre 0,06 y 0,25 µg/ml). Si los resultados de estas cepas fueran positivos para la betalactamasa, deberá repetirse el análisis para garantizar la notificación correcta de resistencia.
5. Un escaso crecimiento de cepas no enterocócicas de estreptococos en caldo de Mueller-Hinton podría dar resultados poco fiables con los aminoglicósidos.
6. Los resultados obtenidos para estafilococos negativos a la coagulasa y sensibles a la oxacilina con claritromicina han mostrado CIM discrepantes al compararlos con un método de referencia con análisis al día siguiente. Si este antibiótico es esencial para el cuidado del paciente, deberá usarse un procedimiento alternativo o no se deberá notificar dicho antibiótico.

7. Se ha demostrado que el cefdinir es activo contra la mayoría de las cepas de *S. aureus* sensibles a la meticilina (SASM) y de *Streptococcus pyogenes* en infecciones clínicas. Asimismo, se ha establecido la correlación *in vitro* para el *S. epidermidis* (SESM) y el *Streptococcus agalactiae*. Dicha actividad no se ha establecido para ningún otro microorganismo apto para la placa grampositiva.
8. El sistema AutoReader/OptiRead no debe usarse para leer resultados para la combinación de trimetoprima/sulfametoxazol (SXT) y estafilococos negativos a la coagulasa (ENC). Los resultados para el SXT deben leerse manualmente.
9. Se desconoce la importancia clínica del cefdinir y no hay “indicaciones” primarias aprobadas. Para notificar resultados de actividad contra grupos de microorganismos tanto *in vitro* como en infecciones clínicas, consulte el documento M100 del CLSI.
10. La inexistencia actual de aislados resistentes a la tigeciclina y la gemifloxacina impide la definición de resultados diferentes de “sensible”. Los aislados que produzcan resultados de CIM que sugieran la categoría “no sensible” deben remitirse a un laboratorio de referencia para someterlos a pruebas adicionales.
11. No notifique resistencia para las siguientes combinaciones microorganismo-antibiótico debido a la falta de aislados resistentes en el momento del ensayo:

Microorganismo	Antibiótico
Grampositivo	Linezolid, moxifloxacina, gatifloxacina, tigeciclina y gemifloxacina
Estafilococos	Ampicilina/sulbactam
Enterococos	Amoxicilina/ácido clavulánico
Enterococos	Daptomicina
Estafilococos	
Streptococos	

Se desconoce la capacidad del sistema Sensititre para detectar resistencia o insensibilidad a los siguientes antibióticos porque en el momento de la prueba comparativa no había disponible un número suficiente de cepas resistentes o insensibles. Si se detecta alguna cepa de ese tipo, deberá remitirse a un laboratorio de referencia para someterla a pruebas adicionales.

Microorganismo	Antibiótico
Grampositivo	Moxifloxacina y gatifloxacina
<i>Staphylococcus aureus</i> (solamente aislados sensibles a la meticilina y la eritromicina)	Telitromicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxiciclina
Estreptococos	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxiciclina
<i>Staphylococcus aureus</i> (aislados tanto resistentes como sensibles a la meticilina)	Dalbavancina, oritavancina y telavancina
<i>Enterococcus faecalis</i> (solo enterococos sensibles a la vancomicina)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (aislados resistentes y sensibles a la meticilina) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Las placas de sensibilidad CIM Sensititre 18-24 horas pueden detectar resistencia a la vancomicina en las cepas de *S. aureus* resistentes a la vancomicina (SARV) disponibles en el momento de las pruebas comparativas. La capacidad de las placas de sensibilidad CIM Sensititre 18-24 horas para detectar resistencia a la vancomicina en otras cepas de *S. aureus* se desconoce debido al número limitado de cepas resistentes disponible para las pruebas comparativas.
13. La gemifloxacina presenta una CIM *in vitro* igual o inferior a 0,25 µg/ml contra la mayoría (≥ 90 %) de las cepas de los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* (solo cepas sensibles a la meticilina) y *Streptococcus pyogenes*. No obstante, la seguridad y la eficacia de la gemifloxacina para tratar infecciones clínicas debidas a estos microorganismos no se han determinado en ensayos clínicos adecuados y controlados.
14. Utilice un método de análisis alternativo con sangre equina lisada para realizar la prueba de *S. pyogenes* si observa un crecimiento escaso o nulo en el pocillo de control de crecimiento positivo.
15. Se desconoce la capacidad del sistema Sensititre para detectar resistencia del *S. aureus* a la minociclina porque en el momento de la prueba comparativa no había disponibles cepas resistentes.
16. Utilice una placa Sensititre para microorganismos de cultivo exigente como método de análisis con sangre equina lisada para realizar la prueba de estreptococos si observa un crecimiento escaso o nulo en el pocillo de control de crecimiento positivo de la placa Sensititre para microorganismos de cultivo no exigente.
17. Los estudios se llevaron a cabo con un sistema AutoInoculator/AIM. Si usa un sistema

de inoculación alternativo para realizar pruebas con telavancina o minociclina, valide los resultados de dicho sistema con pruebas de control de calidad y lleve a cabo recuentos de colonias viables.

18. Los estudios se llevaron a cabo con un sistema AutoInoculator/AIM. Si usa un sistema de inoculación alternativo para realizar pruebas con ceftarolina, valide los resultados de dicho sistema con pruebas de control de calidad y lleve a cabo recuentos de colonias.
19. Las prestaciones para la combinación de oritavancina con *S. aureus* y *E. faecalis* se evaluaron con el sistema de inoculación automática AIM. No se ha evaluado el uso de un sistema de inoculación alternativo al ensayar la oritavancina.
20. Debido a la ausencia de interpretaciones intermedias y resistentes para la oritavancina, existe una tasa potencial de errores muy elevada. En 3 de los 9 aislados insensibles hubo una dilución de duplicación más baja que la de referencia. Utilice un método de análisis alternativo antes de notificar los resultados para la combinación de *S. aureus* y *E. faecalis* con oritavancina cuando la CIM de Sensititre sea igual a 0,12 µg/ml (valor crítico), si dicho fármaco es imprescindible para el cuidado del paciente.

PRESTACIONES

APÉNDICE 1: Procedimiento de recuento de colonias

Los dos métodos descritos a continuación pueden usarse para determinar el número de colonias viables.

Método directo

1. Inmediatamente después de la inoculación de la placa, tome una muestra con un asa de 1 µl del pocillo de control de crecimiento positivo e inocúlela en una placa de agar con sangre.
2. Tome otra muestra con otra asa (de 1 µl) del mismo pocillo de crecimiento y mézclela con 50 µl de agua desionizada estéril. Inocule 1 µl de esta dilución en una placa de agar con sangre para obtener colonias que pueda contar.
3. Incube ambas placas a 34–36 °C durante toda la noche en condiciones adecuadas.
4. Realice la lectura de la manera siguiente:

Dilución deseada	Número de colonias	Número de colonias	
		Placa de 0,001	0,001 del inóculo
<u>1/50</u>			
1 x 10 ⁴	5 x 10 ³ -5 x 10 ⁴	5-50	0
1 x 10 ⁵	5 x 10 ⁴ -5 x 10 ⁵	50-500	1-10
5 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵ -2,5 x 10 ⁶	250-2500	5-50

Método indirecto

1. A. Para un inóculo de 1 x 10⁵ UFC/ml

Con una punta de pipeta estéril, transfiera 100 µl del cultivo del caldo a un tubo con 10 ml de caldo limpio y etiquételo como tubo A.

B. Para un inóculo de 5×10^5 UFC/ml

Con una punta de pipeta estéril, transfiera 10 µl del cultivo del caldo a un tubo con 10 ml de caldo limpio y etiquételo como tubo A.

2. Con una punta de pipeta estéril, transfiera 100 µl del tubo A a la superficie de una placa con sangre adecuada, etiquetada y fechada.
3. Con un asa de inoculación estéril, extienda estos 100 µl de cultivo por toda la superficie de la placa.
4. Incube la placa a 34-36 °C durante 18-24 horas.
5. Cuente las colonias de la placa y multiplique por 10^3 (1×10^5 UFC/ml) o 10^4 (5×10^5 UFC/ml) para obtener el recuento viable de la suspensión original.

Para un inóculo de 1×10^5 UFC/ml	Para un inóculo de 5×10^5 UFC/ml
Rango de recuento viable = 5×10^4 - 5×10^5 UFC/ml	Rango de recuento viable = $2,5 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^6$ UFC/ml

REFERENCIAS

1. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard*. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100*. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

DECLARACIÓN DE DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

La información incluida en esta nota técnica está vigente a la fecha de impresión y puede cambiar sin previo aviso.

Puede descargar información técnica actualizada en www.TREKDS.com/techinfo o solicitarla a través del servicio de asistencia técnica de la división de Microbiología de Thermo Fisher Scientific



Fabricante legal:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex,
RH19 1XZ
(Reino Unido)
Tel.: +44-1342-318777



El emblema ATCC Licensed Derivative®, la marca ATCC Licensed Derivative® y las marcas de catálogo ATCC son marcas comerciales de ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. dispone de licencia para usar estas marcas comerciales y para vender productos derivados de cultivos ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Reservados todos los derechos. ATCC es una marca comercial de ATCC. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific Inc. y sus filiales.

Direcciones de correo electrónico de los servicios de asistencia técnica

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Bélgica	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
República Checa	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dinamarca	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francia	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Alemania	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italia	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Países Bajos	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Noruega	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
España	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suecia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Servicio de asistencia técnica del Reino Unido	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Istruzioni per l'uso

Piastre Thermo Scientific™ Sensititre™ per test di determinazione della sensibilità su isolati Gram negativi e Gram positivi non esigenti

039-NFAST ROW Only -CID9494
Data di revisione: 13 dicembre 2018

Piastre Sensititre per test di determinazione della sensibilità su isolati Gram negativi e Gram positivi non esigenti

Sensititre 18-24 ore

Per uso diagnostico *in vitro*

Per informazioni complete sulle piastre, inclusi layout delle piastre, informazioni sul controllo di qualità, criteri interpretativi, dati sulle prestazioni e riferimenti visitare il sito www.trekds.com/techinfo. Sono necessari numero di lotto e tipo delle piastre.

USO PREVISTO

Il sistema Sensititre MIC e Breakpoint Susceptibility è un prodotto per diagnosi *in vitro* per i test clinici di sensibilità su isolati Gram negativi non esigenti, tra cui *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e altre non *Enterobacteriaceae*, oltre che su isolati Gram positivi non esigenti, tra cui specie di stafilococco, specie di enterococco e streptococchi beta emolitici diversi da *S. pneumoniae*. La piastra per test di conferma Sensititre ESBL è un prodotto per diagnosi *in vitro* per la rilevazione di ESBL (beta lattamasi a spettro esteso) in isolati clinici di *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ed *Escherichia coli*. La lettura delle piastre MIC ed ESBL può essere eseguita manualmente o automaticamente sul sistema Sensititre Autoreader / OptiRead e/o ARIS. Il prodotto da Thermo Scientific è stato convalidato esclusivamente con i brodo Sensititre.

RIEPILOGO E PRINCIPI D'USO

Su ciascuna piastra è presente una dose di agenti antimicrobici in diluizione opportuna. I risultati possono essere letti manualmente tramite lettura visiva della crescita o automaticamente su un sistema ARIS / OptiRead / Autoreader tramite fluorescenza.

I sistemi Sensititre Autoreader / OptiRead impiegano la tecnologia a fluorescenza. Questa tecnologia prevede la rilevazione della crescita batterica mediante il monitoraggio dell'attività di specifici enzimi di superficie prodotti dall'organismo test. La crescita viene determinata generando un prodotto fluorescente a partire da un substrato non fluorescente (fluorogenico). Il substrato non fluorescente viene preparato mediante coniugazione di un composto fluorescente ai substrati per lo specifico enzima tramite un legame che previene la fluorescenza. Questo processo è noto come quenching del fluoroforo. L'azione enzimatica degli enzimi batterici di superficie sugli specifici substrati determina il clivaggio di tale legame, con conseguente rilascio del fluoroforo che è quindi in grado di emettere fluorescenza. La quantità di fluorescenza rivelata è correlata direttamente all'attività degli enzimi batterici di superficie e, pertanto, alla crescita batterica.

La lettura automatica è possibile soltanto per le piastre il cui formato del nome include il suffisso F.

PRECAUZIONI

Soltanto gli strumenti supportati da Sensititre (ossia un semplice visualizzatore manuale, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader / OptiRead e ARIS) devono essere utilizzati per refertare i risultati ottenuti con i prodotti Sensititre dotati di approvazione FDA e CE IVD. L'utilizzo di qualsiasi altro sistema non è supportato.

I risultati devono essere utilizzati come ausilio alla scelta del farmaco per il trattamento. Questo prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da personale in possesso di formazione adeguata. Adottare le opportune precauzioni nei confronti dei rischi di natura microbiologica sterilizzando adeguatamente campioni, contenitori, terreni e piastre per test dopo l'uso. Leggere e seguire attentamente le indicazioni.

CONSERVAZIONE E DURATA

Conservare le piastre Sensititre per la determinazione della sensibilità nei contenitori originali a 15 - 25°C ed evitando l'esposizione alla luce solare diretta e a fonti di calore prima dell'uso. Ogni piastra è fornita in busta laminata con essiccante. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza, se la busta laminata è danneggiata o l'essiccante ha assunto un colore diverso dall'arancione. Una volta estratte dalla busta, le piastre devono essere inoculate entro 5 ore.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Raccogliere e manipolare i campioni nel rispetto delle linee guida consigliate.

Materiali inclusi

10 piastre Sensititre™ con substrato nei pozzetti
10 pellicole adesive perforate

Materiali non inclusi [codice prodotto]:

Brodo:

- Acqua demineralizzata Sensititre™ [T3339]
- Brodo Sensititre™ Mueller-Hinton supplementato con cationi e tampone TES (CAMHBT) [T3462]

Torbidità:

- Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- Standard di torbidità 0.5 Polymer McFarland [E1041]

Inoculazione delle piastre:

- Teste di dosaggio per Sensititre AIM per l'inoculazione delle piastre [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / Sensititre AutoInoculator*

Lettura delle piastre:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] o ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vision Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Sensititre Manual Viewbox [V4007]

Altri materiali di consumo:

- Serbatoio di inoculo sterile
- Ceppi di controllo qualità (vedere Tabella 1)
- Incubatore 34-36 °C
- Agitatore Vortex
- Linee guida correnti CLSI, EUCAST o documenti sulle linee guida locali

*Non più in vendita o supportato

SELEZIONE DEL BRODO PER TEST DI SENSIBILITÀ

Il brodo Thermo Scientific Sensititre è convalidato per l'uso con le piastre Sensititre per la determinazione della sensibilità.

PROCEDURE DI INOCULAZIONE PER LE PIASTRE SENSITITRE

Attendere l'equilibratura dei brodi a temperatura ambiente prima dell'uso.

Inoculo standard

Per tutte le piastre, prelevare 3-5 colonie di isolati non esigenti dalla piastra di agar primario fresco, emulsionare in acqua sterile e regolare su uno standard 0.5 McFarland. Mescolare bene.

Trasferire 10 µL della sospensione McFarland in una provetta contenente 11 mL di brodo Mueller-Hinton supplementato con cationi e tampone TES. Passare alla fase 2.

Metodo con incremento dell'inoculo

A seconda dei ceppi sottoposti a test, un incremento a 30 µL può essere di ausilio nella rivelazione dei meccanismi di resistenza.

Sia per isolati Gram positivi che negativi, il trasferimento di 30 µL della sospensione in una provetta contenente 11 mL di brodo Sensititre Mueller-Hinton determina conteggi delle colonie che rientrano nell'intervallo Sensititre approvato compreso tra $5,0 \times 10^4$ e $5,0 \times 10^5$ cfu/mL. Passare alla fase 2.

Proteus, Providencia e Morganella

Per la tribù *Proteae* (incluse specie di *Proteus*, specie di *Providencia* e *Morganella morganii*), trasferire 1 µL nel brodo.

2. Trasferire 50 µL della sospensione in brodo nella piastra entro 30 min dalla preparazione mediante una delle due seguenti tecniche:

1. **Inoculatore automatico Sensititre AutoInoculator / AIM.** Sostituire il tappo della provetta con una testa di dosaggio monouso Sensititre e inoculare la piastra secondo le istruzioni del sistema AutoInoculator / AIM. Rimuovere il gruppo provetta/testa di dosaggio dal sistema AutoInoculator / AIM entro 30 secondi dal dosaggio di una piastra.
2. **Pipetta manuale.** Versare il brodo in una vaschetta per semina sterile e inoculare la piastra utilizzando una pipetta adeguata.
3. Eseguire una verifica della purezza su tutti gli inoculi finali dopo l'inoculazione della piastra.
4. È necessario eseguire un controllo periodico del conteggio delle colonie (vedere l'Appendice 1). Gli isolati devono possedere un inoculo contenente 1×10^5 cfu/mL (intervallo $5,0 \times 10^4$ - $5,0 \times 10^5$), fatta eccezione per gli isolati della tribù *Proteae* il cui valore deve essere pari a 1×10^4 cfu/mL (intervallo $5,0 \times 10^3$ - $5,0 \times 10^4$).
5. Coprire tutti i pozzetti di ciascuna piastra con le pellicole adesive in dotazione. Evitare la formazione di pieghe poiché possono provocare il salto di alcuni pozzetti.
6. Una volta estratte dalla busta, le piastre devono essere inoculate entro 5 ore.

INCUBAZIONE

Tutti gli organismi aerobici non esigenti devono essere incubati a 34-36°C nel sistema ARIS o in un incubatore senza CO₂ per 18-24 ore.

- Per garantire la rilevazione di enterococchi resistenti alla vancomicina e stafilococchi resistenti all'oxacillina, incubare per 24 ore.
- Le specie di *Acinetobacter*, *Burkholderia cepacia* e *Stenotrophomonas maltophilia* devono essere incubate per 20-24 ore.

È possibile impilare fino a 3 piastre sigillate in un incubatore se non vengono incubate nel sistema ARIS.

Riepilogo di configurazione e incubazione

Gruppo di organismi	Mezzo di sospensione McFarland	Inoculo finale previsto* (cfu/mL)	Trasferimento inoculo	Brodo	Ricostituzione piastra	Condizioni di incubazione	Ore di incubazione
Gram negativo non esigente	Acqua	1x10 ⁵	10 µL	MHB	50 µL	35°C O ₂	18-24
Gram positivo non esigente	Acqua	1x10 ⁵	10 µL	MHB	50 µL	35°C O ₂	18-24
Incremento dell'inoculo per organismi sia Gram negativi sia Gram positivi**	Acqua	3x10 ⁵	30 µL	MHB	50 µL	35°C O ₂	18-24
Tribù <i>Proteae</i>	Acqua	1x10 ⁴	1 µL	MHB	50 µL	35°C O ₂	18-24

* Vedere l'Appendice 1 per gli intervalli degli inoculi

** A seconda dei ceppi sottoposti a test, un incremento a 30 µL può essere di ausilio nella rivelazione dei meccanismi di resistenza

LETTURA DEI RISULTATI DEL TEST

Controllare le piastre del test di purezza. I risultati non sono validi in presenza di una coltura mista.

1. Metodo automatico

La lettura delle piastre può essere eseguita sul sistema AutoReader / OptiRead o ARIS attenendosi alle istruzioni del manuale per l'utente pertinente oppure facendo riferimento ai file SWIN HELP.

Le piastre Sensititre destinate esclusivamente all'uso di visualizzatore manuale, Sensitouch o Vizion non possono essere lette su AutoReader / OptiRead o ARIS.

2. Metodo manuale

Dopo l'incubazione, la lettura dei risultati può essere eseguita utilizzando il visualizzatore manuale Sensititre o Vizion. Vedere i manuali per l'utente. Non è necessario rimuovere la pellicola adesiva. La crescita appare come torbidità o deposito di cellule sul fondo di un pozzetto. La concentrazione minima inibente (MIC) è registrata come la concentrazione più bassa di antimicrobico che inibisce la crescita visibile. È possibile migliorare la lettura di una crescita debole sul sistema Vizion regolando l'illuminazione. I pozzetti di controllo di crescita

positivo devono essere letti per primi. Se in uno o più di tali pozzetti non è presente crescita, i risultati non sono validi.

Tenere in considerazione quanto segue:

a. Scolorimento degli endpoint

La maggior parte delle combinazioni organismo / antimicrobico produce endpoint ben definiti. Alcune combinazioni possono evidenziare uno scolorimento graduale della crescita su 2 - 3 pozzetti. Gli endpoint corrispondono al primo pozzetto che inibisce la crescita visibile, fatta eccezione per sulfamidici e linezolid per i quali la MIC deve essere letta come una riduzione della crescita pari a 80-90% rispetto al pozzetto di controllo positivo.

b. Contaminazione

La contaminazione può provocare crescita in un pozzetto affiancato da pozzetti in cui la crescita è assente. Una tale contaminazione di un singolo pozzetto può essere ignorata, ma se si sospetta la presenza di contaminanti in più pozzetti, il test deve essere ripetuto.

c. Salti di pozzetti

Talvolta è possibile osservare un “salto”, ossia un pozzetto privo di crescita affiancato da pozzetti in cui è presente crescita. Le cause di questo fenomeno sono molteplici e includono contaminazione, mutazione, pieghe nella pellicola adesiva ed errato allineamento del dosaggio. Un salto singolo può essere ignorato. Tuttavia, al fine di garantire l'efficacia della terapia antimicrobica, non leggere MAI il pozzetto saltato come valore MIC; leggere sempre la concentrazione di pozzetto più bassa al di sopra della quale la crescita è costantemente assente.

d. Colture miste

Fatta eccezione per quanto riportato al punto (a) precedente, se due endpoint sono osservati come un “bottone” ben definito di cellule seguito da svariati pozzetti di crescita diffusa in cui il “bottone” non è più visibile (o appaiono bottoni di minori dimensioni), può essere presente una popolazione batterica mista. Eseguire una verifica della purezza tramite subcoltura di crescita su agar idoneo. I risultati del test non sono validi se si rileva la presenza di una coltura mista.

3. Altre informazioni

Risultati MIC per la conferma ESBL

Per la conferma ESBL, è necessario rilevare una riduzione del raddoppio della concentrazione ≥ 3 per la MIC dell'agente antimicrobico testato in combinazione con l'acido clavulanico rispetto alla MIC dell'agente testato da solo = ESBL. Esempio: MIC ceftazidima = 8 $\mu\text{g/mL}$, MIC ceftazidima/acido clavulanico = 1 $\mu\text{g/mL}$. Per maggiori dettagli fare riferimento a CLSI M7.

Screening cefoxitina

Lo screening cefoxitina (6 $\mu\text{g/mL}$) può essere impiegato per prevedere la presenza di resistenza mecA-mediata in *Staphylococcus aureus*. Gli isolati che presentano MIC per la cefoxitina >6 (crescita positiva) devono essere refertati come resistenti all'oxacillina. Gli isolati che presentano valori MIC per la cefoxitina ≤ 6 (assenza di crescita) devono essere refertati come sensibili all'oxacillina.

D test

Il D test per il test di microdiluizione in brodo riguarda le specie di *Staphylococcus* resistenti (valori MIC ≥ 8 µg/mL) all'eritromicina e sensibili o intermedi (valori MIC ≤ 2 µg/mL) alla clindamicina. Con questi isolati, se un D test 1 (4/0,5 µg/mL) o D test 2 (8/1,5 µg/mL) oppure sia 1 che 2 sono positivi (crescita), il risultato del test deve essere refertato come resistenza inducibile alla clindamicina. Se con questi isolati non è presente crescita sia nel D test 1 sia nel D test 2, gli isolati devono essere refertati come negativi relativamente alla resistenza inducibile. In presenza di resistenza all'eritromicina, sensibilità alla clindamicina e D test negativo dopo 18 ore di incubazione, ripetere la lettura dopo 24 ore di incubazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per interpretare i risultati, fare riferimento alle linee guida per l'interpretazione MIC redatte da CLSI, EUCAST o alle linee guida standard locali.

Nella piastra possono essere inclusi agenti antimicrobici la cui efficacia non è stata provata per il trattamento di infezioni per tutti gli organismi sottoposti a test. Fare riferimento alla singola nota inclusa nella confezione di agente antimicrobico farmaceutico approvato dalla FDA per l'interpretazione e refertazione dei risultati degli agenti antimicrobici con attività dimostrata nei confronti dei gruppi di organismi sia *in vitro* sia nelle infezioni cliniche.

Nel caso dei risultati letti automaticamente, il software applica criteri interpretativi basati sulle linee guida CLSI, EUCAST o FDA a seconda della configurazione del software.

Quando si refertano i risultati antimicrobici dei test di conferma ESBL, fare riferimento al documento CLSI M100: Screening and Confirmatory Tests for ESBLs in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*, al fine di interpretare correttamente i risultati.

Risultati dei breakpoint di sensibilità

Il test dei breakpoint è un metodo di diluizione in brodo mirato ai test qualitativi di sensibilità. Il sistema per breakpoint Sensititre è stato sviluppato per mettere a disposizione un semplice metodo standardizzato per i test di sensibilità basato sul concetto delle concentrazioni di breakpoint. Un breakpoint è definito come la concentrazione di un antibiotico che inibisce la crescita di organismi sensibili, ma non resistenti. Per la maggior parte degli antimicrobici si utilizzano due concentrazioni: una più bassa, che rappresenta il limite superiore della categoria sensibile, e una più alta, che rappresenta il limite superiore della categoria intermedia.

Interpretazioni dei breakpoint per antimicrobici presenti in concentrazioni in 1 o 2 pozzetti.

Risultato	Interpretazione Un pozzetto	Interpretazione Due pozzetti
Nessuna crescita	Sensibile	-
Crescita	Resistente	-
Nessuna crescita in entrambi i pozzetti	-	Sensibile
Crescita solo alla concentrazione più bassa.	-	Intermedio

Crescita in entrambi i pozzetti	-	Resistente
Crescita solo alla concentrazione più alta.	-	Non valido - ripetere

CONTROLLO QUALITÀ

1. La frequenza dei test di controllo qualità deve essere impostata in conformità alle linee guida standard di laboratorio.
2. La coltura dell'inoculo deve essere eseguita su un terreno adatto per verificare la purezza. I risultati del test non sono validi se si rileva la presenza di una coltura mista.
3. Tutte le piastre Sensititre includono pozzetti di controllo positivo. I test non sono validi se non è presente crescita ben definita in tutti i pozzetti di controllo positivo. Alcuni formati delle piastre contengono anche un pozzetto di "crescita negativa". In alcuni casi questo pozzetto può essere utilizzato per la calibrazione del sistema AutoReader / OptiRead e non è necessario per la lettura manuale.
4. Svariati fattori contribuiscono a ottenere i valori MIC corretti tra cui l'utilizzo di 3-5 colonie da una piastra di agar puro incubata per 16-24 ore, la densità standardizzata dell'inoculo realizzata utilizzando il nostro standard McFarland e il nefelometro, la temperatura e il brodo. In pratica, i valori MIC replicati formano una distribuzione normale nella quale la maggior parte dei risultati cade entro una diluizione rispetto al valore modale.
5. Gli organismi di controllo elencati nelle tabelle di controllo qualità sono consigliati per il monitoraggio della procedura dei test di sensibilità e per la verifica della potenza degli antimicrobici. Fare riferimento alle tabelle di controllo qualità per i risultati previsti del controllo qualità. La procedura di test può essere ritenuta soddisfacente se i risultati di sensibilità ottenuti con gli organismi di controllo rientrano negli intervalli indicati. I risultati **non** devono essere refertati se i risultati QC non rientrano negli intervalli indicati per una combinazione farmaco/organismo.
 6. I seguenti intervalli di controllo qualità organismo/antimicrobico differiscono dagli intervalli consigliati da CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) rispetto a cefotetan, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) rispetto a mezlocillina, *S. aureus* (ATCC® 29213™) rispetto ad ampicillina e penicillina.

Rivolgersi al reparto di assistenza tecnica microbiologica di Thermo Fisher Scientific per ottenere assistenza qualora non sia possibile risolvere le discrepanze di controllo qualità. Fare riferimento alla sezione pertinente riportata in seguito in questa scheda tecnica per ottenere le informazioni di contatto.

LIMITAZIONI

- L'interpretazione corretta dei risultati dei test deve essere affidata a personale clinico qualificato.
- Analogamente a ogni altro metodo di test della sensibilità antimicrobica, i risultati ottenuti con le piastre Sensititre per la determinazione della sensibilità sono risultati *in vitro*.
- I test su organismi esigenti richiedono procedure speciali; tali organismi devono essere sottoposti a test con altri metodi. La piastra MIC Sensititre *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* può essere utilizzata per i test su *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*. Fare riferimento alla nota tecnica Sensititre relativa agli organismi esigenti o alle linee guida CLSI M7 per le opportune modifiche alle procedure di determinazione della sensibilità.
- Gli studi sono stati condotti utilizzando il sistema AutoInoculator / AIM. Nel caso dei

test con minociclina, doxiciclina, telavancin, dalbavancin, oritavancina o tedizolid eseguiti con un sistema di inoculazione alternativo, convalidare le prestazioni del sistema di inoculazione alternativo con test di controllo qualità ed eseguire conteggi delle colonie.

Limitazioni relative a organismi Gram negativi

1. I risultati ottenuti con *C. freundii* e cefotetan hanno evidenziato valori MIC discordanti nel confronto con un metodo di riferimento eseguito durante le ore notturne; pertanto l'agente antimicrobico non deve essere oggetto di refertazione. Se l'agente antimicrobico è cruciale per l'assistenza al paziente, è necessario adottare una procedura alternativa.
2. La riproducibilità intra-laboratorio dei risultati relativi ad amoxicillina/acido clavulanico su Sensititre con una procedura di riferimento è risultata inferiore a 95%. Poiché la MIC dipende dal livello di β -lattamasi prodotto, la variabilità dei risultati MIC può essere ricondotta alla variabilità nella produzione dell'enzima. Anche la riproducibilità intra-laboratorio dei risultati relativi a cefotetan e organismi Gram negativi utilizzando Sensititre e le procedure di riferimento CLSI è risultata inferiore a 95%.
3. Non sono state determinate le prestazioni per le specie di *Proteus* sottoposte a test con piperacillina/tazobactam e cefepima. Non refertare i risultati per gli isolati dei pazienti.
4. Le specie di *Klebsiella* e gli organismi non fermentanti sottoposti a test con piperacillina / tazobactam devono essere oggetto di lettura manuale a causa dell'assenza di dati sulle prestazioni con il sistema Sensititre Autoreader / OptiRead.
5. Il sistema Autoreader / OptiRead non deve essere utilizzato per prevedere la resistenza alla cefpodoxima delle specie di *Serratia* poiché gli studi clinici hanno generato un tasso di errore inaccettabile nella lettura di questa combinazione organismo / antimicrobico.
6. Non esistono "Indicazioni per l'uso" primarie approvate e la significatività clinica del cefdinir è ignota. Per refertare risultati ottenuti nei confronti di gruppi di organismi sia in vitro sia in infezioni cliniche, fare riferimento alle linee guida CLSI M100 e all'etichettatura dei farmaci approvata dalla FDA.
7. Non refertare la resistenza per le seguenti combinazioni antimicrobico/organismo in considerazione dell'assenza di isolati resistenti al momento dei test

Organismo	Agente antimicrobico
Specie di <i>Citrobacter</i>	Piperacillina/tazobactam
Specie di <i>Serratia</i>	Piperacillina/tazobactam
Specie di <i>Proteus</i>	Lomefloxacin e cefpodoxima
Non <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacin

8. La capacità del sistema Sensititre di rivelare la resistenza alla moxifloxacin e alla gatifloxacin non è nota in quanto in occasione dei test comparativi non erano disponibili ceppi resistenti.
9. La tigeciclina presenta attività ridotta *in vitro* nei confronti delle specie di *Morganella*, delle specie di *Proteus* e delle specie di *Providencia*.
10. L'attuale assenza di isolati resistenti alla tigeciclina e alla gemifloxacin preclude la possibilità di definire qualsiasi risultato se non come "sensibile". Gli isolati i cui risultati MIC suggeriscono l'inclusione nella categoria "non sensibile" devono essere inviati a un

laboratorio di riferimento per ulteriori test.

11. La gemifloxacina presenta valori MIC *in vitro* minori o uguali a 0,25 µg/mL nei confronti della maggior parte (≥ 90%) dei ceppi dei seguenti microrganismi: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* e *Proteus vulgaris*. Tuttavia, la sicurezza ed efficacia della gemifloxacina nel trattamento di infezioni cliniche provocate da tali microrganismi non sono state determinate in studi clinici adeguati e ben controllati
12. L'attuale assenza di isolati resistenti al doripenem preclude la possibilità di definire qualsiasi risultato se non come "sensibile". Gli isolati i cui risultati MIC suggeriscono l'inclusione nella categoria "non sensibile" devono essere inviati a un laboratorio di riferimento per ulteriori test.
13. La capacità del sistema Sensititre di rivelare la resistenza delle specie di *Acinetobacter* alla minociclina non è nota in quanto in occasione dei test comparativi non erano disponibili ceppi resistenti.
14. Gli studi sono stati condotti utilizzando il sistema AutoInoculator / AIM. L'uso di un sistema di inoculazione alternativo per i test della ceftarolina non è stato valutato.
15. La capacità del sistema Sensititre di rivelare la resistenza di *Citrobacter koseri* alla ceftarolina non è nota in quanto in occasione dei test comparativi non erano disponibili ceppi resistenti.
16. La ceftarolina non è attiva nei confronti dei batteri Gram negativi che producono beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) appartenenti alle famiglie TEM, SHV o CTX-M, serina-carbapenemasi (ad esempio KPC), metallo-beta-lattamasi di classe B o cefalosporine di classe C (AmpC).
17. Le prestazioni della ceftarolina con *Moraxella catarrhalis* non sono state determinate. Non refertare i risultati per gli isolati dei pazienti.

Limitazioni relative a organismi Gram positivi

1. Il sistema Autoreader / OptiRead può essere utilizzato per la lettura di stafilococchi coagulasi-negativi ed enterococchi, purché l'etichetta del pannello riporti la dicitura 'For reading gram positives isolates' (Per la lettura di isolati gram positivi) e i pozzetti contengano substrati fluorogenici.
2. Il sistema Autoreader / OptiRead non deve essere utilizzato per la lettura della nitrofurantoina con specie di enterococco. La lettura della nitrofurantoina deve essere eseguita manualmente. Eseguire un test nitrocefina β-lattamasi per rivelare ceppi di enterococchi produttori β-lattamasi.
3. Le piastre Sensititre per la determinazione della sensibilità sono configurate per il rispetto delle raccomandazioni CLSI per la rilevazione di stafilococchi resistenti alla meticillina. Un supplemento salino al due per cento è pertanto incluso con l'oxacillina. L'inoculo deve essere preparato direttamente da una piastra di agar incubata durante le ore notturne e non da una brodocoltura fresca. Tenere presente che la maggior parte degli stafilococchi etero-resistenti in genere è resistente a più antimicrobici inclusi β-lattamici, amminoglicosidi, macrolidi, clindamicina, cloramfenicolo e tetraciclina; questa proprietà deve essere sfruttata come indizio per rilevare la resistenza crociata tra le penicilline resistenti alla penicillinasi.
4. Gli stafilococchi sottoposti a test contro la penicillina G devono essere testati anche per la produzione di β-lattamasi, in particolare nel caso dei ceppi che presentano valori MIC borderline (da 0,06 a 0,25 µg/mL). Se tali ceppi risultano β-lattamasi positivi, è necessario ripetere il test per assicurarsi di refertare la resistenza.
5. Una scarsa crescita di ceppi non enterococcici di streptococchi in brodo Mueller-Hinton può generare risultati inaffidabili con gli amminoglicosidi.
6. I risultati ottenuti con la claritromicina per gli stafilococchi coagulasi negativi sensibili all'oxacillina hanno evidenziato valori MIC discordanti nel confronto con un metodo di riferimento eseguito durante le ore notturne. Se l'agente antimicrobico è cruciale per l'assistenza al paziente, è necessario adottare una procedura alternativa oppure non

- refertare l'agente antimicrobico.
7. Il cefdinir presenta attività dimostrata nei confronti della maggior parte dei ceppi di *S. aureus* sensibili alla meticillina (MSSA) e di *Streptococcus pyogenes* in infezioni cliniche. La correlazione *in vitro* è stata determinata per *S. epidermidis* (MSSE) e *Streptococcus agalactiae*. Tale attività non è stata determinata per alcun altro organismo idoneo per la piastra per Gram positivi.
 8. Il sistema Autoreader / OptiRead non deve essere utilizzato per la lettura di trimetoprim/sulfametossazolo (SXT) con CNS (stafilococchi coagulasi-negativi). La lettura SXT deve essere eseguita manualmente.
 9. La significatività clinica del cefdinir è ignota e non esistono "Indicazioni per l'uso" primarie approvate. Per refertare risultati ottenuti nei confronti di gruppi di organismi sia *in vitro* sia in infezioni cliniche, fare riferimento alle linee guida CLSI M100.
 10. L'attuale assenza di isolati resistenti alla tigeciclina e alla gemifloxacina preclude la possibilità di definire qualsiasi risultato se non come "sensibile". Gli isolati i cui risultati MIC suggeriscono l'inclusione nella categoria "non sensibile" devono essere inviati a un laboratorio di riferimento per ulteriori test.
 11. Non refertare la resistenza per le seguenti combinazioni organismo/antimicrobico in considerazione dell'assenza di isolati resistenti al momento dei test

Organismo	Agente antimicrobico
Gram positivo	Linezolid, moxifloxacina, gatifloxacina, tigeciclina, gemifloxacina
Specie di stafilococco	Ampicillina/sulbactam
Specie di enterococco	Amoxicillina/acido clavulanico
Specie di enterococco	Daptomicina
Specie di stafilococco	
Specie di streptococco	

La capacità del sistema Sensititre di rivelare la resistenza o la non sensibilità agli antimicrobici indicati di seguito non è nota in quanto in occasione dei test comparativi era disponibile un numero insufficiente di ceppi resistenti o non sensibili. Qualora si osservi uno di tali ceppi, il ceppo deve essere inviato a un laboratorio di riferimento per ulteriori test.

Organismo	Agente antimicrobico
Gram positivo	Moxifloxacina, gatifloxacina,
<i>Staphylococcus aureus</i> (solo isolati sensibili a meticillina ed eritromicina)	Telitromicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxiciclina

Specie di streptococco	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxiciclina
<i>Staphylococcus aureus</i> (sia isolati meticillino-resistenti sia sensibili)	Dalbavancin, oritavancina, Telavancin
<i>Enterococcus faecalis</i> (solo sensibili alla vancomicina (VSE))	
<i>Staphylococcus aureus</i> (isolati meticillino-resistenti e sensibili) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Le piastre Sensititre 18-24 ore MIC per la determinazione della sensibilità consentono di rilevare la resistenza alla vancomicina nei ceppi di *S. aureus* VRSA disponibili in occasione dei test comparativi. La capacità delle piastre Sensititre 18-24 ore MIC per la determinazione della sensibilità di rilevare la resistenza alla vancomicina in altri ceppi di *S. aureus* non è nota a causa del numero limitato di ceppi resistenti disponibili per i test comparativi.
13. La gemifloxacina presenta valori MIC *in vitro* minori o uguali a 0,25 µg/mL nei confronti della maggior parte (≥ 90%) dei ceppi dei seguenti microrganismi: *Staphylococcus aureus* (solo ceppi sensibili alla meticillina) e *Streptococcus pyogenes*. Tuttavia, la sicurezza ed efficacia della gemifloxacina nel trattamento di infezioni cliniche provocate da tali microrganismi non sono state determinate in studi clinici adeguati e ben controllati.
14. Utilizzare un metodo di test alternativo con sangue lisato di cavallo per il test su *S. pyogenes* se nel pozzetto di controllo di crescita positivo si osserva crescita scarsa o nulla.
15. La capacità del sistema Sensititre di rivelare la resistenza di *S. aureus* alla minociclina non è nota in quanto in occasione dei test comparativi non erano disponibili ceppi resistenti.
16. Utilizzare la piastra Sensititre per organismi esigenti come metodo di test con sangue lisato di cavallo per il test su specie di streptococco se nel pozzetto di controllo di crescita positivo della piastra Sensititre per organismi non esigenti si osserva crescita scarsa o nulla.
17. Gli studi sono stati condotti utilizzando il sistema AutoInoculator / AIM. Nel caso dei test con telavancin o minociclina eseguiti con un sistema di inoculazione alternativo, convalidare le prestazioni del sistema di inoculazione alternativo con test di controllo qualità ed eseguire la conta vitale.
18. Gli studi sono stati condotti utilizzando il sistema AutoInoculator / AIM. Nel caso dei test con ceftarolina eseguiti con un sistema di inoculazione alternativo, convalidare le prestazioni del sistema di inoculazione alternativo con test di controllo qualità ed eseguire la conta delle colonie.
19. Le prestazioni dell'oritavancina con *S. aureus* ed *E. faecalis* sono state determinate con l'inoculatore automatico AIM. L'uso di un sistema di inoculazione alternativo per i test dell'oritavancina non è stato valutato.
20. A causa dell'assenza di interpretazioni intermedie e resistenti per l'oritavancina, il tasso di errore potenziale è estremamente elevato. Per 3 dei 9 isolati non sensibili sono stati

riscontrati valori MIC una diluizione al raddoppio più bassi del riferimento. Utilizzare un metodo di test alternativo prima di refertare i risultati per *S. aureus* ed *E. faecalis* con l'oritavancina quando la MIC Sensititre è pari a 0,12 µg/mL (breakpoint) se l'uso di questo agente è cruciale per l'assistenza al paziente.

PRESTAZIONI

APPENDICE 1: procedura di conteggio delle colonie

Entrambi i metodi descritti di seguito possono essere utilizzati per determinare la conta vitale.

