



SENSITITRE®

ПЛАНШЕТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГРИБОВ YEASTONE®

Для лабораторной диагностики

НАЗНАЧЕНИЕ

Система Sensititre предназначена для идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) в лабораторных условиях.

Планшеты YEASTONE предназначены для определения чувствительности к антимикробным препаратам неприхотливых грибов, в том числе родов *Candida*, *Cryptococcus* и *Aspergillus*, а также других быстро растущих родов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение чувствительности на планшетах YEASTONE производится методом микроразведений в бульоне с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК).

В лунках планшета содержатся сухие антимикробные препараты в определенных концентрациях и колориметрический индикатор. После внесения в лунки суспензии исследуемой чистой культуры в соответствующем бульоне происходит их регидратация. Регистрация роста производится визуально по изменению цвета среды в лунке. Минимальная ингибирующая концентрация – это минимальная концентрация, полностью ингибирующая рост исследуемой культуры, то есть первая лунка в ряду с антимикробным препаратом, в которой не произошло изменения окраски среды.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Результаты данного теста следует использовать при подборе адекватной антимикробной терапии.
- Система предназначена только для профессионального использования.

- При работе с клиническими образцами и культурами микроорганизмов соблюдайте правила работы с инфекционным материалом.
- Планшеты Sensititre валидированы к использованию только с бульонами Sensititre.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

- Планшеты следует хранить при комнатной температуре (15-25⁰С).
- Планшеты нельзя подвергать действию прямых солнечных лучей.
- Каждый планшет поставляется в индивидуальной упаковке из фольги с поглотителем влаги. Не используйте планшеты, если упаковка повреждена, или поглотитель влаги не голубого цвета.
- Не используйте планшеты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Деминерализованную воду Sensititre (Т3339) следует хранить при комнатной температуре (15-25⁰С).
- Бульон YeastOne для определения чувствительности грибов к АМП Sensititre (Y3462) следует хранить при 2-8⁰С.

СОСТАВ НАБОРА

- Планшеты YEASTONE
- Адгезивная пленка для герметизации планшетов после заполнения

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Деминерализованная вода Sensititre (номер по каталогу Т3339, 100 пробирок по 11 мл)
- Бульон для определения чувствительности грибов к АМП Sensititre (номер по каталогу Y3462, 10 пробирок по 11 мл)
- Дозирующие насадки Sensititre (только при использовании автоматического инокулятора) (номер по каталогу E3010, 100 штук)
- Стандарт Мак-Фарланда 0.5 единиц Sensititre (номер по каталогу E1041)
- Автоматический инокулятор Sensititre
- Устройство для учета результата Vizion, ручная лупа с зеркалом или другое (по желанию)
- Термостат на 34-36⁰С
- Миксер типа "Вортекс"
- Пипетка на 20 мкл

- Пипетка автоматическая на 100 мкл с одноразовыми наконечниками
- Петли, тампоны бактериологические
- Резервуар для суспензии стерильный
- Чашки с агаром для культивирования грибов (Сабуро с декстрозой, например)
- Контрольные штаммы для контроля качества исследования

Только для тестирования *Aspergillus spp.*:

- Картофельный агар с декстрозой или другой агар для культивирования плесневых грибов
- Стерильный физиологический раствор + 0.05% Твин 20
- Хлопковые тампоны
- Спектрофотометр

ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Взятие, транспортировку и хранение образцов, получение чистой культуры следует выполнять в соответствии с действующими стандартами (1).

ИНОКУЛЯЦИЯ ПЛАНШЕТОВ

Candida, Cryptococcus spp.

Выдержите бульоны до достижения комнатной температуры перед использованием. Конечная плотность суспензии, вносимой в лунки планшета, должна быть около $1.5 - 8 \times 10^3$ КОЕ/мл.

1. Снимите с агара несколько изолированных однородных колоний диаметром >1 мм и приготовьте **гомогенную** суспензию плотностью **0.5 единиц Мак-Фарланда** в пробирке со стерильной деминерализованной водой Sensititre. Используйте молодые культуры (18-24 часа). Для измерения плотности суспензии используйте нефелометр Sensititre, входящий в комплект поставки прибора. Для гомогенизации суспензии используйте миксер типа "Вортекс" (перемешивайте в течение 15 секунд).

