

SENSITITRE®

## ПЛАНШЕТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕПРИХОТЛИВЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Для лабораторной диагностики

### НАЗНАЧЕНИЕ

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

Данная инструкция описывает методику работы с планшетами, предназначенными для определения чувствительности к АМП грамотрицательных палочек семейства Enterobacteriaceae, родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, других аэробных и факультативно анаэробных быстро растущих грамотрицательных палочек, планшетами, предназначенными для определения чувствительности к АМП грамположительных кокков родов *Staphylococcus*, *Enterococcus*, а также *S. agalactiae* и других бета-гемолитических стрептококков (кроме *S. pneumoniae*), а также планшетами, предназначенными для детекции и подтверждения наличия БЛРС у представителей семейства Enterobacteriaceae (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*):

Планшеты для грамотрицательных палочек	NF, GN2F, GN3F, GN4F, GNX2F
Планшеты для грамположительных кокков	GPN3F, GPALL1F
Планшеты для мочевых патогенов	GNUR2F
Планшеты для детекции и подтверждения наличия БЛРС у <i>Enterobacteriaceae</i>	ESB1F

Более подробная информация о составе и назначении всех доступных на настоящий момент планшетов приведена в приложении 1.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

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

В лунках планшета содержатся сухие антимикробные препараты в определенных концентрациях. После внесения в лунки суспензии исследуемой чистой культуры в соответствующем бульоне происходит их регидратация. Регистрация роста производится визуально (по помутнению среды, формированию пленки или осадка на дне планшета) или автоматически (по нарастанию флуоресценции в результате роста и метаболической активности исследуемой культуры).

Минимальная ингибирующая концентрация – это минимальная концентрация, полностью ингибирующая рост исследуемой культуры, то есть первая лунка в ряду с антимикробным препаратом, в которой не наблюдается роста.

## **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 (15-25°C).
- Планшеты нельзя подвергать действию прямых солнечных лучей и источников тепла.
- 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.
- Суспензию в планшет следует вносить в течение 5 часов после вскрытия индивидуальной упаковки из фольги.
- Деминерализованную воду Sensititre (Т3339) и бульон Мюллер-Хинтон с буфером TES Sensititre (Т3462) следует хранить при комнатной температуре (15-25°C).

## **СОСТАВ НАБОРА**

- Планшеты Sensititre
- 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 Мюллер-Хинтон с буфером TES Sensititre (номер по каталогу Т3462, 100 пробирок по 11 мл)**
- **Дозирующие насадки Sensititre (только при использовании автоматического инокулятора) (номер по каталогу Е3010, 100 штук)**
- **Стандарт Мак-Фарланда 0.5 единиц Sensititre (номер по каталогу Е1041)**
  
- Автоматический инокулятор Sensititre
- Система Sensititre (AutoReader, OptiRead, ARIS)
- Устройство для учета результата Vizion, ручная лупа с зеркалом или другое (по желанию)
- Термостат на 34-36°C
- Миксер типа "Вортекс"
- Пипетка на 20 µл
- Пипетка автоматическая на 5, 10, 50, 100, 200 µл с одноразовыми наконечниками
- Петли, тампоны бактериологические
- Резервуар для суспензии стерильный
- Микропробирки на 250 µл
- Чашки с кровяным агаром
- Контрольные штаммы для контроля качества исследования
- Стандарт CLSI действующий

## **ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ**

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

## ИНОКУЛЯЦИЯ ПЛАНШЕТОВ

**Выдержите бульоны до достижения комнатной температуры перед использованием (если применимо).**

1. Снимите с агара **3-5 изолированных однородных колоний** и приготовьте **гомогенную** суспензию плотностью **0.5 единиц Мак-Фарланда** в пробирке со стерильной деминерализованной водой Sensititre (Т3339). Используйте молодые культуры (**12-24 часа**), с **первичной** чашки или после пересева. Для измерения плотности суспензии рекомендуется использовать нефелометр Sensititre, входящий в комплект поставки прибора. Для гомогенизации суспензии рекомендуется использовать миксер типа "Вортекс".
2. Перенесите 10  $\mu$ л полученной суспензии в пробирку с 11 мл бульона Мюллер-Хинтон с буфером TES Sensititre (Т3462) (кроме *Proteus* spp.; для *Proteus* spp. перенесите 1  $\mu$ л). Для обеспечения детекции гетерорезистентных штаммов *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp. перенесите 30  $\mu$ л суспензии. Тщательно гомогенизируйте. Для гомогенизации рекомендуется использовать миксер типа "Вортекс".