Metodo diretto

1. Subito dopo l'inoculazione di una piastra, utilizzando un'ansa da 1 µL, prelevare un campione dal pozzetto di controllo di crescita positivo e inoculare su agar sangue.
2. Utilizzando un'altra ansa (1 µL), prelevare un campione dallo stesso pozzetto di crescita e miscelare con 50 µL di acqua deionizzata sterile. Inoculare 1 µL di questa soluzione diluita su una piastra di agar sangue per ottenere colonie conteggiabili.
3. Incubare entrambe le piastre a 34-36° C durante le ore notturne in condizioni adeguate.
4. Effettuare la lettura come segue:

Diluizione prevista dell'inoculo	Conteggio colonie	Numero di colonie			
		Piastra 0,001	0,001 di	1/50	
1 x 10 ⁴	5 x 10 ³ - 5 x 10 ⁴	5-50		0	
1 x 10 ⁵	5 x 10 ⁴ - 5 x 10 ⁵	50 - 500		1 - 10	
5 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵ - 2,5 x 10 ⁶	250 - 2500		5 - 50	

Metodo indiretto

1. A. Per un inoculo di 1x10⁵ cfu/mL

Utilizzando un puntale per pipetta sterile, trasferire 100 µL di brodocoltura in una provetta contenente 10 mL di brodo fresco ed apporre alla provetta l'etichetta A.

B. Per un inoculo di 5x10⁵ cfu/mL

Utilizzando un puntale per pipetta sterile, trasferire 10 µL di brodocoltura in una provetta contenente 10 mL di brodo fresco ed apporre alla provetta l'etichetta A.

2. Utilizzando un puntale per pipetta sterile, trasferire 100 µL dalla provetta A alla superficie di un'adeguata piastra di sangue etichettata e datata.
3. Utilizzando un'ansa di inoculazione sterile, spargere i 100 µL di coltura sull'intera superficie della piastra.
4. Incubare la piastra a 34-36° C per 18-24 ore.
5. Contare le colonie sulla piastra e moltiplicare per 10³ (1x10⁵ cfu/mL) o per 10⁴ (5x10⁵ cfu/mL)

cfu/mL) per ottenere la conta vitale della sospensione originale.

Per un inoculo di 1×10^5 cfu/mL	Per un inoculo di 5×10^5 cfu/mL
Intervallo conta vitale = 5×10^4 - 5×10^5 cfu/mL	Intervallo conta vitale = $2,5 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^6$ cfu/mL

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

DECLINAZIONE DI RESPONSABILITÀ

Le informazioni fornite nella presente scheda tecnica sono aggiornate alla data di stampa e possono essere soggette a variazioni senza preavviso.

È possibile ottenere le informazioni più aggiornate scaricandole all'indirizzo www.TREKDS.com/techinfo oppure contattando il reparto di assistenza tecnica microbiologica di Thermo Fisher Scientific .



Produttore legale:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Regno Unito
Tel: +44-1342-318777



L'emblema ATCC Licensed Derivative®, il marchio denominativo ATCC Licensed Derivative® e i marchi del catalogo ATCC sono marchi di fabbrica di ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. è autorizzata a utilizzare questi marchi e a vendere prodotti derivati dalle colture di ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati. ATCC è un marchio di ATCC. Tutti gli altri marchi sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific Inc. e delle sue consociate.

Indirizzi e-mail dell'assistenza tecnica

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgio	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Repubblica Ceca	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danimarca	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francia	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germania	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italia	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Paesi Bassi	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvegia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spagna	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Svezia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Assistenza tecnica Regno Unito	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Gebrauchsanweisung

Sensititre™ Platten von Thermo Scientific™ für
Empfindlichkeitstests von nicht anspruchsvollen
gramnegativen und grampositiven Isolaten

039-NFAST ROW Only -CID9494
Überarbeitungsdatum: 13. Dezember 2018

SensititrePlatten für Empfindlichkeitstests von nicht anspruchsvollen gramnegativen und grampositiven Isolaten

Sensititre 18-24Stunden

Nur für die *In-vitro*-Diagnostik

Vollständige Informationen zu den Platten, einschließlich des Plattenlayouts, Angaben zur QK, Auswertungskriterien, Leistungsdaten und Literaturangaben siehe www.trekds.com/techinfo. Halten Sie den Plattencode und die Chargennummer der Platte bereit.

ANWENDUNGSBEREICH

Das Sensititre System zur Bestimmung von MHK und Grenzwerten in Bezug auf die Antibiotikaempfindlichkeit ist ein Produkt für die *In-vitro*-Diagnostik zur Durchführung von Tests zur Überprüfung der klinischen Empfindlichkeit nicht anspruchsvoller gramnegativer Isolate aus *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und anderer, nicht den *Enterobacteriaceae* zugehöriger Isolate sowie nicht anspruchsvoller grampositiver Isolate aus *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. und betahämolytischer *Streptokokken* außer *S. pneumoniae*. Die Sensititre Platte für ESBL-Bestätigungstests ist ein *In-vitro*-Diagnostikum zum Nachweis von ESBL-Organismen in klinischen Isolaten von *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* und *Escherichia coli*. MHK- und ESBL-Platten können manuell oder automatisch mit Sensititre Autoreader, OptiRead und/oder ARIS gelesen werden. Die von Thermo Scientific hergestellte Produkten wurde nur mit Sensititre Nährlösung validiert.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP DER ANWENDUNG

Jede Platte enthält Antibiotika in entsprechenden Verdünnungen. Die Ergebnisse können manuell durch visuelles Ablesen des Kolonienwachstums oder automatisch anhand von Fluoreszenz mit ARIS/OptiRead/Autoreader bestimmt werden.

Die Sensititre Autoreader/OptiRead Systeme arbeiten auf der Basis der Fluoreszenztechnologie. Bei dieser Technologie wird Bakterienwachstum durch Überprüfung der Aktivität spezieller Oberflächenenzyme, die vom Testorganismus gebildet werden, nachgewiesen. Das Wachstum wird durch Erzeugung eines fluoreszierenden Produkts (Fluorophors) aus einem nicht-fluoreszierenden (fluorogenen) Substrat bestimmt. Zur Herstellung des nicht-fluoreszierenden Substrats wird ein Fluorophor an ein spezifisches Enzymsubstrat gebunden, sodass die Fluoreszenz verschwindet. Man sagt, dass der Fluorophor „gelöscht“ wurde (das so genannte „Quenching“). Die bakteriellen Oberflächenenzyme spalten die Bindung des spezifischen Substrats und setzen den Fluorophor frei, sodass er wieder Fluoreszenz abgeben kann. Die gemessene Fluoreszenzmenge ist direkt proportional zur Aktivität der bakteriellen Oberflächenenzyme und damit auch zum Wachstum der Bakterien.

Es können nur solche Platten automatisch gelesen werden, deren Formatbezeichnung das Suffix F aufweist.

VORSICHTSHINWEISE

Die Ergebnisse von Sensititre Produkten mit CE-IVD-Kennzeichnung bzw. FDA-Zulassung dürfen nur im Zusammenhang mit Lesegeräten berichtet werden, die von Sensititre unterstützt werden (d. h. ein einfacher manueller Viewer, Sensitouch, Vizion, Sensititre

Autoreader, OptiRead und ARIS). Andere Systeme werden nicht unterstützt. Die Ergebnisse sollten die Wahl des geeigneten Arzneimittels für die Behandlung lediglich stützen. Dieses Produkt ist ein In-vitro-Diagnostikum und darf nur von ordnungsgemäß geschulten Personen verwendet werden. Gegen die mikrobiologischen Gefahren sollten angemessene Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, insbesondere die ordnungsgemäße Sterilisation von Proben, Behältern, Medien und Testplatten nach dem Test. Die Anweisungen müssen gelesen und genau befolgt werden.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Sensititre Platten für Empfindlichkeitstests sind in der Originalverpackung bei 15 bis 25°C und vor direktem Sonnenlicht und Wärme geschützt aufzubewahren. Jede Platte ist zusammen mit einem Trockenmittel folienverpackt. Nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums, bei Beschädigung des Folienbeutels oder bei Verfärbung des Trockenmittels (nicht orangefarben) dürfen die Platten nicht mehr verwendet werden. Nach Entnahme aus dem Beutel sollte die Beimpfung der Platten innerhalb der nächsten 5 Stunden erfolgen.

GEWINNUNG UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Die Proben müssen gesammelt und gemäß den empfohlenen Richtlinien behandelt werden.

Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

- 10 Sensititre™ Platten mit Substrat in den Wells
- 10 Perforierte, selbstklebende Abdeckfolie

Nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien [mit Artikel- Nr.]:

Nährmedium:

- Sensititre™ entmineralisiertes Wasser [T3339]
- Sensititre™ kationenadjustierte Müller-Hinton-Boullion mit TES (CAMHBT) [T3462]

Trübung:

- Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- 0,5-McFarland-Polymer- Trübungsstandard [E1041]

Plattenbeimpfung:

- Dosierköpfe für Sensititre AIM für die Plattenbeimpfung [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / Sensititre Autoinoculator*

Plattenablesung:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] oder ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Sensititre Manual Viewbox [V4007]

Andere Materialien:

- Steriles Inokulumreservoir
- Qualitätskontrollstämme (siehe Tabelle 1)
- Inkubator 34 bis 36 °C
- Vortexmischer
- Aktuelle CLSI-, EUCAST- oder lokale Leitliniendokumente

**Wird nicht mehr unterstützt noch verkauft*

WAHL DER NÄHRLÖSUNG FÜR EMPFINDLICHKEITSTESTS

Die Sensititre Platten für Empfindlichkeitstests wurden mit Thermo Scientific Sensititre Nährmedien validiert.

VORGEHENSWEISE ZUR BEIMPFUNG VON SENSITITRE PLATTEN

Alle Nährmedien vor der Verwendung auf Raumtemperatur bringen.

Standardinokulum

Bei jeder Platte: 3 bis 5 Kolonien nicht-anspruchsvoller Isolate von einer Agarplatte mit einer frischen Primärkultur aufnehmen, in sterilem Wasser emulgieren und auf einen Trübungsgrad entsprechend 0,5-McFarland-Standard einstellen. Gut mischen.

10 µl der McFarland-Suspension in ein 11-ml-Röhrchen mit kationenadjustierter Müller-Hinton-Bouillon mit TES-Puffer überführen. Mit Schritt 2 fortfahren.

Methode mit erhöhter Inokulummenge

Je nachdem, welcher Stamm getestet wird, kann eine Volumenerhöhung auf 30 µl den Nachweis von Resistenzmechanismen verbessern.

Sowohl bei grampositiven als auch bei gramnegativen Isolaten ergibt die Überführung eines Suspensionsvolumens von 30 µl in ein 11-ml-Röhrchen mit Sensititre Müller-Hinton-Bouillon Koloniezahlen im zugelassenen Sensititre Bereich von $5,0 \times 10^4$ und $5,0 \times 10^5$ KBE/ml. Mit Schritt 2 fortfahren.

Proteus, Providencia und Morganella

Bei *Proteae*-Stämmen (einschließlich *Proteus*-Arten, *Providencia*-Arten und *Morganella morganii*) 1 µl in das Nährmedium überführen.

2. 50 µl der Nährmediumsuspension innerhalb von 30 Minuten in die Platte überführen. Dazu gibt es folgende Möglichkeiten:

1. **Sensititre Autoinoculator / AIM.** Den Röhrchendeckel abnehmen und durch einen Sensititre Dosierkopf für den Einmalgebrauch ersetzen. Die Platte der Gebrauchsanweisung für den Autoinoculator/AIM entsprechend beimpfen. Das Teströhrchen mit aufgesetztem Dosierkopf innerhalb von 30 Sekunden nach Beimpfung einer Platte aus dem Autoinoculator/AIM nehmen.
2. **Manuelles Pipettieren.** Das Nährmedium in eine sterile Platte geben und die Platte mit einer geeigneten Pipette beimpfen.
3. Nach der Beimpfung der Platte eine Reinheitskontrolle aller abschließenden Inokulate durchführen.
4. Die Koloniezahl im Well der Positivkontrolle sollte regelmäßig überprüft werden (siehe Anhang 1). Die Isolate sollten ein Inokulum von 1×10^5 KBE/ml (Bereich: $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$) ergeben. Eine Ausnahme sind Isolate des Stamms *Proteae*, die bei 1×10^4 KBE/ml (Bereich: $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$) liegen sollten.
5. Alle Wells jeder Platte mit der beiliegenden selbstklebenden Folie abdecken. Falten können ein Überspringen verursachen und müssen daher vermieden werden.
6. Nach Entnahme aus dem Beutel sollte die Beimpfung der Platten innerhalb der nächsten 5 Stunden erfolgen.

INKUBATION

Alle nicht-anspruchsvollen aeroben Organismen sollten 18 bis 24 Stunden lang bei 34-36 °C entweder im ARIS oder in einem Inkubator ohne CO₂ bebrütet werden.

- Zur Sicherstellung des Nachweises vancomycinresistenter *Enterococci* und oxacillinresistenter *Staphylococci* 24 Stunden lang inkubieren.
- *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* und *Stenotrophomonas maltophilia* sollten 20 bis 24 Stunden lang bebrütet werden.

Versiegelte Platten können in 3er-Stapeln in den Inkubator gestellt werden, wenn kein ARIS verwendet wird.

Zusammenfassung der Vorbereitungs- und Inkubationsschritte

Organismengruppe	McFarland-Suspensionsmedium	Zu verwendendes abschließendes Inokulum* (KBE/ml)	Inokulumüberführung	Nährmedium	Plattenrekonstitution	Inkubationsbedingungen	Inkubationsstunden
Nichtanspruchsvoll gramnegativ	Wasser	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O2	18-24
Nichtanspruchsvoll grampositiv	Wasser	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O2	18-24
Erhöhtes Inokulumvolumen für gramnegative und grampositive Organismen**	Wasser	3×10^5	30 µl	MHB	50 µl	35 °C O2	18-24
Stamm <i>Proteae</i>	Wasser	1×10^4	1 µl	MHB	50 µl	35 °C O2	18-24

* Inokulumbereiche siehe Anhang 1

** Je nachdem, welcher Stamm getestet wird, kann eine Volumenerhöhung auf 30 µl den Nachweis von Resistenzmechanismen verbessern.

AUSLESEN DER TESTERGEBNISSE

Die Platten zur Reinheitskontrolle überprüfen. Die Ergebnisse sind ungültig, wenn eine Mischkultur vorhanden ist.

1. Automatisch

Die Platten können auf dem AutoReader/OptiRead oder dem ARIS nach den Anweisungen im jeweiligen Benutzerhandbuch oder unter Verwendung der SWIN HELP-Dateien gelesen werden.

Sensititre Platten, die nur für den manuellen Reader, Sensitouch oder Vizion bestimmt sind, können nicht auf dem AutoReader/OptiRead oder ARIS gelesen werden.

2. Manuell

Nach der Inkubation können die Ergebnisse mithilfe des manuellen Sensititre Viewers oder dem Vizion gelesen werden. Siehe entsprechende Benutzerhandbücher. Es ist nicht erforderlich, die Klebefolie zu entfernen. Wachstum ist als Trübung oder als Zellablagerung

am Boden eines Wells zu erkennen. Die MHK wird als niedrigste Konzentration des Antibiotikums gemessen, die das sichtbare Wachstum hemmt. Scheinbar schwaches Keimwachstum im Vizion lässt sich ggf. durch Anpassung der Beleuchtung verbessern. Die Wells mit der Positivkontrolle sollten zuerst gelesen werden. Wenn nirgends ein Keimwachstum vorhanden ist, sind die Ergebnisse ungültig.

Es sind die folgenden Punkte zu beachten:

a. Abschwächung der Endpunkte

Die meisten Kombinationen aus Organismen/Antibiotika haben konkrete Endpunkte. Bei manchen Kombinationen kann ein sukzessiv nachlassendes Keimwachstum über 2 bis 3 Wells vorliegen. Als Endpunkt ist daher das erste Well zu betrachten, in dem das Wachstum sichtbar gehemmt ist. Eine Ausnahme stellen Sulfonamide und Linezolid dar, bei denen die MHK einer 80- bis 90-prozentigen Verringerung des Wachstums im Vergleich zum Well der Positivkontrolle entspricht.

b. Kontamination

Bei einer Kontamination kann Keimwachstum in einem Well vorliegen, während in den angrenzenden Wells kein Keimwachstum stattfindet. Eine solche Kontamination eines Einzelwells ist unerheblich; wenn jedoch Kontaminanten in mehreren Wells vermutet werden, sollte der Test wiederholt werden.

c. Übersprungene Wells

Gelegentlich werden Wells „übersprungen“, d. h. ein Well ohne Keimwachstum ist von Wells mit Keimwachstum umgeben. Dies kann auf Ursachen wie Kontamination, Mutation, Falten in der Klebefolie und uneinheitliche Dosierung zurückzuführen sein. Wenn lediglich ein Well übersprungen wurde, ist dies unerheblich. Um eine wirksame Antibiose sicherzustellen, darf die MHK NIEMALS anhand des übersprungenen Wells bestimmt werden. Stattdessen ist stets die niedrigste Konzentration abzulesen, ab der einheitlich kein Wachstum stattfindet.

d. Mischkulturen

Wenn zwei Endpunkte als abgegrenzte knopfartig gebildete Zellkolonien sichtbar sind und in mehreren anschließenden Wells diffuses Wachstum ohne Zellkolonien (ohne Knopf) vorliegt (oder mit kleineren Zellkolonien), liegt unter Umständen eine gemischte Bakterienpopulation vor. Eine Ausnahme hierzu stellt der in (a) vorstehend beschriebene Sachverhalt dar. Die Reinheit sollte durch Anlegen von Subkulturen der Kolonien auf geeignetem Agar überprüft werden. Wenn eine Mischkultur vorhanden ist, sind die Testergebnisse ungültig.

3. Weitere Informationen

MHK-Ergebnisse zur ESBL- Bestätigung

Zur Bestätigung von ESBLs wird die MHK eines Antibiotikums in Gegenwart und in Abwesenheit von Clavulansäure ermittelt. ESBLs liegen vor, wenn die MHK mit Clavulansäure $\geq 3 \times$ doppelt so niedrig ist wie die MHK ohne Clavulansäure. Beispiel: MHK Ceftazidim = 8 µg/ml, MHK Ceftazidim/Clavulansäure = 1 µg/ml. Weitere Details siehe CLSI M7.

Cefoxitin-Screen

Der „Cefoxitin-Screen (6 µg/ml)“ kann verwendet werden, um das Vorliegen einer mecA-

vermittelten Resistenz bei *Staphylococcus aureus* zu prognostizieren. Isolate, bei denen die Cefoxitin-MHK > 6 beträgt (positives Wachstum), sind als oxacillinresistent anzugeben. Solche mit Cefoxitin-MHKs ≤ 6 (kein Wachstum) sind als oxacillinempfindlich anzugeben.

D-Test

Der D-Test (Mikrobouillondilutionstest) ist für *Staphylococcus* spp. mit Resistenz gegen (MHKs ≥ 8 µg/ml) Erythromycin und Empfindlichkeit bzw. intermediärer Empfindlichkeit (MHK ≤ 2 µg/ml) gegen Clindamycin vorgesehen. Wenn bei diesen Isolaten ein D-Test 1 (4/0,5 µg/ml) oder ein D-Test 2 (8/1,5 µg/ml) oder 1 und 2 positiv sind (Wachstum), dann sollte als Testergebnis induzierbare Clindamycin-Resistenz angegeben werden. Wenn bei diesen Isolaten weder beim D-Test 1 noch beim D-Test 2 Kolonienwachstum stattfindet, sollte als Testergebnis angegeben werden, dass diese Isolate in Bezug auf induzierbare Resistenz negativ sind. Bei Erythromycin-Resistenz, Clindamycin-Empfindlichkeit und negativem D-Test nach 18-stündiger Inkubation sollte noch einmal 24 Stunden bebrütet und das Ergebnis anschließend erneut abgelesen werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Bei der Auswertung der Ergebnisse richten Sie sich nach den Leitlinien von CLSI bzw. EUCAST oder lokalen Leitlinien zur MHK-Interpretation.

Die Platte enthält möglicherweise Antibiotika, die sich bei der Behandlung von Infektionen durch die getesteten Organismen nicht einheitlich als wirksam erwiesen haben. Zur Interpretation und Weitergabe der Ergebnisse für Antibiotika, die sich sowohl *in vitro* als auch bei klinischen Infektionen als wirksam gegen Keimgruppen erwiesen haben, ist die Packungsbeilage des jeweiligen pharmazeutischen Antibiotikums zu beachten.

Beim automatischen Lesen von Ergebnissen wendet die Software Interpretationskriterien auf Basis der CLSI- bzw. EUCAST- bzw. FDA-Richtlinien an, je nach Konfiguration der Software.

Zur Erstellung von Berichten über die Ergebnisse der ESBL-Bestätigungstests mit Antibiotika siehe CLSI M100: „Screening and Confirmatory Tests for ESBL's in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*“ hinsichtlich der korrekten Ergebnisinterpretation.

Grenzwert-Ergebnisse

Zur Grenzwertbestimmung wird eine Nährbouillonverdünnung zur Überprüfung der qualitativen Empfindlichkeit angewendet. Das Sensititre System zur Grenzwertbestimmung wurde als einfache standardisierte Methode zur Empfindlichkeitstestung auf der Grundlage des Konzeptes von Grenzwert (Breakpoint)-Konzentrationen entwickelt. Ein Grenzwert ist definiert als die Konzentration eines Antibiotikums, bei der das Wachstum empfindlicher, aber nicht resistenter, Organismen gehemmt wird. Bei den meisten Antibiotika werden zwei Konzentrationen verwendet: eine niedrigere Konzentration, die dem oberen Grenzwert der Kategorie „Empfindlich“ entspricht, und eine höhere Konzentration, die dem oberen Grenzwert der Kategorie „Intermediär“ entspricht.

Interpretationen des Grenzwerts von Antibiotika in 1 oder 2 Well-Konzentrationen.

Ergebnis	Interpretation 1 Well	Interpretation 2 Well
Kein Wachstum	Empfindlich	-
Wachstum	Resistent	-
Kein Wachstum in beiden Wells	-	Empfindlich
Wachstum nur bei der niedrigen Konzentration.	-	Intermediär
Wachstum in beiden Wells	-	Resistent
Wachstum nur bei der höheren Konzentration.	-	Ungültig - Wiederholen

QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Häufigkeit der Durchführung von Qualitätskontrollen sollte den üblichen Richtlinien im Labor entsprechend festgesetzt werden.
2. Zur Überprüfung der Reinheit sollte eine Kultur des Inokulums auf einem geeigneten Medium angelegt werden. Wenn eine Mischkultur vorhanden ist, sind die Testergebnisse ungültig.
3. Alle Sensititre Platten enthalten Wells zur Positivkontrolle. Die Tests sind nur dann gültig, wenn in allen Positivkontroll-Wells deutliches Wachstum beobachtet wird. Manche Plattenformate enthalten auch ein Well zur Negativkontrolle. Dieses Well kann mitunter zur Kalibrierung des AutoReader/Optiread verwendet werden, wird aber zum manuellen Ablesen nicht benötigt.
4. Es tragen mehrere Faktoren dazu bei, um die korrekten MHKs zu erhalten. Beispielsweise werden 3 bis 5 Kolonien auf einer 16 bis 24 Stunden lang bebrüteten Agarplatte mit Reinkulturen benötigt und die Dichte des Inokulums (mit McFarland-Standard und Nephelometer), Temperatur und Nährmedium sollten standardisiert sein. In der Praxis weisen MHKs bei Mehrfachbestimmungen eine Normalverteilung auf, wobei die meisten Ergebnisse plus/minus eine Verdünnung um den Modalwert liegen.
5. Zur Überprüfung der Vorgehensweise bei der Durchführung des Empfindlichkeitstests und der Wirkstärke der Antibiotika sollten die in den Qualitätskontroll-Tabellen gelisteten Kontrollorganismen verwendet werden. Zu erwartende Qualitätskontrollergebnisse sind den Qualitätskontroll-Tabellen zu entnehmen. Die Testdurchführung ist als zufriedenstellend zu betrachten, wenn die mit den Kontrollorganismen erhaltenen Empfindlichkeitsergebnisse innerhalb der angegebenen Wertebereiche liegen. Die Ergebnisse sollten **nicht** gemeldet werden, wenn die QK-Ergebnisse außerhalb der für eine Wirkstoff/Keim-Kombination angegebenen Bereiche liegen.
6. Die Qualitätskontrollbereiche der folgenden Organismen/Antibiotika unterscheiden sich von den vom CLSI empfohlenen Bereichen: *E. coli* (ATCC® 25922™) versus Cefotetan, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) versus Mezlocillin, *S. aureus* (ATCC® 29213™) versus Ampicillin und Penicillin.

Wenn sich Diskrepanzen in Bezug auf die Qualitätskontrollen nicht beheben lassen, den technischen Kundendienst von Thermo Fisher Scientific Microbiology kontaktieren. Die Kontaktinformationen finden Sie weiter unten.

BESCHRÄNKUNGEN

- Die Testergebnisse sollten von geschultem klinischem Personal ausgewertet werden.
- Wie alle anderen Methoden zur Testung der Antibiotikaempfindlichkeit liefern auch die Sensititre Empfindlichkeitsplatten *In-vitro*-Ergebnisse.
- Die Testung anspruchsvoller Organismen erfordert spezielle Verfahren und spezielle Methoden. Die Sensititre MHK-Platte für *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* kann zur Testung von *Haemophilus influenzae* und *Streptococcus pneumoniae* verwendet werden. Hinsichtlich der erforderlichen Modifikationen der Vorgehensweise zur Bestimmung von Empfindlichkeiten anspruchsvoller Organismen mit Sensititre die entsprechende technische Beilage oder CLSI M7 beachten.
- Es wurden Studien mit dem AutoInoculator / AIM durchgeführt. Wenn Minocyclin, Doxycyclin, Telavancin, Dalbavancin, Oritavancin oder Tedizolid mit einem anderen Inokulationssystem getestet werden, sollte die Leistung dieses anderen Inokulationssystems durch Qualitätskontrollen validiert und die Koloniezahl bestimmt werden.

Beschränkungen bei gramnegativen Bakterien

1. Bei *C. freundii* und Cefotetan stimmen die Ergebnisse der MHK-Platte und einer Übernacht-Referenzmethode nicht überein und dürfen daher nicht berichtet werden. Wenn das Antibiotikum für die Versorgung eines Patienten entscheidend ist, sollte ein anderes Verfahren herangezogen werden.
2. Die Reproduzierbarkeit im Labor der Ergebnisse für Amoxicillin/Clavulansäure mit dem Sensititre System und einem Referenzverfahren lag unter 95 %. Da die MHK von der gebildeten β -Laktamasemenge abhängig ist, ist die Variabilität der MHK-Ergebnisse möglicherweise auf Schwankungen der Enzymproduktion zurückzuführen. Auch die Reproduzierbarkeit im Labor der Ergebnisse für Cefotetan und gramnegative Organismen mit dem Sensititre System und CLSI-Referenzverfahren lag bei unter 95 %.
3. Die Leistung in Bezug auf *Proteus* spp. bei Testung mit Piperacillin/Tazobactam und Cefepim wurde nicht ermittelt. Diesbezügliche Ergebnisse für Patientenisolat sollten nicht berichtet werden.
4. *Klebsiella* spp. und nicht-fermentierende Organismen, die mit Piperacillin/Tazobactam getestet werden, sollten aufgrund fehlender Leistungsdaten auf dem Sensititre Autoreader/OptiRead-System manuell gelesen werden.
5. Das Autoreader/OptiRead-System sollte nicht verwendet werden, um eine Resistenz gegen Cefpodoxim bei *Serratia* spp. vorherzusagen, da klinische Prüfungen eine inakzeptable Fehlerquote beim Lesen dieser Organismus/Antibiotikum-Kombination ergaben.
6. Es gibt keine zugelassenen primären „Anwendungsgebiete“, und die klinische Signifikanz von Cefdinir ist nicht bekannt. Zur Weitergabe von Ergebnissen in Bezug auf eine Keimgruppe in vitro und bei klinischen Infektionen sind die Angaben in CLSI M100 und die von der FDA zugelassenen Arzneimittelkennzeichnung zu beachten.
7. Eine Resistenz bei folgenden Organismus/Antibiotikum-Kombinationen sollte aufgrund eines Mangels an resistenten Isolat zum Zeitpunkt der Testdurchführung nicht berichtet werden.

Organismus	Antibiotikum
<i>Citrobacter</i> -Arten	Piperacillin/Tazobactam
<i>Serratia</i> -Arten	Piperacillin/Tazobactam
<i>Proteus</i> -Arten	Lomefloxacin und Cefpodoxim
Nicht- <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacin

8. Die Fähigkeit des Sensititre Systems zur Erkennung von Resistenz gegen Moxifloxacin und Gatifloxacin ist nicht bekannt, weil zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung keine resistenten Stämme verfügbar waren.
9. Tigecyclin hat reduzierte *In-vitro*-Aktivität gegen *Morganella* spp., *Proteus* spp und *Providencia* spp.
10. Da Isolate mit Resistenz gegen Tigecyclin und Gemifloxacin derzeit nicht verfügbar sind, sind nur Ergebnisse der Kategorie „empfindlich“ möglich. Isolate mit MHK-Ergebnissen, die in die Kategorie „nicht empfindlich“ fallen würden, sollten zur weiteren Abklärung an ein Referenzlabor geschickt werden.
11. Für Gemifloxacin werden bei den meisten (≥ 90 %) Stämmen der folgenden Mikroorganismen *in vitro* MHKs von 0,25 µg/ml oder weniger erhalten: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* und *Proteus vulgaris*. Jedoch gibt es keine angemessenen und gut kontrollierten klinischen Studien zur Sicherheit und Wirksamkeit von Gemifloxacin bei der Behandlung klinischer Infektionen, die von diesen Mikroorganismen verursacht werden.
12. Da Isolate mit Resistenz gegen Doripenem derzeit nicht verfügbar sind, sind nur Ergebnisse der Kategorie „empfindlich“ möglich. Isolate mit MHK-Ergebnissen, die in die Kategorie „nicht empfindlich“ fallen würden, sollten zur weiteren Abklärung an ein Referenzlabor geschickt werden.
13. Die Fähigkeit des Sensititre Systems zur Erkennung von Resistenz von *Acinetobacter* spp. gegen Minocyclin ist nicht bekannt, weil zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung keine resistenten Stämme verfügbar waren.
14. Es wurden Studien mit dem Autolnocolator / AIM durchgeführt. Die Verwendung eines anderen Inokulationssystems bei Tests mit Ceftarolin wurde nicht geprüft.
15. Die Fähigkeit des Sensititre Systems zur Erkennung von Resistenz von *Citrobacter koseri* gegen Ceftarolin ist nicht bekannt, weil zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung keine resistenten Stämme verfügbar waren.
16. Ceftarolin ist gegen gramnegative Bakterien, die ESBLs (Extended Spectrum-Beta-Laktamasen) aus den Familien TEM, SHV oder CTX-M, Serincarbapenemasen (wie etwa KPC), Metallo-Beta-Laktamasen der Klasse B oder der Klasse C (AmpC Cephalosporine) bilden, nicht aktiv.
17. Es wurden keine Leistungsprüfungen in Bezug auf *Moraxella catarrhalis* mit Ceftarolin durchgeführt. Diesbezügliche Ergebnisse für Patientenisolate sollten nicht berichtet werden.

Beschränkungen bei grampositiven Bakterien

1. Das Autoreader/OptiRead-System kann zum Lesen von Ergebnissen für koagulasenegative Staphylokokken und Enterokokken verwendet werden, vorausgesetzt, die Spezifikation auf dem Etikett lautet „For reading gram positives isolates“ (Zum Lesen von grampositiven Isolaten) und die Wells enthalten fluorogene Substrate

2. Der Autoreader/OptiRead sollte nicht zum Lesen von Ergebnissen für Nitrofurantoin mit *Enterococcus* spp. verwendet werden. Nitrofurantoin sollte manuell gelesen werden. Zum Nachweis von β -Laktamase bildenden Enterokokkenstämmen sollte ein Nitrocefin- β -Laktamase-Test verwendet werden.
3. Sensititre Platten für Empfindlichkeitstests sind konfiguriert, um die CLSI-Empfehlungen für den Nachweis von methicillinresistenten Staphylokokken zu erfüllen. Daher ist neben Oxacillin ein Salzgehalt von zwei Prozent enthalten. Das Inokulum muss direkt aus einer Übernachtskultur auf einer Agarplatte und nicht aus einer frischen Nährbouillonkultur hergestellt werden. Es gilt zu beachten, dass die meisten heteroresistenten Staphylokokken in der Regel gegen mehrere Antibiotika resistent sind, einschließlich gegen β -Laktame, Aminoglykoside, Makrolide, Clindamycin, Chloramphenicol und Tetracyclin, und dies sollte als Hinweis für die Erkennung einer Kreuzresistenz unter den Penicillinase-resistenten Penicillinen verwendet werden.
4. Staphylokokken, die gegen Penicillin G getestet werden, sollten auch hinsichtlich ihrer β -Laktamase-Produktion geprüft werden, vor allem Stämme mit grenzwertigen MHKs (0,06 bis 0,25 μ g/ml). Wenn diese Stämme positiv auf β -Laktamase testen, sollte ein Wiederholungstest durchgeführt werden, um die Ergebnisberichterstattung in Bezug auf die Resistenz sicherzustellen.
5. Bei ungenügendem Wachstum von Streptokokken, die keine Enterokokken sind, in der Müller-Hinton-Bouillon sind die Ergebnisse in Bezug auf Aminoglykoside unter Umständen unzuverlässig.
6. Mit koagulasenegativen, oxacillinempfindlichen Staphylokokken und Clarithromycin erhaltene MHK-Ergebnisse stimmten nicht mit den Ergebnissen einer Referenzmethode mit Übernachtsinkubation überein. Wenn das Antibiotikum für die Versorgung eines Patienten relevant ist, sollte ein anderes Verfahren herangezogen oder das Ergebnis für dieses Antibiotikum nicht berichtet werden.
7. Cefdinir hat sich bei klinischen Infektionen gegen die meisten Stämme von methicillinempfindlichen *S. aureus* (MSSA) und *Streptococcus pyogenes* als wirksam erwiesen. Für *S. epidermidis* (MSSE) und *Streptococcus agalactiae* wurde eine Korrelation *in vitro* festgestellt. Eine solche Aktivität wurde für keinen anderen für die Grampositiven-Platte in Frage kommenden Organismus festgestellt.
8. Zum Lesen der Ergebnisse mit Trimethoprim/Sulfamethoxazol (SXT) und ZNS sollte nicht das Autoreader/OptiRead-System verwendet werden. SXT sollte manuell gelesen werden.
9. Die klinische Signifikanz von Cefdinir ist nicht bekannt, und es gibt keine zugelassenen primären „Anwendungsgebiete“. Zur Weitergabe von Ergebnissen in Bezug auf eine Keimgruppe *in vitro* und bei klinischen Infektionen sind die Angaben in CLSI M100 zu beachten.
10. Da Isolate mit Resistenz gegen Tigecyclin und Gemifloxacin derzeit nicht verfügbar sind, sind nur Ergebnisse der Kategorie „empfindlich“ möglich. Isolate mit MHK-Ergebnissen, die in die Kategorie „nicht empfindlich“ fallen würden, sollten zur weiteren Abklärung an ein Referenzlabor geschickt werden.
11. Eine Resistenz bei folgenden Organismus/Antibiotikum-Kombinationen sollte aufgrund eines Mangels an resistenten Isolaten zum Zeitpunkt der Testdurchführung nicht in den Ergebnisbericht aufgenommen werden.

Organismus	Antibiotikum
Grampositive	Linezolid, Moxifloxacin, Gatifloxacin, Tigecyclin, Gemifloxacin
<i>Staphylococcus</i> -Arten	Ampicillin/Sulbactam
<i>Enterococcus</i> -Arten	Amoxicillin/Clavulansäure
<i>Enterococcus</i> -Arten <i>Staphylococcus</i> -Arten <i>Streptococcus</i> -Arten	Daptomycin

Die Fähigkeit des Sensititre Systems zum Nachweis von Resistenz oder Nicht-Empfindlichkeit gegen die folgenden Antibiotika ist nicht bekannt, weil zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung keine ausreichende Anzahl resistenter bzw. nicht-empfindlicher Stämme zur Verfügung stand. Wenn ein solcher Stamm auftritt, sollte er für weitere Tests an ein Referenzlabor geschickt werden.

Organismus	Antibiotikum
Grampositive	Moxifloxacin, Gatifloxacin,
<i>Staphylococcus aureus</i> (nur methicillin- und erythromycinempfindliche Isolate)	Telithromycin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxycyclin
<i>Streptococcus</i> -Arten	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxycyclin
<i>Staphylococcus aureus</i> (sowohl Methicillin-resistente als auch Methicillin-empfindliche Isolate)	Dalbavancin, Oritavancin, Telavancin
<i>Enterococcus faecalis</i> (nur VSE)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (Methicillin-resistente und Methicillin-empfindliche Isolate) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Sensititre MHK-Platten für 18-24-Stunden-Empfindlichkeitstests können Vancomycin-

Resistenz bei den zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung verfügbaren VRSA-Stämmen von *S. aureus* nachweisen. Es ist nicht bekannt, ob Sensititre MHK-Platten für 18-24-Stunden-Empfindlichkeitstests auch zum Nachweis einer Vancomycin-Resistenz bei anderen Stämmen von *S. aureus* geeignet sind, da zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung nur eine begrenzte Anzahl an resistenten Stämmen verfügbar war.

13. Für Gemifloxacin werden bei den meisten ($\geq 90\%$) Stämmen der folgenden Mikroorganismen *in vitro* MHKs von 0,25 µg/ml oder weniger erhalten: *Staphylococcus aureus* (nur methicillinempfindliche Stämme) und *Streptococcus pyogenes*. Jedoch gibt es keine angemessenen und gut kontrollierten klinischen Studien zur Sicherheit und Wirksamkeit von Gemifloxacin bei der Behandlung klinischer Infektionen, die von diesen Mikroorganismen verursacht werden.
14. Wenn im Well mit der Positivkontrolle kein oder lediglich schwaches Wachstum festgestellt wird, sollte auf ein alternatives Verfahren mit lysiertem Pferdeblut zur Testung von *S. pyogenes* zurückgegriffen werden.
15. Die Fähigkeit des Sensititre Systems zum Nachweis von Resistenz von *S. aureus* gegen Minocyclin ist nicht bekannt, weil zum Zeitpunkt der Vergleichsprüfung keine resistenten Stämme verfügbar waren.
16. Wenn im Well mit der Positivkontrolle auf der Sensititre Platte für nicht-anspruchsvolle Keime kein oder lediglich schwaches Wachstum festgestellt wird, sollte zur Testung von *Streptococcus spp.* auf die Sensititre Platte für anspruchsvolle Keime mit lysiertem Pferdeblut zurückgegriffen werden.
17. Es wurden Studien mit dem AutoInoculator / AIM durchgeführt. Wenn Telavancin oder Minocyclin getestet werden und ein anderes Inokulationssystem verwendet wird, sollte die Leistung dieses anderen Inokulationssystems durch Qualitätskontrollen validiert und die Keimzahl bestimmt werden.
18. Es wurden Studien mit dem AutoInoculator / AIM durchgeführt. Wenn Ceftarolin getestet und ein anderes Inokulationssystem verwendet wird, sollte die Leistung dieses anderen Inokulationssystems durch Qualitätskontrollen validiert und die Koloniezahl bestimmt werden.
19. Die Wirkung von Oritavancin auf *S. aureus* und *E. faecalis* wurde mithilfe des AIM-Autoinoculator analysiert. Die Verwendung eines anderen Inokulationssystems bei Tests mit Oritavancin wurde nicht geprüft.
20. Aufgrund der fehlenden Kriterien zur Interpretation intermediärer Empfindlichkeit und Resistenz gegenüber Oritavancin ist die Fehlerquote hier unter Umständen sehr groß. Es gab 3 Isolate unter 9 nicht-empfindlichen Isolaten, für die eine doppelte Verdünnung unter dem Referenzwert angegeben wurde. Es sollte ein anderes Testverfahren angewendet werden, bevor Ergebnisse für *S. aureus* und *E. faecalis* und Oritavancin weitergegeben werden, wenn die mit dem Sensititre System erhaltene MHK 0,12 µg/ml (Grenzwert) beträgt, falls diese Substanz für den Patienten wichtig ist.

LEISTUNG

ANHANG 1: Vorgehensweise zum Zählen von Kolonien

Zur Bestimmung der Keimzahlen können beide nachstehend

beschriebenen Methoden verwendet werden. Direkte Methode

1. Direkt nach Beimpfen einer Platte mit einer 1-µl-Impföse eine Probe aus dem Well zur Positivkontrolle entnehmen und zur Beimpfung von Blutagar verwenden.
2. Eine andere Impfösenprobe (1 µl) aus demselben Well entnehmen und mit 50 µl sterilem entionisiertem Wasser mischen. Eine Blutagarplatte mit 1 µl dieser Verdünnung beimpfen, um zählbare Kolonien zu erhalten.
3. Beide Platten sind bei 34–36°C über Nacht unter geeigneten Bedingungen zu inkubieren.
4. Wie folgt ablesen:

Geplantes Inokulum Verdünnung	Kolonienzahl	Anzahl der Kolonien	
		0,001 Platte	0,001 der 1:5
1×10^4	$5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$	5-50	0
1×10^5	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$	50 - 500	1 - 10
5×10^5	$2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	250 - 2500	5 - 50

Indirekte Methode**1. A. Bei einem Inokulum mit 1×10^5 KBE/ml**

Mit einer sterilen Pipettenspitze 100 µl Bouillonkultur in ein frisches 10-ml-Röhrchen mit Nährbouillon geben und als Röhrchen A beschriften.

B. Bei einem Inokulum mit 5×10^5 KBE/ml

Mit einer sterilen Pipettenspitze 10 µl Bouillonkultur in ein frisches 10-ml-Röhrchen mit Nährbouillon geben und als Röhrchen A beschriften.

2. Mit einer sterilen Pipettenspitze 100 µl aus Röhrchen A auf die Oberfläche einer entsprechend beschrifteten und datierten Blutagarplatte überführen.
3. Diese 100 µl mit einer sterilen Impföse über die gesamte Oberfläche der Platte ausstreichen.
4. Die Platte bei 34 bis 36 °C 18 bis 24 Stunden inkubieren.
5. Die Kolonien auf der Platte zählen und mit 10^3 (1×10^5 KBE/ml) oder 10^4 (5×10^5 KBE/ml) multiplizieren, um die Keimzahl in der Ausgangssuspension zu erhalten.