2. Перенесите 20 мкл полученной суспензии в пробирку с 11 мл среды Sensititre для определения чувствительности грибов к АМП. Вы получите суспензию плотностью около $1.5 - 8 \times 10^3$ КОЕ/мл. Тщательно гомогенизируйте. Суспензию следует распределить по лункам планшета в течение 15 минут после приготовления.
3. Распределите по 100 мкл суспензии в лунки планшета одним из следующих способов:
 - С помощью автоматического инокулятора Sensititre. Замените крышку пробирки дозирующей насадкой и распределите суспензию по лункам планшета как описано в руководстве к автоматическому инокулятору. В течение 30 секунд после окончания распределения суспензии удалите пробирку с дозирующей насадкой из автоматического инокулятора. Храните в вертикальном положении насадкой вверх или сбросьте в контейнер для биологически опасных отходов.
 - С помощью многоканальной или одноканальной пипетки. Вылейте суспензию в стерильный резервуар (чтобы было удобно набирать всеми каналами многоканальной пипетки или одноканальной пипеткой) и распределите по лункам планшета в течение не более чем 15 минут.
4. После инокуляции планшета перенесите 10 мкл из лунки положительного контроля на чашку с агаром Сабуро с декстрозой (или другой неселективной средой для культивирования грибов). Распределите по агару. Инкубируйте. Если Вы правильно приготовили суспензию, Вы должны получить от 10 до 80 колоний.
5. Заклейте планшет адгезивной пленкой. Пленку следует приклеивать ровно, чтобы все лунки были полностью закрыты, и не было складок, и чтобы пленка не торчала по краям планшета. В противном случае возможно полное или частичное пересыхание лунок и получение некорректных результатов.

***Aspergillus* spp. (5-7, 22)**

Выдержите бульоны до достижения комнатной температуры перед использованием.

1. Сделайте пересев на Сабуро с декстрозой, картофельный с декстрозой или другой подобный агар для плесневых грибов. Инкубируйте в течение 7 суток при 35⁰С для получения адекватного спорообразования.
2. Соберите конидии хлопковым тампоном и суспендируйте в стерильном физиологическом растворе с твином.
3. Выдержите от 3 до 5 минут для осаждения тяжелых частиц.
4. Соберите надосадочную жидкость и перемешайте на миксере типа "Вортекс".

1-4. Другой вариант приготовления споровой суспензии: сделайте пересев в пробирку со скошенным агаром – картофельно-декстрозный агар (предпочтительно) или агар Чапека–Докса и инкубируйте в течение 5-7 суток при 35⁰С для получения адекватного спорообразования (необходим визуальный контроль развития спороношения культуры); перед инокуляцией планшета: в пробирку с культурой стерильной пипеткой добавьте 5 мл стерильного физиологического раствора с 0,05% Твин 20 и легко встряхните на миксере типа Вортекс в течение 1-3 минут, полученную споровую суспензию отфильтруйте через стерильный фильтр с диаметром пор 10-11 мкм (при невозможности использовать стерильные фильтры замените их на стерильную марлю, сложенную в два слоя) (Кулько А. Б., 2017). Кулько А. Б. Изучение чувствительности к противогрибковым препаратам грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций у больных туберкулезом // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – №7. – С. 54-60. (<http://www.tibl-journal.com/jour/article/view/1024>)

5. Доведите плотность надсадочной жидкости до 80-82% светопропускания на спектрофотометре при 530 нм, что эквивалентно суспензии плотностью 0.6 – 5 x 10⁶ КОЕ/мл. или доведите плотность суспензии до 0.5 единиц Мак-Фарланда (22).
6. Перенесите 100 мкл полученной суспензии в пробирку с 11 мл среды Sensititre для определения чувствительности грибов к АМП. Вы получите суспензию плотностью около 0.5 – 5 x 10⁴ КОЕ/мл. Тщательно гомогенизируйте. Суспензию следует распределять по лункам планшета в течение 15 минут после приготовления.
7. Распределите по 100 мкл суспензии в лунки планшета одним из следующих способов
 - С помощью автоматического инокулятора Sensititre. Замените крышку пробирки дозирующей насадкой и распределите суспензию по лункам планшета как описано в руководстве к автоматическому инокулятору. В течение 30 секунд после окончания распределения суспензии удалите пробирку с дозирующей насадкой из автоматического инокулятора. Храните в вертикальном положении насадкой вверх или сбросьте в контейнер для биологически опасных отходов.
 - С помощью многоканальной или одноканальной пипетки. Вылейте суспензию в стерильный резервуар (чтобы было удобно набирать всеми каналами многоканальной пипетки или одноканальной пипеткой) и распределите по лункам планшета в течение не более чем 15 минут.
8. После инокуляции планшета перенесите 10 мкл из лунки положительного контроля на чашку с агаром Сабуро с декстрозой (или другой неселективной средой для

культивирования грибов). Распределите по агару. Инкубируйте. Если Вы правильно приготовили суспензию, Вы должны получить от 50 до 500 колоний.