**Этапы 1 и 2 следует завершить в течение 30 минут. В отсутствие миксера типа "Вортекс" пробирку следует перевернуть 8-10 раз для тщательного перемешивания суспензии.**

3. Распределите **по 50  $\mu$ л** суспензии на основе бульона Мюллер-Хинтон 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.

**Суспензию следует внести в планшет в течение 30 минут после приготовления.**

4. Время от времени необходимо проверять плотность и чистоту конечной суспензии тестируемого микроорганизма. Частота проверки определяется стандартами контроля качества микробиологического исследования, принятыми в Вашем учреждении. Также, проверку необходимо проводить при получении неудовлетворительных результатов (нет роста в планшете, резистентность ко всем АМП в планшете, нехарактерная резистентность, например, *S. aureus* к ванкомицину, и т.п.). Сделайте высев из лунки положительного контроля, как описано в **приложении 1** данной инструкции. Конечная плотность вносимой в планшеты суспензии должна составлять  **$1 \times 10^5$  КОЕ/мл** [допустимый диапазон:  **$5 \times 10^4$  -  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл**] (кроме *Proteus* spp.; для ***Proteus* spp.** плотность должна составлять  **$1 \times 10^4$  КОЕ/мл** [допустимый диапазон:  **$5 \times 10^3$  -  $5 \times 10^4$  КОЕ/мл**]).
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.

## ИНКУБАЦИЯ ПЛАНШЕТОВ

- Инкубируйте планшеты в течение 18-24 часов при 34-36°C в аэробной атмосфере или в полностью автоматическом блоке ARIS Sensititre.
- Для корректного определения устойчивости *Enterococcus* spp. к ванкомицину, метициллинорезистентности у *Staphylococcus* spp., индуцибельной устойчивости к клиндамицину требуется инкубация в течение 24 часов.
- Штаммы *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* следует инкубировать в течение 20-24 часов.
- При инкубации во внешнем термостате планшеты можно ставить один на другой, но не более 3 в высоту (иначе нарушается теплообмен в планшетах, стоящих в середине стопки).

## УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Перед учетом результатов проверьте чашки, на которые производился высев из лунки положительного контроля для проверки плотности и чистоты конечной суспензии. При получении смешанной культуры или недопустимого числа колоний результат недействителен.**

### Автоматический учет результата:

Автоматический блок ARIS производит считывание планшет и передачу результатов в программное обеспечение рабочей станции автоматически. Для получения подробной информации см. руководство к прибору и руководство к программному обеспечению SWIN.

При использовании полуавтоматического блока AutoReader или OptiRead планшеты после окончания инкубации загружаются в ридер по одному. Ридер производит считывание и передает результаты в программное обеспечение рабочей станции.

Программное обеспечение рабочей станции автоматически производит обработку результатов, расчет МИК и интерпретацию до категории согласно активированному стандарту интерпретации (CLSI, EUCAST, FDA, другой).

Для получения подробной информации см. руководство к прибору и руководство к программному обеспечению SWIN.

### Визуальный учет результата:

При визуальном учете результатов регистрация роста производится по помутнению среды, формированию пленки или осадка на дне планшета в сравнении с контрольными лунками. Результат вносится в программное обеспечение рабочей станции вручную.

Программное обеспечение рабочей станции автоматически производит обработку результатов, расчет МИК и интерпретацию до категории согласно активированному стандарту интерпретации (CLSI, EUCAST, FDA, другой).

Сначала производится оценка роста в лунках положительного контроля и в лунке отрицательного контроля. При отсутствии роста хотя бы в одной из лунок положительного контроля или при наличии роста в лунке отрицательного контроля результат недействителен.

Минимальная ингибирующая концентрация – это минимальная концентрация, полностью ингибирующая рост исследуемой культуры, то есть первая лунка в ряду с антимикробным препаратом, в которой не наблюдается роста.

Можно пользоваться дополнительными устройствами: устройством с зеркалом и лупой для увеличения изображения, или устройствами типа Vizion, позволяющими не только просматривать, но и создавать электронную копию увеличенного изображения планшета. Адгезивную пленку снимать не обязательно.

Учет результатов проще выполнять на темном фоне.

Если у Вас нет программного обеспечения SWIN, интерпретацию полученных МИК до категории следует производить согласно действующим стандартам (CLSI, EUCAST, другой стандарт по выбору).

Для получения подробной информации см. руководство к соответствующему устройству и руководство к программному обеспечению SWIN.