Bei einem Inokulum mit 1×10^5 KBE/ml	Bei einem Inokulum mit 5×10^5 KBE/ml
Zulässiger Keimzahlbereich = 5×10^4 - 5×10^5 KBE/ml	Zulässiger Keimzahlbereich = 2.5×10^5 - 2.5×10^6 KBE/ml

LITERATUR

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

Die Angaben in dieser technischen Beilage sind zum Zeitpunkt der Drucklegung aktuell und können ohne Ankündigung geändert werden.

Die neuesten Informationen stehen auf www.TREKDS.com/techinfo zum Download zur Verfügung oder sind auf Anfrage vom technischen Kundendienst von Thermo Fisher Scientific Microbiology erhältlich.



Verantwortlicher Hersteller:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Großbritannien
Tel.: +44-1342-318777



Das ATCC Licensed Derivative® Emblem, die ATCC Licensed Derivative® Wortmarke und die ATCC Katalogmarken sind Handelsmarken von ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. ist Inhaber einer Lizenz zur Nutzung dieser Handelsmarken und zum Verkauf von Produkten von ATCC®-Kulturen.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. ATCC ist eine Handelsmarke von ATCC. Alle anderen Marken sind Eigentum des Unternehmens Thermo Fisher Scientific Inc. und seiner Tochtergesellschaften.

E-Mail-Adressen des technischen Supports

Österreich	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgien	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Tschechische Republik	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dänemark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Frankreich	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finnland	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Deutschland	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italien	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Niederlande	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norwegen	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spanien	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Schweden	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Technischer Support UK	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Οδηγίες χρήσης

Πλάκες ευαισθησίας Sensititre™ της Thermo Scientific™ για εξέταση μη απαιτητικών Gram-αρνητικών και Gram-θετικών απομονωθέντων στελεχών

039-NFAST ROW Only -CID9494

Ημερομηνία αναθεώρησης: 13 Δεκεμβρίου 2018

Πλάκες ευαισθησίας Sensititre για εξέταση μη απαιτητικών Gram-αρνητικών και Gram-θετικών απομονωθέντων στελεχών

Sensititre 18-24 ωρών

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*

Για πλήρεις πληροφορίες σχετικά με την πλάκα, συμπεριλαμβανομένων της διάταξης της πλάκας, των πληροφοριών ποιοτικού ελέγχου, των ερμηνευτικών κριτηρίων, των δεδομένων απόδοσης και των παραπομπών, ανατρέξτε στον ιστότοπο www.trekds.com/techinfo. Θα χρειαστείτε τον τύπο και τον αριθμό παρτίδας της πλάκας.

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το σύστημα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) και ορίου ευαισθησίας Sensititre είναι ένα προϊόν διάγνωσης *in vitro* για την κλινική εξέταση της ευαισθησίας των μη απαιτητικών Gram-αρνητικών απομονωθέντων στελεχών, που απαρτίζονται από την οικογένεια *Enterobacteriaceae*, το *Pseudomonas aeruginosa* και άλλα είδη που δεν ανήκουν στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*, καθώς και των μη απαιτητικών Gram-θετικών απομονωθέντων στελεχών, που απαρτίζονται από *Staphylococcus*, *Enterococcus* και β αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους εκτός του *S. pneumoniae*. Η επιβεβαιωτική πλάκα εξέτασης ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL) Sensititre είναι ένα προϊόν διάγνωσης *in vitro* για την ανίχνευση των ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL) σε κλινικά απομονωθέντα στελέχη των *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* και *Escherichia coli*. Η ερμηνεία των πλακών ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) και ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL) μπορεί να πραγματοποιηθεί μη αυτόματα ή αυτόματα στο σύστημα Sensititre Autoreader/OptiRead ή/και στο σύστημα ARIS. Η χρήση του προϊόντα της Thermo Scientific έχει επικυρωθεί μόνο με υγρού θρεπτικού μέσου Sensititre.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Σε κάθε πλάκα τοποθετείται δόση αντιμικροβιακών παραγόντων σε κατάλληλες αραιώσεις. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί μη αυτόματα εξετάζοντας οπτικά την ανάπτυξη, ή αυτόματα σε ένα σύστημα ARIS/OptiRead/Autoreader με χρήση φθορισμού.

Τα συστήματα Sensititre Autoreader/OptiRead χρησιμοποιούν τεχνολογία φθορισμού. Η τεχνολογία περιλαμβάνει την ανίχνευση βακτηριακής ανάπτυξης μέσω παρακολούθησης της δραστηριότητας συγκεκριμένων ενζύμων κυτταρικής επιφάνειας που παράγονται από τον οργανισμό που εξετάζεται. Η ανάπτυξη καθορίζεται μέσω της δημιουργίας ενός φθορίζοντος προϊόντος από ένα μη φθορίζον υπόστρωμα (φθορισμού). Το μη φθορίζον υπόστρωμα δημιουργείται μέσω της σύζευξης μιας φθορίζουσας ένωσης με τα υποστρώματα των συγκεκριμένων ενζύμων με ένα δεσμό που αποτρέπει το φθορισμό. Μετά από το παραπάνω βήμα το φθοροφόρο θεωρείται αποσβεσμένο. Η δράση των βακτηριακών ενζύμων κυτταρικής επιφάνειας στα συγκεκριμένα υποστρώματα διασπά αυτόν το δεσμό, απελευθερώνοντας το φθοροφόρο, το οποίο έχει πλέον τη δυνατότητα φθορισμού. Η ποσότητα φθορισμού που ανιχνεύεται σχετίζεται άμεσα με τη δραστηριότητα των βακτηριακών ενζύμων κυτταρικής επιφάνειας και, συνεπώς, με τη βακτηριακή ανάπτυξη.

Η αυτόματη ερμηνεία είναι δυνατή μόνο για πλάκες που το όνομά τους έχει την κατάληξη F.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Μόνο όργανα που υποστηρίζονται από τη Sensititre (δηλ. ένα απλό μη αυτόματο σύστημα προβολής, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader/OptiRead και ARIS) πρέπει να χρησιμοποιούνται για την αναφορά αποτελεσμάτων με τα προϊόντα Sensititre με έγκριση CE IVD και FDA. Οποιοδήποτε άλλο σύστημα χρησιμοποιηθεί δεν θα υποστηρίζεται.

Τα αποτελέσματα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται επικουρικά για την επιλογή του καταλληλότερου φαρμάκου για τη θεραπεία. Το προϊόν αυτό προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro* και θα πρέπει να χρησιμοποιείται από σωστά εκπαιδευμένο προσωπικό. Θα πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις ενάντια στους κινδύνους μικροβιολογικών κινδύνων μέσω της σωστής αποστείρωσης δειγμάτων, περιεκτών, μέσων και πλακών εξέτασης μετά την χρήση. Αναγνώσατε και ακολουθήστε τις οδηγίες προσεκτικά.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Φυλάξτε τις πλάκες ευαισθησίας Sensititre στους αρχικούς περιέκτες σε 15 – 25°C και μακριά από άμεσο ηλιακό φως και θερμότητα μέχρι τη χρήση. Κάθε πλάκα είναι συσκευασμένη σε αλουμινόφυλλο με αποξηραντικό. Οι πλάκες δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης τους, η συσκευασία από αλουμινόφυλλο έχει καταστραφεί, ή το χρώμα του αποξηραντικού δεν είναι πορτοκαλί. Οι πλάκες θα πρέπει να εμβολιάζονται εντός 5 ωρών από την αφαίρεσή τους από τη συσκευασία.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η συλλογή και ο χειρισμός των δειγμάτων θα πρέπει να πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις συνιστώμενες κατευθυντήριες οδηγίες.

Υλικά που περιλαμβάνονται

- 10 πλάκες Sensititre™ με υπόστρωμα στα βοθρία
- 10 διάτρητα αυτοκόλλητα για τη σφράγιση της πλάκας/των πλακών

Υλικά που δεν περιλαμβάνονται [Κωδικός προϊόντος]:

Υγρό θρεπτικό μέσο:

- Απιονισμένο νερό Sensititre™ [T3339]
- Υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton Sensititre™ με ρύθμιση κατιόντων που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα TES (CAMHBT) [T3462]

Θολερότητα:

- Sensititre™ Nephelometer™ [V3011]
- 0,5 πρότυπο διάλυμα θολερότητας πολυμερούς McFarland [E1041]

Εμβολιασμός πλακών:

- Κεφαλές χορήγησης δόσης για Sensititre AIM για τον εμβολιασμό των πλακών [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / Sensititre AutoInoculator*

Ερμηνεία πλακών:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] ή σύστημα ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Μη αυτόματο σύστημα προβολής Sensititre [V4007]

Άλλα υλικά:

- Στείρο δοχείο ενοφθαλμίσματος
- Στελέχη ποιοτικού ελέγχου (βλ. Πίνακα 1)
- Επωαστήρας 34-36°C
- Αναμικτήρας τύπου Vortex
- Τρέχοντα έγγραφα CLSI, EUCAST ή τοπικές κατευθυντήριες οδηγίες

* Δεν διατίθεται πλέον προς πώληση ή δεν υποστηρίζεται

ΕΠΙΛΟΓΗ ΥΓΡΟΥ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΜΕΣΟΥ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

Το υγρό θρεπτικό μέσο Sensititre της Thermo Scientific έχει επικυρωθεί για χρήση με τις πλάκες ευαισθησίας Sensititre.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΓΙΑ ΠΛΑΚΕΣ SENSITITRE

Αφήνετε τα υγρά θρεπτικά μέσα να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την χρήση.

Πρότυπο ενοφθαλμισμό

Για όλες τις πλάκες, επιλέξτε 3-5 αποικίες μη απαιτητικών απομονωθέντων στελεχών από πρόσφατα παρασκευασμένο αρχικό τρυβλίο με άγαρ, εναιωρήστε σε αποστειρωμένο νερό και ρυθμίστε σύμφωνα με το πρότυπο διάλυμα 0,5 McFarland. Ανακινήστε καλά.

Μεταφέρετε 10 μ L του εναιωρήματος McFarland σε σωλήνα 11 mL με υγρό θρεπτικό μέσο Muller-Hinton με ρύθμιση κατιόντων που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα TES. Προχωρήστε στο βήμα 2.

Μέθοδος με αυξημένη ποσότητα ενοφθαλμίσματος

Ανάλογα με τα στελέχη που εξετάζονται, μια αύξηση σε 30 μ L μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση μηχανισμών ανθεκτικότητας.

Τόσο για τα Gram-θετικά όσο και για τα Gram-αρνητικά απομονωθέντα στελέχη, η μεταφορά 30 μ L του εναιωρήματος σε ένα σωλήνα 11 mL με υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton Sensititre έχει ως αποτέλεσμα αριθμούς αποικιών που εμπίπτουν εντός του εγκεκριμένου εύρους Sensititre των $5,0 \times 10^4$ και $5,0 \times 10^5$ cfu/mL. Προχωρήστε στο βήμα 2.

Proteus, Providencia και Morganella

Για τη φυλή *Proteae* (συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Proteus*, των ειδών *Providencia* και του *Morganella morganii*), μεταφέρετε 1 μ L στο υγρό θρεπτικό μέσο.

2. Μεταφέρετε 50 μ L του εναιωρήματος του υγρού θρεπτικού μέσου στην πλάκα εντός 30 λεπτών από την παρασκευή, χρησιμοποιώντας ένα από τα ακόλουθα:

1. **Sensititre Autoinoculator / AIM.** Αντικαταστήστε το καπάκι του σωλήνα με μια κεφαλή χορήγησης δόσης Sensititre μίας χρήσης και εμβολιάστε την πλάκα σύμφωνα με τις οδηγίες του Autoinoculator/AIM. Αφαιρέστε το συνδυασμό δοκιμαστικού σωλήνα/κεφαλής χορήγησης δόσης από το Autoinoculator/AIM εντός 30 δευτερολέπτων από τη χορήγηση δόσης στην πλάκα.

2. **Χειροκίνητη πιπέτα.** Ρίξτε το υγρό θρεπτικό μέσο σε μια αποστειρωμένη λεκάνη εμβολιασμού και εμβολιάστε την πλάκα χρησιμοποιώντας κατάλληλη πιπέτα.

3. Εκτελέστε έλεγχο καθαρότητας όλων των τελικών ενοφθαλμισμάτων μετά τον εμβολιασμό της πλάκας.

4. Θα πρέπει να διενεργείται ένας περιοδικός έλεγχος του αριθμού των αποικιών (βλ. Παράρτημα 1). Τα απομονωθέντα στελέχη θα πρέπει να έχουν ενοφθαλμισμό 1×10^5 cfu/mL (εύρος $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$) με εξαίρεση τα απομονωθέντα στελέχη της φυλής *Proteae* που θα πρέπει να είναι 1×10^4 cfu/mL (εύρος $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$).

5. Καλύψτε όλα τα βοηθία κάθε πλάκας με το παρεχόμενο αυτοκόλλητο για τη σφράγιση των πλακών. Αποφύγετε τις πτυχωσεις, καθώς μπορούν να οδηγήσουν σε υπερπηδήσεις.

6. Οι πλάκες θα πρέπει να εμβολιάζονται εντός 5 ωρών από την αφαίρεσή τους από τη

συσκευασία.

ΕΠΩΑΣΗ

Όλοι οι μη απαιτητικοί αερόβιοι οργανισμοί θα πρέπει να επωάζονται στους 34-36 °C, είτε στο σύστημα ARIS είτε σε έναν επωαστήρα απουσία CO₂ για 18-24 ώρες.

- Για να διασφαλιστεί η ανίχνευση των ανθεκτικών στη βανκομυκίνη εντερόκοκκων και των ανθεκτικών στην οξακιλλίνη σταφυλόκοκκων, επώαστε για 24 ώρες.
- Τα είδη *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* και *Stenotrophomonas maltophilia* θα πρέπει να επωάζονται για 20-24 ώρες.

Επιτρέπεται η στοίβαξη έως 3 σφραγισμένων πλακών σε έναν επωαστήρα, εφόσον η επώαση δεν πραγματοποιείται στο σύστημα ARIS.

Περίληψη ρύθμισης και επώασης

Ομάδα οργανισμών	έσο Εναιωρήμα- τος McFarland	Προοριζόμενο Τελικό ενοφθαλμισμό* (cfu/mL)	Μεταφορά ενοφθαλμί- σματος	Υγρό θρεπτικό μέσο	Ανασύσταση πλάκας	Συνθήκες επώασης	Ώρες επώασης
Μη απαιτητικοί Gram- αρνητικοί οργανισμοί	Νερό	1x10 ⁵	10 µL	Υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton (MHB)	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Μη απαιτητικοί Gram- θετικοί οργανισμοί	Νερό	1x10 ⁵	10 µL	Υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton (MHB)	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Αυξημένο μέγεθος ενοφθαλμισμού τόσο για Gram-αρνητικούς όσο και για Gram- θετικούς οργανισμούς**	Νερό	3x10 ⁵	30 µL	Υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton (MHB)	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Φυλή <i>Proteae</i>	Νερό	1x10 ⁴	1 µL	Υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton (MHB)	50 µL	35 °C O ₂	18-24

* Για τα εύρη τιμών των ενοφθαλμισμάτων, βλ. παράρτημα αρ. 1

**Ανάλογα με τα στελέχη που εξετάζονται, μια αύξηση σε 30 µL μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση μηχανισμών ανθεκτικότητας

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Ελέγξτε την καθαρότητα των πλακών εξέτασης. Εάν υπάρχει μικτή καλλιέργεια, τα αποτελέσματα δεν είναι έγκυρα

1. Αυτόματα

Η ερμηνεία των πλακών μπορεί να πραγματοποιηθεί στο σύστημα AutoReader/OptiRead ή στο ARIS σύμφωνα με τις οδηγίες του αντίστοιχου Εγχειριδίου χρήστη ή με χρήση των αρχείων βοήθειας SWIN HELP.

Η ερμηνεία των πλακών Sensititre που προορίζονται για χρήση μόνο με χειροκίνητο σύστημα προβολής Sensitouch ή Vizion δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί στο σύστημα AutoReader/OptiRead ή στο ARIS.

2. Μη αυτόματα

Μετά την επώαση, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρήση του χειροκίνητου συστήματος προβολής Sensititre ή του Vizion. Δείτε τα Εγχειρίδια χρήστη. Δεν είναι απαραίτητη η αφαίρεση του αυτοκόλλητου για τη σφράγιση των πλακών. Η ανάπτυξη εμφανίζεται ως θολερότητα ή ως εναπόθεση κυττάρων στο κάτω μέρος ενός βοθρίου. Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) καταγράφεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση αντιμικροβιακού που αναστέλλει την ορατή ανάπτυξη. Η ένδειξη μιας ανεπαίσθητης ανάπτυξης στο Vizion μπορεί να βελτιωθεί με την προσαρμογή του φωτισμού. Πρώτα θα πρέπει να πραγματοποιείται η ερμηνεία των βοθρίων που χρησιμοποιούνται ως θετικός μάρτυρας ανάπτυξης. Εάν σε κάποιο από αυτά δεν εμφανίζεται ανάπτυξη, τα αποτελέσματα δεν είναι έγκυρα.

Θα πρέπει να επισημανθούν τα ακόλουθα:

a. Αχνά καταληκτικά σημεία

Οι περισσότεροι συνδυασμοί οργανισμού/αντιμικροβιακού παρέχουν διακριτά καταληκτικά σημεία. Με κάποιους συνδυασμούς, ενδέχεται να υπάρξει μια σταδιακή επιβράδυνση της ανάπτυξης σε 2 έως 3 βοθρία. Τα καταληκτικά σημεία θα πρέπει να λαμβάνονται ως το πρώτο βοθρίο που αναστέλλει την ορατή ανάπτυξη, με εξαίρεση τις σουλφοναμίδες και τη λινεζολίδα όπου η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) πρέπει να ερμηνεύεται ως μείωση της ανάπτυξης κατά 80-90% σε σύγκριση με το βοθρίο θετικού μάρτυρα.

b. Επιμόλυνση

Η επιμόλυνση μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη σε ένα βοθρίο που περιβάλλεται από βοθρία όπου δεν εμφανίζεται ανάπτυξη. Μπορείτε να αγνοήσετε την επιμόλυνση ενός μόνο βοθρίου αυτού του είδους, ωστόσο εάν υπάρχουν υποψίες για επιμόλυνση σε πολλαπλά βοθρία, η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.

c. Υπερπήδησεις

Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρηθεί μια «υπερπήδηση» – ένα βοθρίο όπου δεν εμφανίζεται ανάπτυξη, το οποίο περιβάλλεται από βοθρία όπου εμφανίζεται ανάπτυξη. Υπάρχουν διάφορες εξηγήσεις αυτού του φαινομένου, συμπεριλαμβανομένων της επιμόλυνσης, της μετάλλαξης, της πτύχωσης του αυτοκόλλητου για τη σφράγιση της πλάκας και της μη ευθυγραμμισμένης χορήγησης δόσης. Μπορείτε να αγνοήσετε μια μεμονωμένη υπερπήδηση. Ωστόσο, προκειμένου να διασφαλιστεί η αποτελεσματική αντιμικροβιακή θεραπεία, το βοθρίο υπερπήδησης δεν πρέπει ΠΟΤΕ να ερμηνεύεται ως η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC). Λαμβάνετε πάντα τη χαμηλότερη συγκέντρωση βοθρίου πάνω από την οποία παρατηρείται απουσία ανάπτυξης με σταθερότητα.

d. Μικτές καλλιέργειες

Με εξαίρεση όσα αναφέρονται στο σημείο (α) παραπάνω, εάν δύο καταληκτικά σημεία εμφανίζονται ως διακριτό «κουμπί» κυττάρων και ακολουθούν αρκετά βοθρία με διάχυτη ανάπτυξη όπου το «κουμπί» δεν είναι πλέον ορατό (ή εμφανίζεται με τη μορφή μικρότερων «κουμπιών»), ενδέχεται να υπάρχει μικτός πληθυσμός βακτηρίων. Η καθαρότητα θα πρέπει να ελέγχεται με υποκαλλιέργεια της ανάπτυξης σε κατάλληλο άγαρ. Εάν ανιχνευτεί μικτή καλλιέργεια, τα αποτελέσματα της εξέτασης δεν είναι έγκυρα.

3. Πρόσθετες πληροφορίες

Αποτελέσματα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) για επιβεβαίωση

ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL)

Για επιβεβαίωση των ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL), μια ≥ 3 διπλή μείωση συγκέντρωσης σε μια ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) για τον αντιμικροβιακό παράγοντα που εξετάζεται σε συνδυασμό με κλαβουλανικό οξύ συγκριτικά με την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) του παράγοντα όταν εξετάζεται μόνος του = ESBL. Παράδειγμα: ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) κεφταζιδίμης = 8 $\mu\text{g/mL}$, ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) κεφταζιδίμης/κλαβουλανικού οξέος = 1 $\mu\text{g/mL}$. Για περισσότερες λεπτομέρειες, ανατρέξτε στο έγγραφο M7 του CLSI.

Ανίχνευση κεφοξιτίνης

Η «ανίχνευση κεφοξιτίνης (6 $\mu\text{g/mL}$)» μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της εμφάνισης ανθεκτικότητας με μεσολάβηση του γονιδίου *mecA* στο *Staphylococcus aureus*. Απομονωθέντα στελέχη για τα οποία η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) κεφοξιτίνης είναι >6 (θετική ανάπτυξη) θα πρέπει να αναφέρονται ως ανθεκτικά στην οξακιλλίνη. Τα απομονωθέντα στελέχη που έχουν ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) κεφοξιτίνης ≤ 6 (καμία ανάπτυξη) θα πρέπει να αναφέρονται ως ευαίσθητα στην οξακιλλίνη.

Εξέταση D

Η εξέταση D για τον έλεγχο μικροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο αφορά στελέχη του *Staphylococcus* που είναι ανθεκτικά (MIC $\geq 8 \mu\text{g/mL}$) στην ερυθρομυκίνη και ευαίσθητα ή ενδιάμεσα ευαίσθητα (MIC $\leq 2 \mu\text{g/mL}$) στην κλινδαμυκίνη. Με αυτά τα απομονωθέντα στελέχη, εάν μια εξέταση D 1 (4/0,5 $\mu\text{g/mL}$) ή μια εξέταση D 2 (8/1,5 $\mu\text{g/mL}$) ή και η 1 και η 2 έχουν θετικό αποτέλεσμα (ανάπτυξη), το αποτέλεσμα θα πρέπει να αναφέρεται ως επαγωγίμη ανθεκτικότητα στην κλινδαμυκίνη. Εάν με αυτά τα απομονωθέντα στελέχη δεν παρατηρείται ανάπτυξη τόσο στην εξέταση D 1 όσο και στην εξέταση D 2, τα απομονωθέντα στελέχη θα πρέπει να αναφέρονται ως αρνητικά για επαγωγίμη ανθεκτικότητα. Εάν παρατηρείται ανθεκτικότητα στην ερυθρομυκίνη και ευαισθησία στην κλινδαμυκίνη και το αποτέλεσμα της εξέτασης D είναι αρνητικό μετά από 18 ώρες επώασης, επαναλάβετε την ερμηνεία μετά από 24 ώρες επώασης.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ανατρέξτε στις κατευθυντήριες οδηγίες ερμηνείας της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) που παρέχονται από τα CLSI και EUCAST, ή τις τοπικές πρότυπες κατευθυντήριες οδηγίες.

Η πλάκα ενδέχεται να περιλαμβάνει αντιμικροβιακούς παράγοντες που δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικοί για τη θεραπεία λοιμώξεων για όλους τους υπό εξέταση οργανισμούς. Ανατρέξτε στο ένθετο συσκευασίας του εγκεκριμένου από τον FDA συγκεκριμένου φαρμακευτικού αντιμικροβιακού παράγοντα για την ερμηνεία και την αναφορά αποτελεσμάτων για αντιμικροβιακούς παράγοντες που έχει αποδειχθεί ότι είναι δραστικοί έναντι ομάδων οργανισμών τόσο *in vitro* όσο και σε κλινικές λοιμώξεις.

Για τα αποτελέσματα που υποβάλλονται σε αυτόματη ερμηνεία, το λογισμικό εφαρμόζει ερμηνευτικά κριτήρια που βασίζονται στις κατευθυντήριες οδηγίες των CLSI, EUCAST ή FDA, ανάλογα με τη διαμόρφωση του λογισμικού.

Κατά την αναφορά αυτών των αντιμικροβιακών αποτελεσμάτων της εξέτασης επιβεβαίωσης ευρέος φάσματος β-λακταμασών (ESBL), ανατρέχετε στο έγγραφο M100 του CLSI: Εξετάσεις ανίχνευσης και επιβεβαίωσης για ευρέος φάσματος β-λακταμάσες (ESBL) στα *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* και *Escherichia coli*, για την κατάλληλη ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Αποτελέσματα ορίου ευαισθησίας

Η εξέταση ορίου ευαισθησίας είναι μια μέθοδος αραίωσης του υγρού θρεπτικού μέσου για

ποιοτική εξέταση της ευαισθησίας. Το σύστημα ορίου ευαισθησίας Sensititre έχει αναπτυχθεί ώστε να παρέχει μια απλή τυποποιημένη μέθοδο εξέτασης της ευαισθησίας βάσει της έννοιας των συγκεντρώσεων ορίου ευαισθησίας. Το όριο ευαισθησίας ορίζεται ως η συγκέντρωση ενός αντιβιοτικού που αναστέλλει την ανάπτυξη οργανισμών που παρουσιάζουν ευαισθησία, αλλά όχι ανθεκτικότητα, στο αντιβιοτικό. Για τα περισσότερα αντιμικροβιακά, χρησιμοποιούνται δύο συγκεντρώσεις – μια χαμηλότερη συγκέντρωση που αντιπροσωπεύει το άνω όριο της κατηγορίας των «ευαίσθητων» και μια υψηλότερη συγκέντρωση που αντιπροσωπεύει το άνω όριο της κατηγορίας των «ενδιάμεσα ευαίσθητων».

Ερμηνείες των ορίων ευαισθησίας για αντιμικροβιακά που εμφανίζονται σε συγκεντρώσεις 1 ή 2 βοθρίων.

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία Ενός βοθρίου	Ερμηνεία Δύο βοθρίων
Καμία ανάπτυξη	Ευαίσθητο	-
Ανάπτυξη	Ανθεκτικό	-
Καμία ανάπτυξη και στα δύο βοθρία	-	Ευαίσθητο
Ανάπτυξη μόνο στη χαμηλότερη συγκέντρωση.	-	Ενδιάμεσα ευαίσθητο
Ανάπτυξη και στα δύο βοθρία	-	Ανθεκτικό
Ανάπτυξη μόνο στην υψηλότερη συγκέντρωση.	-	Μη έγκυρο-Επανάληψη

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1. Η συχνότητα των δοκιμών ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να ορίζεται σύμφωνα με τις πρότυπες εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες.
2. Το ενοφθαλμίσμα θα πρέπει να καλλιεργείται σε ένα κατάλληλο μέσο ώστε να ελέγχεται η καθαρότητά του. Εάν ανιχνευθεί μικτή καλλιέργεια, τα αποτελέσματα της εξέτασης δεν είναι έγκυρα.
3. Όλες οι πλάκες Sensititre περιλαμβάνουν βοθρία θετικού μάρτυρα. Εάν δεν υπάρχει διακριτή ανάπτυξη σε όλα τα βοθρία θετικού μάρτυρα, οι εξετάσεις δεν είναι έγκυρες. Κάποιες μορφές πλάκας περιλαμβάνουν επίσης ένα βοθρίο «αρνητικής ανάπτυξης». Αυτό το βοθρίο μπορεί, σε ορισμένες περιπτώσεις, να χρησιμοποιείται για τη βαθμονόμηση του συστήματος AutoReader/Optiread και δεν απαιτείται για τη μη αυτόματη ερμηνεία.
4. Διάφοροι παράγοντες συμβάλλουν στην επίτευξη των σωστών ελάχιστων ανασταλτικών συγκεντρώσεων (MIC), συμπεριλαμβανομένης της χρήσης 3-5 αποικιών από ένα καθαρό τρυβλίο με άγαρ 16-24 ωρών, καθώς και μιας τυποποιημένης πυκνότητας ενοφθαλμίσματος που παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας το πρότυπο McFarland και τον νεφελομετρητή μας, της θερμοκρασίας και του υγρού θρεπτικού μέσου. Στην πράξη, οι επαναλαμβανόμενες ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) διαμορφώνουν μια κανονική κατανομή με την πλειονότητα των αποτελεσμάτων να βρίσκονται εντός μίας αραίωσης της πιθανότερης τιμής.
5. Οι οργανισμοί για χρήση στον ποιοτικό έλεγχο που παρατίθενται στους πίνακες ποιοτικού ελέγχου συνιστώνται για την παρακολούθηση της διαδικασίας εξέτασης ευαισθησίας και του ελέγχου δραστηριότητας των αντιμικροβιακών. Για τα αναμενόμενα αποτελέσματα ποιοτικού ελέγχου, ανατρέξτε στους πίνακες ποιοτικού

ελέγχου. Η διαδικασία εξέτασης μπορεί να θεωρείται ικανοποιητική, εάν τα αποτελέσματα ευαισθησίας που λαμβάνονται με τους οργανισμούς που χρησιμοποιούνται στον ποιοτικό έλεγχο βρίσκονται εντός των αναφερόμενων ευρών. Τα αποτελέσματα **δεν** θα πρέπει να αναφέρονται, εάν τα αποτελέσματα ποιοτικού ελέγχου βρίσκονται εκτός του αναφερόμενου εύρους για ένα συνδυασμό φαρμάκου/οργανισμού.

6. Οι παρακάτω τιμές εύρους ποιοτικού ελέγχου του οργανισμού/αντιμικροβιακού διαφέρουν από τις τιμές εύρους που συνιστώνται από το CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) έναντι κεφοτετάνης, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) έναντι μεζλοκιλλίνης, *S. aureus* (ATCC® 29213™) έναντι αμπικιλλίνης, και πενικιλλίνης.

Σε περίπτωση που δεν είναι δυνατή η επίλυση ασυμφωνιών του ποιοτικού ελέγχου, επικοινωνήστε με τις τεχνικές υπηρεσίες της Thermo Fisher Scientific Microbiology για βοήθεια. Ανατρέξτε παρακάτω για πληροφορίες επικοινωνίας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Για τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων εξέτασης, απαιτείται καταρτισμένο κλινικό προσωπικό.
- Όπως ισχύει για όλες τις άλλες μεθόδους εξέτασης αντιμικροβιακής ευαισθησίας, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις πλάκες ευαισθησίας Sensititre είναι αποτελέσματα *in vitro*.
- Για την εξέταση απαιτητικών οργανισμών απαιτούνται εξειδικευμένες διαδικασίες και οι οργανισμοί αυτοί θα πρέπει να εξετάζονται με άλλες μεθόδους. Η πλάκα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* Sensititre μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση των *Haemophilus influenzae* και *Streptococcus pneumoniae*. Για τις κατάλληλες τροποποιήσεις των διαδικασιών ελέγχου ευαισθησίας, ανατρέξτε στο τεχνικό φυλλάδιο Sensititre για απαιτητικούς οργανισμούς ή στο έγγραφο M7 του CLSI.
- Έχουν διεξαχθεί μελέτες με χρήση του συστήματος AutoInoculator/AIM. Κατά την εξέταση για μινोकυκλίνη, δοξυκυκλίνη, τελαβανκίνη, δαλβαβανκίνη, οριταβανκίνη ή τεδιζολίδη, εάν χρησιμοποιείται εναλλακτικό σύστημα ενοφθαλμισμού, επικυρώστε την απόδοση του εναλλακτικού συστήματος ενοφθαλμισμού με εξέταση ποιοτικού ελέγχου και καταμετρήστε τον αριθμό των αποικιών.

Περιορισμοί Gram-αρνητικών οργανισμών

1. Τα αποτελέσματα που έχουν ληφθεί με το *C. freundii* και την κεφοτετάνη έχουν επιδείξει αντιφατικά αποτελέσματα για τις ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) συγκριτικά με μια ολονύχτια μέθοδο αναφοράς, επομένως ο αντιμικροβιακός παράγοντας δεν θα πρέπει να αναφέρεται. Εάν ο αντιμικροβιακός παράγοντας είναι κρίσιμος για την περίθαλψη του ασθενούς, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εναλλακτική διαδικασία
2. Η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων αμοξυκιλλίνης/κλαβουλανικού οξέος στο Sensititre και σε μια διαδικασία αναφοράς ήταν χαμηλότερη από 95%. Καθώς η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) εξαρτάται από το επίπεδο της β-λακταμάσης που παράγεται, η διακύμανση των αποτελεσμάτων της MIC μπορεί να αποδοθεί στη διακύμανση της παραγωγής ενζύμου. Η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα της κεφοτετάνης και των Gram-αρνητικών οργανισμών με χρήση του Sensititre και των διαδικασιών αναφοράς του CLSI ήταν επίσης χαμηλότερη από 95%.
3. Η απόδοση δεν έχει εξακριβωθεί για τα είδη *Proteus*, κατά την εξέταση με πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη και κεφεπίμη. Δε θα πρέπει να αναφέρονται αποτελέσματα για τα απομονωθέντα στελέχη του ασθενούς.

4. Η ερμηνεία για τα είδη *Klebsiella* και για μη ζυμωτικούς οργανισμούς που εξετάζονται με πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη θα πρέπει να πραγματοποιείται μη αυτόματα, λόγω έλλειψης δεδομένων απόδοσης στο σύστημα Sensititre Autoreader / OptiRead.
5. Το σύστημα Autoreader/OptiRead δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ανθεκτικότητας στην κεφποδοξίμη με το είδος *Serratia*, καθώς στις κλινικές δοκιμές παρουσιάστηκε μη αποδεκτό ποσοστό σφάλματος κατά την ερμηνεία αυτού του συνδυασμού οργανισμού/αντιμικροβιακού.
6. Δεν υπάρχουν εγκεκριμένες κύριες «Ενδείξεις χρήσης» και η κλινική σημασία της κεφδινίρης είναι άγνωστη. Για την αναφορά αποτελεσμάτων που έχει καταδειχθεί ότι είναι κατά ομάδων οργανισμών τόσο *in vitro* όσο και σε κλινικές λοιμώξεις, ανατρέξτε στο έγγραφο M100 του CLSI και στην επισήμανση του εγκεκριμένου από τον FDA φαρμάκου.
7. Η ανθεκτικότητα δεν πρέπει να αναφέρεται για τους ακόλουθους συνδυασμούς αντιμικροβιακού/οργανισμού, λόγω έλλειψης ανθεκτικών απομονωθέντων στελεχών κατά το χρόνο της εξέτασης

Οργανισμός	Αντιμικροβιακός παράγοντας
Είδη <i>Citrobacter</i>	Πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη
Είδη <i>Serratia</i>	Πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη
Είδη <i>Proteus</i>	Λομεφλοξασίνη και κεφποδοξίμη
Μη- <i>Enterobacteriaceae</i>	Λεβοφλοξασίνη

8. Η ικανότητα του συστήματος Sensititre να ανιχνεύει την ανθεκτικότητα στη μοξιφλοξακίνη και τη γαπιφλοξακίνη είναι άγνωστη, επειδή δεν υπήρχαν διαθέσιμα ανθεκτικά στελέχη κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης.
9. Η τιγκεκυκλίνη μείωσε τη δραστηριότητα *in vitro* ενάντια των *Morganella*, *Proteus* και *Providencia*.
10. Η απουσία επί του παρόντος απομονωθέντων στελεχών ανθεκτικών στην τιγκεκυκλίνη και τη γεμιφλοξακίνη αποκλείει τον καθορισμό οποιουδήποτε αποτελέσματος εκτός της κατηγορίας «ευαίσθητο». Τα απομονωθέντα στελέχη που αποδίδουν αποτελέσματα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) τα οποία υποδηλώνουν ότι ανήκουν στην κατηγορία «μη ευαίσθητο» θα πρέπει να υποβάλλονται σε ένα εργαστήριο αναφοράς για περαιτέρω εξέταση.
11. Η γεμιφλοξακίνη παρουσιάζει τιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) *in vitro* της τάξης των 0,25 µg/mL ή χαμηλότερες έναντι των περισσότερων (≥ 90 %) στελεχών των ακόλουθων μικροοργανισμών: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* και *Proteus vulgaris*. Ωστόσο, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της γεμιφλοξακίνης στη θεραπεία κλινικών λοιμώξεων που οφείλονται σε αυτούς τους μικροοργανισμούς δεν έχει εξακριβωθεί σε επαρκείς και καλά ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές
12. Η απουσία επί του παρόντος στελεχών ανθεκτικών στη δοριπενέμη αποκλείει τον καθορισμό οποιουδήποτε αποτελέσματος εκτός από το αποτέλεσμα «ευαίσθητο». Τα απομονωθέντα στελέχη που αποδίδουν αποτελέσματα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) τα οποία υποδηλώνουν ότι ανήκουν στην κατηγορία «Μη ευαίσθητο» θα πρέπει να υποβάλλονται σε ένα εργαστήριο αναφοράς για περαιτέρω εξέταση.
13. Η ικανότητα του συστήματος Sensititre να ανιχνεύει την ανθεκτικότητα του είδους *Acinetobacter* στη μινοκυκλίνη είναι άγνωστη, καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα ανθεκτικά

- στελέχη κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης.
14. Έχουν διεξαχθεί μελέτες με χρήση του συστήματος AutoInoculator/AIM. Η χρήση εναλλακτικού συστήματος ενοφθαλμισμού κατά την εξέταση της κεφταρολίνης δεν έχει αξιολογηθεί.
 15. Η ικανότητα του συστήματος Sensititre να ανιχνεύει την ανθεκτικότητα του *Citrobacter koseri* στην κεφταρολίνη είναι άγνωστη, καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα ανθεκτικά στελέχη κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης.
 16. Η κεφταρολίνη δεν είναι δραστική έναντι Gram-αρνητικών βακτηρίων που παράγουν ευρέος φάσματος β-λακταμάσες (ESBL) από τις οικογένειες TEM, SHV ή CTX-M, καρβαπενεμάσες σερίνης (όπως KPC), μεταλλο-β-λακταμάσες κλάσης B ή κλάσης C (κεφαλοσπορίνες AmpC).
 17. Η απόδοση δεν έχει τεκμηριωθεί για το *Moraxella catarrhalis* με την κεφταρολίνη. Δε θα πρέπει να αναφέρονται αποτελέσματα για τα απομονωθέντα στελέχη του ασθενούς.

Περιορισμοί Gram-θετικών οργανισμών

1. Το σύστημα Autoreader/OptiRead μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ερμηνεία αρνητικών στην κοαγκουλάση *σταφυλόκοκκων* και *εντερόκοκκων*, με την προϋπόθεση ότι στην ετικέτα του πάνελ αναγράφεται η ένδειξη «For reading gram positives isolates» (Για την ερμηνεία gram-θετικών απομονωθέντων στελεχών) και τα βοηθία περιέχουν φθορίζοντα υποστρώματα
2. Το σύστημα Autoreader/OptiRead δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την ερμηνεία της νιτροφουραντοΐνης με το είδος *Enterococcus*. Η ερμηνεία της νιτροφουραντοΐνης θα πρέπει να πραγματοποιείται μη αυτόματα. Για την ανίχνευση των στελεχών *εντερόκοκκων* που παράγουν β-λακταμάση, θα πρέπει να διενεργείται μια εξέταση β-λακταμάσης νπροσεφίνης.
3. Οι πλάκες ευαισθησίας Sensititre είναι διαμορφωμένες ώστε να ικανοποιούν τις συστάσεις του CLSI για την ανίχνευση ανθεκτικών στη μεθικιλίνη *σταφυλόκοκκων*. Περιλαμβάνεται, συνεπώς, ένα συμπλήρωμα άλατος δύο τοις εκατό με την οξακιλλίνη. Το ενοφθάλμισμα πρέπει να προετοιμαστεί απευθείας από ένα τρυβλίο με άγαρ που επωάζεται ολονυχτίς και όχι από μια πρόσφατα παρασκευασμένη καλλιέργεια σε υγρού θρεπτικού μέσου. Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι οι περισσότεροι ετεροανθεκτικοί *σταφυλόκοκκοι* είναι συνήθως ανθεκτικοί σε πολλαπλά αντιμικροβιακά, όπως β-λακτάμες, αμινογλυκοσίδες, μακρολίδες, κλινδαμυκίνη, χλωραμφενικόλη και τετρακυκλίνη, και αυτό θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως στοιχείο για την ανίχνευση διασταυρούμενης ανθεκτικότητας μεταξύ των ανθεκτικών στην πενικιλιλινάση πενικιλινών.
4. Οι *σταφυλόκοκκοι* που εξετάζονται έναντι της πενικιλιλίνης G θα πρέπει επίσης να εξετάζονται για την παραγωγή β-λακταμάσης, ειδικά σε στελέχη με οριακές ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) (0,06 έως 0,25 µg/mL). Εάν αυτά τα στελέχη έχουν θετικό αποτέλεσμα στην εξέταση για β-λακταμάση, θα πρέπει να διενεργηθεί μια επαναληπτική εξέταση για να διασφαλιστεί η αναφορά της ανθεκτικότητας.
5. Η ισχνή ανάπτυξη μη εντεροκοκκικών στελεχών *στρεπτόκοκκου* σε υγρό θρεπτικό μέσο Mueller-Hinton μπορεί να παράσχει αναξιόπιστα αποτελέσματα με τις αμινογλυκοσίδες.
6. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν για αρνητικούς στην κοαγκουλάση και ευαίσθητους στην οξακιλλίνη *σταφυλόκοκκους* με την κλαριθρομυκίνη έχουν επιδείξει ασυμφωνίες στις ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) συγκριτικά με μια ολονύχτια μέθοδο αναφοράς. Εάν ο αντιμικροβιακός παράγοντας είναι κρίσιμος για την περίθαλψη του ασθενούς, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εναλλακτική διαδικασία, διαφορετικά δεν θα πρέπει να αναφερθεί ο αντιμικροβιακός παράγοντας.
7. Η κεφδινίρη έχει καταδειχθεί ότι είναι δραστική έναντι των περισσότερων στελεχών των ευαίσθητων στη μεθικιλίνη *S. Aureus* (MSSA) και *Streptococcus pyogenes* σε κλινικές λοιμώξεις. Εξακριβώθηκε συσχετισμός *in vitro* για τα *S. epidermidis* (MSSE) και *Streptococcus agalactiae*. Τέτοιου είδους δραστηριότητα δεν έχει εξακριβωθεί για

- οποιονδήποτε άλλον οργανισμό κατάλληλο για την πλάκα Gram-θετικών οργανισμών.
8. Το σύστημα Autoreader/OptiRead δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την ερμηνεία της τριμεθοπρίμης/σουλφαμεθοξαζόλης (SXT) με CNS. Η ερμηνεία της SXT θα πρέπει να πραγματοποιείται μη αυτόματα
 9. Η κλινική σημασία της κεφδινίρης είναι άγνωστη και δεν υπάρχουν εγκεκριμένες κύριες «Ενδείξεις χρήσης». Για την αναφορά αποτελεσμάτων που έχει καταδειχθεί ότι είναι κατά ομάδων οργανισμών τόσο *in vitro* όσο και σε κλινικές λοιμώξεις, ανατρέξτε στο έγγραφο M100 του CLSI.
 10. Η απουσία επί του παρόντος απομονωθέντων στελεχών ανθεκτικών στην τιγκεκυκλίνη και τη γεμιφλοξακίνη αποκλείει τον καθορισμό οποιουδήποτε αποτελέσματος εκτός της κατηγορίας «ευαίσθητο». Τα απομονωθέντα στελέχη που αποδίδουν αποτελέσματα ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) τα οποία υποδηλώνουν ότι ανήκουν στην κατηγορία «Μη ευαίσθητο» θα πρέπει να υποβάλλονται σε ένα εργαστήριο αναφοράς για περαιτέρω εξέταση.
 11. Η ανθεκτικότητα δεν πρέπει να αναφέρεται για τους ακόλουθους συνδυασμούς οργανισμού/αντιμικροβιακού, λόγω έλλειψης ανθεκτικών απομονωθέντων στελεχών κατά το χρόνο της εξέτασης

Οργανισμός	Αντιμικροβιακός παράγοντας
Gram-θετικοί	Λινεζολίδη, Μοξιφλοξακίνη, Γατιφλοξακίνη, Τιγκεκυκλίνη, Γεμιφλοξακίνη
Είδη <i>Staphylococcus</i>	Αμπικικιλίνη/σουλβακτάμη
Είδη <i>Enterococcus</i>	Αμοξικιλίνη/κλαβουλανικό οξύ
Είδη <i>Enterococcus</i> Είδη <i>Staphylococcus</i> Είδη <i>Streptococcus</i>	Δαπτομυκίνη

Η ικανότητα του συστήματος Sensititre να ανιχνεύει την ανθεκτικότητα ή τη μη ευαισθησία στα ακόλουθα αντιμικροβιακά είναι άγνωστη, καθώς ο αριθμός των διαθέσιμων ανθεκτικών ή μη ευαίσθητων στελεχών ήταν ανεπαρκής κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης. Αν παρατηρηθεί ένα τέτοιο στέλεχος, το στέλεχος θα πρέπει να αποσταλεί σε εργαστήριο αναφοράς για περαιτέρω εξέταση.