9. Заклейте планшет адгезивной пленкой. Пленку следует приклеивать ровно, чтобы все лунки были полностью закрыты, и не было складок, и чтобы пленка не торчала по краям планшета. В противном случае возможно полное или частичное пересыхание лунок и получение некорректных результатов.

ИНКУБАЦИЯ ПЛАНШЕТОВ

- Инкубируйте планшеты в течение 24-25 часов при 35⁰С в аэробной атмосфере.
- Штаммы *Cryptococcus* следует инкубировать 72 часа.
- Штаммы *Aspergillus* следует инкубировать от 48 до 72 часов.
- Инкубация при температуре выше 35⁰С может привести к получению неверных результатов.
- При инкубации во внешнем термостате планшеты можно ставить один на другой, но не более 3 в высоту (иначе нарушается воздухообмен в планшетах, стоящих в середине стопки).

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов производится визуально под нормальным лабораторным освещением. По желанию, можно использовать лупу с зеркалом или другое устройство (типа Vizion). **Рост регистрируется по изменению цвета среды в лунке с голубого (отрицательный результат, нет роста) на розовый или красный (положительный результат, есть рост).** Для получения более подробной информации см. комментарии ниже.

- Через 24 часа инкубации оцените рост в контрольной лунке (для грибов рода *Candida*). Если среда в контрольной лунке стала красной (или ярко розовой), можно интерпретировать результаты определения чувствительности. Если среда в контрольной лунке голубая или слегка пурпурная, планшет следует инкубировать еще 24 часа, затем учесть результат повторно.
- ПРИ УЧЕТЕ РЕЗУЛЬТАТОВ В ПЛАНШЕТАХ YEASTONE SENSITITRE НЕ ОБРАЩАЙТЕ ВНИМАНИЯ НА МУТНОСТЬ СУСПЕНЗИИ В ЛУНКАХ. ОЦЕНИВАЙТЕ ТОЛЬКО ИЗМЕНЕНИЕ ЦВЕТА СРЕДЫ.
- Минимальная ингибирующая концентрация – это минимальная концентрация, в значительной степени ингибирующая рост исследуемой культуры (регистрация роста производится по изменению цвета среды, в сравнении с цветом контрольной лунки).

- Если цвет среды не изменился ни в одной из лунок с антимикробным препаратом (то есть, остался голубым во всех лунках с АМП), штамм следует считать чувствительным к минимальной концентрации данного АМП, имеющейся в планшете. МИК считается меньшей или равной (\leq) минимальной концентрации данного АМП, имеющейся в планшете.
- Минимальная ингибирующая концентрация соответствует первой лунке в ряду с антимикробным препаратом, в которой не развивается красной/розовой окраски, то есть, первой лунке в ряду с АМП, в которой среда осталась голубой. МИК считается равной (=) концентрации АМП в данной лунке.
- Если цвет среды изменился во всех лунках с антимикробным препаратом, штамм следует считать устойчивым к максимальной концентрации данного АМП, имеющейся в планшете. МИК считается больше ($>$) максимальной концентрации данного АМП, имеющейся в планшете.
- Для грибов рода *Aspergillus* МИК соответствует первой лунке в ряду с антимикробным препаратом, в которой среда осталась голубой.

Таблица 1- Примеры рисунков роста и их интерпретации.

Концентрация АМП в лунке, мкг/мл	Р = розовая или красная окраска: наличие роста						
	1	2	4	8	16	32	
А.	Р	Р	Р	Г	Г	Г	Типичный рисунок роста; МИК = 8 мкг/мл
В.	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Рост во всех лунках с АМП; МИК > 32 мкг/мл
С.	Г	Г	Г	Г	Г	Г	Нет роста ни в одной из лунок с АМП; МИК ≤ 1 мкг/мл
Д.	Р	Р	Р	Г	Р	Р	Пропуск в росте; МИК > 32 мкг/мл. Если нет роста в одной лунке, и в лунках по обеим сторонам от нее есть рост, такой пропуск в росте можно игнорировать. Если нет роста в двух и более лунках подряд, и в лунках по обеим сторонам от них есть рост, или наблюдаются множественные пропуски в росте, или нет роста в нескольких лунках, расположенных одна над другой, результат теста недействителен, и тест следует повторить ¹
Е.	Р	Р	Г	Г	Р	Р	Двойной пропуск в росте: тест следует повторить ¹

¹ При соблюдении методики постановки теста пропуски в росте наблюдаются нечасто.

Особенности интерпретации результатов для отдельных АМП

Амфотерицин В.

При учете результата через 24 часа инкубации МИК обычно легко определяется и соответствует первой лунке в ряду с АМП, в которой не происходит видимых изменений окраски среды. Остаточного роста в лунках с амфотерицином В обычно не наблюдается.