**При учете результата любым способом обращайтесь внимание на следующие особенности:**

- **Постепенное затухание роста**

Для большинства сочетаний микроорганизм / АМП характерно резкое прекращение роста в лунке, соответствующей МИК (первая лунка в ряду с АМП, в которой отсутствует рост). Для некоторых сочетаний микроорганизм / АМП характерно постепенное затухание роста на протяжении 2-3 лунок. В таких случаях МИК также соответствует первой лунке в ряду с АМП, в которой отсутствует видимый рост, для всех АМП, кроме сульфаниламидов и линезолида. Для **сульфаниламидов и линезолида** МИК соответствует лунке, в которой наблюдается **80-90% ингибирование** роста по сравнению с лунками положительного контроля.

- **Контаминация и/или попуски в росте**

Если наблюдается **рост в одиночной лунке** при отсутствии роста в лунках по обеим сторонам от нее, это может быть вызвано контаминацией, неоднородностью суспензии или мутациями. Рекомендуется сделать высеv из такой лунки для проверки. Одиночный случай контаминации можно игнорировать.

Напротив, если в одиночной лунке роста не наблюдается, и в лунках по обеим сторонам от нее есть рост, это **пропуск в росте**. Пропуск в росте может быть вызван разными причинами, в том числе мутациями, неоднородностью суспензии, неправильно наклеенной адгезивной пленкой. Одиночный пропуск в росте можно игнорировать. Тем не менее, НИКОГДА не принимайте одиночный пропуск в росте равным МИК. МИК соответствует первой лунке в ряду с АМП, в которой нет роста, и после которой во всех лунках с этим АМП также нет роста.

Если наблюдаются множественные пропуски в росте, или множественный беспорядочный рост в одиночных лунках, результат теста недействителен, и тест следует повторить.

- **Смешанная культура**

Если для двух и более АМП наблюдается рост в нескольких лунках в виде четкой бляшки определенного диаметра на дне, а затем в нескольких последующих лунках диффузный рост без четко оформленной бляшки, или четкие бляшки одинакового, но меньшего диаметра, это может свидетельствовать о смешанной культуре (не путайте с постепенным затуханием роста, как описано выше). Следует проверить чистоту культуры, сделав высеv из соответствующих лунок на подходящий агар. При обнаружении смешанной культуры результаты недействительны.

## **Фенотипическое определение механизмов резистентности**

### **Учет результатов теста, подтверждающего наличие бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у *Enterobacteriaceae***

При учете результатов теста, подтверждающего наличие БЛРС, следует сравнить МИК, полученную для цефтазидима, цефотаксима и МИК, полученную для того же антибиотика в комбинации с клавулановой кислотой (цефтазидим/клавулановая кислота, цефотаксим/клавулановая кислота). Если разница в МИК составляет 3 разведения и более, результат теста следует считать положительным (подтверждение наличия БЛРС).

*Пример:* МИК цефтазидима = 8 мкг/мл, МИК цефтазидима/клавулановой кислоты = 1 мкг/мл → подтверждение наличия БЛРС.

- Данный тест может давать ложноотрицательные результаты при одновременном наличии у тестируемого штамма классических БЛРС и цефалоспориноаз класса С (AmpC). Цефалоспориноазы класса С также относятся к бета-лактамазам, преимущественно гидролизуют цефалоспорины III поколения, а также цефамицины (цефокситин) и азтреонам, но, как правило, не расщепляют цефепим. Цефалоспориноазы класса С нечувствительны к ингибиторам сериновых бета-лактамаз (клавулановой кислоте, тазобактаму, сульбактаму). При получении профиля устойчивости, предполагающего наличие БЛРС, и отрицательного результата подтверждающего теста на БЛРС

рекомендуется повторить подтверждающий тест, но использовать для него цефепим в параллели с комбинацией цефепима и клавулановой кислоты.

- Данный тест может давать ложноположительные результаты при наличии у тестируемого штамма карбапенемаз, чувствительных к ингибиторам сериновых бета-лактамаз (карбапенемазы класса А). Карбапенемазы класса А ингибируются клавулановой кислотой в различной степени и обычно гидролизуют цефалоспорины эффективнее, чем карбапенемы. При подозрении на наличие карбапенемаз рекомендуется поставить подтверждающий тест на карбапенемазы.
- Планшет ESB1F предназначен одновременно для скрининга и подтверждения наличия бета-лактамаз расширенного спектра. Помимо ампициллина и цефалоспоринов I-III поколений в планшет включены карбапенемы (имипенем, меропенем) для общей оценки профиля резистентности.