Οργανισμός	Αντιμικροβιακός παράγοντας
Gram-θετικοί	Μοξιφλοξακίνη, Γατιφλοξακίνη,
<i>Staphylococcus aureus</i> (απομονωθέντα στελέχη ευαίσθητα μόνο στη μεθικιλίνη και την ερυθρομυκίνη)	Τελιθρομυκίνη
<i>Staphylococcus aureus</i>	Δοξυκυκλίνη

Είδη <i>Streptococcus</i>	Ερταπενέμη
<i>S. pyogenes</i>	Δοξυκυκλίνη
<i>Staphylococcus aureus</i> (απομονωθέντα στελέχη ανθεκτικά στη μεθικιλίνη και παράλληλα ευαίσθητα στη μεθικιλίνη)	Δαλβαβανκίνη, Οριταβανκίνη, Τελαβανκίνη
<i>Enterococcus faecalis</i> (ευαίσθητα μόνο στη βανκομυκίνη – VSE)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (απομονωθέντα στελέχη ανθεκτικά στη μεθικιλίνη και ευαίσθητα στη μεθικιλίνη) <i>Enterococcus faecalis</i>	Τεδιζολίδη

12. Οι πλάκες ευαισθησίας ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) Sensititre 18-24 ωρών μπορούν να ανιχνεύουν την ανθεκτικότητα στη βανκομυκίνη στα ανθεκτικά στη βανκομυκίνη (VRSA) στελέχη του *S. aureus* που υπήρχαν διαθέσιμα κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης. Η ικανότητα των πλακών ευαισθησίας ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) Sensititre 18-24 ωρών να ανιχνεύουν την ανθεκτικότητα στη βανκομυκίνη σε άλλα στελέχη του *S. aureus* είναι άγνωστη, λόγω του περιορισμένου αριθμού ανθεκτικών στελεχών που υπήρχαν διαθέσιμα για συγκριτική εξέταση.
13. Η γεμιφλοξακίνη παρουσιάζει ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MIC) *in vitro* της τάξης των 0,25 µg/mL ή χαμηλότερες έναντι των περισσότερων ($\geq 90\%$) στελεχών των ακόλουθων μικροοργανισμών: *Staphylococcus aureus* (μόνο στελέχη ευαίσθητα στη μεθικιλίνη) και *Streptococcus pyogenes*. Ωστόσο, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της γεμιφλοξακίνης στη θεραπεία κλινικών λοιμώξεων που οφείλονται σε αυτούς τους μικροοργανισμούς δεν έχει εξακριβωθεί σε επαρκείς και καλά ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές.
14. Χρησιμοποιήστε εναλλακτική μέθοδο εξέτασης με αίμα αλόγου που έχει υποστεί λύση για την εξέταση για *S. Pyogenes*, όταν δεν παρατηρείται ανάπτυξη ή παρατηρείται ισχνή ανάπτυξη στο βοθρίο θετικού μάρτυρα ανάπτυξης.
15. Η ικανότητα του συστήματος Sensititre να ανιχνεύει την ανθεκτικότητα του *S. aureus* στη μινוקυκλίνη είναι άγνωστη, καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα ανθεκτικά στελέχη κατά το χρόνο της συγκριτικής εξέτασης.
16. Χρησιμοποιήστε την πλάκα Sensititre για απαιτητικούς οργανισμούς ως μέθοδο εξέτασης με αίμα αλόγου που έχει υποστεί λύση για την εξέταση του είδους *Streptococcus*, όταν δεν παρατηρείται ανάπτυξη ή παρατηρείται ισχνή ανάπτυξη στο βοθρίο θετικού μάρτυρα ανάπτυξης της πλάκας Sensititre για μη απαιτητικούς οργανισμούς.
17. Έχουν διεξαχθεί μελέτες με χρήση του συστήματος AutoInoculator/AIM. Κατά την εξέταση για τελαβανκίνη ή μινוקυκλίνη, εάν χρησιμοποιείται εναλλακτικό σύστημα ενοφθαλμισμού, επικυρώστε την απόδοση του εναλλακτικού συστήματος ενοφθαλμισμού με δοκιμή ποιοτικού ελέγχου και εκτελέστε μετρήσεις βιώσιμων αποικιών.
18. Έχουν διεξαχθεί μελέτες με χρήση του συστήματος AutoInoculator/AIM. Κατά την εξέταση για κεφταρολίνη, εάν χρησιμοποιείται εναλλακτικό σύστημα ενοφθαλμισμού, επικυρώστε την απόδοση του εναλλακτικού συστήματος ενοφθαλμισμού με δοκιμή ελέγχου ποιότητας και εκτελέστε μετρήσεις αποικιών.
19. Η απόδοση της οριταβανκίνης με τα *S. aureus* και *E. faecalis* διεξήχθη με χρήση του

αυτόματου συστήματος ενοφθαλμισμού AIM. Η χρήση εναλλακτικού συστήματος ενοφθαλμισμού κατά την εξέταση της οριταβανκίνης δεν έχει αξιολογηθεί.

20. Λόγω της έλλειψης ερμηνείας ως κατηγορία ενδιάμεσης ευαισθησίας και ανθεκτικότητας για την οριταβανκίνη, υπάρχει ενδεχομένως πολύ σημαντικό ποσοστό σφάλματος. Παρουσιάστηκαν 3 απομονωθέντα στελέχη από 9 μη ευαίσθητα απομονωθέντα στελέχη που ανέφεραν μία αραίωση διπλασιασμού χαμηλότερη από την αναφορά. Χρησιμοποιήστε εναλλακτική μέθοδο εξέτασης πριν από την αναφορά αποτελεσμάτων για *S. aureus* και *E. faecalis* με την οριταβανκίνη, όταν η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) Sensititre είναι 0,12 µg/mL (όριο ευαισθησίας), εάν αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την περίθαλψη του ασθενούς.

ΑΠΟΔΟΣΗ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: Διαδικασία μέτρησης αποικιών

Οι 2 μέθοδοι που παρατίθενται παρακάτω μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθορισμό του αριθμού των βιώσιμων αποικιών.

Άμεση μέθοδος

1. Αμέσως μετά τον εμβολιασμό μιας πλάκας, χρησιμοποιώντας κρίκο 1 µL, λάβετε δείγμα από το βοηθίο θετικού μάρτυρα ανάπτυξης και ενοφθαλμίστε το σε άγαρ αίματος.
2. Με έναν άλλο κρίκο (1 µL), λάβετε δείγμα από το ίδιο βοηθίο ανάπτυξης και αναμίξτε με 50 µL στείρου απιονισμένου νερού. Ενοφθαλμίστε 1 µL αυτού του διαλύματος σε ένα τρυβλίο με άγαρ αίματος για να εξασφαλίσετε μετρήσιμες αποικίες.
3. Επώαστε και τα δύο τρυβλία στους 34-36°C ολονυχτίς υπό κατάλληλες συνθήκες.
4. Προχωρήστε στην ερμηνεία ως εξής:

Προοριζόμενο ενοφθάλμισμα	Αριθμός αποικιών	Αριθμός αποικιών	
		Πλάκα 0,001	0,001 από 1/50
<u>αραίωση</u>			
1 x 10 ⁴	5 x 10 ³ - 5 x 10 ⁴	5-50	0
1 x 10 ⁵	5 x 10 ⁴ - 5 x 10 ⁵	50 - 500	1 - 10
5 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵ - 2,5 x 10 ⁶	250 - 2500	5 - 50

Έμμεση μέθοδος

1. A. Για ενοφθάλμισμα 1x10⁵ cfu/ml

Χρησιμοποιώντας το στείρο ρύγχος μιας πιπέτας, μεταφέρετε 100 µL καλλιέργειας από το υγρό θρεπτικό μέσο σε έναν πρόσφατα παρασκευασμένο σωλήνα 10 mL με υγρό θρεπτικό μέσο και επισημάνετε τον ως σωλήνα Α.

B. Για ενοφθάλμισμα 5x10⁵ cfu/ml

Χρησιμοποιώντας το στείρο ρύγχος μιας πιπέτας, μεταφέρετε 10 µL καλλιέργειας από το υγρό θρεπτικό μέσο σε έναν πρόσφατα παρασκευασμένο σωλήνα 10 mL με υγρό θρεπτικό μέσο και επισημάνετε τον ως σωλήνα Α.

- Χρησιμοποιώντας το στείρο ρύγχος μιας πιπέτας, μεταφέρετε 100 µL από το σωλήνα Α στην επιφάνεια ενός κατάλληλα επισημασμένου τρυβλίου αίματος που φέρει ένδειξη ημερομηνίας.
- Χρησιμοποιώντας έναν στείρο κρίκο ενοφθαλμισμού, διασπείρετε αυτά τα 100 µL καλλιέργειας κατά μήκος ολόκληρης της επιφάνειας του τρυβλίου.
- Επωάστε το τρυβλίο στους 34-36 °C για 18-24 ώρες.
- Μετρήστε τις αποικίες στο τρυβλίο και πολλαπλασιάστε με 10^3 (1×10^5 cfu/mL) ή 10^4 (5×10^5 cfu/mL) για να λάβετε τον αριθμό βιώσιμων αποικιών του αρχικού εναιωρήματος.

Για ενοφθάλμισμα 1×10^5 cfu/ml	Για ενοφθάλμισμα 5×10^5 cfu/ml
Εύρος μέτρησης βιώσιμων αποικιών = 5×10^4 - 5×10^5 cfu/mL	Εύρος μέτρησης βιώσιμων αποικιών = $2,5 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^6$ cfu/mL

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Μέθοδοι εξέτασης αντιμικροβιακής ευαισθησίας αραίωσης για βακτήρια που αναπτύσσονται αερόβια, Εγκεκριμένο πρότυπο M7. Ινστιτούτο κλινικών και εργαστηριακών προτύπων (CLSI).
- Πρότυπα απόδοσης για εξέταση αντιμικροβιακής ευαισθησίας: Ενημερωτικό συμπληρωματικό έγγραφο M100. Ινστιτούτο κλινικών και εργαστηριακών προτύπων (CLSI).

ΔΗΛΩΣΗ ΑΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΥΘΥΝΩΝ

Οι πληροφορίες που παρέχονται στο παρόν τεχνικό φυλλάδιο ισχύουν κατά τη στιγμή της εκτύπωσης και ενδέχεται να τροποποιηθούν χωρίς ειδοποίηση.

Οι πιο πρόσφατες τεχνικές πληροφορίες παρέχονται προς λήψη στον ιστότοπο www.TREKDS.com/techinfo ή μέσω επικοινωνίας με την τεχνική υποστήριξη της Thermo Fisher Scientific Microbiology .



Νόμιμος κατασκευαστής:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Ηνωμένο Βασίλειο
Τηλ.: +44-1342-318777



Το έμβλημα ATCC Licensed Derivative®, το λεκτικό σήμα ATCC Licensed Derivative® και τα

σήματα καταλόγου ATCC αποτελούν εμπορικά σήματα της ATCC. Η Thermo Fisher Scientific Inc.

διαθέτει άδεια χρήσης αυτών των εμπορικών σημάτων και πώλησης προϊόντων που προέρχονται

από καλλιέργειες ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Η ονομασία ATCC είναι εμπορικό σήμα της ATCC. Όλα τα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία της Thermo Fisher Scientific Inc. και των θυγατρικών εταιρειών της.

Διευθύνσεις ηλεκτρονικού ταχυδρομείου Τεχνικής Υποστήριξης

Αυστρία	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Βέλγιο	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Τσεχική Δημοκρατία	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Δανία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Γαλλία	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Φινλανδία	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Γερμανία	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Ιταλία	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Κάτω Χώρες	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Νορβηγία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Ισπανία	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Σουηδία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Τεχνική υποστήριξη ΗΒ	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Notice d'utilisation

Plaques de sensibilité Sensititre™ Thermo Scientific™ pour analyse d'isolats de bactéries à Gram négatif et Gram positif non exigeantes

039-NFAST ROW Only -CID9494
Date de révision : 13 Décembre 2018

Plaques de sensibilité Sensititre™ pour analyse d'isolats de bactéries à Gram négatif et Gram positif non exigeantes

Sensititre 18 à 24 heures

Pour diagnostic *in vitro*

Pour des informations complètes sur les plaques, notamment le schéma de plaque, les informations de contrôle qualité, les critères d'interprétation, les données de performance et les références, reportez-vous au site www.trekds.com/techinfo. Vous devez connaître le type de plaque et son numéro de lot.

UTILISATION PRÉVUE

Le système de sensibilité Sensititre, basé sur la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration critique, est un test diagnostique *in vitro* pour l'analyse de la sensibilité clinique d'isolats de bactéries à Gram négatif non exigeantes, comprenant les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres bactéries n'appartenant pas à la famille des *Enterobacteriaceae*, et d'isolats de bactéries à Gram positif non exigeantes, comprenant les espèces *Staphylococcus*, *Enterococcus*, et les streptocoques bêta-hémolytiques autres que *S. pneumoniae*. La plaque de confirmation BLSE Sensititre est un test diagnostique *in vitro* pour la détection de bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) dans les isolats cliniques de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* et *Escherichia coli*. Les plaques CMI et BLSE peuvent être lues manuellement ou automatiquement sur un lecteur de plaques Autoreader/OptiRead ou ARIS Sensititre. Les produits fabriqués par Thermo Scientific n'ont été validés qu'avec les bouillons Sensititre.

RÉSUMÉ ET PRINCIPES D'UTILISATION

Chaque plaque comporte des agents antimicrobiens à des dilutions appropriées. Les résultats sont lus manuellement, par observation visuelle de la croissance, ou automatiquement sur un lecteur de plaque Autoreader/OptiRead/ARIS qui mesure la fluorescence.

Les systèmes Autoreader/OptiRead Sensititre, basés sur la technologie de fluorescence, détectent la croissance bactérienne en mesurant l'activité d'enzymes de surface spécifiques produites par l'organisme testé. L'activité de ces enzymes est évaluée par la génération d'un produit fluorescent à partir d'un substrat non fluorescent (fluorogène). Le substrat non fluorescent est préparé par ajout d'un composé fluorescent (fluorophore) aux substrats spécifiques des enzymes cibles au moyen d'une liaison qui empêche la fluorescence. Le fluorophore est dit « inhibé » ou « supprimé » (en anglais : « quenched »). L'activité des enzymes présentes à la surface des bactéries aboutit au clivage de cette liaison sur leurs substrats cibles, libérant ainsi le fluorophore qui émet alors de la fluorescence. La quantité de fluorescence détectée est directement liée à l'activité des enzymes de la surface bactérienne et donc à la croissance bactérienne.

Seules les plaques dont le nom contient le suffixe F peuvent être lues automatiquement.

PRÉCAUTIONS

Seuls les instruments pris en charge par Sensititre (à savoir, un lecteur manuel simple, ou les systèmes Sensitouch, Vizion, Autoreader/OptiRead et ARIS Sensititre) doivent être utilisés pour produire les résultats de tests Sensititre homologués CE IVD et FDA. La

validité des résultats produits avec tout autre système ne pourra être garantie. Les résultats doivent être considérés comme une aide pour optimiser le choix du médicament utilisé pour traiter le patient. Ce produit est destiné à un usage diagnostique *in vitro* et doit être utilisé par du personnel correctement formé. Des précautions doivent être prises pour se prémunir contre les risques microbiologiques en stérilisant correctement les échantillons, les récipients, les milieux et les plaques de test après utilisation. Ces instructions doivent être lues attentivement et appliquées avec soin.

STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION

Stockez les plaques de sensibilité Sensititre dans leur emballage d'origine à une température de 15 à 25 °C et à l'abri de la lumière directe du soleil et de la chaleur jusqu'à leur utilisation. Chaque plaque est emballée dans un sachet en aluminium avec un agent déshydratant. Les plaques ne doivent pas être utilisées après la date d'expiration, si l'agent déshydratant n'est pas de couleur orange, ou si le sachet en aluminium est abîmé. Les plaques doivent être inoculées dans les 5 heures suivant leur retrait du sachet.

COLLECTE ET PRÉPARATION D'ÉCHANTILLONS

Les échantillons doivent être prélevés et manipulés conformément aux directives recommandées.

Matériel inclus

10 plaques Sensititre™ avec substrat dans les puits
10 films adhésifs perforés

Matériel non inclus [Code produit] :

Bouillon :

- Eau déminéralisée Sensititre™ [T3339]
- Bouillon Mueller-Hinton à teneur en cations contrôlée Sensititre™ avec tampon TES (CAMHBT) [T3462]

Turbidité :

- Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- Standard de turbidité, à base de polymère, 0,5 sur l'échelle de McFarland [E1041]

Inoculation de la plaque :

- Têtes de dosage Sensititre AIM pour inoculation de plaque [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / système Autoinoculator Sensititre*

Lecture de la plaque :

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] ou ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Visionneuse manuelle Sensititre [V4007]

Autre matériel :

- Réservoir d'inoculum stérile
 - Souches de contrôle qualité (se reporter au Tableau 1)
 - Incubateur réglé à une température de 34 à 36 °C
 - Agitateur Vortex
 - Documents actualisés CLSI, EUCAST ou directives locales
- *N'est plus disponible dans le commerce ou n'est plus pris en charge

SÉLECTION DU BOUILLON POUR LE TEST DE SENSIBILITÉ

Le bouillon Thermo Scientific Sensititre est validé avec les plaques de sensibilité Sensititre.

PROCÉDURES D'INOCULATION DES PLAQUES SENSITITRE

Laissez tous les bouillons s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.

Inoculum standard

Pour toutes les plaques, prélevez 3 à 5 colonies d'isolats non exigeants sur une plaque de gélose primaire fraîchement préparée, émulsifiez les isolats dans de l'eau stérile et ajustez la densité bactérienne à l'aide d'un standard McFarland 0,5. Mélangez bien.

Transférez 10 µl de la suspension McFarland dans un tube de 11 ml de bouillon Mueller-Hinton à teneur en cations contrôlée avec tampon TES. Passez à l'étape 2.

Méthode de l'inoculum majoré

Selon les souches analysées, l'utilisation de 30 µl peut faciliter la détection des mécanismes de résistance.

Pour les isolats de bactéries à Gram positif et négatif, le transfert de 30 µl de suspension dans un tube de 11 ml de bouillon Mueller-Hinton Sensititre aboutit à un nombre de colonies compris dans la plage Sensititre homologuée entre $5,0 \times 10^4$ et $5,0 \times 10^5$ UFC/ml. Passez à l'étape 2.

Proteus, Providencia et Morganella

Pour la tribu *Proteae* (comprenant les espèces *Proteus*, *Providencia* et *Morganella morganii*), effectuez un transfert d'1 µl dans le bouillon.

2. Transférez 50 µl de la suspension de bouillon sur la plaque dans les 30 minutes suivant sa préparation à l'aide de l'un des moyens suivants :

1. **AutoInoculator / AIM Sensititre.** Remplacez le bouchon du tube par une tête de dosage à usage unique Sensititre et inoculez la plaque conformément aux instructions du système AutoInoculator / AIM. Retirez l'ensemble tube à essai-tête de dosage des systèmes AutoInoculator / AIM dans les 30 secondes suivant l'inoculation d'une plaque.
2. **Pipette manuelle.** Versez le bouillon dans un réservoir de pipetage stérile et inoculez la plaque à l'aide d'une pipette appropriée.
3. Contrôlez la pureté de tous les inocula finaux après l'inoculation de la plaque.
4. Vérifiez périodiquement le nombre de colonies (voir l'Annexe 1). L'inoculum préparé à partir des isolats doit correspondre à 1×10^5 UFC/ml, (plage allant de $5,0 \times 10^4$ à $5,0 \times 10^5$), sauf pour les isolats de la tribu *Proteae* dont l'inoculum doit être de 1×10^4 UFC/ml (plage allant de $5,0 \times 10^3$ à $5,0 \times 10^4$).
5. Couvrez tous les puits de chaque plaque avec le film adhésif fourni. Évitez les plis car ils peuvent être à l'origine de sauts de puits.
6. Les plaques doivent être inoculées dans les 5 heures suivant leur déballage.

INCUBATION

Tous les organismes aérobies non exigeants doivent être incubés entre 34 °C et 36 °C pendant 18 à 24 heures, soit dans le système ARIS, soit dans un incubateur sans CO₂.

- Pour garantir la détection des *Enterococci* résistants à la vancomycine et des *Staphylococci* résistants à l'oxacilline, incubez pendant 24 heures.
- Les espèces *Acinetobacter*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia* doivent être incubées pendant 20 à 24 heures.

Si vous n'utilisez pas un système ARIS, les plaques scellées peuvent être empilées par 3, au maximum, dans l'incubateur.

Résumé de la préparation et de l'incubation des plaques

Groupe d'organismes	Milieu de suspension McFarland	Inoculum final prévu* (UFC/ml)	Volume d'inoculum transféré	Bouillon	Reconstitution sur plaque	Conditions d'incubation	Durée d'incubation (heures)
Bactéries à Gram négatif non exigeantes	Eau	1×10^7	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18 à 24
Bactéries à Gram positif non exigeantes	Eau	1×10^7	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18 à 24
Inoculum majoré pour les organismes à Gram négatif et à Gram positif**	Eau	3×10^5	30 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18 à 24
Tribu <i>Proteae</i>	Eau	1×10^7	1 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18 à 24

* Voir l'Annexe 1 pour les plages d'inocula

** Selon les souches testées, l'utilisation d'un volume plus important de 30 µl peut faciliter la détection des mécanismes de résistance

LECTURE DES RÉSULTATS DE TEST

Contrôlez la pureté des plaques de test. Les résultats sont non valides en cas de culture mixte.

1. Lecture automatique

Les plaques peuvent être lues sur les systèmes AutoReader/OptiRead ou ARIS conformément aux instructions contenues dans le manuel de l'utilisateur correspondant ou dans les fichiers SWIN HELP.

Les plaques Sensititre destinées uniquement à une lecture manuelle, ou sur lecteurs Sensitouch ou Vizion, ne peuvent pas être lues sur les systèmes AutoReader/OptiRead ou ARIS.

2. Lecture manuelle

Après incubation, les résultats peuvent être lus avec le lecteur de plaque manuel ou le lecteur Vizion Sensititre. Reportez-vous au manuel de l'utilisateur correspondant. Il n'est pas nécessaire de retirer le film adhésif avant de procéder à la lecture. La croissance prend la

forme d'une turbidité ou d'un dépôt de cellules au fond du puits. La CMI enregistrée représente la concentration minimale d'agent antimicrobien permettant d'inhiber la croissance visible. Il est possible d'améliorer la lecture d'une croissance faible sur le système Vizion en ajustant l'éclairage. Il convient de lire d'abord les puits correspondant aux contrôles positifs de croissance. Si l'un des contrôles positifs ne présente aucune croissance, les résultats ne sont pas valides.

Les points suivants sont à garder à l'esprit :

a. Atténuation progressive de la croissance

Pour la plupart des combinaisons organisme-agent antimicrobien, la croissance est nettement inhibée à une concentration donnée. Toutefois, dans certains cas, il est possible d'observer une atténuation progressive de la croissance sur 2 ou 3 puits. Dans ces cas, la CMI est la concentration correspondant au premier puits où la croissance est visiblement inhibée, à l'exception des sulfamides et du linézolide pour lesquels la CMI doit correspondre à une diminution de 80 à 90 % de la croissance par rapport au puits du contrôle positif.

b. Contamination

En cas de contamination, un puits peut afficher une croissance alors que les puits avoisinants ne présentent pas de croissance. Une telle contamination, ne touchant qu'un seul puits, peut être ignorée, mais si vous suspectez la présence de contaminants dans de nombreux puits, il convient de recommencer le test.

c. Saut de puits

De temps en temps, vous pouvez observer un « saut de puits » : un puits sans croissance entouré de puits présentant une croissance. Plusieurs raisons peuvent l'expliquer : contamination, mutation, film adhésif plié ou mauvais alignement lors de l'ensemencement. Vous pouvez ignorer un saut de puits unique. Cependant, afin d'assurer une thérapie antimicrobienne efficace, ne lisez JAMAIS le puits sauté comme la CMI ; retenez toujours la concentration d'agent antimicrobien la plus basse au-dessus de laquelle il n'y a invariablement pas de croissance.

d. Cultures mixtes

Sauf dans le cas (a) ci-dessus, si vous observez deux concentrations d'inhibition différentes sous l'aspect d'un « bouton » net de cellules suivi par plusieurs puits de croissance diffuse dans lesquels le « bouton » n'est plus visible (ou plus petit), il peut s'agir d'une population mixte de différentes bactéries. Vérifiez la pureté de l'inoculum en étalant les différents composants du mélange sur des plaques de gélose appropriée. Les résultats du test sont non valides si une culture mixte est détectée.

3. Informations supplémentaires

Résultats de CMI pour confirmer la présence de bactéries BLSE

Pour confirmer la présence de bactéries BLSE : la CMI de l'agent antimicrobien testé en combinaison avec l'acide clavulanique doit être réduite par un facteur d'au moins 3 par rapport à la CMI de l'agent antimicrobien testé seul. Exemple : CMI de la ceftazidime = 8 µg/ml, CMI de la ceftazidime/l'acide clavulanique = 1 µg/ml. Pour en savoir plus, reportez-vous aux critères CLSI M7.

Test à la céfoxitine

Le test de sensibilité à la céfoxitine (6 µg/ml) permet de prédire la présence de la résistance médiée par *mecA* chez *Staphylococcus aureus*. Les isolats pour lesquels la CMI de la céfoxitine est > 6 (croissance positive) doivent être considérés comme étant résistants à l'oxacilline. Les isolats pour lesquels la CMI de la céfoxitine est ≤ 6 (absence de croissance) doivent être considérés comme étant sensibles à l'oxacilline.

Test de microdilution en bouillon (Test D)

Le test de microdilution en bouillon convient aux espèces *Staphylococcus* résistantes à l'érythromycine (CMI ≥ 8 µg/ml) et sensibles ou intermédiaires à la clindamycine (CMI ≤ 2 µg/ml). Si, avec ces isolats, la microdilution 1 (4/0,5 µg/ml) ou la microdilution 2 (8/1,5 µg/ml), ou bien les deux microdilutions sont positives (croissance), les isolats doivent être considérés comme positifs pour la résistance inducible à la clindamycine. Si, avec ces isolats, il n'y a aucune croissance pour ces deux microdilutions, les isolats doivent être considérés comme négatifs pour la résistance inducible à la clindamycine. En cas de résistance à l'érythromycine, de sensibilité à la clindamycine et que le test de microdilution est négatif après 18 heures d'incubation, répétez la lecture après 24 heures d'incubation.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Pour l'interprétation des résultats, reportez-vous aux directives CLSI et EUCAST pour l'interprétation de CMI ou aux directives standard locales.

La plaque peut contenir des agents antimicrobiens dont l'efficacité contre l'infection par tous les organismes testés n'a pas été démontrée. Reportez-vous à la notice de chaque agent antimicrobien pharmaceutique homologué par la FDA pour interpréter et générer les résultats pour les agents antimicrobiens dont l'activité contre les groupes d'organismes a été démontrée *in vitro* et en pratique clinique.

Lors de la lecture automatique des résultats, le logiciel applique des critères d'interprétation basés sur les directives CLSI, EUCAST ou FDA, selon la configuration du logiciel.

Lors de la communication de résultats de tests de confirmation relatifs à la présence de bactéries productrices de BLSE, reportez-vous aux directives M100 du CLSI : Screening and Confirmatory Tests for ESBL's in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli* (Tests de détection et de confirmation de BLSE chez *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* et *Escherichia coli*) afin d'interpréter les résultats de manière appropriée.

Concentrations critiques

La recherche de la concentration critique (« breakpoint » en anglais) est une méthode de dilution en bouillon pour les analyses de sensibilité qualitatives. Le système de concentration critique Sensititre a été développé pour fournir une méthode simple et standardisée pour les tests de sensibilité basée sur le concept de concentrations critiques. Une concentration critique est par définition la concentration d'un antibiotique qui inhibe la croissance d'un organisme sensible mais pas d'un organisme résistant. Pour la plupart des agents antimicrobiens, deux concentrations sont utilisées : une concentration basse, correspondant à la limite supérieure de la catégorie sensible, et une concentration haute, correspondant à la limite supérieure de la catégorie intermédiaire.

Interprétation des concentrations critiques pour les agents antimicrobiens présents en 1 ou 2 concentrations.

Résultat	Interprétation Une concentration	Interprétation Deux concentrations
Absence de croissance	Sensible	-
Croissance	Résistant	-
Absence de croissance aux deux concentrations	-	Sensible
Croissance avec la concentration basse seulement	-	Intermédiaire
Croissance aux deux concentrations	-	Résistant
Croissance avec la concentration haute seulement	-	Non valide - À refaire

CONTRÔLE QUALITÉ

1. La fréquence des analyses de contrôle qualité doit être définie selon les pratiques habituelles du laboratoire.
2. L'inoculum doit être étalé sur un milieu de culture approprié afin d'en vérifier la pureté. Les résultats du test sont non valides si une culture mixte est détectée.
3. Toutes les plaques Sensititre comportent des puits de contrôle positif. Les tests ne sont valides que si une croissance est détectée dans tous les puits des contrôles positifs. Certains formats de plaque comprennent également un puits de contrôle négatif, où aucune croissance ne doit être observée. Ce puits peut, dans certains cas, être utilisé pour l'étalonnage des systèmes AutoReader/Optiread ; il n'est pas nécessaire à la lecture manuelle.
4. Plusieurs facteurs contribuent à l'obtention de CMI correctes, notamment l'utilisation de 3 à 5 colonies issues d'une culture pure sur plaque de gélose de 16 à 24 heures, une densité d'inoculum standardisée réalisée à l'aide de notre standard McFarland et d'un néphélomètre, la température et le bouillon. En pratique, les CMI de différents réplicats d'un même inoculum sont réparties selon une distribution normale avec la majorité des résultats situés à une dilution près de la valeur modale.
5. Les organismes-témoins listés dans les tables de contrôle qualité sont recommandés pour le suivi de la procédure du test de sensibilité et pour vérifier l'activité des agents antimicrobiens. Reportez-vous aux tables de contrôle qualité pour connaître les résultats de contrôle qualité attendus. La procédure de test est considérée satisfaisante si les résultats de sensibilité obtenus avec les organismes-témoins sont compris dans les plages établies. **Ne communiquez pas** les résultats si les résultats de contrôle qualité sont en dehors des plages définies pour une combinaison médicament-bactérie.
6. Pour les combinaisons organisme/agent antimicrobien suivantes, les plages de contrôle qualité diffèrent des plages recommandées par le CLSI : *E. coli* (ATCC® 25922™) contre céfotétan, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) contre mezlocilline, *S. aureus* (ATCC® 29213™) contre ampicilline, et pénicilline.

Contactez l'assistance technique Thermo Fisher Scientific spécialisée en microbiologie en cas de divergences de contrôle qualité non résolues (Les coordonnées sont disponibles ci-dessous.).

LIMITES

- Seules des personnes qualifiées en pratique clinique sont en mesure d'interpréter correctement les résultats de test.

- Comme avec toutes les autres méthodes d'analyse de la sensibilité aux agents antimicrobiens, les résultats générés par les plaques de sensibilité Sensititre sont des résultats *in vitro*.
- L'analyse des organismes exigeants requiert des procédures spécialisées ; d'autres méthodes doivent donc être utilisées. La plaque CMI Sensititre *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* peut être utilisée pour tester les espèces *Haemophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae*. Reportez-vous à la notice technique Sensititre concernant les organismes exigeants ou les directives M7 du CLSI pour modifier de manière appropriée les procédures des tests de sensibilité.
- Les études ont été réalisées en utilisant les systèmes Autoinoculator / AIM. En cas d'utilisation d'un autre système d'inoculation pour l'analyse de la minocycline, doxycycline, télavancine, dalbavancine, oritavancine ou tédizolide, validez auparavant la performance de ce système d'inoculation en effectuant des tests de contrôle qualité et des dénombrements de colonies.

Limites avec les bactéries à Gram négatif

1. Les résultats de CMI obtenus avec *C. freundii* et le céfotétan présentent des divergences par rapport à une méthode de référence sur la nuit. Les résultats pour cet agent antimicrobien ne doivent donc pas être communiqués. Si l'agent antimicrobien est essentiel aux soins du patient, utilisez une autre méthode pour déterminer la CMI.
2. La reproductibilité intra-laboratoire des résultats de la combinaison amoxicilline-acide clavulanique avec la procédure Sensititre et une procédure de référence était inférieure à 95 %. Puisque la CMI dépend de la quantité de β -lactamases produite, la variabilité des résultats de CMI peut être attribuée à une variation de la quantité d'enzymes produites. La reproductibilité intra-laboratoire du céfotétan et des organismes à Gram négatif était également inférieure à 95 % entre la procédure Sensititre et la procédure de référence du CLSI.
3. La performance du système n'a pas été établie pour les espèces *Proteus* testées contre la pipéracilline/le tazobactam et la céfépime. Les résultats de ces tests ne doivent pas être communiqués pour des isolats cliniques.
4. Les résultats pour les espèces *Klebsiella* et les organismes non fermentescibles testés contre la pipéracilline/le tazobactam doivent être lus manuellement en raison de performances insuffisantes avec le système Autoreader/OptiRead.
5. Le système Autoreader/OptiRead ne doit pas être utilisé pour prédire la résistance à la céfpodoxime des espèces *Serratia*, car les essais cliniques ont révélé un taux d'erreur inacceptable lors de la lecture de cette combinaison organisme-agent antimicrobien.
6. Aucune « Indication principale » approuvée n'existe pour le céfdinir et sa signification clinique est inconnue. Lors de la communication de résultats montrant une activité contre des groupes d'organismes aussi bien *in vitro* qu'en pratique clinique, reportez-vous à la directive M100 du CLSI et à l'étiquette du médicament approuvée par la FDA.
7. Ne signalez pas une résistance pour les combinaisons agents antimicrobiens-organismes suivantes en raison de l'absence d'isolats résistants lors de l'évaluation des tests.

Organisme	Agent antimicrobien
Espèces <i>Citrobacter</i>	Pipéracilline/tazobactam
Espèces <i>Serratia</i>	Pipéracilline/tazobactam
Espèces <i>Proteus</i>	Loméfloxacin et céfpodoxime

Espèces autres qu' <i>Enterobacteriaceae</i>	Lévofloxacin
--	--------------

8. La capacité du système Sensititre à détecter la résistance à la moxifloxacin et à la gatifloxacin est inconnue car il n'y avait pas de souches résistantes disponibles au moment de l'analyse comparative.
9. La tigécycline a une activité *in vitro* réduite contre les espèces *Morganella*, *Proteus* et *Providencia*.
10. L'absence actuelle d'isolats résistants à la tigécycline et à la gémifloxacin oblige à qualifier tous les résultats comme étant « sensibles ». Les isolats donnant des résultats de CMI indicatifs de la catégorie « non sensible » doivent être transmis à un laboratoire de référence pour des analyses supplémentaires.
11. La gémifloxacin affiche des CMI *in vitro* inférieures ou égales à 0,25 µg/ml pour la plupart (≥ 90 %) des souches de microorganismes suivantes : *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* et *Proteus vulgaris*. Cependant, la sécurité d'emploi et l'efficacité de la gémifloxacin pour le traitement d'infections cliniques causées par ces microorganismes n'ont pas encore été établies par des essais cliniques appropriés et contrôlés.
12. L'absence actuelle d'isolats résistants au doripénème oblige à qualifier tous les résultats comme étant « sensibles ». Les isolats donnant des résultats de CMI indicatifs de la catégorie « non sensible » doivent être transmis à un laboratoire de référence pour des analyses supplémentaires.
13. La capacité du système Sensititre à détecter la résistance des espèces *Acinetobacter* à la minocycline est inconnue car il n'y avait pas de souches résistantes disponibles au moment de l'analyse comparative.
14. Les études ont été réalisées en utilisant les systèmes Autoinoculator / AIM. L'utilisation d'un autre système d'inoculation lors de l'analyse de la ceftaroline n'a pas été évaluée.
15. La capacité du système Sensititre à détecter la résistance de *Citrobacter koseri* à la ceftaroline est inconnue car il n'y avait pas de souches résistantes disponibles au moment de l'analyse comparative.
16. La ceftaroline n'est pas active contre les bactéries à Gram négatif produisant des β-lactamases à spectre étendu (BLSE) des familles TEM, SHV ou CTX-M, des sérine carbapénémases (comme KPC), des métallo-β-lactamases de classe B ou des céphalosporinases de classe C (AmpC).
17. La performance du système Sensititre n'est pas établie pour la combinaison ceftaroline / *Moraxella catarrhalis*. Les résultats de ces tests ne doivent pas être communiqués pour des isolats cliniques.

Limites avec les bactéries à Gram positif

1. Le système Autoreader/OptiRead peut être utilisé pour lire les résultats des *Staphylococci* et *Enterococci* à coagulase négative, à condition que l'étiquette de la plaque porte la mention « Pour lecture des isolats à Gram positif » et que les puits contiennent des substrats fluorogènes.
2. Le système Autoreader/OptiRead ne doit pas être utilisé pour lire les résultats de la nitrofurantoïne avec les espèces *Enterococcus*. Les résultats de la nitrofurantoïne doivent être lus manuellement. Il convient de réaliser un test à la nitrocéfine pour détecter les souches d'*Enterococci* produisant des β-lactamases.
3. Les plaques de sensibilité Sensititre sont configurées pour satisfaire aux recommandations du CLSI concernant la détection des *Staphylococci* résistants à la méticilline. Un supplément en sel de 2 % est ajouté à l'oxacilline. L'inoculum doit être préparé directement à partir d'une plaque de gélose incubée sur une nuit et non pas à partir d'un bouillon de culture frais. Il convient de noter que la plupart des *Staphylococci*

hétéro-résistants sont généralement résistants à de nombreux agents antimicrobiens, notamment les β -lactames, les aminoglycosides, les macrolides, la clindamycine, le chloramphénicol et la tétracycline, ce qui doit être utilisé comme un indice pour mieux détecter la résistance croisée parmi les pénicillines résistantes aux pénicillinases.

4. Les *Staphylococci* testés contre la pénicilline G doivent également faire l'objet d'une recherche de production de β -lactamases, en particulier pour les souches avec des CMI limites (0,06 à 0,25 μ g/ml). Si ces souches produisent des β -lactamases, le test doit être répété pour s'assurer que la résistance est détectée.
5. Une croissance faible des souches de *Streptococci* non entérocoques dans le bouillon Mueller-Hinton risque de donner des résultats peu fiables pour les aminoglycosides.
6. Les résultats de la combinaison clarithromycine avec les *Staphylococci* sensibles à l'oxacilline et à coagulase négative ont montré des CMI discordants par rapport à une méthode de référence sur la nuit. Si l'agent antimicrobien est essentiel aux soins du patient, utilisez une autre méthode ou ne communiquez pas les résultats pour cet agent antimicrobien.
7. Il a été démontré que le céfdinir était actif contre la plupart des souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline (SASM) et *Streptococcus pyogenes* responsables d'infections cliniques. Une corrélation *in vitro* a été établie pour *S. epidermidis* sensible à la méticilline et *Streptococcus agalactiae*. Une telle activité n'a pas été mise en évidence pour les autres organismes compatibles avec la plaque à Gram positif.
8. Le système Autoreader/OptiRead ne doit pas être utilisé pour lire les résultats de la combinaison triméthoprim/sulphaméthoxazole (SXT) et *Staphylococci* à coagulase négative. Les résultats avec SXT doivent être lus manuellement.
9. Aucune « Indication principale » approuvée n'existe pour le céfdinir et sa signification clinique est inconnue. Lors de la communication de résultats montrant une activité contre des groupes d'organismes aussi bien *in vitro* qu'en pratique clinique, reportez-vous à la directive M100 du CLSI.
10. L'absence actuelle d'isolats résistants à la tigécycline et à la gémifloxacine oblige à qualifier tous les résultats comme étant « sensibles ». Les isolats donnant des résultats de CMI indicatifs de la catégorie « non sensible » doivent être transmis à un laboratoire de référence pour des analyses supplémentaires.
11. Ne signalez pas une résistance pour les combinaisons agents antimicrobiens-organismes suivantes en raison de l'absence d'isolats résistants lors de l'évaluation des tests.