МИК отмечена рамкой:

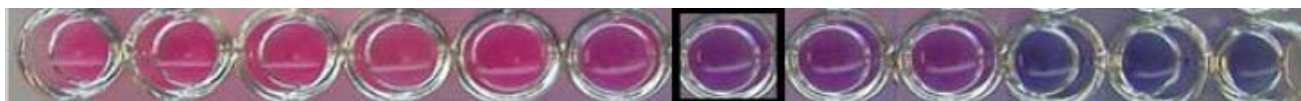


Флуцитозин и азолаы.

Для *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* возможен остаточный рост (или постепенное затухание роста) в лунках с флуцитозином и азолами (флуконазол, итраконазол, кетоконазол, вориконазол, позаконазол). Остаточный рост проявляется в том, что в нескольких лунках (в лунке, соответствующей МИК и в лунках с АМП в концентрации выше МИК) наблюдается незначительное изменение цвета среды, покраснение меньшей интенсивности, чем покраснение в контрольной лунке, и, как правило, одинаковой интенсивности для всех лунок с остаточным ростом. МИК соответствует первой лунке в ряду с АМП, в которой наблюдается покраснение меньшей интенсивности, чем в контрольной лунке. *Candida krusei*

имеет природную устойчивость к флуконазолу; результат для флуконазола для *C. krusei* не подлежит интерпретации.

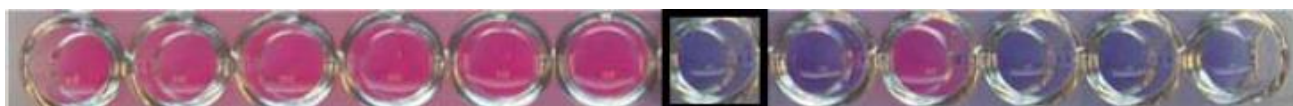
Остаточный рост. МИК отмечена рамкой:



Итраконазол.

Итраконазол может выпадать в осадок из растворов концентраций ≥ 4 мкг/мл. В результате, в соответствующих лунках наблюдается рост и покраснение среды.

Рост в результате выпадения итраконазола в осадок. МИК отмечена рамкой:



Эхинокандины.

Учет результатов следует производить через 24 часа инкубации при 35°C. МИК соответствует первой лунке в ряду с АМП, в которой наблюдается изменение цвета меньшей интенсивности, чем в контрольной лунке.

МИК отмечена рамкой:



Контаминация и пропуски в росте.

Если наблюдается рост в одиночной лунке (среда розовая) при отсутствии роста в лунках по обеим сторонам от нее (среда голубая), это может свидетельствовать о контаминации. Рекомендуется сделать высев из такой лунки для проверки. Напротив, если в одиночной лунке роста не наблюдается (среда голубая), и в лунках по обеим сторонам от нее есть рост (среда розовая), это пропуск в росте. Одиночный пропуск в росте можно игнорировать. Если нет роста в двух и более лунках подряд, и в лунках по обеим сторонам от них есть рост, или наблюдаются множественные пропуски в росте, или нет роста в нескольких лунках, расположенных одна над другой, результат теста недействителен, и тест следует повторить.

Контаминация и/или пропуски в росте:



КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Частота проведения контроля качества определяется действующими стандартами (1). При проведении контроля качества **всегда** необходимо делать высев из суспензии контрольного штамма для проверки чистоты культуры и концентрации микробных клеток. Во всех планшетах Sensititre есть лунки положительного контроля. Результат теста недействителен, если не наблюдается явного роста в лунках положительного контроля. Для проведения контроля качества исследования на планшетах YEASTONE Sensititre рекомендуется использовать следующие контрольные штаммы:

Candida krusei * ATCC 6258

Candida parapsilosis ATCC 22019

* Новое название ATCC для этого вида: *Issatchenkia orientalis*.

Если результат контроля качества за пределами ожидаемого диапазона, результаты всех исследований недействительны.

При многократном получении результатов контроля качества, не соответствующих ожидаемым, свяжитесь со службой поддержки пользователей.

Таблица 2 - Ожидаемые МИК (мкг/мл) для *Candida krusei* ATCC 6258 и *Candida parapsilosis* ATCC 22019 через 24 и 48 часов инкубации

(Подчеркнуты диапазоны МИК, отличающиеся от указанных в стандарте CLSI (1)).

Антимикробный препарат	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	
	24 часа	48 часов	24 часа	48 часов
Амфотерицин В	0.5 – 2	1 – 4	0.25 – 2	0.5 – 4
Анидулафунгин	0.03 – 0.12	–	0.25 – 2	–
Каспофунгин	0.12 – 1	0.25 – 1	0.25 – 1	0.5 – 4
Флуконазол	8 – 64	16 – 128	0.5 – 4	2 – 8
5-Флуцитозин	4 – 16	8 – 32	0.12 – 0.5	0.12 – 0.5
Итраконазол	0.12 – 1	0.25 – 1	0.12 – 0.5	0.12 – 0.5
Кетоконазол	0.12 – 1	0.25 – 1	0.03 – 0.25	0.06 – 0.5
Микафунгин	0.06 – 0.25	0.12 – 0.5	0.5 – 2	0.5 – 4
Позаконазол	0.06 – 0.5	0.12 – 1	0.06 – 0.25	0.06 – 0.25
Вориконазол	0.06 – 0.5	0.12 – 1	0.015 – 0.12	0.03 – 0.25

Прим. 1: Приведены пороговые концентрации (мкг/мл) для штаммов рода *Candida*. Если МИК определяется по альтернативной шкале и равна промежуточному значению (между

категориями), присваивается категория, соответствующая большей степени устойчивости. Например, МИК флуконазола 12.5 мкг/мл соответствует категории "чувствительный дозозависимый".

Таблица 3- Критерии интерпретации значений МИК для грибов рода *Candida* на основе стандартов CLSI (CLSI document M27-S3, 2008; CLSI document M27-S4, 2010)

Препарат	Вид	Пограничные значения МИК (мкг/мл)			
		Ч	Ч-ДЗ	П	У
Амфотерицин В ¹	<i>Candida</i> spp. (все виды)	[\leq 1] ¹	–	[2] ¹	[\geq 4] ¹
Флуконазол ^{2,3}	<i>C. albicans</i>	\leq 2	4	–	\geq 8
	<i>C. glabrata</i>	–	\leq 32 ²	–	\geq 64
	<i>C. guilliermondii</i>	\leq 2	4	–	\geq 8
	<i>C. krusei</i>	– R ³	– R ³	–	– R ³
	<i>C. parapsilosis</i>	\leq 2	4	–	\geq 8
	<i>C. tropicalis</i>	\leq 2	4	–	\geq 8
	Другие виды рода <i>Candida</i>	–	–	–	–
Итраконазол	<i>Candida</i> spp. (все виды)	\leq 0.125	0.25-0.5	–	\geq 1
Вориконазол	<i>C. albicans</i>	\leq 0.12	0.25-0.5	–	\geq 1
	<i>C. glabrata</i>	–	–	–	–
	<i>C. guilliermondii</i>	–	–	–	–
	<i>C. krusei</i>	\leq 0.5	1	–	\geq 2
	<i>C. parapsilosis</i>	\leq 0.12	0.25-0.5	–	\geq 1
	<i>C. tropicalis</i>	\leq 0.12	0.25-0.5	–	\geq 1
	Другие виды рода <i>Candida</i>	–	–	–	–
Позаконазол ⁴	<i>Candida</i> spp. (все виды)	– [$<$ 1] ⁴	–	–	–
Анидулафунгин, Каспофунгин	<i>C. albicans</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1
	<i>C. glabrata</i>	\leq 0.12	–	0.25	\geq 0.5
	<i>C. guilliermondii</i>	\leq 2	–	4	\geq 8
	<i>C. krusei</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1
	<i>C. parapsilosis</i>	\leq 2	–	4	\geq 8
	<i>C. tropicalis</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1
	Другие виды рода <i>Candida</i>	–	–	–	–
Микафунгин	<i>C. albicans</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1
	<i>C. glabrata</i>	\leq 0.06	–	0.12	\geq 0.25
	<i>C. guilliermondii</i>	\leq 2	–	4	\geq 8
	<i>C. krusei</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1
	<i>C. parapsilosis</i>	\leq 2	–	4	\geq 8
	<i>C. tropicalis</i>	\leq 0.25	–	0.5	\geq 1

	Другие виды рода <i>Candida</i>	–	–	–	–
Флуцитозин	<i>Candida</i> spp. (все виды)	≤4	–	8-16	≥32

Прим.: МИК – минимальная ингибирующая концентрация, Ч – чувствительные к препарату штаммы, Ч-ДЗ – чувствительные-дозозависимые штаммы, П – штаммы с промежуточной чувствительностью, У – устойчивые штаммы, «←» – пограничные значения МИК препарата не установлены.

¹ – пограничные значения для амфотерицина В не установлены; штаммы *Candida* spp. с МИК ≤1 мкг/мл оценивают как вероятно чувствительные, с МИК ≥4 мкг/мл – как вероятно устойчивые;

² – штаммы *Candida glabrata* с МИК ≤32 мкг/мл относят к чувствительным-дозозависимым к флуконазолу;

³ – все штаммы *C. krusei* относят к устойчивым к флуконазолу без интерпретации значения МИК (природная устойчивость);

⁴ – пограничные значения для позаконазола не установлены; штаммы *Candida* spp. с МИК <1 мкг/мл оценивают как вероятно чувствительные.