Organisme	Agent antimicrobien
Gram positif	Linézolide, moxifloxacine, gatifloxacine, tigécycline, gémifloxacine
Espèces <i>Staphylococcus</i>	Ampicilline/sulbactam
Espèces <i>Enterococcus</i>	Amoxicilline/acide clavulanique
Espèces <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> et <i>Streptococcus</i>	Daptomycine

La capacité du système Sensititre à détecter la résistance ou la non-sensibilité aux

agents antimicrobiens suivants est inconnue car le nombre de souches résistantes ou non-sensibles disponibles au moment du test comparatif était insuffisant. Si une telle souche est observée, soumettez-la à un laboratoire de référence pour d'autres épreuves.

Organisme	Agent antimicrobien
Gram positif	Moxifloxacine, gatifloxacine,
<i>Staphylococcus aureus</i> (isolats sensibles à la méticilline et à l'érythromycine uniquement)	Télithromycine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxycycline
Espèces <i>Streptococcus</i>	Ertapénème
<i>S. pyogenes</i>	Doxycycline
<i>Staphylococcus aureus</i> (isolats résistants et sensibles à la méticilline)	Télavancine, dalbavancine, oritavancine
<i>Enterococcus faecalis</i> (isolats sensibles à la vancomycine uniquement)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (isolats résistants et sensibles à la méticilline) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tédizolide

12. Les plaques de sensibilité CMI Sensititre 18 à 24 heures ont pu détecter la résistance à la vancomycine chez les souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine disponibles au moment du test comparatif. La capacité des plaques de sensibilité CMI Sensititre 18 à 24 heures à détecter la résistance à la vancomycine chez d'autres souches de *S. aureus* est inconnue car le nombre de souches résistantes disponibles au moment du test comparatif était insuffisant.
13. *In vitro*, la CMI de la gémifloxacine est inférieure ou égale à 0,25 µg/ml pour la plupart (≥ 90 %) des souches de microorganismes suivantes : *Staphylococcus aureus* (souches sensibles à la méticilline seulement) et *Streptococcus pyogenes*. Cependant, la sécurité d'emploi et l'efficacité de la gémifloxacine pour le traitement d'infections cliniques causées par ces micro-organismes n'ont pas encore été établies par des essais cliniques appropriés et contrôlés.
14. Lors de l'analyse de *S. pyogenes*, si une croissance faible ou bien aucune croissance n'est observée dans le puits du contrôle positif, utilisez une autre méthode avec du sang de cheval lysé.
15. La capacité du système Sensititre à détecter la résistance de *S. aureus* à la minocycline est inconnue car il n'y avait pas de souches résistantes disponibles au moment de l'analyse comparative.

16. Si seulement une croissance faible ou bien aucune croissance n'est observée dans le puits du contrôle positif de la plaque Sensititre pour espèces non exigeantes, utilisez la plaque Sensititre pour espèces exigeantes avec du sang de cheval lysé pour tester les espèces de *Streptococcus*.
17. Les études ont été réalisées en utilisant les systèmes Autoinoculator / AIM. En cas d'utilisation d'un autre système d'inoculation pour l'analyse de la minocycline ou de la télavancine, validez auparavant la performance de ce système d'inoculation en effectuant des tests de contrôle qualité et des dénombrements de colonies viables.
18. Les études ont été réalisées en utilisant les systèmes Autoinoculator / AIM. En cas d'utilisation d'un autre système d'inoculation pour l'analyse de la ceftaroline, validez auparavant la performance de ce système d'inoculation en effectuant des tests de contrôle qualité et des dénombrements de colonies.
19. Le système AutoInoculator/AIM a été utilisé pour évaluer la performance du système Sensititre pour les combinaisons oritavancine/*S. aureus* et *E. faecalis*. L'utilisation d'un autre système d'inoculation lors de l'analyse de l'oritavancine n'a pas été évaluée.
20. Le taux d'erreur potentiel est très important avec l'oritavancine en raison du manque d'interprétations pour les catégories Résistant et Intermédiaire. Pour 3 isolats non sensibles sur 9, il a été rapporté une dilution double inférieure à la référence. Si les résultats sont indispensables pour la santé du patient, utilisez une autre méthode de test avant de communiquer les résultats de *S. aureus* et *E. faecalis* avec l'oritavancine si la concentration critique déterminée avec le système Sensititre est de 0,12 µg/ml.

PERFORMANCE

ANNEXE 1 : Procédure de dénombrement des colonies

Vous pouvez utiliser les deux méthodes exposées ci-dessous pour déterminer le nombre de colonies viables.

Méthode directe

1. Immédiatement après l'inoculation d'une plaque, prélevez à l'aide d'une anse d'1 µl un échantillon dans le puits de contrôle positif et ensemencez-le sur de la gélose au sang.
2. Avec une autre anse d'1 µl, prélevez un échantillon dans le même puits de contrôle positif et mélangez-le avec 50 µl d'eau déionisée stérile. Inoculez 1 µl de cette dilution sur une plaque de gélose au sang pour obtenir des colonies dénombrables.
3. Incubez les deux plaques pendant la nuit entre 34 °C et 36 °C dans les conditions appropriées.
4. La lecture des résultats est la suivante :

		Nombre de colonies	
Dilution de l'inoculum	Nombre de colonies	Plaque 0,001	0,001 sur 1/50
<u>visée</u>			
1 x 10 ⁴	5 x 10 ³ à 5 x 10 ⁴	5 à 50	0
1 x 10 ⁵	5 x 10 ⁴ à 5 x 10 ⁵	50 à 500	1 à 10
5 x 10 ⁵	2,5 x 10 ⁵ à 2,5 x 10 ⁶	250 à 2500	5 à 50

Méthode indirecte**1. A. Pour un inoculum de 1×10^5 UFC/ml**

À l'aide d'un embout de pipette stérile, transférez 100 µl du bouillon de culture dans un tube de 10 ml de bouillon frais et étiquetez-le Tube A.

B. Pour un inoculum de 5×10^5 UFC/ml

À l'aide d'un embout de pipette stérile, transférez 10 µl du bouillon de culture dans un tube de 10 ml de bouillon frais et étiquetez-le Tube A.

2. À l'aide d'un embout de pipette stérile, transférez 100 µl du Tube A sur la surface d'une plaque de gélose au sang, datée et étiquetée.
3. À l'aide d'une anse d'inoculation stérile, étalez ces 100 µl de culture sur toute la surface de la plaque.
4. Incubez la plaque entre 34 °C et 36 °C pendant 18 à 24 heures.
5. Comptez les colonies sur la plaque et multipliez ce nombre par 10^3 (1×10^5 UFC/ml) ou 10^4 (5×10^5 UFC/ml) pour obtenir le nombre d'organismes viables dans la suspension originale.

Pour un inoculum de 1×10^5 UFC/ml	Pour un inoculum de 5×10^5 UFC/ml
Plage du nombre d'UFC viables = 5×10^4 à 5×10^5 UFC/ml	Plage du nombre d'UFC viables = $2,5 \times 10^5$ à $2,5 \times 10^6$ UFC/ml

RÉFÉRENCES

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard (Méthodes par dilution pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens des bactéries aérobies, standard M7 approuvé). The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (Standards de performance des épreuves de sensibilité aux antimicrobiens) : Informational Supplement M100 (Suppléments d'informations M100). The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

CLAUDE DE NON-RESPONSABILITÉ

Les informations fournies dans cette notice technique sont à jour au moment de son impression et peuvent changer sans préavis.

Les toutes dernières informations techniques peuvent être téléchargées à partir du site www.TREKDS.com/techinfo ou en contactant l'assistance technique de Thermo Fisher Scientific spécialisée en microbiologie.



Fabricant légal :
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex,
RH19 1XZ,
Royaume-Uni
Tél. : +44-1342-318777



Le logo ATCC Licensed Derivative®, la marque verbale ATCC Licensed Derivative® et la marque catalogue ATCC sont des marques déposées d'ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. est autorisé à utiliser ces marques déposées et à vendre les produits dérivés des cultures ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. ATCC est une marque déposée de ATCC. Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

Adresses électroniques de l'assistance technique

Autriche	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgique	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
République tchèque	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danemark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlande	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Allemagne	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italie	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Pays-Bas	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvège	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Espagne	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suède	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Assistance technique Royaume-Uni	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Pokyny k použití

Plotny Thermo Scientific™ Sensitre™ pro testování
citlivosti u izolátů nenáročných gramnegativních a
grampozitivních bakterií

039-NFAST ROW Only -CID9494
Datum revize: 13. prosince 2018

Plotny Sensititre pro testování citlivosti u izolátů nenáročných gramnegativních a grampozitivních bakterií

Sensititre, 18–24 hodin Pro diagnostické použití *in vitro*

Veškeré informace o plotnách, mimo jiné o jejich uspořádání, kontrole kvality, interpretačních kritériích a výkonnostních charakteristikách, spolu s referenční literaturou naleznete na stránkách www.trekds.com/techinfo. Bude třeba znát typ plotny a číslo šarže.

POUŽITÍ

Systém Sensititre pro testování minimální inhibiční koncentrace (MIC) a hraniční (break-point) koncentrace je prostředek pro diagnostiku *in vitro* používaný při testování klinické citlivosti izolátů nenáročných gramnegativních bakterií, mezi které patří čeleď *Enterobacteriaceae*, druh *Pseudomonas aeruginosa* a další bakterie nepatřící do čeledi *Enterobacteriaceae*, a izolátů nenáročných grampozitivních bakterií, mezi které patří rod *Staphylococcus*, rod *Enterococcus* a beta-hemolytické streptokoky kromě *S. pneumoniae*. Testová plotna Sensititre k průkazu ESBL je prostředek pro diagnostiku *in vitro*, který slouží k detekci ESBL v klinických izolátech bakterií *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* a *Escherichia coli*. Plotny MIC a ESBL lze odečítat buď manuálně, nebo automaticky pomocí přístroje Sensititre Autoreader / OptiRead a/nebo ARIS. Produkty Sensititre byly validovány pouze s použitím bujónů od společnosti Thermo Scientific.

PŘEHLED A ZÁSADY POUŽÍVÁNÍ

V každé plotně se nachází antimikrobiální látky v uvedených koncentracích. Výsledky lze odečítat manuálně (vizuálním zjištěním růstu), nebo automaticky na přístroji ARIS/OptiRead/Autoreader pomocí fluorescence.

Systémy Sensititre Autoreader / OptiRead využívají fluorescenční technologii. Tato technologie detekuje bakteriální růst monitorováním aktivity specifických povrchových enzymů produkovaných testovaným mikroorganismem. Růst se určuje na základě fluorescenčního produktu vznikajícího z nefluorescenčního (fluorogenního) substrátu. Nefluorescenční substrát se připravuje navázáním fluorescenční sloučeniny na substráty specifických enzymů tak, aby vzniklá vazba znemožňovala fluorescenci. Toto se označuje za tzv. „zhášení“ fluoroforu. Enzymy na povrchu bakterií enzymaticky působí na specifické substráty a tuto vazbu rozštěpí. Tím dojde k uvolnění fluoroforu, který začne vydávat fluorescenční záření. Množství zachycené fluorescence je přímo úměrné aktivitě enzymů na povrchu bakterií, a tím pádem i k bakteriálnímu růstu.

Automaticky je možné odečítat pouze plotny, které mají ke svému názvu formátu připojené „F“.

UPOZORNĚNÍ

K hlášení výsledků z IVD produktů Sensititre opatřených značkou CE a schválených úřadem FDA se smí používat pouze přístroje podporované systémem Sensititre (tj. jednoduchý manuální prohlížeč, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader / OptiRead a ARIS). Žádný jiný systém není podporován.

Výsledky použijte jako pomůcku při stanovování léčiva volby, které použijete k léčbě. Tento produkt je určený k diagnostickému použití *in vitro* a smí jej používat pouze řádně proškolený personál. Rizikům spojeným s mikrobiologickým materiálem je nutno předcházet řádným sterilizováním vzorků, nádob, médií a testových ploten po použití.

Pozorně si přečtěte všechny pokyny a pečlivě je dodržujte.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST VÝROBKU

Plotny Sensititre pro testování citlivosti skladujte až do použití v původních nádobách při teplotě 15–25 °C a chraňte je před teplem a přímým slunečním svitem. Každá plotna je zabalena ve fóliovém obalu, který obsahuje desikant. Plotnu nepoužívejte po uplynutí data použitelnosti, pokud je fóliový obal poškozený nebo pokud má desikant jinou barvu než oranžovou. Plotny je třeba inokulovat do 5 hodin od vyjmutí z ochranného obalu.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Při odběru a manipulaci se vzorky dodržujte následující doporučení.

Dodávaný materiál

10 ploten Sensititre™ se substrátem v jamkách
10 perforovaných přilnavých pásek

Materiál, který není součástí dodávky [kód produktu]:

Bujón:

- Demineralizovaná voda Sensititre™ [T3339]
- Mueller-Hintonův bujón Sensititre™ s upravenými kationty a TES (CAMHBT) [T3462]

Turbidita:

- Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- 0,5 McFarlandův polymerní standard turbidity [E1041]

Inokulace plotny:

- Dávkovací uzávěry pro Sensititre AIM k inokulaci plotny [E3010]
- Systém Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020] / Sensititre Autoinoculator*

Odečet plotny:

- Systém Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] nebo ARIS™ [V3090]
- Prohlížečský systém Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Manuální čtečka Sensititre [V4007]

Další materiál:

- Sterilní zásobník na inokulum
- Kontrolní bakteriální kmeny (viz tabulka 1)
- Inkubátor 34–36 °C
- Vortex
- Aktuální dokumentace CLSI či EUCAST nebo místní směrnice

* Již není v prodeji nebo podporováno.

VÝBĚR BUJÓNU PRO TEST CITLIVOSTI

Bujón Sensititre společnosti Thermo Scientific je validován pro použití s plotnami Sensititre k testům citlivosti.

POSTUP INOKULACE PLOTEN SENSITITRE

Před použitím nechte všechny bujóny vytemperovat na pokojovou teplotu.

Standardní inokulum

Pro všechny plotny naberte 3–5 kolonií nenáročných izolátů z čerstvě připravené primární agarové plotny, rozpustíte je ve sterilní vodě a upravte na 0,5 McFarlandův standard. Důkladně promíchejte.

Přeneste 10 µl suspenze upravené dle McFarlanda do 11ml zkumavky s Muller-Hintonovým bujónem s upravenými kationty a TES puřem. Přejděte na krok 2.

Metoda silnějšího inokula

V závislosti na testovaném kmenu může být k lepší detekci mechanismů rezistence zapotřebí zvýšit dávku na 30 μ l.

U grampozitivních i gramnegativních izolátů narostou po přenosu 30 μ l suspenze do 11ml zkumavky Sensititre s Muller-Hintonovým bujónem kolonie v počtu, který spadá do rozsahu schváleného pro systém Sensititre, tj. $5,0 \times 10^4$ a $5,0 \times 10^5$ CFU/ml. Přejděte na krok 2.

Proteus, Providencia a Morganella

V případě mikroorganismů ze skupiny *Proteae* (včetně rodu *Proteus*, rodu *Providencia* a druhu *Morganella morganii*) přeneste do bujónu 1 μ l suspenze.

2. 50 μ l suspenze bujónu přeneste na plotnu do 30 minut od přípravy pomocí:

1. **Přístroje Sensititre Autoinoculator / AIM.** Vyměňte uzávěr zkumavky za jednorázový dávkovací uzávěr Sensititre a inokulujte plotnu podle pokynů k přístroji Autoinoculator / AIM. Testovací zkumavku s dávkovacím uzávěrem vyjměte z přístroje Autoinoculator / AIM do 30 sekund od nanesení dávky na plotnu.

2. **Ruční pipety.** Nalijte bujón do sterilní vaničky a pomocí vhodné pipety inokulujte plotnu.

3. Po inokulaci plotny proveďte kontrolu čistoty všech výsledných inokulí.

4. Pravidelně kontrolujte počet kolonií (viz Příloha 1). U izolátů by mělo inokulum činit 1×10^5 CFU/ml, (rozmezí $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$), s výjimkou izolátů ze skupiny *Proteae*, u kterých by mělo činit 1×10^4 CFU/ml (rozmezí $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$).

5. Všechny jamky na každé plotně překryjte dodávanou přilnavou páskou. Na pásce se nesmí vytvořit záhyby, neboť by kvůli nim mohlo dojít k tzv. „vynechání“.

6. Plotny je třeba inokulovat do 5 hodin od vyjmutí z ochranného obalu.

INKUBACE

Veškeré nenáročné aerobní mikroorganismy inkubujte při teplotě 34–36 °C v přístroji ARIS nebo v inkubátoru bez CO₂ po dobu 18–24 hodin.

- Ke spolehlivé detekci enterokoků rezistentních vůči vankomycinu a stafylokoků rezistentních vůči oxacilinu inkubujte plotny 24 hodin.
- Druhy rodu *Acinetobacter* a druh *Burkholderia cepacia* a *Stenotrophomonas maltophilia* inkubujte 20–24 hodin.

Pokud nebudete k inkubaci používat přístroj ARIS, můžete plotny zakryté přilnavou páskou umístit do inkubátoru ve sloupcích po 3.

Přehled nastavení a inkubace

Skupina mikroorganismů	Médium pro suspenzi dle McFarlanda	Požadované výsledné inokulum* (CFU/ml)	Přenášené inokulum	Bujón	Rekonstituce plotny	Inkubační podmínky	Počet hodin inkubace
Nenáročné gramnegativní	Voda	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Nenáročné grampozitivní	Voda	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Zesílené inokulum pro gramnegativní a grampozitivní mikroorganismy**	Voda	3×10^5	30 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Skupina <i>Proteae</i>	Voda	1×10^4	1 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24

*V příloze č. 1 najdete rozsahy inokulí.

**V závislosti na testovaném kmenu může být k lepší detekci mechanismů rezistence nutné zvýšit dávku na 30 µl.

ODEČÍTÁNÍ VÝSLEDKŮ TESTU

Ověřte čistotu testových ploten. Jestliže je na nich přítomna směs kultur, výsledky nelze použít.

1. Automaticky

Plotny lze odečítat na přístrojích AutoReader/OptiRead nebo ARIS podle pokynů v příslušném uživatelském návodu nebo pomocí souborů SWIN HELP.

Plotny Sensititre, které jsou určeny k použití pouze na manuálních prohlížečích či přístrojích Sensitouch a Vizion, není možné odečítat na přístrojích AutoReader/OptiRead ani ARIS.

2. Manuálně

Po inkubaci můžete výsledky odečítat na manuálním prohlížeči Sensititre nebo Vizion. Viz uživatelské návody. Není třeba odstraňovat přilnavou pásku. Nárůst se projevuje v podobě zákalu nebo vrstvy buněk na dně jamky. Naměřená MIC představuje nejnižší koncentraci antimikrobika, která inhibuje viditelný růst. Příliš slabé odečty růstu v přístroji Vizion můžete zesílit úpravou světelného nastavení. Nejprve odečtěte jamky pro pozitivní kontrolu růstu. Jestliže v některé z nich není patrný žádný růst, výsledky nelze použít.

Věnujte pozornost následujícím jevům:

a. Nezřetelné koncové body

U většiny kombinací mikroorganismus-antimikrobikum pozorujeme zřetelné koncové body. U některých kombinací se však může objevovat postupné zeslabování růstu v rozsahu 2 až 3 jamek. Koncové body se stanovují podle první jamky, ve které dochází k inhibici viditelného růstu, s výjimkou sulfonamidů a linezolidu, u kterých se za MIC považuje 80–90% pokles růstu v porovnání s jamkou pozitivní kontroly.

b. Kontaminace

Projevem kontaminace může být růst v jamce, která leží mezi jamkami bez známek růstu. Pokud se kontaminace týká jediné jamky, můžete ji zanedbat. Jestliže však existuje podezření na kontaminaci více jamek, test zopakujte.

c. Vynechání

Občas můžeme pozorovat „vynechání“, tedy jamku bez známek růstu ležící mezi jamkami vykazujícími růst. Tento jev může mít řadu různých příčin, včetně kontaminace, mutace, záhybů na pásce a špatně přiřazené dávky. Pokud se jedná o osamocený případ vynechání, lze jej ignorovat. V zájmu zaručení účinné antimikrobiální léčby však NIKDY neodečítejte vynechanou jamku jako MIC: odečtěte vždy až jamku s nejnižší koncentrací, nad kterou již je růst trvale nepřítomný.

d. Směsné kultury

Pokud pozorujete dva cílové body v podobě zřetelného „terčíku“ buněk, za kterými následuje několik jamek s difúzním růstem a bez viditelného „terčíku“ (nebo jen s menšími terčíky buněk), může to, s výjimkou případů uvedených výše v bodě (a), poukazovat na směsnou bakteriální populaci. Rozkultivováním nárůstu na vhodný agar ověřte čistotu. Jestliže odhalíte přítomnost směsné kultury, výsledky testu nelze použít.

3. Další informace**Výsledky MIC pro průkaz ESBL**

Průkaz ESBL je založen na dvojnásobném poklesu koncentrace MIC v násobku ≥ 3 pro antimikrobiální látku, je-li testovaná v kombinaci s kyselinou klavulanovou, v porovnání s koncentrací MIC, je-li látka testována samostatně. Příklad: MIC pro ceftazidim = 8 $\mu\text{g/ml}$, MIC pro ceftazidim / kyselinu klavulanovou = 1 $\mu\text{g/ml}$. Více informací najdete v dokumentu CLSI M7.

Cefoxitinový screening

Cefoxitinovým screeningem (6 $\mu\text{g/ml}$) se odhaduje přítomnost rezistence zprostředkované genem *mecA* v druhu *Staphylococcus aureus*. Izoláty, u kterých je zjištěná MIC cefoxitinu > 6 (pozitivní nárůst), se považují za rezistentní k oxacilinu. Ty, u kterých je MIC cefoxitinu ≤ 6 (bez nárůstu), se považují za citlivé k oxacilinu.

D-test

D-test používaný v rámci bujónové mikrodiluční metody je určený pro druhy rodu *Staphylococcus* s rezistencí (MIC je $\geq 8 \mu\text{g/ml}$) k erytromycinu a s citlivostí nebo intermediální citlivostí (MIC je $\leq 2 \mu\text{g/ml}$) ke klindamycinu. Pokud u těchto izolátů pozorujeme pozitivitu (růst) u D-testu 1 (4 / 0,5 $\mu\text{g/ml}$) nebo D-testu 2 (8 / 1,5 $\mu\text{g/ml}$) nebo u D-testu 1 i 2, považuje se to za průkaz indukované rezistence ke klindamycinu. Jestliže není u těchto izolátů přítomen žádný nárůst v D-testu 1 ani v D-testu 2, považují se izoláty za negativní na indukovanou rezistenci. V případě izolátů rezistentních k erytromycinu a citlivých ke klindamycinu, u kterých zůstává D-test po 18hodinové inkubaci negativní, zopakujte odečet po 24hodinové inkubaci.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Při interpretaci výsledků používejte interpretační MIC směrnice CLSI, EUCAST nebo místní směrnice s normami.

V plotně se mohou nacházet antimikrobiální látky, u kterých nebyla prokázána účinnost při

léčbě infekcí způsobovaných všemi testovanými mikroorganismy. V příbalovém letáku k farmaceutické antimikrobiální látce schválené úřadem FDA naleznete informace k interpretaci a hlášení výsledků antimikrobiálních látek, které jsou prokazatelně účinné proti skupinám mikroorganismů v podmínkách *in vitro* i při klinických infekcích.

Při automatickém odečítání výsledků používá software interpretační kritéria založená na směrnicích CLSI, EUCAST nebo FDA (podle konfigurace softwaru)

Při hlášení antimikrobiálních výsledků z testu pro potvrzení ESBL použijte dokument CLSI M100: Screening and Confirmatory Tests for ESBL (Screeningové a konfirmační testy ESBL) ke správné interpretaci výsledků u druhů *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* a *Escherichia coli*.

Výsledky break-pointů

Měření break-pointů je bujónová diluční metoda určená ke kvalitativnímu testování citlivosti. Systém break-pointů Sensititre představuje jednoduchou a standardizovanou metodu testování citlivosti založenou na principu hraničních koncentrací. Break-point je definovaný jako koncentrace antibiotika, při které dochází k inhibici růstu citlivých, ne však rezistentních mikroorganismů. U většiny antimikrobik se uvádějí dvě koncentrace: nižší koncentrace, která označuje horní limit kategorie považované za citlivou, a vyšší koncentrace, která označuje horní limit kategorie považované za intermediálně citlivou.

Interpretace break-pointů pro antimikrobika nacházející se v jamkách v 1 nebo 2 koncentracích.

Výsledek	Interpretace Jedna jamka	Interpretace Dvě jamky
Žádný růst	Citlivé	–
Růst	Rezistentní	–
V žádné z jamek není růst	–	Citlivé
Růst pouze v jamce s nižší koncentrací	–	Intermediálně citlivé
Růst v obou jamkách	–	Rezistentní
Růst pouze v jamce s vyšší koncentrací	–	Neplatné – opakujte

KONTROLA KVALITY

1. Četnost testování kontroly kvality určete podle standardních laboratorních předpisů.
2. Ke kontrole čistoty kultivujte inokulum na vhodném médiu. Jestliže odhalíte přítomnost směsné kultury, výsledky testu nelze použít.
3. Součástí všech ploten Sensititre jsou jamky pro pozitivní kontrolu. Pokud v některé z jamek pro pozitivní kontrolu není patrný růst buněk, test je neplatný. V některých formátech obsahují plotny také jamku pro „negativní kontrolu růstu“. Tuto jamku můžete v jistých případech použít ke kalibraci přístroje AutoReader / Optiread; pro manuální odečet výsledků není potřeba.
4. K získání přesné MIC přispívá několik faktorů, mimo jiné použití 3–5 kolonií získaných z čisté agarové plotny kultivované 16–24 hodin a rovněž dosažení standardizované hustoty inokula pomocí našeho McFarlandova standardu a nefelometru, teplota a bujón. V praxi budou MIC replikátů spadat do běžné distribuce, ve které bude většina výsledků

ležet ve vzdálenosti jednoho ředění od modální hodnoty.

5. K monitorování průběhu testu citlivosti a k ověření síly antimikrobik se doporučuje používat kontrolní mikroorganismy uvedené v tabulkách pro kontrolu kvality. V tabulkách pro kontrolu kvality naleznete předpokládané výsledky kontroly kvality. Výkonnost testu lze považovat za uspokojivou, pokud výsledky citlivosti naměřené u kontrolních mikroorganismů spadají do uvedených rozsahů. Jestliže výsledky kontroly kvality leží mimo uvedený rozsah dané kombinace léku/mikroorganismu, výsledky **nelze** použít.
6. Následné rozsahy kontroly kvality pro kombinaci mikroorganismus/antimikrobikum se liší od rozsahů doporučených dle CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) vs. cefotetan, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) vs. mezlocilin, *S. aureus* (ATCC® 29213™) vs. ampicilin a penicilin.

Obráťte se na technickou podporu společnosti Thermo Fisher mikrobiologie o pomoc v případě, že kontrola kvality nesrovnalosti nelze přeložit. Viz poslední stránku pro kontaktní informace

OMEZENÍ

- Pouze vyškolený klinický personál provede správnou interpretaci výsledků testu.
- Stejně jako u jiných metod testování citlivosti k antimikrobikům i zde platí, že výsledky citlivosti získané pomocí ploten Sensititre jsou výsledky *in vitro*.
- Testování náročných mikroorganismů vyžaduje specializované postupy, pro které se vyžadují jiné metody. Plotna MIC Sensititre *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* se smí použít k testování druhu *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pneumoniae*. V příbalovém letáku plotny Sensititre pro náročné bakterie nebo v dokumentu CLSI M7 naleznete podrobnosti o příslušných úpravách testů citlivosti.
- Studie byly provedeny za použití přístroje Autoinoculator/AIM. Pokud při testování minocyclinu, doxycyklinu, telavancinu, dalbavancinu, oritavancinu nebo tedizolidu použijete jiný inokulační systém, ověřte jeho způsobilost provedením testu kontroly kvality a spočítáním kolonií.

Limitace gramnegativních bakterií

1. U výsledků získaných pro druh *C. freundii* a cefotetan se objevily nesrovnalosti v MIC při porovnání s referenční noční metodou; tato antimikrobiální látka se proto nesmí hlásit. Pokud je antimikrobiální látka klíčová pro léčbu pacienta, použijte jiný způsob testování.
2. Opakovatelnost v rámci laboratoře pro amoxicilin / kyselinu klavulanovou při použití metody Sensititre a referenční metody byla nižší než 95 %. Jelikož MIC závisí na koncentraci produkované β -laktamázy, variabilita výsledků MIC může být způsobená variabilitou v produkci enzymu. Opakovatelnost v rámci laboratoře u měření cefotetanu a gramnegativních mikroorganismů při použití metody Sensititre a referenční metody dle CLSI byla také nižší než 95 %.
3. U druhů rodu *Proteus* nebyly stanoveny funkční charakteristiky při testování s piperacilinem/tazobactamem ani cefepimem. Nepoužívejte výsledky získané z patientských izolátů.
4. Výsledky pro druhy rodu *Klebsiella* a nefermentující mikroorganismy při testování s piperacilinem/tazobactamem je třeba vzhledem k nedostatku funkčních dat pro systémy Sensititre Autoreader / OptiRead odečíst manuálně.
5. Systém Autoreader/OptiRead nepoužívejte k odhadu rezistence k cefpodoximu u druhů rodu *Serratia*, jelikož v klinických hodnoceních byla pozorována nepřijatelná míra chybovosti při odečítání výsledků pro tuto kombinaci mikroorganismus/antimikrobikum.
6. Neexistují žádné schválené indikace k použití a klinický význam cefdiniru není znám. Při hlášení výsledků, které prokazatelně působí proti skupině mikroorganismů v podmínkách *in vitro* i při klinických infekcích, použijte dokument CLSI M100 a příbalovou dokumentaci k léku

schválenou úřadem FDA.

7. Neohlašujte rezistenci zjištěnou pro následující kombinace antimikrobikum/mikroorganismus, jelikož v době testování nebyly dostupné rezistentní izoláty

Mikroorganismus	Antimikrobiální látka
Rod <i>Citrobacter</i>	Piperacilin/tazobactam
Rod <i>Serratia</i>	Piperacilin/tazobactam
Rod <i>Proteus</i>	Lomefloxacin a cefpodoxim
Bakterie nepatřící do čeledi <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacin

8. Schopnost systému Sensititre odhalit rezistenci k moxifloxacinu a gatifloxacinu není známa, jelikož v době komparativního testování nebyly dostupné rezistentní kmeny.
9. Tigecyklin má sníženou aktivitu *in vitro* proti druhům rodu *Morganella*, *Proteus* a *Providencia*.
10. Aktuální absence izolátů rezistentních k tigecyklinu a gemifloxacinu neumožňuje získat jiné výsledky než „citlivé“. Izoláty, jejichž výsledky MIC naznačují příslušnost ke kategorii „necitlivé“, odešlete k dalšímu testování do referenční laboratoře.
11. Gemifloxacin vykazuje *in vitro* MIC 0,25 µg/ml či nižší proti většině (≥ 90 %) kmenů těchto mikroorganismů: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* a *Proteus vulgaris*. Bezpečnost a účinnost gemifloxacinu při léčbě klinických infekcí způsobených těmito mikroorganismy však nebyla stanovena v náležitě kontrolovaných klinických hodnoceních.
12. Aktuální absence izolátů rezistentních k doripenemu neumožňuje získat jiné výsledky než „citlivé“. Izoláty, jejichž výsledky MIC naznačují příslušnost ke kategorii „necitlivé“, odešlete k dalšímu testování do referenční laboratoře.
13. Schopnost systému Sensititre odhalit rezistenci druhů rodu *Acinetobacter* k minocyklinu není známa, jelikož v době komparativního testování nebyly dostupné rezistentní kmeny.
14. Studie byly provedeny za použití přístroje AutoInoculator/AIM. Použití jiného inokulačního systému při testování ceftarolinu nebylo hodnoceno.
15. Schopnost systému Sensititre odhalit rezistenci druhu *Citrobacter koseri* k ceftarolinu není známa, jelikož v době komparativního testování nebyly dostupné rezistentní kmeny.
16. Ceftarolin nepůsobí vůči gramnegativním bakteriím produkujícím širokospektré beta-laktamázy (ESBL) z rodiny TEM, SHV nebo CTX-M, serinové karbapenamázy (jako je KPC), metalo-beta-laktamázy (třída B) nebo třídu C (cefalosporiny AmpC).
17. Pro testování druhu *Moraxella catarrhalis* s ceftarolinem nebyla funkčnost testu stanovena. Nepoužívejte výsledky získané z patientských izolátů.

Limitace grampozitivních bakterií

1. Systém Autoreader/OptiRead můžete použít k odečítání ploten s koaguláza-negativními stafylokoky a enterokoky, jestliže je na panelovém štítku uvedeno „For reading gram positives isolates“ (Pro odečet grampozitivních izolátů) a jamky obsahují fluorogenní substráty
2. Systém Autoreader/OptiRead nepoužívejte k odečtu výsledků nitrofurantoinu s druhu rodu *Enterococcus*. Výsledky pro nitrofurantoin odečtěte manuálně. K detekci kmenů enterokoků produkujících β-laktamázu proveďte test na β-laktamázu pomocí nitrocefínu.
3. Plotny Sensititre k testování citlivosti se vyrábějí tak, aby splňovaly doporučení CLSI ohledně detekce stafylokoků rezistentních k meticilinu. Plotna s oxacilinem se z toho důvodu při výrobě obohacuje o dvouprocentní přídavek soli. Inokulum je nutno připravit přímo z agarové plotny kultivované přes noc, nikoli z čerstvé bujónové kultury. Vezměte

- v potaz, že většina heterorezistentních stafylokoků bývá rezistentní k více antimikrobikům, včetně β -laktamových antibiotik, aminoglykosidů, makrolidů, klindamycinu, chloramfenikolu a tetracyklinu, a z tohoto vycházejte při detekci zkřížené rezistence u penicilináza-rezistentních penicilinů.
4. Stafylokoky testované s penicilinem G otestujte také na tvorbu β -laktamázy, zejména u kmenů s hraničními MIC (0,06 až 0,25 $\mu\text{g/ml}$). Pokud tyto kmeny vyjdou z testu jako β -laktamáza pozitivní, zopakujte test, abyste se ujistili, že hlášená rezistence je oprávněná.
 5. Slabý nárůst streptokokálních kmenů nepatřících mezi enterokoky v Mueller-Hintonově bujónu může mít za následek nespolehlivé výsledky při testování izolátů s aminoglykosidy.
 6. Výsledky získané pro koaguláza-negativní stafylokoky citlivé na oxacilin při testování s klarithromycinem vykazovaly nesourodost MIC při srovnání s celonoční referenční metodou. Pokud je antimikrobiální látka klíčová pro léčbu pacienta, použijte jiný způsob testování, jinak nepoužívejte výsledky této antimikrobiální látky.
 7. Cefdinir prokazatelně působí proti většině kmenů *S. aureus* (MSSA) a *Streptococcus pyogenes* citlivých k meticilinu při klinických infekcích. Byla stanovená *in vitro* korelace pro *S. epidermidis* (MSSE) a *Streptococcus agalactiae*. Tato schopnost nebyla stanovená u žádného jiného mikroorganismu vhodného k testování na grampozitivní plotně.
 8. Systém Autoreader/OptiRead nelze použít k odečtu trimethoprimu/sulfamethoxazolu (SXT) s CNS. SXT je nutné odečíst manuálně.
 9. Klinický význam cefdiniru není znám a neexistují pro něj schválené primární indikace k použití. Při hlášení výsledků, které prokazatelně působí proti skupině mikroorganismů v podmínkách *in vitro* i při klinických infekcích použijte dokument CLSI M100.
 10. Aktuální absence izolátů rezistentních k tigecyklinu a gemifloxacinu neumožňuje získat jiné výsledky než „citlivé“. Izoláty, jejichž výsledky MIC naznačují příslušnost ke kategorii „necitlivé“, odešlete k dalšímu testování do referenční laboratoře.
 11. Neohlašujte rezistenci zjištěnou pro následující kombinace mikroorganismus/antimikrobikum, jelikož v době testování nebyly dostupné rezistentní izoláty.

Mikroorganismus	Antimikrobiální látka
Grampozitivní	Linezolid, moxifloxacin, gatifloxacin, tigecyklin, gemifloxacin
Rod <i>Staphylococcus</i>	Ampicilin/sulbaktam
Rod <i>Enterococcus</i>	Amoxicilin/kyselina klavulanová
Rod <i>Enterococcus</i> Rod <i>Staphylococcus</i> Rod <i>Streptococcus</i>	Daptomycin

Schopnost systému Sensititre detekovat rezistenci nebo necitlivost k následujícím antimikrobikům není známá, jelikož v době komparativního testování nebyl k dispozici dostatek rezistentních nebo necitlivých kmenů. Jestliže se s takovým kmenem setkáte, odešlete jej do referenční laboratoře k dalšímu testování.

Mikroorganismus	Antimikrobiální látka
Grampozitivní	Moxifloxacin, gatifloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> (pouze izoláty citlivé k meticilinu a erytromycinu)	Telithromycin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxycyklin
Rod <i>Streptococcus</i>	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxycyklin
<i>Staphylococcus aureus</i> (izoláty rezistentní k meticilinu i izoláty citlivé k meticilinu)	Dalbavancin, oritavancin, telavancin
<i>Enterococcus faecalis</i> (pouze VSE)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (izoláty rezistentní k meticilinu i izoláty citlivé k meticilinu) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Plotny Sensititre MIC k testování citlivosti po 18–24 hodinách dokážou detekovat rezistenci k vankomycinu u VRSA kmenů *S. aureus*, které byly dostupné v době komparativního testování. Schopnost ploten Sensititre MIC pro testy citlivosti po 18–24 hodinách detekovat rezistenci k vankomycinu u jiných kmenů *S. aureus* není známa, jelikož není k dispozici dostatek rezistentních kmenů potřebných pro komparativní testování.
13. Gemifloxacin vykazuje *in vitro* MIC 0,25 µg/ml či nižší proti většině (≥ 90 %) kmenů těchto mikroorganismů: *Staphylococcus aureus* (pouze kmeny citlivé k meticilinu) a *Streptococcus pyogenes*. Bezpečnost a účinnost gemifloxacinu při léčbě klinických infekcí způsobených těmito mikroorganismy však nebyla stanovena v náležitě kontrolovaných klinických hodnoceních.
14. Pokud nepozorujete žádný nebo jen slabý nárůst v jamce pro pozitivní kontrolu růstu, otestujte *S. pyogenes* jinou testovací metodou využívající lyzovanou koňskou krev.
15. Schopnost systému Sensititre odhalit rezistenci druhu *S. aureus* k minocyklinu není známa, jelikož v době komparativního testování nebyly dostupné rezistentní kmeny.
16. Pokud nepozorujete žádný nebo jen slabý nárůst v jamce pro pozitivní kontrolu růstu na plotně Sensititre pro nenáročné bakterie, otestujte druhy rodu *Streptococcus* pomocí plotny Sensititre pro náročné bakterie využívající lyzovanou koňskou krev.
17. Studie byly provedeny za použití přístroje AutoInoculator/AIM. Pokud při testování telavancinu nebo minocyklinu použijete jiný inokulační systém, ověřte jeho výkonnost provedením testu kontroly kvality a spočítáním živých bakterií.
18. Studie byly provedeny za použití přístroje AutoInoculator/AIM. Pokud při testování ceftarolinu použijete jiný inokulační systém, ověřte jeho výkonnost provedením testu kontroly kvality a spočítáním kolonií.

19. Funkčnost testu oritavancinu se *S. aureus* a *E. faecalis* byla zjištěna pomocí autoinokulačního přístroje AIM. Použití jiného inokulačního systému při testování oritavancinu nebylo hodnoceno.
20. Vzhledem k nedostatku intermediálních a rezistentních výsledků pro oritavancin existuje u tohoto testu pravděpodobně velmi vysoká chybovost. U 3 izolátů z celkových 9 necitlivých izolátů byly získány výsledky o jedno dvojité ředění nižší než reference. Pokud je u oritavancinu testovaného na plotně Sensititre s *S. aureus* a *E. faecalis* výsledná MIC 0,12 µg/ml (break-point) a tato látka je klíčová pro pacientovu léčbu, použijte jinou testovací metodu.

VÝKONNOST

PŘÍLOHA 1: Způsob počítání kolonií

Níže uvádíme 2 způsoby, pomocí kterých můžete zjistit počty živých kolonií.

Přímý způsob

1. Ihned po inokulaci plotny odeberte pomocí 1 µl kličky vzorek z jamky pro pozitivní kontrolu růstu a inokulujte jej na krevní agar.
2. Pomocí další kličky (1 µl) odeberte ze stejné jamky další vzorek a promíchejte jej s 50 µl sterilní deionizované vody. Inokulováním 1 µl tohoto roztoku na krevní agar budete moci zjistit počty kolonií.
3. Obě plotny inkubujte přes noc při 34–36 °C a ve vhodných podmínkách.
4. Výsledky odečtěte takto:

Cílové ředění <u>inokula</u>	Počet kolonií	Počet kolonií		
		0,001 na	0,001 z	1/50
1×10^4	$5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$	5–50	0	
1×10^5	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$	50–500	1–10	
5×10^5	$2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	250 – 2 500	5–50	

Nepřímý způsob

1. **A. Pro inokulum 1×10^5 CFU/ml**
Přeneste pomocí sterilní pipetové špičky 100 µl bujónové kultury do čerstvě připravené 10ml zkumavky s bujónem a označte ji jako zkumavku A.
- B. Pro inokulum 5×10^5 CFU/ml**
Přeneste pomocí sterilní pipetové špičky 10 µl bujónové kultury do čerstvě připravené 10ml zkumavky s bujónem a označte ji jako zkumavku A.
2. Přeneste pomocí sterilní pipetové špičky 100 µl suspenze ze zkumavky A na povrch krevní agarové plotny a opatřete ji popiskem a datem.