Таблица 4- Критерии интерпретации значений МИК для грибов рода *Aspergillus* на основе стандартов EUCAST (EUCAST. Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs. Version 8.1, 2017) и CLSI (CLSI document M38-A2, 2008)

Препарат	Вид	Пограничные значения МИК (мкг/мл)		
		Ч	П	У
Амфотерицин В ^{1,2}	<i>A. flavus</i>	–	–	–
	<i>A. fumigatus</i>	≤1	2	>2
	<i>A. nidulans</i>	–	–	–
	<i>A. niger</i>	≤1	2	>2
	<i>A. terreus</i>	– R ¹	– R ¹	– R ¹
	Другие виды рода <i>Aspergillus</i>	–	–	–
Флуконазол ³	<i>Aspergillus</i> spp. (все виды)	– R ³	– R ³	– R ³
Итраконазол ⁴	<i>A. flavus</i>	≤1	2	>2
	<i>A. fumigatus</i>	≤1	2	>2
	<i>A. nidulans</i>	≤1	2	>2
	<i>A. niger</i>	–	–	–
	<i>A. terreus</i>	≤1	2	>2
	Другие виды рода <i>Aspergillus</i>	–	–	–
Вориконазол	<i>A. flavus</i>	–	–	–
	<i>A. fumigatus</i>	≤1	2	>2
	<i>A. nidulans</i>	–	–	–
	<i>A. niger</i>	–	–	–
	<i>A. terreus</i>	–	–	–
	Другие виды рода <i>Aspergillus</i>	–	–	–
Позаконазол	<i>A. flavus</i>	–	–	–
	<i>A. fumigatus</i>	≤0.125	0.25	>0.25
	<i>A. nidulans</i>	–	–	–
	<i>A. niger</i>	–	–	–
	<i>A. terreus</i>	≤0.125	0.25	>0.25
	Другие виды рода <i>Aspergillus</i>	–	–	–
Изавуконазол	<i>A. flavus</i>	–	–	–
	<i>A. fumigatus</i>	≤1	–	>1
	<i>A. nidulans</i>	≤0.25	–	>0.25
	<i>A. niger</i>	–	–	–

	<i>A. terreus</i>	≤1	–	>1
	Другие виды рода <i>Aspergillus</i>	–	–	–
Анидулафунгин ⁵	<i>Aspergillus</i> spp. (все виды)	–	–	–
Каспофунгин ⁵	<i>Aspergillus</i> spp. (все виды)	–	–	–
Микафунгин ⁵	<i>Aspergillus</i> spp. (все виды)	–	–	–

Прим.: МИК – минимальная ингибирующая концентрация, Ч – чувствительные к препарату штаммы, П – штаммы с промежуточной чувствительностью, У – устойчивые штаммы, «←» – пограничные значения МИК препарата не установлены.

¹ – все штаммы *Aspergillus terreus* относят к устойчивым к амфотерицину В без интерпретации значения МИК (природная устойчивость);

² – штаммы *Aspergillus* spp. (кроме *A. terreus*) с МИК<2 мкг/мл оценивают как вероятно чувствительные к амфотерицину В, с МИК>2 мкг/мл – как вероятно устойчивые [CLSI document M38-A2, 2008];

³ – все штаммы грибов рода *Aspergillus* относят к устойчивым к флуконазолу без интерпретации значения МИК (природная устойчивость);

⁴ – штаммы *Aspergillus* spp. (все виды) с МИК>8 мкг/мл оценивают как вероятно устойчивые к итраконазолу [CLSI document M38-A2, 2008];

⁵ – оценка фунгистатической активности эхинокандинов (анидулафунгин, каспофунгин, микафунгин) в отношении грибов рода *Aspergillus* проводится по показателю МЭК (минимальная эффективная концентрация); пограничные значения МЭК или МИК для эхинокандинов не установлены.

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Third Informational Supplement. CLSI document M27-S3. CLSI: Wayne, PA., 2008. <https://mycology.adelaide.edu.au/docs/afst-yeasts.pdf>
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. CLSI: Wayne, PA., 2010. – 29 p.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs. Version 8.1, valid from 2017-03-01, 2017.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard – Second edition. CLSI document M38-A2. CLSI: Wayne, PA., 2008. – 35 p.
5. Кулько А. Б. Изучение чувствительности к противогрибковым препаратам грибов рода *Aspergillus* – возбудителей бронхолегочных инфекций у больных туберкулезом //

Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – №7. – С. 54-60. (<http://www.tibl-journal.com/jour/article/view/1024>)

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Планшеты YEASTONE Sensititre предназначены для определения чувствительности к АМП неприхотливых быстро растущих грибов, в том числе родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* и других. Планшеты YEASTONE Sensititre не предназначены для определения чувствительности к АМП прихотливых медленно растущих грибов, таких как *Histoplasma* spp., *Blastomyces* spp., мицелиальные грибы.
- При определении чувствительности грибов к противогрибковым препаратам всегда получаются менее точные результаты, чем при определении чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам.
- Некоторые исследователи полагают, что учет результатов через 24 часа инкубации дает более точные результаты, чем учет результатов через 48 часов инкубации, из-за остаточного роста, характерного для некоторых штаммов. В стандарте CLSI сказано, что окончательный учет результатов следует проводить через 48 часов инкубации. Вопрос клинической значимости результатов, полученных через 24 и через 48 часов инкубации, остается спорным. Поэтому при выдаче результатов лечащему врачу следует указывать время учета результата.
- Для получения дополнительной информации см. стандарт CLSI M27 (Определение чувствительности грибов к антимикробным препаратам).
- Регистрация роста на планшетах YEASTONE Sensititre производится не по мутности, а по изменению цвета суспензии в лунках. Это облегчает учет результатов для некоторых штаммов рода *Candida*, для которых характерен остаточный рост. Для штаммов, выделенных из крови и других в норме стерильных биологических жидкостей, остаточный рост наблюдается реже, чем для штаммов, выделенных из других образцов.
- Не производите учет результата через 24 часа, если нет явного изменения цвета среды в контрольной лунке.
- Рабочие характеристики планшета YEASTONE Sensititre для вориконазола, анидулафунгина, каспофунгина, микафунгина определены только для грибов рода *Candida*. МИК вориконазола, анидулафунгина, каспофунгина, микафунгина следует выдавать только для штаммов рода *Candida*.
- Планшеты YEASTONE Sensititre валидированы к использованию только с бульонами Sensititre для определения чувствительности грибов к АМП.
- Рабочие характеристики для *Aspergillus* spp. определены только для амфотерицина В, итраконазола, позаконазола и вориконазола.

- В исследовании (5) была продемонстрирована высокая ($> 99\%$) сходимость результатов метода YEASTONE Sensititre и референтного метода, описанного в стандарте CLSI, для амфотерицина В / *Aspergillus* spp. при инокуляции планшетов суспензией плотностью 10^3 КОЕ/мл и учете результатов через 48 часов инкубации. Для итраконазола / *Aspergillus* spp. сходимость была несколько ниже: $>90\%$ для *A. fumigatus*, *A. flavus* и *A. terreus*, 85% для *A. nidulans*, 33% для *A. ustus* при инокуляции планшетов суспензией плотностью 10^3 КОЕ/мл и учете результатов через 48 часов инкубации. При инокуляции планшетов суспензией плотностью 10^4 КОЕ/мл и учете результатов через 72 часа инкубации сходимость для амфотерицина В и итраконазола составила более 90% (6).
- Корреляция между МИК каспофунгина и исходом терапии каспофунгином к настоящему моменту не установлена (9).
- Рабочие характеристики планшета YEASTONE Sensititre для позаконазола не определены для *Cryptococcus* spp.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Планшеты Sensititre для визуального и автоматического считывания имеют рабочие характеристики, сравнимые с рабочими характеристиками референсного метода микроразведений CLSI. Сравнимые рабочие характеристики определяются как $\geq 90\%$ сходимость результатов в пределах одного двукратного разведения (1).

Для получения дополнительной информации обратитесь в службу поддержки пользователей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087.
2. Espinel-Ingroff, A., Pfaller, M., Messer, S.A., Knapp, C.C., Killian, S., Norris, H.A., Ghannoun M.A. (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. 37: 591-595.
3. Espinel-Ingroff, A., Knapp, C.C., Holiday, N., Killian, S. (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. 8: Suppl 1. Abstract 0125.
4. Davey, K.G., Szekely, A., Johnson, E.M., Warnock, D.W., (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 42: 439-444.
5. Meletiadis, J., Moutin, J.W., Meis, F.G.M., Bouman, B.A., Verweij, P.E., and EuroFung Network. (2002). Comparison of the E Test and the Sensititre® Colorimetric Methods with the NCCLS, Proposed Standard for Antifungal Susceptibility Testing of *Aspergillus* species. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 2876-2885.
6. Espinel-Ingroff, A., et al. (1997). Multicenter Evaluation of Proposed Standardized Procedure for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology*. 35: 139-143.
7. Peman, J., et al. (2001). Comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric method against reference M38-P for testing susceptibility of *Aspergillus* to Amphotericin B and Itraconazole. *Clinical Microbiology and Infection*, 7: Suppl. 1. Abstract P694.
8. Linares, M, J., G. Charriel, F. Solis, F. Rodriguez, A. Ibarra and M. Casal. (2005) Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. 43: 250-253
9. Kartsonis, N., et al. (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49: 3616-3623