3. Pomocí sterilní inokulační smyčky rozetřete tuto 100µl kulturu po celém povrchu

plotny.

4. Inkubujte plotnu při 34–36 °C po dobu 18–24 hodin.
5. Spočítejte kolonie na plotně a vynásobte výsledek 10^3 (1×10^5 CFU/ml) nebo 10^4 (5×10^5 CFU/ml), tak získáte počet živých bakterií v původní suspenzi.

Pro inokulum 1×10^5 CFU/ml	Pro inokulum 5×10^5 CFU/ml
Rozsah počtu živých bakterií = 5×10^4 – 5×10^5 CFU/ml	Rozsah počtu živých bakterií = $2,5 \times 10^5$ – $2,5 \times 10^6$ CFU/ml

LITERATURA

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

PROHLÁŠENÍ

Informace v tomto příbalovém letáku byly aktuální v době tisku a mohou být bez upozornění změněny.

Nejnovější informace můžete získat na stránkách www.TREKDS.com/techinfo nebo od oddělení technické podpory mikrobiologického sektoru společnosti Thermo Fisher Scientific



Výrobce:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex,
RH19 1XZ,
Velká Británie
Tel.: +44 134 231 8777



Znak ATCC Licensed Derivative®, slovní ochranná známka ATCC Licensed Derivative®

a katalogové známky ATCC jsou ochrannými známkami společnosti ATCC. Společnost Thermo Fisher Scientific Inc. je oprávněna tyto ochranné známky používat a prodávat produkty odvozené od kultur ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena. ATCC je ochranná známka společnosti ATCC. Všechny další ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. nebo jejích dceřiných společností.

E-mailové adresy oddělení technické podpory

Rakousko	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgie	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Česká republika	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dánsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francie	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finsko	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Německo	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Itálie	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Nizozemsko	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Španělsko	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Švédsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Oddělení technické podpory pro Velkou Británii	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Naudojimo instrukcijos

„Thermo Scientific™ Sensititre™“ jautrumo
plokštelės, skirtos nelepioms gramneigiamoms ir
gramteigiamoms padermėms tirti

039-NFAST ROW Only -CID9494
Peržiūros data: 2018 m. Gruodžio 13 d

„Sensititre“ jautrumo plokštelės, skirtos nelepioms gramneigiamoms ir gramteigiamoms padermėms tirti

„Sensititre“, 18–24 val.

In vitro diagnostikai

Išsamią informaciją apie plokšteles, įskaitant mėginių išdėstymą plokštelėse, kokybės kontrolės informaciją, interpretavimo kriterijus, našumo duomenis ir nuorodas, žr. www.trekds.com/techinfo. Reikia žinoti plokštelės tipą ir plokštės partijos numerį.

PASKIRTIS

„Sensititre“ MIC ir jautrumo ribinės reikšmės sistema yra *in vitro* diagnostikos produktas, skirtas nelepių gramneigiamų padermių, kurias sudaro *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ir kitos ne *Enterobacteriaceae*, taip pat nelepių gramteigiamų padermių, kurias sudaro *Staphylococcus sp.*, *Enterococcus sp.* ir beta hemoliziniai *Streptococci*, išskyrus *S. pneumoniae*, klinikiniam jautrumui tirti. „Sensititre“ ESBL patvirtinamojo tyrimo plokštelė yra *in vitro* diagnostikos produktas, skirtas aptikti ESBL klinikinėse *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ir *Escherichia coli* padermėse. MIC ir ESBL plokšteles galima nuskaityti neautomatiškai arba automatiškai, naudojant „Sensititre Autoreader“ / „OptiRead“ ir (arba) ARIS. „Sensititre“ produktai patvirtinti kaip tinkami naudoti tik su „Thermo Scientific“ pagamintais sotinimo terpėmis.

SANTRAUKA IR NAUDOJIMO PRINCIPAI

Kiekvienoje plokštelėje yra tinkamai atskiestų antimikrobinių medžiagų. Rezultatus galima nustatyti neautomatiškai stebint augimą arba automatiškai, naudojant ARIS / „OptiRead“ / „Autoreader“ ir fluorescencijos technologiją.

„Sensititre Autoreader“ / „OptiRead“ sistemos naudoja fluorescencijos technologiją. Taikant šią technologiją bakterijų augimas aptinkamas stebint specifinių paviršiaus fermentų, gaminamų tiriamo organizmo, aktyvumą. Augimas nustatomas generuojant fluorescencinį produktą iš nefluorescencinio (fluorogeninio) substrato. Nefluorescencinis substratas paruošiamas konjuguojant fluorescencinį junginį su specialiais fermentų substratais naudojant jungtį, kuri apsaugo nuo fluorescencijos. Tada fluoroforas nugesinamas. Dėl bakterijų paviršiaus fermentų aktyvumo ant tam tikrų substratų ši jungtis nutraukiama, fluoroforas atlaisvinamas ir tampa galima fluorescencija. Aptinkamos fluorescencijos kiekis tiesiogiai susijęs su bakterijų paviršiaus fermentų aktyvumu ir bakterijų augimu.

Tik plokšteles, kurių pavadinimo formatas yra su priesaga F, galima nuskaityti automatiškai.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

Norint pateikti rezultatus, gautus naudojant CE IVD ir FDA patikrintus „Sensititre“ produktus, galima naudoti tik „Sensititre“ palaikomus instrumentus (pvz., paprastą neautomatinę žiūryklę, „Sensitouch“, „Vizion“, „Sensititre Autoreader“ / „OptiRead“ ir ARIS). Kitos sistemos nebus palaikomos.

Rezultatai naudotini kaip pagalbinė priemonė parenkant vaistus pacientui gydyti. Šis gaminys skirtas *in vitro* diagnostikai ir turi būti naudojamas tinkamai išmokyto personalo. Reikia laikytis atsargumo priemonių dėl mikrobiologinių pavojų ir tinkamai sterilizuoti panaudotus mėginius, talpykles, terpes ir tyrimo plokšteles. Perskaitykite nurodymus ir jais kruopščiai vadovaukitės.

LAIKYMAS IR GALIOJIMO TRUKMĖ

„Sensititre“ jautrumo plokšteles laikykite originaliose talpyklėse 15–25°C temperatūroje, saugokite nuo tiesioginės saulės šviesos ir šilumos. Kiekviena plokštelė supakuota folijoje su sausikliu. Nenaudokite plokštelių, jei jų galiojimo laikas pasibaigęs, pažeistas folijos maišelis arba sausiklis nėra oranžinės spalvos. Plokštelės turi būti inokuliuotos per 5 valandas nuo išėmimo iš maišelio.

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Mėginiai turi būti imami ir tvarkomi pagal tinkamas rekomendacijas.

Pateiktos medžiagos

10 „Sensititre™“ plokštelių su substratu šulinėliuose
10 perforuotų lipniųjų sandariklių

Nepateiktos medžiagos (nurodytas produkto kodas)

Sotinio terpė

- „Sensititre™“ demineralizuotas vanduo (T3339)
- „Sensititre™ Cation“ pakoreguota Miulero-Hintono sotinio terpė su TES (CAMHBT) (T3462)

Drumstumas

- „Sensititre Nephelometer™“ (V3011)
- 0,5 Makfarlando polimero drumstumo standartas (E1041)

Plokštelės inokuliavimas

- „Sensititre“ AIM dozavimo galvutės plokštei inokuliuoti (E3010)
- „Sensititre Automated Inoculation Delivery System™“ (V3020) / „Sensititre Autoinoculator“*

Plokštelės nuskaitymas

- „Sensititre AutoReader™* OptiRead™“ (V3030) arba ARIS™ (V3090)
- „Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™“ (V2021)
- „Sensititre Manual Viewbox“ (V4007)

Kitos priemonės

- Sterilus inokuliacijos rezervuaras
- Kokybės kontrolės padėrinys (žr. 1 lentelę)
- Inkubatorius, 34–36 °C
- Sūkurinis maišytuvas
- Galiojantys CLSI, EUCAST ar vietiniai rekomendacijų dokumentai

* Daugiau neparduodamas ir nepalaikomas

JAUTRUMO TYRIMO SOTINIMO TERPĖS PASIRINKIMAS

„Thermo Scientific Sensititre“ sotinio terpė patvirtinta kaip tinkama naudoti su „Sensititre“ jautrumo plokštelėmis.

„SENSITITRE“ PLOKŠTELIŲ INOKULIAVIMO PROCEDŪROS

Prieš naudojant visos sotinio terpės turi pasiekti kambario temperatūrą.

Standartinis inokuliacijos

Visos plokštelės: paimkite 3–5 kolonijas nelepių padermių nuo naujos pirminės agarų lėkštelės, emulsuokite steriliame vandenyje ir nustatykite į 0,5 Makfarlando standartą. Gerai išmaišykite.

Perkelkite 10 µl Makfarlando suspensijos į 11 ml katijoniniame mėgintuvėlyje esančią

Miulero-Hintono sotinimo terpą su TES buferiu. Pereikite prie 2 veiksmo.

Didesnio inokuliavimo metodas

Atsižvelgiant į tiriamas padermes, padidinus kiekį iki 30 µl gali būti lengviau aptikti atsparumo mechanizmus.

Tiek gramteigiamų, tiek gramneigiamų padermių atveju perpylus 30 µl suspensijos į 11 ml „Sensititre“ Miulero-Hintono sotinimo terpės mėgintuvėlį gaunamas kolonijų skaičius, patenkantis į „Sensititre“ diapazoną $5,0 \times 10^4$ ir $5,0 \times 10^5$ cfu/ml. Pereikite prie 2 veiksmo.

Proteus, Providencia ir Morganella

Perkelkite 1 µl *Proteae* padermės (įskaitant *Proteus* rūšis, *Providencia* rūšis ir *Morganella morganii*) į sotinimo terpę.

2. Perkelkite 50 µl sotinimo terpės suspensijos į plokštelę per 30 minučių nuo paruošimo, naudodami vieną iš toliau nurodytų priemonių.

1. **„Sensititre Autoinoculator“ / AIM.** Pakeiskite mėgintuvėlio dangtelį „Sensititre“ vienkartinę dozavimo galvute ir inokuliuokite plokštelę laikydamiesi „Autoinoculator“ / AIM instrukcijų. Išimkite mėgintuvėlį su dozavimo galvute iš „Autoinoculator“ / AIM per 30 sekundžių nuo plokštelės dozavimo.

2. **Rankinė pipetė.** Supilkite sotinimo terpę į sterilų sėklų lovį ir inokuliuokite plokštelę, naudodami tinkamą pipetę.

3. Inokuliuotą plokštelę patikrinkite visų galutinių inokuliatų grynumą.

4. Periodiškai reikia tikrinti kolonijų skaičių (žr. 1 priedą). Padermių inokuliatas turi būti 1×10^5 cfu/ml (intervalas nuo $5,0 \times 10^4$ iki $5,0 \times 10^5$), išskyrus padermės *Proteae* izoliatus, kurių inokuliatas turėtų būti 1×10^4 cfu/ml (intervalas nuo $5,0 \times 10^3$ iki $5,0 \times 10^4$).

5. Visus kiekvienos plokštelės šulinėlius uždenkite pateiktu lipniuoju sandarikliu. Nesuglamžykite, nes dėl to galimi praleidimai.

6. Plokštelės turi būti inokuliuotos per 5 valandas nuo jų išėmimo iš maišelio.

INKUBAVIMAS

Visi nelepūs aerobiniai mikroorganizmai turi būti inkubuojami 34–36 °C temperatūroje ARIS arba ne CO₂ inkubatoriuje 18–24 valandas.

- Kad būtų galima aptikti vankomicinui atsparias *Enterococci* ir oksacilinui atsparias *Staphylococci*, inkubuokite 24 valandas.
- *Acinetobacter spp.*, *Burkholderia cepacia* ir *Stenotrophomonas maltophilia* turi būti inkubuojamos 20–24 valandas.

Užsandarintas plokštelės galima dėti vieną ant kitos (iki 3) inkubatoriuje, jei inkubuojama naudojant ne ARIS.

Nustatymo ir inkubavimo santrauka

Mikroorganizmų grupė	Makfarlando suspensinė terpė	Skirta galutiniam inokuliui* (cfu/ml)	Inokulianto perdavimas	Sotinimo terpė	Plokštelės atkūrimas	Inkubavimo sąlygos	Inkubavimo trukmė
Nelepios gramneigiamos bakterijos	Vanduo	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Nelepios gramteigiamos bakterijos	Vanduo	1×10^5	10 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Didesnis gramneigiamų ir gramteigiamų mikroorganizmų inokulianto kiekis**	Vanduo	3×10^5	30 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24
Padermė <i>Proteae</i>	Vanduo	1×10^4	1 µl	MHB	50 µl	35 °C O ₂	18–24

* Inokulianto diapazonus rasite 1 priede.

** Atsižvelgiant į tiriamas padermes, padidinus kiekį iki 30 ul gali būti lengviau aptikti atsparumo mechanizmus.

TYRIMO REZULTATŲ SKAITYMAS

Patikrinkite tyrimo plokštelių grynumą. Rezultatai negalioja, jeigu aptinkama mišri kultūra

1. Automatiškai

Plokštes galima nuskaityti naudojant „AutoReader“ / „OptiRead“ ar ARIS pagal nurodymus, pateiktus atitinkamame naudotojo vadove, arba naudojant SWIN HELP failus.

„Sensititre“ plokštelių, kurių paskirtis tik „Manual“, „Sensitouch“ arba „Vizion“, negalima nuskaityti naudojant „AutoReader“ / „OptiRead“ arba ARIS.

2. Neautomatiškai

Po inkubavimo rezultatus galima nuskaityti naudojant „Sensititre“ neautomatinę žiūryklę arba „Vizion“. Žr. naudotojo vadovus. Nebūtina nuimti lipniojo sandariklio. Augimas matomas kaip drumstumas arba kaip ląstelių nuosėdos šulinėlio apačioje. MIC įrašomas kaip mažiausia antimikrobinės medžiagos koncentracija, kuri stabdo matomą augimą. Mažas augimas „Vizion“ bus geriau nuskaitytas, jei sureguliuosite apšvietimą. Pirmiausia reikia nuskaityti teigiamo augimo kontrolinius šulinėlius. Jei kuriame nors nepastebima augimo, rezultatai netinkami.

Reikia atkreipti dėmesį į toliau nurodytus punktus.

a. Silpnėjimo pabaigos taškai

Daugelio mikroorganizmų ir antimikrobinių medžiagų derinių pabaigos taškai skiriasi. Kai kurių derinių atveju galimas laipsniškas augimo silpnėjimas per 2–3 šulinėlius. Pabaigos tašku turi būti laikomas pirmas šulinėlis, kuris stabdo matomą augimą, išskyrus sulfonamidus ir linezolidus, kai MIC reikia nuskaityti kaip 80–90 % augimo sumažėjimą, palyginti su teigiamu kontroliniu šulinėliu.

b. Užteršimas

Dėl užteršimo galimas augimas šulinėlyje, besiribojančiame su šulinėliais, kuriuose nepastebimas augimas. Tokio vieno šulinėlio užteršimo gali būti nepaisoma, bet jei įtariama, kad užteršti keli šulinėliai, tyrimą reikia pakartoti.

c. Praleidimai

Kartais galima pastebėti praleidimo atvejų – šulinėlį, kuriame neprasidėjo augimas, besiribojantį su šulinėliais, kuriuose prasidėjo augimas. Tam yra įvairių paaiškinimų, įskaitant užteršimą, mutaciją, suglamžytą sandariklį ir nelygias dozes. Vieno praleidimo gali būti nepaisoma. Tačiau, siekiant užtikrinti efektyvų antimikrobinį gydymą, NIEKADA nenuskaitykite praleidimo šulinėlio kaip MIC; visada nuskaitykite mažiausią šulinėlio koncentraciją, kurią viršijus neprasideda augimas.

d. Mišrios kultūros

Išskyrus atvejį, aprašytą a punkte viršuje, jei du pabaigos taškai matomi kaip ryškios ląstelių sagos ir už jų eina keli šulinėliai, kuriuose augimas pasiskirstęs ir nėra sagų (arba matomos mažesnės sagos), gali būti, kad bakterijų populiacija yra mišri. Reikia patikrinti grynumą kultivuojant augimą ant tinkamo agaro. Tyrimo rezultatai negalioja, jeigu aptinkama mišri kultūra.

3. Papildoma informacija

ESBL patvirtinimo MIC rezultatai

Norint patvirtinti ESBL: ≥ 3 dvigubos koncentracijos sumažėjimas MIC, kai antimikrobinė medžiaga tirama su klavulano rūgštimi, palyginti su jos MIC, kai tirama atskirai, = ESBL. Pavyzdys: ceftazidimo MIC = 8 µg/ml, ceftazidimo / klavulano rūgšties MIC = 1 µg/ml. Daugiau informacijos žr. CLSI M7.

Cefoksitino tyrimas

Cefoksitino tyrimą (6 µg/ml) galima naudoti norint nustatyti „mecA“ sukeltą *Staphylococcus aureus* atsparumą. Padermės, kurių atveju cefoksitino MIC yra > 6 (teigiamas augimas), turi būti registruojamos kaip atsparios oksacilinui. Tos, kurių cefoksitino MIC ≤ 6 (augimo nėra), turi būti registruojamos kaip jautrios oksacilinui.

D tyrimas

Sotinimo terpės mikroskiedimo D tyrimas skirtas *Staphylococcus spp.*, atsparioms (MIC ≥ 8 µg/ml) eritromicinui ir jautrioms arba vidutiniškai jautrioms (MIC ≤ 2 µg/ml) klindamicinui. Su šiomis padermėmis 1 D tyrimas (4/0,5 µg/ml), 2 D tyrimas (8/1,5 µg/ml) arba abu 1 ir 2 yra teigiami (augimas); tyrimo rezultatą reikia registruoti kaip įgytą atsparumą klindamicinui. Jei naudojant šias padermes nėra augimo tiek atliekant 1 D tyrimą, tiek 2 D tyrimą, padermės reikia registruoti kaip neigiamas vertinant įgytą atsparumą. Jei nustatomas atsparumas eritromicinui, jautrumas klindamicinui ir D tyrimas yra neigiami po 18 val. inkubavimo, dar kartą nuskaitykite po 24 valandų inkubavimo.

REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Prieš interpretuodami rezultatus, žr. CLSI, EUCAST MIC interpretavimo rekomendacijas arba vietines standartų rekomendacijas.

Plokštelėje gali būti antimikrobinių medžiagų, kurių efektyvumas nebuvo įrodytas gydant visų tiriamų mikroorganizmų infekcijas. Žr. atskiro FDA patvirtinto antimikrobino vaisto pakuotės informacinį lapelį, norėdami interpretuoti ir registruoti antimikrobinių medžiagų, kurios buvo aktyvios prieš mikroorganizmų grupes *in vitro* ir klinikinių infekcijų atveju, rezultatus.

Kai rezultatai nuskaityti automatiškai, programinė įranga taiko interpretavimo kriterijus, paremtus CLSI, EUCAST arba FDA rekomendacijomis, atsižvelgiant į programinės įrangos konfigūraciją.

Registruodami šiuos ESBL patvirtinamojo tyrimo antimikrobinių medžiagų rezultatus, žr. dokumente „CLSI M100: ESBL patikrinamieji ir patvirtinamieji tyrimai naudojant *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ir *Escherichia coli*“, kaip tinkamai interpretuoti rezultatus.

Ribinės reikšmės rezultatai

Ribinės reikšmės tyrimas yra sotinimo terpės skiedimo metodas atliekant kokybinį jautrumo tyrimą. Sukurta „Sensititre“ ribinės reikšmės sistema, naudojanti paprastą standartizuotą jautrumo tyrimo metodą, paremtą ribinių reikšmių koncentracijomis. Ribinė reikšmė apibrėžiama kaip antibiotikų koncentracija, kuri stabdo jautrių, bet ne atsparių mikroorganizmų augimą. Naudojamos dvi daugelio antimikrobinių medžiagų koncentracijos: mažesnė koncentracija, kuri atitinka jautrios kategorijos viršutinę ribą, ir didesnė koncentracija, kuri atitinka tarpinės kategorijos viršutinę ribą.

Antimikrobinių medžiagų, esančių 1 arba 2 šulinėliuose, koncentracijų ribinių reikšmių interpretavimas

Rezultatas	Vieno šulinėlio interpretav	Dviejų šulinėlių interpretav
Augimo nėra	Jautrumas	-
Augimas	Atsparumas	-
Nėra augimo abiejuose šulinėliuose	-	Jautrumas
Augimas tik esant mažesnei koncentracijai	-	Tarpinis
Augimas abiejuose šulinėliuose	-	Atsparumas
Augimas tik esant didesnei koncentracijai.	-	Negalioja – kartoti

KOKYBĖS KONTROLĖ

1. Kokybės kontrolės tyrimų dažnį reikia nustatyti pagal laboratorijos standartines rekomendacijas.
2. Inokuliatą reikia kultivuoti ant tinkamos terpės, norint patikrinti grynumą. Tyrimo rezultatai negalioja, jeigu aptinkama mišri kultūra.
3. Visose „Sensititre“ plokštelėse yra teigiamų kontrolinių šulinėlių. Tyrimai laikomi negaliojančiais, jei nematyti ryškaus augimo visuose teigiamuose kontroliniuose šulinėliuose. Kai kurių formatų plokštelėse taip pat yra neigiamo augimo šulinėlis.

Kai kuriais atvejais šį šulinėlį galima naudoti norint kalibruoti „AutoReader“ / „Optiread“; jis nėra reikalingas neautomatinio nuskaitymo procedūrai.

4. Keli veiksniai padeda pasiekti tinkamą MIC, įskaitant 3–5 kolonijų iš grynios 16–24 valandų agarų lėkštelės naudojimą bei standartinį inokuliacijos tankį, nustatytą naudojant Makfarlando standartą ir neflometrą, temperatūrą ir sotinimo terpę. Praktikoje pasikartojantys MIC įprastai pasiskirstys, o dauguma rezultatų bus susiję su vienu modalios vertės skiediniu.
5. Kokybės kontrolės lentelėse išvardyti kontroliniai mikroorganizmai rekomenduojami norint stebėti jautrumo tyrimo procedūrą ir tikrinti antimikrobinų medžiagų stiprumą. Tikėtinus kokybės kontrolės rezultatus žr. kokybės kontrolės lentelėse. Tyrimo procedūrą galima laikyti patenkinama, jei naudojant kontrolinius mikroorganizmus gauti jautrumo rezultatai patenka į nurodytus intervalus. Rezultatų **nereikėtų** registruoti, jei kokybės kontrolės rezultatai yra už nurodytų vaistų ir mikroorganizmų derinio intervalo ribų.
6. Šie mikroorganizmų ir antimikrobinų medžiagų kokybės kontrolės intervalai skiriasi nuo CLSI rekomenduojamų intervalų: *E. coli* (ATCC® 25922™) ir cefotetanas *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) ir mezlocilinas, *S. aureus* (ATCC® 29213™) ir ampicilinas bei penicilinas.

Susisiekite su "Thermo Fisher mikrobiologija Technical Support" pagalbos tuo atveju, kokybės kontrolės neatitikimai negali būti išspręsta. Geofiltracijos žemiau kontaktinę informaciją.

APRIBOJIMAI

- Tik kvalifikuotas klinikos personalas gali tinkamai interpretuoti tyrimo rezultatus.
- Kaip ir taikant visus kitus jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimo būdus, naudojant „Sensititre“ jautrumo plokšteles gauti rezultatai yra *in vitro* rezultatai.
- Lepiems mikroorganizmams tirti reikalingos specialios procedūros, juos reikia tirti taikant kitus metodus. „Sensititre“ *Haemophilus influenzae* / *Streptococcus pneumoniae* MIC plokštelę galima naudoti tiriant *Haemophilus influenzae* ir *Streptococcus pneumoniae*. Tinkamus jautrumo procedūrų pakeitimus rasite „Sensititre“ lepių bakterijų techniniame informaciniame lapelyje arba CLSI M7.
- Tyrimai buvo atlikti naudojant „AutoInoculator“ / AIM. Jei tirdami minocikliną, doksicikliną, telavanciną, dalbavanciną, oritavanciną arba tedizolidą naudojate kitą inokuliacijos sistemą, patikrinkite kitos inokuliacijos sistemos efektyvumą atlikdami kokybės kontrolės tyrimą ir suskaičiuodami kolonijas.

Gramneigiamų bakterijų apribojimai

1. Rezultatai, gauti naudojant *C. freundii* ir cefotetaną, atskleidė prieštarigus MIC, palyginti su naktiniu atskaitos metodu, todėl nereikia registruoti antimikrobinės medžiagos rezultatų. Jei antimikrobinė medžiaga yra labai svarbi paciento priežiūrai, reikia naudoti kitą procedūrą.
2. Laboratorijoje atlikto amoksicilino / klavulano rūgšties tyrimo, naudojant „Sensititre“, rezultatų ir atskaitos procedūros atkuriamumas buvo mažesnis nei 95 %. Kadangi MIC priklauso nuo pagaminamos β laktamazės lygio, MIC rezultatai gali skirtis dėl fermentų gamybos skirtumų. Laboratorijoje atlikto cefotetano ir gramneigiamų mikroorganizmų tyrimo, naudojant „Sensititre“, rezultatų ir CLI atskaitos procedūrų atkuriamumas taip pat buvo mažesnis nei 95 %.
3. Nebuvo nustatytas efektyvumas *Proteus spp.* tiriant su piperacilinu / tazobaktamu ir cefepimu. Nereikia registruoti paciento padermių rezultatų.
4. *Klebsiella spp.* ir nefermentuojančius mikroorganizmus, tirtus su piperacilinu / tazobaktamu, reikia nuskaityti neautomatiškai, nes trūksta „Sensititre Autoreader“ / „OptiRead“ sistemos efektyvumo duomenų.

5. „Autoreader“ / „OptiRead“ sistemos negalima naudoti norint numatyti *Serratia spp.* atsparumą cefpodoksimumi, nes per klinikinius tyrimus nuskaitant šį mikroorganizmo ir antimikrobinės medžiagos derinį buvo gauta per daug klaidų.
6. Nėra patvirtintų pagrindinių naudojimo indikacijų, nežinoma cefdiniro klinikinė reikšmė. Norėdami registruoti rezultatus, gautus tiriant mikroorganizmų grupes *in vitro* ir kliniškes infekcijas, žr. CLSI M100 ir vaistų etiketėse pateiktą informaciją.
7. Neregistruokite toliau nurodytų antimikrobinių medžiagų ir mikroorganizmų derinių atsparumo, nes tiriant trūko atsparių derinių.

Mikroorganizmas	Antimikrobinė medžiaga
<i>Citrobacter</i> rūšys	Piperacilinas / tazobaktamas
<i>Serratia</i> rūšys	Piperacilinas / tazobaktamas
<i>Proteus</i> rūšys	Lomefloksacinas ir cefpodoksimas
Ne <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloksacinas

8. „Sensititre“ sistemos galimybė aptikti moksifloksacinui ir gatifloksacinui atsparias bakterijas nežinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą nebuvo atsparių padermių.
9. Tigeciklino *in vitro* aktyvumas prieš *Morganella spp.*, *Proteus spp.* ir *Providencia spp.*
10. Kadangi dabar nėra tigeciklinui ir gemifloksacinui atsparių padermių, tai neleidžia jokių rezultatų apibrėžti kitaip nei „jautrūs“. Padermės, kurias tiriant gaunami MIC rezultatai, priskiriami nejautrumo kategorijai, turi būti perduoti standartinei laboratorijai tolesniam tyrimui.
11. Gemifloksacino *in vitro* MIC yra 0,25 µg/ml ar mažiau, tiriant daugelį (≥ 90 %) šių mikroorganizmų padermių: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* ir *Proteus vulgaris*. Tačiau gemifloksacino saugumas ir veiksmingumas gydant kliniškes infekcijas, sukeltas šių mikroorganizmų, nebuvo nustatytas atliekant tinkamus ir gerai kontroliuojamus klinikinius tyrimus.
12. Kadangi dabar nėra doripenemui atsparių padermių, tai neleidžia jokių rezultatų apibrėžti kitaip nei „jautrūs“. Padermės, kurias tiriant gaunami MIC rezultatai, priskiriami nejautrumo kategorijai, turi būti perduoti standartinei laboratorijai tolesniam tyrimui.
13. „Sensititre“ sistemos galimybė aptikti *Acinetobacter spp.* atsparumą minociklinui nežinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą nebuvo atsparių padermių.
14. Tyrimai buvo atlikti naudojant „AutoInoculator“ / AIM. Nebuvo vertintas kitos inokuliacijos sistemos naudojimas ceftarolinui tirti.
15. „Sensititre“ sistemos galimybė aptikti *Citrobacter koseri* atsparumą ceftarolinui nežinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą nebuvo atsparių padermių.
16. Ceftarolinas nėra aktyvus prieš gramneigiamas bakterijas, sukeliančias plataus spektro beta laktamazes (ESBL) iš TEM, SHV arba CTX-M šeimų, serino karbapenemazes (pvz., KPC), B klasės metalo beta laktamazes ar C klasės („AmpC“ cefalosporinai).
17. Nebuvo nustatytas ceftarolino efektyvumas prieš *Moraxella catarrhalis*. Nereikia registruoti paciento padermių rezultatų.

Gramteigiamų bakterijų apribojimai

1. „Autoreader“ / „OptiRead“ sistemą galima naudoti norint nuskaityti koaguliazės neigiamas *Staphylococci* ir *Enterococci*, jei skydo žymių būseną yra „Gramteigiamoms padermėms“

- nuskaityti“, šulinėliuose yra fluorogeninių substratų.
2. „Autoreader“ / „OptiRead“ neturėtų būti naudojami nitrofurantoinui su *Enterococcus spp.* nuskaityti. Nitrofurantoinas turi būti nuskaitytas neautomatiškai. Nitrocefino β laktamazės tyrimą reikia atlikti, norint aptikti β laktamazę, iš kurios gaunamos *Enterococci* padermės.
 3. „Sensititre“ jautrumo plokštelės yra sukonfigūruotos, kad atitiktų CLSI rekomendacijas, kaip aptikti meticilinui atsparius *Staphylococci*. Todėl prie oksacilino pridedami du procentai druskos. Inokuliatas turi būti paruoštas tiesiai iš per naktį laikytos agarų lėkštelės, o ne iš šviežio sultinio kultūros. Atkreipkite dėmesį, kad dauguma įvairaus atsparumo *Staphylococci* yra atsparios kelioms antimikrobinėms medžiagoms, įskaitant β laktamus, aminoglikozidus, makrolidus, klindamiciną, chloramfenikolį ir tetracikliną; šia informacija reikia naudotis norint aptikti penicilinazei atsparių penicilinų kryžminį atsparumą.
 4. Tiriant *Staphylococci* ir peniciliną G, taip pat reikia ištirti β laktamazės gamybą, ypač padermėse, kurių MIC ribinis (0,06–0,25 $\mu\text{g/ml}$). Jei tiriant šias padermes β laktamazė yra teigiama, reikia pakartoti tyrimą ir taip užtikrinti, kad atsparumas būtų užregistruotas.
 5. Ne enterokokų *Streptococci* padermių silpnas augimas Miulero-Hintono sotinimo terpėje gali duoti nepatikimus rezultatus naudojant aminoglikozidus.
 6. Rezultatai, gauti naudojant *Staphylococci*, jautrius koagulazei neigiamam oksacilinui su klaritromicinu, atskleidė prieštarigus MIC, palyginti su laikymo per naktį standartiniu metodu. Jei antimikrobinė medžiaga labai svarbi paciento priežiūrai, reikia naudoti kitą procedūrą arba nereikia registruoti antimikrobinės medžiagos.
 7. Nustatyta, kad cefdiniras aktyvus prieš daugelį meticilinui jautrių *S. aureus* (MSSA) ir *Streptococcus pyogenes* klinikinių infekcijų atveju. *In vitro* koreliacija buvo nustatyta naudojant *S. epidermidis* (MSSE) ir *Streptococcus agalactiae*. Toks aktyvumas nebuvo būdingas jokiems kitiems mikroorganizmams, tinkamiems gramteigiamoms plokštelėms.
 8. „Autoreader“ / „OptiRead“ sistemos negalima naudoti norint nuskaityti trimetoprimą / sulfametoksazolį (SXT) su CNS. SXT reikia nuskaityti neautomatiškai.
 9. Klinikinė cefdiniro reikšmė nežinoma; nėra patvirtintų pagrindinių naudojimo instrukcijų. Norėdami registruoti rezultatus, gautus tiriant mikroorganizmų grupes *in vitro* ir klinikines infekcijas, žr. CLSI M100.
 10. Kadangi dabar nėra tigeciklinui ir gemifloksacinui atsparių padermių, tai neleidžia jokių rezultatų apibrėžti kitaip nei „jautrus“. Padermės, kurias tiriant gaunami MIC rezultatai, priskiriami nejautrumo kategorijai, turi būti perduoti standartinei laboratorijai tolesniam tyrimui.
 11. Neregistruokite toliau nurodytų mikroorganizmų ir antimikrobinų medžiagų derinių atsparumo, nes tiriant trūko atsparių padermių.

Mikroorganizmas	Antimikrobinė medžiaga
Gramteigiamos bakterijos	Linezolidas, moksifloksacinas, gatifloksacinas, tigeciklinas, gemifloksacinas
<i>Staphylococcus</i> rūšys	Ampicilinas / sulbaktamas
<i>Enterococcus</i> rūšys	Amoksicilinas / klavulaninė rūgštis
<i>Enterococcus</i> rūšys	Daptomicinas
<i>Staphylococcus</i> rūšys	
<i>Streptococcus</i> rūšys	

„Sensititre“ sistemos galimybė aptikti atsparumą ar nejautrumą toliau nurodytoms antimikrobinėms medžiagoms nėra žinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą nepakako atsparių ar nejautrių padermių. Jeigu aptinkama tokia padermė, padermę reikia nusiųsti į standartinę laboratoriją tolesniam tyrimui.

Mikroorganizmas	Antimikrobinė medžiaga
Gramteigiamos bakterijos	Moksifloksacinas, gatifloksacinas
<i>Staphylococcus aureus</i> (tik meticilinui ir eritromicinui jautrios padermės)	Telitromicinas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doksiciklinas
<i>Streptococcus rūšys</i>	Ertapenemas
<i>S. pyogenes</i>	Doksiciklinas
<i>Staphylococcus aureus</i> (meticilinui atsparios ir meticilinui jautrios padermės)	Dalbavancinas, oritavancinas, telavancinas
<i>Enterococcus faecalis</i> (tik VSE)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (meticilinui atsparios ir meticilinui jautrios padermės) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolidas

12. „Sensititre“ 18–24 valandų MIC jautrumo plokštelės gali aptikti VRSA *S. aureus* padermių, prienamų atliekant lyginamąjį tyrimą, atsparumą vankomicinui. „Sensititre“ 18–24 valandų MIC jautrumo plokštelių galimybė nustatyti kitų *S. aureus* padermių atsparumą vankomicinui nėra žinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą atsparių padermių skaičius buvo ribotas.
13. Gemifloksacino *in vitro* MIC yra 0,25 µg/ml ar mažiau prieš daugelį (≥ 90 %) šių mikroorganizmų padermių: *Staphylococcus aureus* (tik meticilinui jautrios padermės) ir *Streptococcus pyogenes*. Tačiau gemifloksacino saugumas ir veiksmingumas gydant kliniškes infekcijas, sukeltas šių mikroorganizmų, nebuvo nustatytas atliekant tinkamus ir gerai kontroliuojamus kliniškius tyrimus.
14. Naudokite kitą tyrimo metodą ir lizuotą arklio kraują *S. pyogenes* tirti, kai pastebite, kad nėra augimo ar augimas yra silpnas teigiamo augimo kontroliniame šulinėlyje.
15. „Sensititre“ sistemos galimybė aptikti *S. aureus* atsparumą minociklinui nežinoma, nes atliekant lyginamąjį tyrimą nebuvo atsparių padermių.
16. Naudokite „Sensititre“ lepių bakterijų plokštelę kaip tyrimo metodą ir lizuotą arklio kraują *Streptococcus spp.* tirti, kai nėra augimo ar augimas yra silpnas teigiamo augimo kontroliniame šulinėlyje ant nelepių bakterijų „Sensititre“ plokštelės.
17. Tyrimai buvo atlikti naudojant „AutoInoculator“ / AIM. Jei tirdami telavanciną arba

minocikliną naudojate kitą inokuliavimo sistemą, patikrinkite kitos inokuliavimo sistemos veiksmingumą atlikdami kokybės kontrolės tyrimą ir nustatydami gyvų mikroorganizmų skaičių.

18. Tyrimai buvo atlikti naudojant „Autoinoculator“ / AIM. Jei tirdami ceftaroliną naudojate kitą inokuliavimo sistemą, patikrinkite kitos inokuliavimo sistemos efektyvumą atlikdami kokybės kontrolės tyrimą ir suskaičiuodami kolonijas.
19. Oritavancino efektyvumo su *S.aureus* ir *E. faecalis* tyrimas buvo atliktas naudojant AIM automatinį inokuliatorių. Nebuvo vertintas kitos inokuliavimo sistemos naudojimas oritavancinui tirti.
20. Kadangi nėra tarpinių ir atsparių oritavancino interpretacijų, galimų klaidų dažnis labai mažas. Nustatyta 3 padermių iš 9 nejautrių padermių, kurių vienas dvigubas skiedimas buvo mažesnis nei standartinis. Prieš registruodami *S.aureus* ir *E. faecalis* rezultatus su oritavancinu, kai „Sensititre“ MIC yra 0,12 µg/ml (ribinė reikšmė), taikykite kitą tyrimo metodą, jei tai itin svarbu paciento priežiūrai.

VEIKSMINGUMAS

1 PRIEDAS. Kolonijų skaičiavimo procedūra

Toliau aprašyti 2 metodai gali būti taikomi norint nustatyti gyvų mikroorganizmų skaičių.

Tiesioginis metodas

1. Iškart po plokštelės inokuliavimo, naudodami 1 µl kilpelę, paimkite mėginį iš teigiamo augimo kontrolinio šulinėlio ir užsėkite ant kraujo agaro.
2. Paimkite kitą kilpelę (1 µl), paimkite mėginį iš to paties augimo šulinėlio ir sumaišykite su 50 µl sterilaus dejonizuotojo vandens. Inokuliuokite 1 µl šio skiedinio ant kraujo agaro lėkštelės, kad gautumėte suskaičiuotinų kolonijų.
3. Inkubuokite abi plokšteles 34–36 °C temperatūroje per naktį tinkamomis sąlygomis.
4. Nuskaitykite, kaip nurodyta toliau.

Numatytasis inokulianto skiedinys	Kolonijų skaičius	Kolonijų skaičius		
		0,001 plokštelė	0,001	iš 1/50
1 x 10 ⁴	5 x 10 ³ - 5 x 10 ⁴	5–50		0
1 x 10 ⁵	Nuo 5 x 10 ⁴ iki 5 x 10 ⁵	50–500		1– 10
5 x 10 ⁵	Nuo 2,5 x 10 ⁵ iki 2,5 x 10 ⁶	250– 2 500		5– 50

Netiesioginis metodas

1. A. 1 x 10⁵ cfu/ml inokulianto

Naudodami sterilų pipetės antgalį, perkelti 100 µl sotinio terpės kultūros į 10 ml naujos sotinio terpės mėgintuvėlį ir pažymėkite kaip A mėgintuvėlį.

B. 5 x 10⁵ cfu/ml inokulianto

Naudodami sterilų pipetės antgalį, perkelkite 10 µl sultinio kultūros į 10 ml naujo sultinio mėgintuvėlį ir pažymėkite kaip A mėgintuvėlį.

2. Naudodami sterilų pipetės antgalį, perkelkite 100 µl iš A mėgintuvėlio ant tinkamai pažymėtos (reikia užrašyti ir datą) kraujo plokštelės paviršiaus.
3. Naudodami sterilią inokuliacijos kilpą, paskleiskite 100 µl kultūros per visą plokštelės paviršių.
4. Inkubuokite plokštelę 34–36 °C temperatūroje 18–24 valandas.
5. Suskaičiuokite kolonijas ant plokštelės ir padauginkite iš 10^3 (1×10^5 cfu/ml) arba 10^4 (5×10^5 cfu/ml), kad gautumėte originalios suspensijos gyvų mikroorganizmų skaičių.

1×10^5 cfu/ml inokulianto	5×10^5 cfu/ml inokulianto
Gyvų mikroorganizmų skaičiaus intervalas = nuo 5×10^4 iki 5×10^5 cfu/ml	Gyvų mikroorganizmų skaičiaus intervalas = nuo $2,5 \times 10^5$ iki $2,5 \times 10^6$ cfu/ml

LITERATŪRA

1. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

ATSAKOMYBĖS ATSIŠAKYMAS

Informacija, pateikta šiame techniniame informaciniame lapelyje, yra aktuali spausdinant ir gali būti keičiama be įspėjimo.

Naujausią informaciją galima parsisiųsti iš www.TREKDS.com/techinfo puslapio arba susisiekus su „Thermo Fisher Scientific“ mikrobiologijos techninės pagalbos skyriumi.



Teisėtas gamintojas
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Jungtinė Karalystė
Tel. +44-1342-318777



„ATCC Licensed Derivative®“ emblema, „ATCC Licensed Derivative®“ žodinis ženklas ir ATCC

katalogo ženklai yra ATCC prekių ženklai. „Thermo Fisher Scientific Inc.“ turi licenciją naudoti šiuos prekių ženklus ir parduoti produktus, gautus iš ATCC® kultūrų.