10. Pfaller, M, A., etal. (2004) Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 50 :113-117
11. Pfaller, M, A., A. Espinel-Ingroff and R.N. Jones. (2004) Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 4577-4580
12. Espinel-Ingroff, A., etal. (2004) Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 718- 721
13. Linares, M, J., G. Charriel, F. Solis and M. Casal. (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 899-902
14. Espinel-Ingroff, A., M. Pfaller, S.A. Messer, C.C. Knapp, S. Killian, H.A. Norris, and M.A. Ghannoum. (1999) Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 591-595
15. Barry, A.L., M.A. Pfaller, S.D. Brown, A. Espinel-Ingroff, M.A. Ghannoum, C.c. Knapp, R.P. Rennie, J.H. Rex, and M.G. Rinaldi. (2000) Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 3457-3459
16. Canton, E., etal (2005) .Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49: 1604 -1607
17. Holiday, N.M., etal (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* C-191
18. Torres-Nabona, M., J. Guinea, J.Martinez_Alarcon, T. Pelaez, and E. Bouza. (2007) In Vitro activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A , Sensititre YeastOne®. and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51: 1126
19. Espinel-Ingroff, A. (2006) Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes,

Aspergillus spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* 44: 3616-3622










20. Patel, R., C. Mendrick, C.C. Knapp, R. Grist, and P.M. McNicholas. (2007) Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® plate for testing susceptibility of filamentous fungi to posaconazole. *Journal of Clinical Microbiology* 45: 2000-2001
21. Alexander, B. D., T.C. Byrne, K.L. Smith, K.E. Hansen, K.J. Anstrom, J.R. Perfect and L. B. Reller. (2007) Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* 45: 698-706
22. Patel, R., etal. (2007). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne plate for testing susceptibility of filamentous fungi to posiconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. 45: 2000-2001

Таблица

Вид	Препарат (I / S-DD)			
		S	I / S-DD	R
<i>C. albicans</i>	Амфотерицин В ()			
	Флуконазол ()			
	Итраконазол ()			
	Вориконазол ()			
	Позаконазол ()			
	Изавуконазол ()			
	Кетоконазол ()			
	Анидулафунгин ()			
	Каспофунгин ()			
	Микафунгин ()			
	Флуцитозин ()			

<i>C. albicans</i>	Амфотерицин В ()			
	Флуконазол ()			
	Итраконазол ()			
	Вориконазол ()			
	Позаконазол ()			
	Изавуконазол ()			
	Кетоконазол ()			
	Анидулафунгин ()			
	Каспофунгин ()			
	Микафунгин ()			
	Флуцитозин ()			

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для лабораторной диагностики
	Произведено
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Температурные ограничения
	Использовать до: ГГГГ/ММ/ДД или ГГГГ/ММ (= до конца указанного месяца)
	Содержимого достаточно для <n> тестов
	В лунках планшета содержится флуоресцентный субстрат

ОГРАНИЧЕНИЕ ГАРАНТИИ

Информация, предоставленная в данной инструкции, является актуальной на момент издания инструкции.

Дата последнего обновления инструкции: 12 октября 2010 г.



Произведено TREK Diagnostics Systems

Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead, West Sussex. RH 19 1XZ, UK.

Тел.: +44 1342 318 777

www.trekds.com/



СОСТАВ ПЛАНШЕТ YEASTONE SENSITITRE

АМП		Диапазон МИК, мкг/мл		
		Y02IVD	Y08	Y010
Полиены	Амфотерицин В		0.008 - 16	0.12 - 8
Азолы	Вориконазол	0.008 - 4	0.008 - 16	0.008 - 8
	Итраконазол	0.03 - 2	0.008 - 16	0.015 - 16
	Кетоконазол		0.008 - 16	
	Позаконазол		0.008 - 8	0.008 - 8
	Флуконазол	0.25 - 64	0.125 - 256	0.12 - 256
Эхинокандины	Анидулафунгин			0.015 - 8
	Каспофунгин	0.015 - 8	0.008 - 16	0.008 - 8
	Микафунгин			0.008 - 8
Фторированные пириимидины	5 - Флюцитозин	0.03 - 32	0.03 - 64	0.06 - 64