© „Thermo Fisher Scientific Inc.“, 2016 m. Visos teisės saugomos. ATCC prekės ženklas priklauso ATCC. Visi prekių ženklai yra „Thermo Fisher Scientific Inc.“ ir jos filialų nuosavybė.

Techninės pagalbos tarnybos el. pašto adresai

Austrija	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgija	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Čekija	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danija	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Prancūzija	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Suomija	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Vokietija	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italija	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Nyderlandai	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvegija	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Ispanija	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Švedija	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
JK techninės pagalbos skyrius	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Instrukcja użycia

Thermo Scientific™ Sensititre™ — płytki do
badania lekowrażliwości wyizolowanych
niewybrednych bakterii Gram-ujemnych i Gram-
dodatnich

039-NFAST ROW Only -CID9494
Data korekty: 13 grudnia 2018 r

Sensititre — płytki do badania wrażliwości wyizolowanych niewybrednych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich

Sensititre 18-24 hour

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

W celu uzyskania kompletnych informacji na temat płytki, w tym na temat układu elementów płytki, informacji o kontroli jakości, kryteriów interpretacji, danych dotyczących wydajności i na temat piśmiennictwa należy odwiedzić stronę www.trekds.com/techinfo. Konieczne będzie podanie typu płytki i numeru seryjnego płytki.

PRZEZNACZENIE

System Sensititre do wyznaczania minimalnych stężeń hamujących (MIC) i wartości granicznych lekowrażliwości to produkt do stosowania w diagnostyce *in vitro* przeznaczony do klinicznego testowania lekowrażliwości wyizolowanych niewybrednych bakterii Gram-ujemnych, do których należą *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i inne bakterie, które nie należą do rodziny *Enterobacteriaceae*, a także wyizolowanych niewybrednych bakterii Gram-dodatnich z gatunku *Staphylococcus*, gatunku *Enterococcus* oraz beta hemolitycznych paciorkowców innych niż *S. pneumoniae*. Płytki Sensititre do testu potwierdzającego obecność enzymów ESBL to produkt do stosowania w diagnostyce *in vitro* przeznaczony do wykrywania enzymów ESBL w izolatach klinicznych bakterii *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* oraz *Escherichia coli*. Płytki MIC i ESBL mogą być odczytywane ręcznie lub automatycznie przy użyciu automatów Sensititre Autoreader/OptiRead i/lub ARIS. Bulion firmy Thermo Fisher Scientific został zatwierdzony wyłącznie do stosowania z produktami Sensititre.

PODSUMOWANIE I ZASADY STOSOWANIA

Na każdej płytce znajdują się odpowiednio rozcieńczone środki do zwalczania drobnoustrojów. Wyniki można odczytywać ręcznie poprzez analizę skali namnażania albo w automatach ARIS/OptiRead/Autoreader z pomocą metod fluorescencyjnych.

Systemy Sensititre Autoreader/OptiRead wykorzystują technologię fluorescencyjną. Ta technologia służy do wykrywania namnażania bakterii poprzez monitorowanie konkretnych enzymów powierzchniowych produkowanych przez organizm badany. Skalę namnażania ustala się poprzez generowanie produktu fluorescencyjnego z substratu niefluorescencyjnego (fluorogenicznego). Substrat niefluorescencyjny jest przygotowywany poprzez wytworzenie wiązania sprzężonego między składnikiem fluorescencyjnym a swoistym substratem enzymatycznym, co uniemożliwia fluorescencję. Mówi się wtedy, że fluorofor został wygaszony. Działanie enzymatyczne bakteryjnych enzymów powierzchniowych na konkretne substraty rozszczepia to wiązanie, powodując uwolnienie fluoroforu, który następnie wywołuje fluorescencję. Ilość wykrywanej fluorescencji jest bezpośrednio powiązana z aktywnością bakteryjnych enzymów powierzchniowych, a zatem z namnażaniem bakteryjnym.

Metodami automatycznymi można odczytywać tylko płytki z nazwą formatu z przyrostkiem F.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

W celu zgłaszania wyników uzyskanych za pomocą produktów Sensititre do diagnostyki *in vitro* z oznaczeniem CE i produktów dopuszczonych do sprzedaży przez FDA można stosować wyłącznie instrumenty wyprodukowane przez firmę Sensititre (tj. prostą

przeglądarkę ręczną, Sensitouch, Vizion, Sensititre Autoreader/OptiRead i ARIS). Wszelkie inne systemy używane w tym celu nie będą obsługiwane.

Wyniki należy traktować jako pomoc w doborze leku do leczenia. Niniejszy produkt służy do diagnostyki *in vitro* i powinien być używany wyłącznie przez prawidłowo przeszkolony personel. Należy podejmować odpowiednie środki ostrożności przed zagrożeniami mikrobiologicznymi — w tym celu należy prawidłowo sterylizować próbki, pojemniki, podłoża i płytki testowe po ich użyciu. Wymagane jest uważne przeczytanie i przestrzeganie wskazówek.

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

Płytki do badania lekowrażliwości Sensititre należy przechowywać w oryginalnych pojemnikach w temperaturze 15–25°C i chronić przed światłem słonecznym oraz ciepłem do czasu użycia. Każda płytka jest zapakowana w folię ze środkiem osuszającym. Płytki nie mogą być używane po upływie daty ważności, jeśli woreczek foliowy jest uszkodzony lub środek osuszający ma kolor inny niż pomarańczowy. Posiew na płytkę powinien następować w ciągu 5 godzin od wyjęcia jej z woreczka.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki powinny być pobierane i przygotowywane zgodnie z zaleceniami.

Materiały dostępne w zestawie

10 płytek Sensititre™ z substratami w studzienkach
10 perforowanych uszczelkach samoprzylepnych

Materiały niedostępne w zestawie [kod produktu]:

Pożywka bulionowa:

- Woda demineralizowana Sensititre™ [T3339]
- Pożywka bulionowa Sensititre™ Cation-Adjusted Mueller-Hinton z TES (CAMHBT) [T3462]

Pomiar zmętnienia:

- Nefelometr Sensititre Nephelometer™ [V3011]
- Polimerowy wzorzec zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda [E1041]

Posiew na płytkę:

- Głowice dozujące do Sensititre AIM przeznaczone do posiewu na płytkach [E3010]
- Sensititre Automated Inoculation Delivery System™ [V3020]/Sensititre Autoinoculator*

Odczyt płytki:

- Sensititre AutoReader™* OptiRead™ [V3030] lub ARIS™ [V3090]
- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]
- Ręczny czytnik Sensititre [V4007]

Inne materiały:

- Sterylny pojemnik na materiał inokulacyjny
- Szczepy do kontroli jakości (zob. Tabela 1)
- Inkubator 34–36°C
- Mieszadło wirowe
- Aktualne dokumenty z wytycznymi CLSI, EUCAST lub urzędów lokalnych

*Artykuł nie jest już sprzedawany albo nie jest obsługiwany

WYBÓR POŻYWKI BULIONOWEJ DO TESTU LEKOWRAŻLIWOŚCI

Pożywka bulionowa Thermo Scientific Sensititre jest zatwierdzona do stosowania z płytkami Sensititre do badania lekowrażliwości.

PROCEDURY POSIEWU NA PŁYTKI SENSITITRE

Przed użyciem należy odczekać, aż pożywki bulionowe uzyskają temperaturę pokojową.

Standardowa ilość materiału inokulacyjnego

Dla wszystkich płytek należy wybrać 3–5 kolonii bakterii niewybrednych wyizolowanych ze świeżej płytki agarowej (z hodowli pierwotnej), zemulgować w jałowej wodzie, a następnie zmodyfikować parametry dopasowując je do wzorca 0,5 w skali McFarlanda. Dobrze wymieszać.

Przenieść 10 µl zawiesiny McFarlanda do probówki 11 ml z pożywką bulionową Cation-Adjusted Muller Hinton z buforem TES. Przejść do kroku 2.

Metoda z powiększoną ilością materiału inokulacyjnego

W zależności od badanych szczepów powiększenie ilości do 30 µl może ułatwić wykrywanie mechanizmów oporności.

W przypadku izolatów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych przeniesienie 30 µl zawiesiny do probówki zawierającej 11 ml pożywki bulionowej Sensititre Mueller-Hinton prowadzi do zmniejszenia liczebności kolonii do zakresu dla Sensititre wynoszącego od $5,0 \times 10^4$ do $5,0 \times 10^5$ CFU/ml). Przejść do kroku 2.

Bakterie z gatunków *Proteus*, *Providencia* i *Morganella*

W przypadku bakterii z podrodziny *Proteae* (w tym z gatunku *Proteus*, gatunku *Providencia* i gatunku *Morganella morganii*) należy przenieść do pożywki bulionowej 1 µl zawiesiny.

2. Przenieść 50 µl zawiesiny pożywki bulionowej na płytkę w ciągu 30 minut od przygotowania, używając jednej z dwóch opisanych poniżej metod:

1. **Sensititre Autoinoculator/AIM.** Zastąpić korek probówki jednorazową głowicą dozującą Sensititre i przeprowadzić posiew na płytkę zgodnie z instrukcjami obsługi przyrządu Autoinoculator/AIM. Zdjąć kombinację probówki/głowicy dozującej z przyrządu Autoinoculator/AIM w ciągu 30 sekund od podania dawki na płytkę.
2. **Pipeta ręczna.** Wkroplić pożywkę bulionową do sterylnego przyrządu do wykonywania posiewu, a następnie inokulować za pomocą odpowiedniej pipety.
3. Po wykonaniu posiewu przeprowadzić badanie na czystość wszystkich materiałów inokulacyjnych.
4. Wymagana jest okresowa kontrola liczebności kolonii (zob. Załącznik 1). W przypadku izolatów materiał inokulacyjny powinien mieć liczebność 1×10^5 cfu/ml, (zakres $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$) z wyjątkiem izolatów podrodziny *Proteae*, które powinny mieć liczebność 1×10^4 cfu/ml (zakres $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$).
5. Zakryć wszystkie studzienki każdej płytki uszczelką samoprzylepną dostępną w zestawie. Należy unikać fałd na uszczelce, ponieważ mogą one spowodować pomijanie studzienek.
6. Posiew na płytkę powinien następować w ciągu 5 godzin od wyjęcia jej z woreczka.

INKUBACJA

Wszystkie niewybredne organizmy aerobowe powinny być inkubowane w temperaturze 34–36°C w przyrządzie ARIS lub w inkubatorze, które nie zawierają CO₂ przez 18–24 godziny.

- W celu wykrycia bakterii *Enterococci* opornych na wankomycynę i bakterii *Staphylococci* opornych na oksacylinę należy inkubować przez 24 godziny.
- Gatunki *Acinetobacter*, *Burkholderia cepacia* i *Stenotrophomonas maltophilia* powinny być inkubowane przez 20–24 godziny.

Uszczelnione płytki mogą być układane w inkubatorze w stosach o wysokości do 3 sztuk (jeśli nie są inkubowane w przyrządzie ARIS).

Podsumowanie przygotowania i inkubacji

Grupa organizmów	Podłoże z zawiesiną w skali McFarlanda	Docelowa liczebność końcowego mat. inokulacyjnego * (cfu/ml)	Przenoszona ilość mat. inokulacyjnego	Pożywka bulionowa	Ilość przenoszona na płytkę	Warunki inkubacji	Czas inkubacjiw godzinach
Niewybredne Gram-ujemne	Woda	1×10^3	10 μ L	MHB	50 μ L	35°C O ₂	18–24
Niewybredne Gram-dodatnie	Woda	1×10^3	10 μ L	MHB	50 μ L	35°C O ₂	18–24
Zwiększona ilość materiału inokulacyjnego dla organizmów Gram-dodatnich i Gram-ujemnych**	Woda	3×10^5	30 μ L	MHB	50 μ L	35°C O ₂	18–24
Podrodzina <i>Proteae</i>	Woda	1×10^{11}	1 μ L	MHB	50 μ L	35°C O ₂	18–24

* Informacje o zakresach ilości materiału inokulacyjnego zawiera załącznik nr 1

** W zależności od badanych szczepów powiększenie ilości do 30 μ L może ułatwić wykrywanie mechanizmów oporności.

ODCZYT WYNIKÓW BADAŃ

Sprawdzić płytki do badania na czystość. Jeśli na tych płytkach znajduje się kultura mieszana, wyniki są niepoprawne.

1. Metoda automatyczna

Odczyt płytek jest możliwy na automacie AutoReader/OptiRead albo ARIS zgodnie z instrukcjami dostępnymi w odpowiedniej instrukcji obsługi albo przy użyciu z plików pomocy SWIN HELP.

Płytki Sensititre przeznaczone wyłącznie do odczytu ręcznego, w automacie Sensitouch lub Vizion nie mogą być odczytywane w przyrządzie AutoReader/OptiRead ani ARIS.

2. Metoda ręczna

Po inkubacji wyniki można odczytać, korzystając z przeglądarki ręcznej Sensititre lub przyrządu Vizion. Odpowiednie informacje zawierają instrukcje użycia. Zdejmowanie uszczelki samoklejącej nie jest wymagane. Dowodem namnażania jest widoczne zmętnienie lub osadzanie się komórek na dnie studzienki. Minimalne stężenie hamujące (MIC) jest rejestrowane jako najniższe stężenie antybiotyku, które hamuje widoczne namnażanie. Odczyt słabego namnażania na przyrządzie Vizion może zostać usprawniony poprzez korektę oświetlenia. Najpierw należy przeprowadzić odczyt ze studzienek do kontroli dodatniej. Jeśli w takich studzienkach nie ma namnażania, oznacza to, że wyniki są niepoprawne.

Należy zwrócić uwagę na następujące kwestie:

a. Barwy przejściowe informujące o zaniku

W przypadku większości kombinacji organizmu i antybiotyku można uzyskać wyraźne barwy przejściowe. W przypadku niektórych kombinacji może następować stopniowy zanik namnażania przez 2 do 3 studzienek. Jako barwę przejściową należy traktować pierwszą studzienkę, w której następuje inhibicja widocznego namnażania. Wyjątkiem są sulfonamidy i linezolid — w takich przypadkach minimalne stężenie hamujące należy odczytać jako 80–90-procentowy spadek namnażania w porównaniu ze studzienką kontroli dodatniej.

b. Zanieczyszczenie

Zanieczyszczenie może spowodować namnażanie w studzience otoczonej przez studzienki bez śladów namnażania. Takie zanieczyszczenie pojedynczej studzienki można zignorować, ale jeśli podejrzewa się zanieczyszczenie wielu studzienek, test powinien zostać powtórzony.

c. Pomińnięcia

Mogą pojawiać się tzw. „pomińnięcia” — jest to studzienka bez śladów namnażania otoczona przez studzienki z namnażaniem. Istnieje wiele wyjaśnień takiej sytuacji — między innymi zanieczyszczenie, mutacja, fałdy na uszczelce lub nieprawidłowe dozowanie. Pojedyncze pomińnięcie można zignorować. Jednak w celu zapewnienia skutecznej terapii antybiotykowej NIGDY nie należy odczytywać pomińniętej studzienki jako minimalnego stężenia hamującego; zawsze należy odczytywać najniższe stężenie ze studzienek, w których spójnie nie zachodzi namnażanie.

d. Kultury mieszane

Jeśli dwie barwy przejściowe są widoczne jako wyróżniająca się „wyspa” komórek (wyjątek stanowi sytuacja opisana w punkcie (a)), po której następuje kilka studzienek rozproszonego namnażania, w których „wyspa” nie jest już widoczna (lub widoczna jako mniejsze wyspy), może to oznaczać mieszaną populację bakteryjną. Czystość należy sprawdzić, wykonując namnażanie z tych kultur na odpowiednich podłożach agarowych. Wykrycie kultury mieszanej oznacza, że wyniki są niepoprawne.

3. Dodatkowe informacje

Wyniki dotyczące minimalnego stężenia hamującego w celu potwierdzenia ESBL

Potwierdzeniem obecności enzymów ESBL jest spadek minimalnego stężenia hamującego (MIC) ≥ 3 (dla dwóch czynników) dla środka przeciwbakteryjnego

testowanego w połączeniu z kwasem klawulanowym w porównaniu do MIC w przypadku samodzielnego testu tego środka. Przykład: MIC ceftazydym = 8 µg/ml, MIC ceftazydym/kwas klawulanowy = 1 µg/ml. Więcej szczegółów zawierają wytyczne CLSI M7.

Badanie skriningowe oporności na cefoksytyne

„Badanie skriningowe oporności na cefoksytyne (6 µg/ml)” może być stosowane w celu przewidzenia oporności u *Staphylococcus aureus* wywołanej za pośrednictwem genu *mecA*. Izolaty, dla których MIC cefoksytyny wynosi >6 (namnażanie dodatnie) powinny być zgłaszane jako odporne na oksacylinę. Izolaty, dla których MIC cefoksytyny ≤6 (brak namnażania), powinny być zgłaszane jako wrażliwe na oksacylinę.

Test D

Test D przeznaczony do wykonywania testu metodą mikrorozcieńczeń w bulionie dla gatunku *Staphylococcus* opornego (MIC ≥8 µg/ml) na erytromycynę i wrażliwego lub pośrednio wrażliwego (MIC ≤2 µg/ml) na klindamycynę. Jeśli w przypadku tych izolatów wynik testu D 1 (4/0,5 µg/ml) lub testu D 2 (8/1,5 µg/ml) albo oba (1 i 2) są dodatnie (namnażanie), izolaty należy zgłosić jako indukowalną oporność na klindamycynę. Jeśli w przypadku tych izolatów nie występuje namnażanie dla testu D 1 ani testu D 2, izolaty należy zgłosić jako ujemne dla oporności indukowalnej. Jeśli wyniki wykazują oporność na erytromycynę, wrażliwość na klindamycynę, a test D daje wynik ujemny po 18 godzinach inkubacji, należy odczytać wyniki ponownie po 24 godzinach inkubacji.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

W celu interpretacji wyników należy zapoznać się z wytycznymi interpretacji MIC udostępnianymi przez CLSI, EUCAST albo z wytycznymi wydanymi przez urzędy lokalne.

Na płycie mogą znajdować się środki przeciwbakteryjne, dla których nie potwierdzono jeszcze skuteczności w leczeniu zakażeń testowanymi organizmami. Informacje na temat interpretacji i zgłaszania wyników dotyczących środków przeciwbakteryjnych, które okazały się aktywne przeciwko grupom organizmów *in vitro* oraz w zakażeniach klinicznych zawiera ulotka dołączona do opakowania środka przeciwbakteryjnego zatwierdzonego przez FDA.

W przypadku odczytów automatycznych oprogramowanie stosuje kryteria interpretacji zgodne z wytycznymi CLSI, EUCAST lub FDA — odpowiednio do konfiguracji oprogramowania

W przypadku zgłaszania wyników testu potwierdzającego obecność enzymów ESBL należy zapoznać się z wytycznymi CLSI M100: Badania przesiewowe i testy potwierdzające obecność enzymów ESBL w bakteriiach *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* i *Escherichia coli*. Wytyczne te zawierają informacje o interpretacji wyników.

Wyniki dotyczące wartości granicznych

Badanie wartości granicznych jest realizowane metodą rozcieńczeń w bulionie w celu ilościowego badania lekowrażliwości. System Sensititre do wyznaczania wartości granicznych został opracowany, aby zapewnić prostą standaryzowaną metodę badania lekowrażliwości na podstawie koncepcji stężeń granicznych. Wartość graniczna jest zdefiniowana jako stężenie antybiotyku, które blokuje namnażanie organizmów wrażliwych, ale nie opornych. W przypadku większości antybiotyków stosowane są dwa stężenia — niższe, które reprezentuje górny limit kategorii lekowrażliwości, a także wyższe, które reprezentuje górny limit kategorii pośredniej.

Interpretacja wartości granicznej dla antybiotyków obecnych w stężeniach w 1 lub 2 studzienkach.

Wynik	Interpretacja Jedna studzienka	Interpretacja Dwie studzienki
Brak namnażania	Wrażliwość	-
Namnażanie	Oporność	-
Brak namnażania w obu studzienkach	-	Wrażliwość
Namnażanie tylko w niższym stężeniu.	-	Kategoria pośrednia
Namnażanie w obu studzienkach	-	Oporność
Namnażanie tylko w wyższym stężeniu.	-	Niepoprawne — powtórzyć

KONTROLA JAKOŚCI

1. Częstotliwość kontroli jakości należy ustawić zgodnie z wytycznymi dla standardów laboratoryjnych.
2. W celu sprawdzenia czystości posiew z materiału inokulacyjnego należy wykonać na odpowiednie podłoże. Wykrycie kultury mieszanej oznacza, że wyniki są niepoprawne.
3. Wszystkie płytki Sensititre zawierają studzienki do kontroli dodatniej. Jeśli we wszystkich studzienkach do kontroli dodatniej nie uzyskano wyraźnego namnażania, testy są niepoprawne. W przypadku niektórych formatów płytek dostępne są także studzienki do badania „namnażania ujemnego”. Ta studzienka może być w niektórych przypadkach używana do kalibracji przyrządu AutoReader/Optiread i nie jest wymagana w odczytach ręcznych.
4. Istnieje kilka warunków, które należy spełnić w celu uzyskania poprawnych wartości MIC — między innymi należy użyć 3–5 kolonii z czystej płytki agarowej (po 16–24 godzinach), a także standaryzowanego materiału inokulacyjnego o gęstości uzyskanej za pomocą wzorca gęstości w skali Mcfarlanda, neflometru, odpowiedniej temperatury i właściwego bulionu. W rzeczywistości MIC dla powtórzonych próbek utworzą rozkład normalny z większością wyników leżących w odległości jednego rozcieńczenia od wartości modalnej.
5. Organizmy kontrolne podane w tabelach kontroli jakości są rekomendowane do monitorowania procedury testu lekowrażliwości i sprawdzania siły antybiotyków. Informacje na temat oczekiwanych wyników kontroli jakości zawierają tabele kontroli jakości. Procedura testu może być traktowana jako przeprowadzona poprawnie, jeśli wyniki lekowrażliwości uzyskane dla organizmów kontrolnych mieszczą się w podanych zakresach. Wyniki **nie** powinny być zgłaszane, jeśli wyniki kontroli jakości nie mieszczą się w podanych zakresach dla kombinacji leku/mikroorganizmu.
6. Następujące zakresy kontroli jakości dla połączenia mikroorganizm/antybiotyk różnią się od zakresów zalecanych przez CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) z cefotetanem, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) z mezlocyliną, *S. aureus* (ATCC® 29213™) z ampicyliną i penicyliną.

W sytuacji, gdy nie można rozwiązać nieprawidłowości dotyczących kontroli jakości, należy skontaktować się z działem serwisu dla rozwiązań z dziedziny mikrobiologii w firmie Thermo Fisher Scientific. Dane kontaktowe są dostępne poniżej.

OGRANICZENIA

- W celu dokonania poprawnej interpretacji wyników niezbędna jest pomoc wykwalifikowanego personelu klinicznego.
- Wyniki uzyskiwane przy użyciu płytek Sensititre do badania lekowrażliwości są wynikami uzyskanymi metodami *in vitro*, podobnie jak większość innych metod do sprawdzania wrażliwości na antybiotyki.
- W przypadku badań organizmów wybrednych wymagane są wyspecjalizowane procedury i takie organizmy należy badać innymi metodami. Płytki Sensititre do badania MIC bakterii *Haemophilus influenzae*/*Streptococcus pneumoniae* może być używana do badania bakterii *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae*. Informacje na temat modyfikacji procedur badania lekowrażliwości zawiera ulotka techniczna do płytek Sensititre dla mikroorganizmów wybrednych, a także wytyczne CLSI M7.
- Badania przeprowadzono z użyciem przyrządu Autoinoculator/AIM. Jeśli podczas testowania minocykliny, doksycykliny, telawancyny, dalbawancyny, oritawancyny lub tedizolidu używany jest alternatywny system inokulacji, należy zwalidować jego działanie, wykonując testy kontroli jakości, a następnie wykonać zliczanie kolonii.

Ograniczenia w przypadku bakterii gram-ujemnych

1. Wyniki uzyskiwane w przypadku *C. freundii* i cefotetanu wykazują odmienne wartości MIC niż w przypadku metody referencyjnej z hodowli nocnej, dlatego ten środek przeciwbakteryjny nie powinien być zgłaszany. Jeśli konkretny środek przeciwbakteryjny jest krytyczny dla opieki nad pacjentami, należy zastosować alternatywną procedurę.
2. Powtarzalność wyników w jednym laboratorium dla kombinacji amoksycylina/kwas klawulanowy na płytkach Sensititre i przy użyciu procedury referencyjnej była niższa niż 95%. Wartość MIC jest zależna od stężenia produkowanej β -laktamazy, dlatego zmienność wyników MIC można przypisać zmienności w produkcji enzymu. Powtarzalność wyników w jednym laboratorium dla cefotetanu i organizmów Gram-ujemnych przy użyciu płytek Sensititre i procedur referencyjnych CLSI również była niższa niż 95%.
3. Charakterystyki działania nie ustalono dla gatunku *Proteus* badanego z użyciem piperacyliny/tazobaktamu i cefepimu. Wyniki nie powinny być zgłaszane w przypadku izolatów z próbek pacjentów.
4. Wyniki badań gatunku *Klebsiella* i organizmów niefermentujących testowanych za pomocą kombinacji piperacylina/tazobaktam powinny być odczytywane ręcznie z uwagi na brak danych dotyczących wyników uzyskiwanych w systemie Sensititre Autoreader/OptiRead.
5. System Autoreader/OptiRead nie powinien być używany do badania oporności gatunku *Serratia* na cefpodoksim, ponieważ testy kliniczne zwróciły nieakceptowalny współczynnik błędów podczas odczytu tej kombinacji organizmu/środka przeciwbakteryjnego.
6. Nie istnieją żadne zatwierdzone „wskazania do stosowania” cefdyniru, a jego znaczenie kliniczne jest nieznanne. Informacje na temat zgłaszania wyników dotyczących środków zwalczających grupy organizmów *in vitro* oraz w zakażeniach klinicznych zawierają wytyczne CLSI M100 oraz etykiety leków zatwierdzonych przez FDA.
7. Ze względu na brak izolatów opornych podczas testów nie należy zgłaszać oporności następujących kombinacji środka przeciwbakteryjnego/organizmu

Organizm	Środek przeciwbakteryjny
Gatunek <i>Citrobacter</i>	Piperacylina/tazobaktam
Gatunek <i>Serratia</i>	Piperacylina/tazobaktam
Gatunek <i>Proteus</i>	Lomefloksacyna i cefpodoksim
Inne niż <i>Enterobacteriaceae</i>	Lewofloksacyna

8. Zdolność systemu Sensititre do wykrywania oporności na moksifloksacynę i gatifloksacynę jest nieznana, ponieważ w fazie testów porównawczych niedostępne były szczepy odporne.
9. Tygecyklina ma zmniejszoną aktywność *in vitro* przeciwko gatunkom *Morganella*, *Proteus* i *Providencia*.
10. Aktualnie brak izolatów opornych na tygecyklinę i gemifloksacynę wyklucza zdefiniowanie jakichkolwiek wyników innych niż „wrażliwe”. Izolaty prowadzące do uzyskania wyników MIC sugerujących kategorię „niewrażliwe” należy dostarczyć do laboratorium referencyjnego w celu przeprowadzenia dalszych testów
11. Gemifloksacyna charakteryzuje się wartością MIC *in vitro* równą 0,25 µg/ml lub mniejszą przeciwko większości ($\geq 90\%$) szczepów następujących mikroorganizmów: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* i *Proteus vulgaris*. Jednak bezpieczeństwo i skuteczność gemifloksacyny w leczeniu zakażeń klinicznych nie zostały ustalone, ponieważ tych mikroorganizmów nie stwierdzono w odpowiednich i dobrze kontrolowanych badaniach klinicznych
12. Aktualnie brak izolatów opornych na doripenem wyklucza zdefiniowanie jakichkolwiek wyników innych niż „wrażliwe”. Izolaty prowadzące do uzyskania wyników MIC sugerujących kategorię „niewrażliwe” należy dostarczyć do laboratorium referencyjnego w celu przeprowadzenia dalszych testów.
13. Zdolność systemu Sensititre do wykrywania oporności gatunku *Acinetobacter* na minocyklinę jest nieznana, ponieważ w fazie testów porównawczych odporne szczepy były niedostępne.
14. Badania przeprowadzono z użyciem przyrządu Autolnocolator/AIM. Użycie alternatywnego systemu inokulacji podczas testowania ceftaroliny nie było oceniane.
15. Zdolność systemu Sensititre do wykrywania oporności bakterii *Citrobacter koseri* na ceftarolinę jest nieznana, ponieważ w fazie testów porównawczych odporne szczepy były niedostępne.
16. Ceftarolina nie jest aktywna przeciwko bakterii Gram-ujemnych produkujących beta-laktamazy (ESBL) o rozszerzonym spektrum z rodzin TEM, SHV lub CTX-M, spośród karbapenemaz serynowych (takich jak KPC), metallo-beta-laktamaz z klasy B albo klasy C (cefalosporyny AmpC).
17. Nie ustalono działania dla *Moraxella catarrhalis* z ceftaroliną. Wyniki nie powinny być zgłaszane w przypadku izolatów z próbek pacjentów.

Ograniczenia w przypadku bakterii gram-dodatnich

1. System Autoreader/OptiRead może być stosowany w celu odczytu wyników dla koagulazoujemnych bakterii *Staphylococci* i *Enterococci*, pod warunkiem że etykieta panelu zawiera informację „For reading gram positives isolates” (Do odczytu izolatów Gram-dodatnich), a studzienki zawierają substraty fluorogeniczne.
2. System Autoreader/OptiRead nie powinien być stosowany w celu odczytu wyników stosowania nitrofurantoina z gatunkiem *Enterococcus*. Wyniki nitrofurantoiny powinny być odczytywane ręcznie. W celu wykrycia szczepów *Enterococci* produkujących β -laktamazę należy przeprowadzić test β -laktamazy z nitrocefiną.
3. Płytki Sensititre do badania lekowrażliwości są skonfigurowane zgodnie z zaleceniami CLSI w celu wykrywania bakterii *Staphylococci* opornych na metycylinę. Z tego względu w przypadku badań z oksacyliną wymagany jest dodatek dwóch procent soli. Materiał inokulacyjny należy przygotować bezpośrednio z płytki agarowej z hodowlą nocną, a nie z kultury ze świeżej pożywki bulionowej. Należy pamiętać o tym, że większość heteroopornych bakterii *Staphylococci* jest zwykle opornych na wiele środków przeciwbakteryjnych, między innymi na β -laktamazy, aminoglikozydy, makrolidy, clindamycynę, chloramfenikol i tetracyklinę, co należy traktować jako wskazówkę do wykrycia oporności krzyżowej wśród penicylin opornych na penicylinazy.
4. Bakterie *Staphylococci* testowane względem penicyliny G powinny również zostać przetestowane pod kątem produkcji β -laktamazy, szczególnie w szczepach z granicznymi wartościami MIC (od 0,06 do 0,25 $\mu\text{g/ml}$). Jeśli testy wykażą, że te szczepy produkują β -laktamazę, należy powtórzyć test, aby potwierdzić oporność.
5. Słabe namnażanie szczepów *Streptococci* nieenterokokowych w pożywce bulionowej Mueller-Hinton mogą dawać niewiarygodne wyniki z aminoglikozydami.
6. Wyniki uzyskiwane w przypadku koagulazoujemnych i wrażliwych na oksacylinę bakterii *Staphylococci* z klarytromycyną wykazują rozbieżne wartości MIC w porównaniu do metody referencyjnej z hodowli nocnej. Jeśli środek przeciwbakteryjny ma krytyczne znaczenie dla opieki nad pacjentami, należy zastosować alternatywną procedurę lub ten środek nie powinien być zgłaszany.
7. Wykazano, że w zakażeniach klinicznych cefdynir jest aktywny względem większości wrażliwych na metycylinę bakterii *S. aureus* (MSSA) i *Streptococcus pyogenes*. Istnienie korelacji *In vitro* ustalono dla bakterii *S. epidermidis* (MSSE) i *Streptococcus agalactiae*. Takiej aktywności nie stwierdzono w przypadku żadnych innych organizmów odpowiednich dla płytki do badań bakterii Gram-dodatnich.
8. System Autoreader/OptiRead nie powinien być używany do odczytywania wyników użycia trimetoprymu/sulfametoksazolu (SXT) z gronkowcami koagulazo-ujemnymi. W przypadku SXT należy stosować odczyt ręczny.
9. Znaczenie kliniczne cefdyniru jest nieznane i nie istnieją żadne zatwierdzone „wskazania do stosowania” cefdyniru. Informacje na temat zgłaszania wyników dotyczących środków zwalczających grupy organizmów *in vitro* oraz w zakażeniach klinicznych zawierają wytyczne CLSI M100..
10. Aktualnie brak izolatów opornych na tygecyklinę i gemifloksacynę wyklucza zdefiniowanie jakichkolwiek wyników innych niż „wrażliwe”. Izolaty prowadzące do uzyskania wyników MIC sugerujących kategorię „niewrażliwe” należy dostarczyć do laboratorium referencyjnego w celu przeprowadzenia dalszych testów.
11. Ze względu na brak izolatów opornych podczas testów nie należy zgłaszać oporności następujących kombinacji organizmu/środka przeciwbakteryjnego

Organizm	Środek przeciwbakteryjny
Gram-dodatnie	Linezolid, moksifloksacyna, gatifloksacyna, tygecyklina, gemifloksacyna
Gatunek <i>Staphylococcus</i>	Ampicylina/sulbaktam
Gatunek <i>Enterococcus</i>	Amoksycylina/kwas klawulanowy
Gatunek <i>Enterococcus</i> , gatunek <i>Staphylococcus</i> , gatunek <i>Streptococcus</i>	Daptomycyna

Zdolność systemu Sensititre do wykrywania oporności lub braku wrażliwości na następujące środki przeciwbakteryjne jest nieznana, ponieważ w czasie testów porównawczych ilość opornych lub niewrażliwych szczepów była niewystarczająca. Jeśli taki szczep zostanie zaobserwowany, należy go wysłać do laboratorium referencyjnego do dalszych testów.

Organizm	Środek przeciwbakteryjny
Gram-dodatnie	Moksifloksacyna, gatifloksacyna,
<i>Staphylococcus aureus</i> (izolaty wrażliwe tylko na metycylinę i erytromycynę)	Telitromycyna
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doksycyklina
Gatunek <i>Streptococcus</i>	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doksycyklina
<i>Staphylococcus aureus</i> (izolaty oporne na metycylinę i wrażliwe na metycylinę)	Dalbawancyna, oritawancyna, telawancyna
<i>Enterococcus faecalis</i> (tylko VSE)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (izolaty oporne na metycylinę i wrażliwe na metycylinę) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Płytki do badania lekowrażliwości Sensititre (do pomiaru MIC po upływie 18–24 godzin) są zdolne do wykrywania oporności na wankomycynę w szczepach VRSA *S. aureus*, które były dostępne w czasie testów porównawczych. Zdolność do badania lekowrażliwości Sensititre (do pomiaru MIC po upływie 18–24 godzin) do wykrywania oporności na wankomycynę w innych szczepach *S. aureus* jest nieznana z powodu ograniczonej ilości szczepów opornych podczas testów porównawczych.
13. Gemifloksacyna charakteryzuje się wartością MIC *in vitro* równą 0,25 µg/ml lub mniejszą przeciwko większości ($\geq 90\%$) szczepów następujących mikroorganizmów: *Staphylococcus aureus* (tylko szczepy wrażliwe na metycylinę) oraz *Streptococcus pyogenes*. Jednak bezpieczeństwo i skuteczność gemifloksacyjny w leczeniu zakażeń klinicznych nie zostały ustalone, ponieważ tych mikroorganizmów nie stwierdzono w odpowiednich i dobrze kontrolowanych badaniach klinicznych.
14. Jeśli w studzience do kontroli namnażania dodatniego nie stwierdzono żadnego namnażania lub bardzo słabe, należy zastosować alternatywną metodę testów z poddaną lisie kwią końską w celu testowania *S. pyogenes*.
15. Zdolność systemu Sensititre do wykrywania oporności bakterii *S. aureus* na minocyklinę jest nieznana, ponieważ w fazie testów porównawczych odporne szczepy były niedostępne.
16. Jeśli w studzience do kontroli namnażania dodatniego na płycie Sensititre do badania bakterii niewybrednych nie stwierdzono żadnego namnażania lub bardzo słabe, wówczas jako metodę badań bakterii gatunku *Streptococcus* należy zastosować płytkę Sensititre do badania bakterii wybrednych oraz poddaną lisie krew końską.
17. Badania przeprowadzono z użyciem przyrządu AutoInoculator/AIM. Jeśli podczas testowania telawancyny lub minocykliny używany jest alternatywny system inokulacji, należy zwalidować jego działanie, wykonując testy kontroli jakości, a następnie wykonać zliczanie komórek żywotnych.
18. Badania przeprowadzono z użyciem przyrządu AutoInoculator/AIM. Jeśli podczas testowania ceftaroliny używany jest alternatywny system inokulacji, należy zwalidować jego działanie, wykonując testy kontroli jakości, a następnie wykonać zliczanie kolonii.
19. Wynik oddziaływania oritawancyny na bakterie *S. aureus* i *E. faecalis* oceniono za pomocą przyrządu AIM Autoinocultor. Użycie alternatywnego systemu inokulacji podczas testowania oritawancyny nie było oceniane.
20. Z powodu braku szczepów interpretowanych jako pośrednie i odporne na oritawancynę istnieje potencjalnie bardzo duży współczynnik błędu. Dostępne były 3 izolaty z 9 izolatów niewrażliwych, dla których zgłoszono rozcieńczenie, przy którym następowało dublowanie, o jeden poziom niższe niż rozcieńczenie referencyjne. Jeśli oritawancyna jest krytyczna dla opieki nad pacjentem, wówczas przed zgłoszeniem wyników z bakteriami *S. aureus* i *E. faecalis*, gdy wynik Sensititre MIC wynosi 0,12 µg/ml (wartość graniczna), należy użyć alternatywnej metody badań.

WYDAJNOŚĆ

ZAŁĄCZNIK 1: Liczebność kolonii Procedura

Każda z dwóch metod przedstawionych poniżej może być stosowana w celu ustalenia liczebności komórek żywotnych.

Metoda bezpośrednia

1. Bezpośrednio po inokulacji płytki należy pobrać próbkę (za pomocą ezy 1 µl) ze studzienki kontrolnej namnażania dodatniego i przeprowadzić inokulację na agar z krwią.

- Inną eżą (1 µl) pobrać próbkę z tej samej studzienki do kontroli namnażania i wymieszać z 50 µl jałowej wody dejonizowanej. Inokulować 1 µl tego roztworu na płytkę z agarem z krwią, aby uzyskać policzalne kolonie.
- Inkubować obie płytki w temperaturze 34–36°C przez noc w odpowiednich warunkach.
- Odczytać wyniki w następujący sposób:

Docelowe rozcieńczenie <u>mater. inokulac.</u>	Liczebność kolonii	Liczba kolonii		
		Płytką 0,001	0,001	z 1/50
1×10^4	$5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$	5–50		0
1×10^5	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$	50–500		1–10
5×10^5	$2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	250–2500		5–50

Metoda pośrednia

- A. W przypadku materiału inokulacyjnego o stężeniu 1×10^5 CFU/ml**
 Sterylną końcówką do pipetowania przenieść 100 µl kultury z pożywki bulionowej do probówki 10 ml ze świeżą pożywką bulionową. Oznaczyć tę probówkę literą A.
- B. W przypadku materiału inokulacyjnego o stężeniu 5×10^5 CFU/ml**
 Sterylną końcówką do pipetowania przenieść 10 µl kultury z pożywki bulionowej do probówki 10 ml ze świeżą pożywką bulionową. Oznaczyć tę probówkę literą A.
- Sterylną końcówką do pipetowania przenieść 100 µl z probówki A na powierzchnię odpowiednio oznakowanej (i datowanej) płytki z krwią.
- Sterylną eżą do inokulacji rozprowadzić te 100 µl kultury po całej powierzchni płytki.
- Inkubować płytkę w temperaturze 34–36°C przez 18–24 godziny.
- Policzyć kolonie na płycie i pomnożyć przez 10^3 (1×10^5 CFU/ml) lub 10^4 (5×10^5 CFU/ml), aby uzyskać liczebność komórek żywotnych z pierwotnej zawiesiny.

W przypadku materiału inokulacyjnego o stężeniu 1×10^5 CFU/ml	W przypadku materiału inokulacyjnego o stężeniu 5×10^5 CFU/ml
Zakres liczebności komórek żywotnych = $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ CFU/ml	Zakres liczebności komórek żywotnych = $2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$ CFU/ml

LITERATURA

- Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych.

OŚWIADCZENIE

Informacje podane w niniejszej ulotce technicznej są aktualne podczas jej drukowania i mogą ulec zmianie bez wcześniejszego powiadomienia.

Najnowsze informacje można pobrać ze strony www.TREKDS.com/techinfo albo uzyskać, kontaktując się z działem wsparcia technicznego dla rozwiązań z dziedziny mikrobiologii w firmie Thermo Fisher .



Oficjalny producent:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Wielka Brytania
Tel.: +44-1342-318777



Emblemat ATCC Licensed Derivative®, znacznik słowa ATCC Licensed Derivative® oraz

znaczniki katalogowe ATCC są znakami towarowymi ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. posiada licencję na używanie tych znaków towarowych i sprzedaż produktów pochodnych od kultur ATCC®.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. ATCC jest znakiem towarowym ATCC. Wszelkie pozostałe znaki handlowe stanowią własność firmy Thermo Fisher Scientific Inc. i jej spółek zależnych.

Adresy e-mail do działów wsparcia technicznego

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgia	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Czechy	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dania	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francja	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Niemcy	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Włochy	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Holandia	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norwegia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Hiszpania	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Szwecja	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Wsparcie techniczne na terenie Wielkiej Brytanii	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Instrucțiuni de utilizare

Plăci Scientific™ Sensititre™ pentru testarea sensibilității tulpinilor bacteriene Gram-negative și Gram-pozitive izolate nepretențioase nutritiv

039-NFAST ROW Only -CID9494
Data revizuirii: 13 decembrie 2018

Plăci Sensititre pentru testarea sensibilității tulpinilor bacteriene Gram-negative și Gram-pozitive izolate nepretențioase nutritiv

Sensititre 18-24 ore

Pentru diagnostic *in vitro*

Pentru informații complete privind placa, inclusiv schema de dispoziție a plăcii, informații privind CC, criterii de interpretare, date privind performanța și referințe, consultați www.trekds.com/techinfo. Vi se vor solicita tipul de placă și numărul de lot al plăcii.

DOMENIUL DE UTILIZARE

Sistemul Sensititre pentru determinarea CMI și a valorilor de prag ale sensibilității este un produs de diagnostic *in vitro* pentru testarea sensibilității clinice a tulpinilor bacteriene Gram-negative izolate nepretențioase nutritiv, inclusiv *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* și alte non-*Enterobacteriaceae* și a tulpinilor bacteriene Gram-pozitive izolate nepretențioase nutritiv, inclusiv *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. și streptococi beta-hemolitici, cu excepția *S. pneumoniae*. Placa de test de confirmare pentru ESBL Sensititre este un produs de diagnostic *in vitro* pentru determinarea ESBL în tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* și *Escherichia coli* izolate clinic. Plăcile pentru CMI și ESBL pot fi citite fie manual, fie automat, utilizând Sensititre AutoReader/OptiRead și/sau ARIS. Produsele Sensititre sunt validate numai pentru utilizarea împreună cu bulioanele produse de Thermo Scientific.

REZUMAT ȘI PRINCIPII DE UTILIZARE

Fiecare placă conține agenți antimicrobieni în diluții adecvate. Rezultatele pot fi citite manual, prin citirea vizuală a dezvoltării, sau automat, cu ajutorul ARIS/OptiRead/AutoReader, bazate pe fluorescență.

Sistemele Sensititre AutoReader/OptiRead utilizează tehnologia fluorescenței. Aceasta realizează depistarea dezvoltării bacteriene prin monitorizarea activității enzimelor de suprafață specifice produse de microorganismul testat. Dezvoltarea este determinată prin generarea unui produs fluorescent dintr-un substrat nefluorescent (fluorogen). Substratul nefluorescent este preparat prin conjugarea unui compus fluorescent cu substraturi enzimatic specifice printr-o legătură ce previne fluorescența. Apoi, fluoroforul este „stins”. Acțiunea enzimatică a enzimelor bacteriene de suprafață asupra substanțelor specifice rupe această legătură, eliberând fluoroforul, care acum poate produce fluorescență. Cantitatea de fluorescență detectată este direct proporțională cu activitatea enzimelor bacteriene de suprafață și, implicit, cu dezvoltarea bacteriană.

Doar plăcile a căror denumire se termină cu litera „F” pot fi citite automat.

PRECAUȚII

Pentru raportarea rezultatelor obținute cu produse Sensititre conforme cu directiva CE privind dispozitivele de diagnostic *in vitro* sau aprobate de FDA, se vor utiliza exclusiv instrumente compatibile cu Sensititre (precum un cititor manual simplu, Sensitouch, Vizion, Sensititre AutoReader/OptiRead și ARIS). Orice alt sistem utilizat nu este compatibil.

Rezultatele vor fi utilizate în selectarea medicamentului de elecție pentru tratament. Acest produs este destinat utilizării pentru diagnostic *in vitro* și trebuie utilizat de către personalul instruit adecvat. Se recomandă luarea unor măsuri de precauție pentru prevenirea pericolului microbiologic prin sterilizarea adecvată a probelor, recipientelor, mediilor și plăcilor de test după utilizare. Instrucțiunile trebuie citite și respectate cu atenție.

PĂSTRARE ȘI TERMEN DE VALABILITATE

Păstrați plăcile Sensititre pentru testarea sensibilității în recipientele originale, la o temperatură de 15 – 25 °C și departe de lumina directă a soarelui și surse de căldură până la utilizare. Fiecare placă este ambalată într-o folie împreună cu un sicativ. Plăcile nu trebuie utilizate după data de expirare, dacă folia este deteriorată sau dacă culoarea sicativului nu este portocalie. Plăcile trebuie inoculate în maximum 5 ore după ce au fost scoase din pungă.

RECOLTAREA ȘI PREPARAREA PROBELOR

Probele trebuie recoltate și manipulate respectând normele recomandate.

Materiale incluse

10 plăci Sensititre™ cu substrat în godeuri
10 sigilii adezive perforate

Materiale care nu sunt incluse [Codul produsului]:

Bulion:

- Apă demineralizată Sensititre™ [T3339]
- Bulion Mueller-Hinton ajustat cu cationi Sensititre™ cu TES (CAMHBT) [T3462]

Turbiditate:

- Nefelometru Sensititre™ [V3011]
- Standard polimeric de turbiditate de 0,5 unități McFarland [E1041]

Inocularea plăcilor:

- Capete de dozare pentru Sensititre AIM pentru inocularea plăcilor [E3010]
- Sistem de inoculare automată Sensititre™ [V3020] / Sensititre AutoInoculator*

Citirea plăcilor:

- Sensititre AutoReader™*, OptiRead™ [V3030] sau ARIS™ [V3090]
- Sistem digital de vizualizare a CMI Sensititre Vizion™ [V2021]
- Sistem manual de vizualizare Sensititre [V4007]

Alte consumabile:

- Inoculator steril
- Tulpini pentru controlul calității (vezi Tabelul 1)
- Incubator la 34-36°C
- Amestecător vortex
- Ghidurile CLSI, EUCAST sau normele locale

**Nu se mai comercializează sau nu mai sunt compatibile*

SELECTAREA BULIONULUI PENTRU TESTAREA SENSIBILITĂȚII

Bulionul Sensititre produs de Thermo Scientific este validat pentru utilizarea cu plăcile Sensititre pentru testarea sensibilității.

PROCEDURI DE INOCULARE PENTRU PLĂCILE SENSITITRE

Lăsați toate bulioanele să atingă temperatura camerei înainte de utilizare.

Inocul standard

Pentru toate plăcile, alegeți 3-5 colonii de tulpini bacteriene izolate nepretențioase nutritiv din placa cu agar principală proaspătă, emulsionați în apă sterilă și ajustați la standardul de 0,5

unități McFarland. Amestecați bine.

Transferați 10 µl din suspensia McFarland în eprubeta de 11 ml cu bulion Mueller-Hinton ajustat cu cationi cu tampon TES. Continuați cu pasul 2.

Metoda creșterii cantității de inocul

În funcție de tulpinile testate, creșterea la 30 µl poate ajuta la depistarea mecanismelor de rezistență.

Atât pentru tulpinile bacteriene Gram-pozitive, cât și pentru cele Gram-negative izolate, transferul a 30 µl de suspensie într-o eprubetă Sensititre de

11 ml cu bulion Mueller-Hinton are drept rezultat un număr de colonii care se încadrează în intervalul aprobat al Sensititre de $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$ UFC/ml. Continuați cu pasul 2.

Proteus, Providencia și Morganella

Pentru familia *Proteae* (inclusiv specia *Proteus*, specia *Providencia* și *Morganella morganii*), transferați 1 µl în bulion.

2. Transferați pe placă 50 µl de suspensie de bulion în maximum 30 de minute de la preparare, printr-una dintre următoarele metode:

1. **Sensititre Autoinoculator/AIM.** Înlocuiți capacul tubului cu un capăt de dozare Sensititre de unică folosință și inoculați placa în conformitate cu instrucțiunile dispozitivului Autoinoculator/AIM. Îndepărtați combinația eprubetă de test/capăt de dozare din Autoinoculator/AIM în maximum 30 de secunde de la inocularea unei plăci.

2. **Pipetă manuală.** Turnați bulionul într-un vas pentru însămânțare steril și inoculați placa utilizând o pipetă adecvată.

3. Efectuați verificarea purității tuturor inoculilor finali după inocularea în plăci.

4. Se recomandă verificarea periodică a numărului de colonii (a se vedea Anexa 1). Tulpinile bacteriene izolate trebuie să prezinte un inocul de 1×10^5 UFC/ml, (în intervalul $5,0 \times 10^4$ – $5,0 \times 10^5$) cu excepția tulpinilor bacteriene izolate din familia *Proteae*, care ar trebuie să fie de 1×10^4 UFC/ml (în intervalul $5,0 \times 10^3$ – $5,0 \times 10^4$).

5. Acoperiți toate godeurile din fiecare placă cu sigiliul adeziv furnizat. Evitați formarea încrețiturilor, deoarece se pot produce omisiuni.

6. Plăcile trebuie inoculate în maximum 5 ore după ce au fost scoase din pungă.

INCUBAREA

Toate microorganismele aerobe nepretențioase nutritiv trebuie incubate la 34-36 °C, fie într-un incubator ARIS, fie într-un incubator non-CO₂, timp de 18 – 24 de ore.

- Pentru a garanta depistarea enterococilor rezistenți la vancomicină și a stafilococilor rezistenți la oxacilină, se recomandă incubarea timp de 24 de ore.
- Pentru *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* și *Stenotrophomonas maltophilia* se recomandă incubarea timp de 20-24 de ore.

Într-un incubator pot fi așezate una deasupra celeilalte până la 3 plăci sigilate, cu excepția incubatorului ARIS.

Rezumatul poziționării și incubării

Grupă de microorganisme	Mediu de suspensie McFarland	Inocul final dorit* (UFC/ml)	Transfer de inocul	Bulion	Reconstituire pe placă	Condiții de incubare	Ore de incubare
Bacterii Gram-negative nepretențioase nutritiv	Apă	1 x 10 ⁵	10 µL	MHB	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Bacterii Gram-pozitive nepretențioase nutritiv	Apă	1 x 10 ⁵	10 µL	MHB	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Creșterea cantității de inocul pentru microorganismele Gram-negative și Gram-pozitive**	Apă	3 x 10 ⁵	30 µL	MHB	50 µL	35 °C O ₂	18-24
Familia <i>Proteae</i>	Apă	1 x 10 ⁴	1 µL	MHB	50 µL	35 °C O ₂	18-24

* Consultați Anexa #1 pentru intervalele inoculilor

** În funcție de tulpinile bacteriene care sunt testate, o creștere la 30 µL poate ajuta la depistarea mecanismelor de rezistență

CITIREA REZULTATELOR TESTELOR

Verificați puritatea plăcilor de test. Rezultatele nu sunt valabile în cazul prezenței unei culturi mixte.

1. Citirea automată

Plăcile pot fi citite utilizând AutoReader/OptiRead sau ARIS, în conformitate cu instrucțiunile din manualul de utilizare corespunzător sau prin utilizarea fișierelor SWIN HELP.

Plăcile Sensititre destinate utilizării exclusive cu Manual, Sensitouch sau Vizion nu pot fi citite cu AutoReader/OptiRead sau ARIS.

2. Citirea manuală

După incubare, rezultatele pot fi citite utilizând vizualizatorul manual Sensititre sau Vizion. Consultați manualele de utilizare. Nu este necesară îndepărtarea sigiliului adeziv. Dezvoltarea apare ca turbiditate sau ca o depunere de celule în partea inferioară a unui godeu. Valoarea CMI este înregistrată ca cea mai mică concentrație a agentului antimicrobian care inhibă dezvoltarea vizibilă. Citirea unei dezvoltări ușoare cu Vizion poate fi îmbunătățită prin ajustarea iluminării. Se recomandă ca godeurile de control pozitiv să fie citite primele. Dacă oricare dintre acestea nu indică dezvoltarea, rezultatele nu sunt valabile.

Se recomandă să rețineți următoarele:

a. Extremități decolorate

Majoritatea asocierilor microorganisme/agenți antimicrobieni determină aspecte distincte ale extremităților. În cazul unora dintre acestea, se poate constata o decolorare treptată a

dezvoltării care ocupă 2 până la 3 godeuri. Se consideră drept „extremitate” primul godeu care inhibă dezvoltarea vizibilă, cu excepția sulfonamidelor și linezolidului, unde valoarea CMI trebuie citită ca o scădere de 80-90% a dezvoltării față de godeul de control pozitiv.

b. Contaminare

Contaminarea poate determina dezvoltarea într-un godeu înconjurat de godeuri care nu prezintă nicio dezvoltare. Contaminarea unui singur godeu poate fi ignorată, însă dacă se suspectează contaminarea mai multor godeuri, testul trebuie repetat.

c. Omisiuni

Ocazional, poate fi observată o „omisiune” – un godeu care nu indică nicio dezvoltare, înconjurat de godeuri care prezintă dezvoltarea. Există o multitudine de explicații pentru aceasta, inclusiv contaminare, mutație, încrețirea sigiliului și dozarea inegală. Apariția unei singure omisiuni nu poate fi ignorată. Cu toate acestea, pentru a asigura terapia antimicrobiană eficientă, nu citiți NICIODATĂ godeul cu omisiune drept valoare CMI; întotdeauna citiți godeul cu concentrația cea mai scăzută, deasupra căruia nu există o dezvoltare consecventă.

d. Culturi amestecate

Cu excepția cazului (a) de mai sus, dacă două extremități sunt evidențiate ca o „aglomerare” de celule distinctă, urmată de mai multe godeuri cu dezvoltare difuză în care „aglomerarea” nu mai este vizibilă (sau evidențiată ca aglomerări mai mici), este posibil să existe o populație bacteriană mixtă. Este necesară verificarea purității prin subcultivarea tulpinilor dezvoltate în agar adecvat. Rezultatele testelor nu sunt valabile în cazul prezenței unei culturi mixte.

3. Informații suplimentare

Rezultatelor valorilor CMI pentru confirmarea ESBL

Pentru a confirma ESBL, trebuie să existe o scădere ≥ 3 a valorii CMI pentru diluția dublă agent microbian/acid clavulanic comparativ cu valoarea CMI a agentului microbian testat singur = ESBL. Exemplu: valoarea CMI a ceftazidimei = 8 $\mu\text{g/ml}$, valoarea CMI a sinergiei ceftazidimă/acid clavulanic = 1 $\mu\text{g/ml}$. Pentru mai multe detalii, consultați CLSI M7.

Screening-ul pentru cefoxitină

„Screening-ul pentru cefoxitină (6 $\mu\text{g/ml}$)” poate fi utilizat pentru a estima prezența rezistenței mediate de gena *mecA* la *Staphylococcus aureus*. Tulpinile bacteriene izolate pentru care valoarea CMI a cefoxitinei este > 6 (dezvoltare pozitivă) trebuie raportate ca fiind rezistente la oxacilină. Cele care prezintă o valoare CMI ≤ 6 (nicio dezvoltare) trebuie raportate ca sensibile la oxacilină.

Testul D

Testul D pentru microdiluția în bulion este destinat *Staphylococcus* spp. rezistent (CMI ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$) la eritromicină și sensibil sau intermediar (CMI ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$) la clindamicină. Dacă pentru aceste tulpini bacteriene izolate, un test D 1 (4/0,5 $\mu\text{g/ml}$) sau test D 2 (8/1,5 $\mu\text{g/ml}$) sau ambele teste 1 și 2 sunt pozitive (dezvoltare), testul trebuie raportat ca rezistență inductibilă la clindamicină. Dacă pentru aceste tulpini bacteriene izolate nu există dezvoltare în ambele teste D 1 și D 2, acestea trebuie raportate ca fiind negative la rezistența inductibilă. Dacă indică rezistență la eritromicină, sensibilitate la clindamicină și testul D este negativ după o incubare de 18 ore, repetați recitirea după o incubare de 24 de ore.

INTERPRETAREA REZULTATELOR

Pentru interpretarea rezultatelor, consultați ghidurile de interpretare pentru valorile CMI furnizate de CLSI, EUCAST sau normele locale standard.

Placa poate include agenți antimicrobieni pentru care nu s-a dovedit eficacitatea în tratamentul infecțiilor pentru toate microorganismele testate. În scopul interpretării și raportării rezultatelor pentru agenții antimicrobieni demonstrați a fi activi împotriva tipurilor de microorganisme atât *in vitro*, cât și în infecțiile clinice, consultați prospectul individual aprobat de FDA pentru fiecare agent farmaceutic antimicrobian.

Pentru rezultatele citirii automate, software-ul aplică criteriile de interpretare bazate pe ghidurile CLSI, EUCAST sau FDA, în funcție de configurația software-ului.

La raportarea acestor rezultate antimicrobiene de confirmare a ESBL, consultați CLSI M100: Screening and Confirmatory Tests for ESBL's in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* and *Escherichia coli*, pentru interpretarea adecvată a rezultatelor.

Rezultate de prag

Testarea valorilor de prag este o metodă de diluție în bulion pentru testarea calitativă a sensibilității. Sistemul de valori de prag al Sensititre a fost dezvoltat pentru a asigura o metodă standardizată simplă pentru testarea sensibilității, bazată pe conceptul valorilor de prag ale concentrațiilor. O valoare de prag este definită ca o concentrație a unui antibiotic ce inhibă dezvoltarea microorganismelor sensibile, însă nu a celor rezistente. Pentru majoritatea agenților antimicrobieni, se utilizează două concentrații – o concentrație mai scăzută, care reprezintă limita superioară a categoriei de sensibilitate; și o concentrație mai ridicată, care reprezintă limita superioară a categoriei intermediare.

Interpretările valorilor de prag pentru antimicrobienele prezente în concentrațiile din 1 sau 2 godeuri.

Rezultat	Interpretare Un godeu	Interpretare Două godeuri
Nicio dezvoltare	Sensibil	-
Dezvoltare	Rezistent	-
Nicio dezvoltare în ambele godeuri	-	Sensibil
Dezvoltare doar în concentrație scăzută.	-	Intermediar
Dezvoltare în ambele godeuri	-	Rezistent
Dezvoltare doar în concentrație ridicată.	-	Nevalabil – se repetă

CONTROLUL CALITĂȚII

1. Frecvența testării pentru controlul calității trebuie stabilită conform normelor standard de laborator.
2. Inoculul trebuie cultivat într-un mediu adecvat, pentru a verifica puritatea acestuia. Rezultatele testelor nu sunt valabile în cazul prezenței unei culturi mixte.
3. Toate plăcile Sensititre includ godeuri de control pozitiv. Analizele nu sunt valabile decât

dacă se depistează dezvoltarea distinctă în toate godeurile de control pozitiv. Unele tipuri de plăci includ, de asemenea, un godeu de „control negativ”. Acest godeu poate fi utilizat, în unele cazuri, pentru calibrarea AutoReader/OptiRead și nu este necesar pentru citirea manuală.

4. La obținerea unor valori CMI corecte contribuie mai mulți factori, inclusiv utilizarea a 3-5 colonii dintr-o placă de agar pură de 16-24 de ore, precum și o densitate standard a inoculului obținută utilizând standardul nostru McFarland și nefelometrul, temperatura și bulionul. În practică, replicarea valorilor CMI va forma o distribuție normală a majorității rezultatelor, situată în intervalul unei diluții a valorii modale.
5. Microorganismele de control enumerate în tabelele noastre de control al calității sunt recomandate pentru monitorizarea procedurii de analiză a sensibilității și verificarea potenței antimicrobiene. Consultați tabelele de control al calității pentru estimarea rezultatelor controlului calității. Procedura de test poate fi considerată satisfăcătoare dacă rezultatele de sensibilitate obținute cu microorganismele de control se situează în intervalele precizate. Rezultatele **nu** trebuie raportate dacă rezultatele CC se situează în afara intervalelor precizate pentru o combinație medicament/microorganism.
6. Următoarele intervale de control al calității pentru microorganisme/antimicrobiene sunt diferite de cele recomandate de CLSI: *E. coli* (ATCC® 25922™) la cefotetan, *Ps. aeruginosa* (ATCC® 27853™) la mezlocilină, *S. aureus* (ATCC® 29213™) la ampicilină și penicilină.

Contactați asistența tehnică Thermo Fisher Microbiologie pentru asistență în cazul în care diferențele de control al calității nu pot fi rezolvate. Exfiltrațiilor de mai jos pentru informațiile de contact.

LIMITE

- Interpretarea adecvată a rezultatelor testelor trebuie să fie efectuată de personal clinic instruit.
- La fel ca toate celelalte metode de testare a sensibilității antimicrobiene, rezultatele generate de plăcile Sensititre pentru testarea sensibilității sunt rezultate *in vitro*.
- Testarea microorganismelor pretențioase nutritiv necesită proceduri specializate și trebuie efectuată prin alte metode. Pentru testarea *Haemophilus influenzae* și *Streptococcus pneumoniae* se poate utiliza placa Sensititre pentru valorile CMI ale *Haemophilus influenzae*/*Streptococcus pneumoniae*. Consultați prospectul tehnic al Sensititre pentru microorganisme pretențioase nutritiv sau CLSI M7 pentru modificările corespunzătoare privind procedurile de sensibilitate.
- Au fost efectuate studii utilizând AutoInoculator/AIM. La testarea pentru minociclină, doxiciclină, telavancină, dalbavancină, oritavancină sau tedizolid sau dacă se utilizează un sistem de inoculare alternativ, validați performanța sistemului de inoculare alternativ cu testarea controlului calității și efectuați numărarea coloniilor.

Limite pentru microorganismele Gram-negative

1. Rezultatele obținute cu *C. freundii* și cefotetan au prezentat valori CMI neconsecvente față de o metodă de referință peste noapte, de aceea agentul antimicrobian nu trebuie să fie raportat. Dacă agentul antimicrobian este esențial pentru îngrijirea pacientului, se recomandă utilizarea unei proceduri alternative.
2. Reproducibilitatea intra-laborator a rezultatelor pentru amoxicilină/acid clavulanic cu Sensititre și o procedură de referință a fost mai mică de 95%. Deoarece valoarea CMI este dependentă de volumul de beta-lactamaze produse, variabilitatea rezultatelor CMI poate fi atribuită variației în producerea enzimelor. Reproducibilitatea intra-laborator a cefotetanului și microorganismelor Gram-negative utilizând Sensititre și procedurile de referință CLSI a fost, de asemenea, mai mică de 95%.
3. Nu s-a stabilit performanța pentru *Proteus* spp., testată cu piperacilină/tazobactam și cefepim.

Nu trebuie raportate rezultatele pentru tulpinile bacteriene izolate de la pacienți.

4. *Klebsiella* spp. și microorganismele nefermentative testate cu piperacilină/tazobactam trebuie citite manual, din cauza lipsei datelor de performanță privind sistemul AutoReader/OptiRead Sensititre.
5. Sistemul AutoReader/OptiRead nu trebuie utilizat pentru estimarea rezistenței la cefpodoximă a *Serratia* spp., deoarece studiile clinice au indicat o rată de eroare inacceptabilă la citirea acestei asocieri microorganism/antimicrobian.
6. Nu există „Indicații de utilizare” principale aprobate, iar semnificația clinică a cefdinirului nu este cunoscută. Pentru raportarea rezultatelor demonstrate a fi împotriva tipurilor de microorganisme atât în infecțiile *in vitro*, cât și în infecțiile clinice, consultați CLSI M100 și indicațiile aprobate de FDA ale medicamentului.
7. Nu raportați rezistența pentru următoarele asocieri antimicrobian/microorganism, din cauza lipsei tulpinilor bacteriene izolate rezistente la momentul testării.

Microorganism	Agent antimicrobian
Specia <i>Citrobacter</i>	Piperacilină/tazobactam
Specia <i>Serratia</i>	Piperacilină/tazobactam
Specia <i>Proteus</i>	Lomefloxacină și cefpodoximă
Non- <i>Enterobacteriaceae</i>	Levofloxacină

8. Capacitatea sistemului Sensititre de a depista rezistența la moxifloxacină și gatifloxacină este necunoscută, deoarece la momentul testării comparative nu erau disponibile tulpini rezistente.
9. Tigeciclina a scăzut activitatea *in vitro* la *Morganella* spp., *Proteus* spp. și *Providencia* spp.
10. Absența curentă a tulpinilor bacteriene izolate rezistente la tigecicină și gemifloxacină împiedică definirea rezultatelor altfel decât „sensibile”. Tulpinile bacteriene izolate care furnizează rezultate ale valorilor CMI ce sugerează categoria „nesensibile” trebuie trimise unui laborator de referință pentru retestare.
11. Gemifloxacină prezintă valori CMI *in vitro* de 0,25 µg/ml sau mai puțin împotriva majorității (≥90%) tulpinilor următoarelor microorganisme: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca* și *Proteus vulgaris*. Cu toate acestea, siguranța și eficacitatea gemifloxacinei în tratamentul infecțiilor clinice cauzate de aceste microorganisme nu au fost stabilite în cadrul unor studii clinice adecvate și bine controlate.
12. Absența curentă a tulpinilor bacteriene izolate rezistente la Doripenem împiedică definirea rezultatelor altfel decât „sensibile”. Tulpinile bacteriene izolate care furnizează rezultate ale valorilor CMI ce sugerează categoria „nesensibile” trebuie trimise unui laborator de referință pentru retestare.
13. Capacitatea sistemului Sensititre de a depista rezistența *Acinetobacter* spp. la minociclină este necunoscută, deoarece la momentul testării comparative nu erau disponibile tulpini rezistente.
14. Au fost efectuate studii utilizând AutoInoculator/AIM. Nu a fost evaluată utilizarea unui sistem de inoculare alternativ la testarea ceftarolinei.
15. Capacitatea sistemului Sensititre de a depista rezistența *Citrobacter koseri* la ceftarolină este necunoscută, deoarece la momentul testării comparative nu erau disponibile tulpini rezistente.
16. Ceftarolina nu este activă împotriva bacteriilor Gram-negative care produc beta-lactamaze cu spectru larg (ESBL) din familiile TEM, SHV sau CTX-M, serin carbapenemaze (precum KPC), metalo-beta-lactamaze clasa B sau clasa C (AmpC cefalosporine).

17. Nu a fost stabilită performanța pentru *Moraxella catarrhalis* cu ceftarolină. Nu trebuie raportate rezultatele pentru tulpinile bacteriene izolate de la pacienți.

Limite pentru microorganismele Gram-pozitive

1. Sistemul AutoReader/OptiRead poate fi utilizat pentru a citi stafilococi și enterococi coagulazo-negativi, cu condiția ca eticheta panelului să indice „Pentru citirea izolatelor Gram-pozitive”, iar godeurile să conțină substraturi fluorogene.
2. AutoReader/OptiRead nu trebuie utilizat pentru citirea nitrofurantoină cu *Enterococcus* spp. Nitrofurantoina trebuie citită manual. Pentru depistarea tulpinilor de enterococi care produc beta-lactamaze, trebuie efectuat un test pentru beta-lactamaze cu nitrocefină.
3. Plăcile Sensititre pentru testarea sensibilității sunt configurate pentru a respecta recomandările CLSI pentru depistarea stafilococilor rezistenți la metilicilină. De aceea, împreună cu oxacilina este inclus un supliment de sare de 2%. Inoculul trebuie preparat direct dintr-o placă de agar de peste noapte și nu dintr-o cultură în bulion proaspătă. Rețineți că majoritatea stafilococilor hetero-rezistenți sunt de obicei rezistenți la antimicrobiene multiple, inclusiv beta-lactamice, aminoglicozide, macrolide, clindamicină, cloramfenicol și tetraciclină și acest lucru trebuie folosit ca indiciu în depistarea rezistenței încrucișate la penicilinele rezistente la penicilinaze.
4. Stafilococi testați împotriva penicilinei G trebuie testați și pentru producerea de beta-lactamaze, în special în cazul tulpinilor cu valori CMI la limită (între 0,06 și 0,25 μg/ml). Dacă aceste tulpini au un rezultat pozitiv la beta-lactamaze, testul trebuie repetat pentru a garanta raportarea rezistenței.
5. Slaba dezvoltare a tulpinilor non-*Enterococcus* de streptococi în bulion Mueller-Hinton poate furniza rezultate nefiabale cu aminoglicozide.
6. Rezultatele obținute pentru stafilococi coagulazo-negativi sensibili la oxacilină cu claritromicină au prezentat valori CMI neconsecvente față de o metodă de referință peste noapte. Dacă agentul antimicrobian este esențial pentru îngrijirea pacientului, se recomandă utilizarea unei proceduri alternative; în caz contrar, agentul antimicrobian nu trebuie raportat.
7. S-a demonstrat că cefdinirul a fost activ împotriva majorității tulpinilor de *S. aureus* sensibil la metilicilină (MSSA) și *Streptococcus pyogenes* în infecții clinice. Corelația *in vitro* a fost stabilită pentru *S. epidermidis* (MSSE) și *Streptococcus agalactiae*. O astfel de activitate nu a fost stabilită pentru niciun alt microorganism corespunzător pentru placa Gram-pozitivă.
8. Sistemul AutoReader/OptiRead nu trebuie utilizat pentru citirea trimetoprim/sulfametoxazol (SXT) cu CNS. SXT trebuie citit manual.
9. Semnificația clinică a cefdinirului nu este cunoscută și nu există „Indicații de utilizare” principale aprobate. Pentru raportarea rezultatelor demonstrate a fi împotriva tipurilor de microorganisme atât în infecțiile *in vitro*, cât și în infecțiile clinice, consultați CLSI M100.
10. Absența curentă a tulpinilor bacteriene izolate rezistente la tigeciclină și gemifloxacină împiedică definirea rezultatelor altfel decât „sensibile”. Tulpinile bacteriene izolate care furnizează rezultate ale valorilor CMI ce sugerează categoria „nesensibile” trebuie trimise unui laborator de referință pentru retestare.
11. Nu raportați rezistența pentru următoarele asocieri microorganism/antimicrobian, din cauza lipsei tulpinilor bacteriene izolate rezistente la momentul testării.

Microorganism	Agent antimicrobian
Bacterii Gram-pozitive	Linezolid, moxifloxacină, gatifloxacină, tigeciclină, gemifloxacină
Specia <i>Staphylococcus</i>	Ampicilină/sulbactam
Specia <i>Enterococcus</i>	Amoxicilină/acid clavulanic
Specia <i>Enterococcus</i> , Specia <i>Staphylococcus</i> , Specia <i>Streptococcus</i>	Daptomicină

Capacitatea sistemului Sensititre de a depista rezistența sau nesensibilitatea la următoarele antimicrobiene este necunoscută, deoarece la momentul testării comparative nu era disponibil un număr suficient de tulpini rezistente sau nesensibile. Dacă este observată o astfel de tulpină, aceasta trebuie trimisă laboratorului de referință pentru retestare.

Microorganism	Agent antimicrobian
Bacterii Gram-pozitive	Moxifloxacină, gatifloxacină
<i>Staphylococcus aureus</i> (doar izolatele sensibile la meticilină și eritromicină)	Telitromicină
<i>Staphylococcus aureus</i>	Doxiciclină
Specia <i>Streptococcus</i>	Ertapenem
<i>S. pyogenes</i>	Doxiciclină
<i>Staphylococcus aureus</i> (izolatele rezistente la meticilină și cele sensibile la meticilină)	Dalbavancină, oritavancină, telavancină
<i>Enterococcus faecalis</i> (doar sensibil la vancomicină)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (izolatele rezistente la meticilină și cele sensibile la meticilină) <i>Enterococcus faecalis</i>	Tedizolid

12. Plăcile Sensititre pentru testarea sensibilității cu valoarea CMI după 18-24 de ore au depistat rezistența la vancomicină la tulpinile de *S. aureus* rezistente la vancomicină disponibile la momentul testării comparative. Capacitatea plăcilor Sensititre pentru testarea sensibilității cu valoarea CMI după 18-24 de ore de a depista rezistența la vancomicină a altor tulpini de *S. aureus* nu este cunoscută, din cauza numărului limitat de tulpini rezistente disponibile pentru testarea comparativă.
13. Gemifloxacina prezintă valori CMI *in vitro* de 0,25 µg/ml sau mai puțin la majoritatea (≥90%) tulpinilor următoarelor microorganisme: *Staphylococcus aureus* (doar tulpinile sensibile la meticilină) și *Streptococcus pyogenes*. Cu toate acestea, siguranța și eficacitatea gemifloxacinei în tratamentul infecțiilor clinice cauzate de aceste microorganisme nu au fost stabilite în cadrul unor studii clinice adecvate și bine controlate.
14. Utilizați o metodă de testare alternativă cu sânge hemolizat de cal pentru a testa *S. pyogenes* atunci când nu se observă dezvoltarea sau se observă o slabă dezvoltare în godeul de control pozitiv.
15. Capacitatea sistemului Sensititre de a depista rezistența *S. aureus* la minociclină este necunoscută, deoarece la momentul testării comparative nu erau disponibile tulpini rezistente.
16. Utilizați placa Sensititre pentru tulpini bacteriene pretențioase nutritiv ca metodă de testare cu sânge hemolizat de cal pentru a testa *Streptococcus* spp. atunci când nu se observă dezvoltarea sau se observă o slabă dezvoltare în godeul de control pozitiv de pe placa Sensititre pentru tulpini bacteriene nepretențioase nutritiv.
17. Au fost efectuate studii utilizând AutoInoculator/AIM. La testarea pentru telavancină sau minociclină, dacă se utilizează un sistem de inoculare alternativ, validați performanța sistemului de inoculare alternativ cu testarea controlului calității și efectuați numărarea coloniilor viabile.
18. Au fost efectuate studii utilizând AutoInoculator/AIM. La testarea pentru ceftarolină, dacă se utilizează un sistem de inoculare alternativ, validați performanța sistemului de inoculare alternativ cu testarea controlului calității și efectuați numărarea coloniilor.
19. Performanța oritavancinei cu *S. aureus* și *E. faecalis* a fost efectuată utilizând inoculatorul automat AIM. Nu a fost evaluată utilizarea unui sistem de inoculare alternativ la testarea oritavancinei.
20. Din cauza lipsei interpretărilor intermediare și rezistente pentru oritavancină, există o posibilă rată de eroare foarte ridicată. Au existat 3 tulpini bacteriene izolate din 9 izolate nesensibile pentru care s-a raportat o diluție dublă mai mică decât referința. Atunci când CMI Sensititre este 0,12 µg/ml (valoare de prag), utilizați o metodă de testare alternativă înainte de a raporta rezultatele pentru *S. aureus* și *E. faecalis* cu oritavancină, dacă este lucru este esențial pentru îngrijirea pacientului.

PERFORMANȚĂ

ANEXA 1: Procedura de numărare a coloniilor

Cele 2 metode evidențiate mai jos pot fi utilizate pentru determinarea numărului de colonii viabile.

Metoda directă

1. Imediat după inocularea unei plăci, utilizând o ansă de 1 µl, prelevați o probă din godeul de control pozitiv și inoculați-o în agar cu sânge.
2. Luați o altă ansă (1 µl), prelevați o probă din același godeu și amestecați cu 50 µl de apă deionizată sterilă. Inoculați 1 µl din această soluție pe o placă cu agar cu sânge pentru a obține colonii numărabile.
3. Incubați ambele plăci la 34–36°C peste noapte, în condiții adecvate.
4. Efectuați citirea după cum urmează:

Diluția dorită a inoculului	Numărul de colonii	Număr de colonii	
		0,001 placă	0,001 de 1/50
1×10^4	$5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$	5-50	0
1×10^5	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$	50 – 500	1 – 10
5×10^5	$2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$	250 – 2500	5 – 50

Metoda indirectă**1. A. Pentru un inocul de 1×10^5 UFC/ml**

Utilizând vârful unei pipete sterile, transferați 100 μ l de cultură în bulion într-o eprubetă de 10 ml de bulion proaspăt și etichetați-o ca eprubeta A.

B. Pentru un inocul de 5×10^5 UFC/ml

Utilizând vârful unei pipete sterile, transferați 10 μ l de cultură în bulion într-o eprubetă de 10 ml de bulion proaspăt și etichetați-o ca eprubeta A.

- Utilizând vârful unei pipete sterile, transferați 100 μ l din eprubeta A pe suprafața unei plăci cu sânge adecvate, care a fost etichetată și datată.
- Utilizând o ansă de inoculare sterilă, întindeți această cultură de 100 μ l pe întreaga suprafață a plăcii.
- Incubați placa la 34-36°C timp de 18-24 de ore.
- Numărați coloniile de pe placă și înmulțiți cu 10^3 (1×10^5 UFC/ml) sau 10^4 (5×10^5 UFC/ml) pentru a obține numărul de colonii viabile din suspensia originală.

Pentru un inocul de 1×10^5 UFC/ml	Pentru un inocul de 5×10^5 UFC/ml
Interval colonii viabile = $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ UFC/ml	Interval colonii viabile = $2,5 \times 10^5 - 2,5 \times 10^6$ UFC/ml

REFERINȚE

- Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, M7 Approved Standard. The Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Informational Supplement M100. The Clinical and Laboratory Standards Institute.

DECLARAȚIE DE EXONERARE DE RĂSPUNDERE

Informațiile furnizate în acest prospect tehnic sunt actuale la momentul tipăririi și sunt supuse modificării fără aviz prealabil.

Cele mai recente informații pot fi descărcate de la adresa web www.TREKDS.com/techinfo sau contactând asistența tehnică pentru microbiologie a Thermo Fisher Scientific .



Producător legal:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
Marea Britanie
Tel.: +44-1342-318777



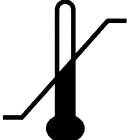
Emblema ATCC Licensed Derivative®, marca verbală ATCC Licensed Derivative® și mărcile de catalog ATCC sunt mărci comerciale ale ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. este autorizată să utilizeze aceste mărci comerciale pentru a vinde produse derivate din culturile ATCC®.

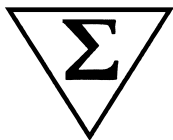
© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Toate drepturile rezervate. ATCC este o marcă comercială a ATCC. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea Thermo Fisher Scientific Inc. și a filialelor sale.

Adrese de e-mail pentru asistență tehnică

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgia	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Republica Cehă	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danemarca	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Franța	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlanda	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germania	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italia	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Olanda	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvegia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spania	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suedia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Asistență tehnică în Marea Britanie	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Symbols/Símbolos/Simboli/Symbol/Symboles/σύμβολο/Simbolis/Symbole

	GB Batch code DE Chargenbezeichnung ES Código de lote IT Codice del lotto FR Code du lot GR Κωδικός παρτίδας LI serijos numerį. CZ šarže kadex PL Kod Partii RO lot număr PT Código do grupo																						
	GB Catalogue number DE Bestellnummer ES Número de catálogo IT Numero di catalogo FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου LI Reikia žinoti plokštelės kodą CZ Katalogovho číslovka PL Numer Katalogu RO Catalog număr PT Número de catálogo																						
	GB Manufacturer DE Hersteller ES Fabricante IT Fabbricante FR Fabricant GR Κατασκευαστής LI Dirbti CZ Výrobce PL Producent RO Manufacturer PT Fabricante																						
	GB Consult Instructions for Use- DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης LI ieškant instrukcija CZ Projednat Instrukce Zauziti PL Przed użyciem zapoznaj się z instrukcją RO Consulate instrucțiuni pentru folos PT Consulte instruções para o uso																						
	GB Temperature limitation DE Zulässiger Temperaturbereich ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura FR Limites de température GR Όριο θερμοκρασίας LI Temperatūra reba CZ Teplota Limit PL Ograniczenie Temperatur RO Temperatură limitation PT Limitação de temperatura																						
	<table border="1"> <tr> <td>GB Use By</td><td>YYYYMMDD/YYYYMM (MM=end of month)</td></tr> <tr> <td>DE Verwendbar bis</td><td>JJJJMMTT/JJJJmm (MM=Monatsende)</td></tr> <tr> <td>ES Fecha de caducidad</td><td>aaaammdd/aaaamm (mm=fin del mes)</td></tr> <tr> <td>IT Utilizzare entro</td><td>AAAAMMGG/AAAAMM (MM=fine mese)</td></tr> <tr> <td>FR Date de péremption</td><td>AAAAMMJJ/AAAAMM (MM=fin de mois)</td></tr> <tr> <td>GR Ημερομηνία λήξης</td><td>EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)</td></tr> <tr> <td>LI Baigtis Data</td><td>KKKKMMDD</td></tr> <tr> <td>CZ Užití Za</td><td>RRRRMMDD</td></tr> <tr> <td>PL Użyć Do</td><td>RRRR/MM/DD</td></tr> <tr> <td>RO Folos By</td><td>AAAA/LL/ZZ</td></tr> <tr> <td>PT Uso perto</td><td>YYYYMMDD/YYYYMM (MM= fim do mês)</td></tr> </table>	GB Use By	YYYYMMDD/YYYYMM (MM=end of month)	DE Verwendbar bis	JJJJMMTT/JJJJmm (MM=Monatsende)	ES Fecha de caducidad	aaaammdd/aaaamm (mm=fin del mes)	IT Utilizzare entro	AAAAMMGG/AAAAMM (MM=fine mese)	FR Date de péremption	AAAAMMJJ/AAAAMM (MM=fin de mois)	GR Ημερομηνία λήξης	EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)	LI Baigtis Data	KKKKMMDD	CZ Užití Za	RRRRMMDD	PL Użyć Do	RRRR/MM/DD	RO Folos By	AAAA/LL/ZZ	PT Uso perto	YYYYMMDD/YYYYMM (MM= fim do mês)
GB Use By	YYYYMMDD/YYYYMM (MM=end of month)																						
DE Verwendbar bis	JJJJMMTT/JJJJmm (MM=Monatsende)																						
ES Fecha de caducidad	aaaammdd/aaaamm (mm=fin del mes)																						
IT Utilizzare entro	AAAAMMGG/AAAAMM (MM=fine mese)																						
FR Date de péremption	AAAAMMJJ/AAAAMM (MM=fin de mois)																						
GR Ημερομηνία λήξης	EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)																						
LI Baigtis Data	KKKKMMDD																						
CZ Užití Za	RRRRMMDD																						
PL Użyć Do	RRRR/MM/DD																						
RO Folos By	AAAA/LL/ZZ																						
PT Uso perto	YYYYMMDD/YYYYMM (MM= fim do mês)																						
	GB In Vitro Diagnostic Medical Device DE In Vitro Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In vitro διαγνωστικό ιατρικό βοήθημα LI In vitro diagnostikai CZ In vitro diagnostic PL Urządzenie Diagnostyczne in vitro RO Pentru diagnosticare in vitro PT In Vitro Dispositivo Médico Diagnóstico																						



GB	Contains sufficient for <n> tests
DE	Ausreichend für <n> Ansätze
ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
IT	Contenuto sufficiente per <n> saggi
FR	Contenu suffisant pour <n> tests
GR	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
LI	Skaičius bandymas <n>
CZ	Obsahuje vhodný <n> testy
PL	Wystarczający dla <n> próbek
RO	contact sufficient pentru <n> tests
PT	Contem suficiente para <n> testes

SYMBOLS_V2.1