Для получения более подробной информации см. CLSI M7, табл. 2А.

### Скрининг с цефокситином

Скрининг с цефокситином (6  $\mu\text{г}/\text{мл}$ ) используется для прогноза множественной устойчивости, обусловленной наличием гена *mecA*, у штаммов *Staphylococcus aureus*.

Штаммы, для которых результат данного теста положительный (рост при 6  $\mu\text{г}/\text{мл}$  цефокситина) следует считать устойчивыми к оксациллину. Штаммы, для которых результат данного теста отрицательный (рост при 6  $\mu\text{г}/\text{мл}$  цефокситина отсутствует, или МИК цефокситина  $\leq 6$   $\mu\text{г}/\text{мл}$ ), следует считать чувствительными к оксациллину.

Скрининговый тест с цефокситином используется параллельно со скрининговым тестом с оксациллином. Редко встречаются штаммы *S. aureus*, у которых устойчивость к оксациллину обусловлена не наличием гена *mecA*, а другими механизмами. Если в скрининговом тесте с цефокситином получен отрицательный результат, но МИК оксациллина  $\geq 4$   $\mu\text{г}/\text{мл}$ , штамм также следует считать устойчивым к оксациллину. Тем не менее, штаммы, у которых устойчивость к оксациллину обусловлена не наличием гена *mecA*, а другими механизмами, как правило, не являются истинно полирезистентными (они обычно чувствительны к гентамицину, клиндамицину, тетрациклину, чувствительны или устойчивы к эритромицину).

### D-тест

D-тест используется для определения индуцибельной устойчивости к клиндамицину типа MLSB у штаммов *Staphylococcus* spp., устойчивых к эритромицину (МИК  $\geq 8$   $\mu\text{г}/\text{мл}$ ), но чувствительных или умеренно устойчивых к клиндамицину (МИК  $\leq 2$   $\mu\text{г}/\text{мл}$ ).

Если результат D-теста 1 положительный (рост при 4  $\mu\text{г}/\text{мл}$  эритромицина и 0.5  $\mu\text{г}/\text{мл}$  клиндамицина), или результат D-теста 2 положительный (рост при 8  $\mu\text{г}/\text{мл}$  эритромицина и 1.5  $\mu\text{г}/\text{мл}$  клиндамицина), или результаты обоих тестов положительные, имеется индуцибельная устойчивость к клиндамицину.

Если результаты обоих D-тестов отрицательные, индуцибельной устойчивости к клиндамицину нет.

Если штамм устойчив к эритромицину, чувствителен к клиндамицину, и результаты обоих D-тестов отрицательны через 18 часов инкубации, инкубацию следует продлить до 24 часов.

При наличии индуцибельной устойчивости к клиндамицину результат для клиндамицина / линкомицина следует изменить на "устойчивый" и сопроводить отчет предупреждающим сообщением о том, что терапия клиндамицином / линкомицином может быть неэффективной, приведет к селекции мутантов с конститутивной устойчивостью, и что клиндамицин и линкомицин не следует применять при тяжелых инфекциях.

## Дополнительная информация

Для получения дополнительной информации обращайтесь в службу поддержки пользователей или к сайту производителя [www.trekds.com/techinfo](http://www.trekds.com/techinfo).

Планшеты Sensititre предназначены для универсального использования. Антимикробные препараты, содержащиеся в них, имеют различное клиническое значение для различных тестируемых возбудителей.

По автоматическом учете результатов используются критерии интерпретации по стандарту CLSI (по умолчанию), EUCAST (если настроено), FDA (если настроено), другого пользовательского стандарта (если настроено).

### Некоторые тесты подразумевают качественное определение чувствительности к АМП.

При этом, как правило, используется две концентрации АМП: нижняя пороговая концентрация (соответствует верхней пороговой концентрации категории "чувствительный") и верхняя пороговая концентрация (соответствует верхней пороговой концентрации категории "умеренно устойчивый"). Либо, используется одна концентрация АМП - пороговая концентрация, соответствующая верхней пороговой концентрации категории "чувствительный". Интерпретация производится по правилам, приведенным в таблице ниже.

Результат	Интерпретация	
	Одна пороговая концентрация	Две пороговые концентрации
Нет роста в лунке	чувствительный	не применимо
Есть рост в лунке	устойчивый	не применимо
Нет роста в обеих лунках	не применимо	чувствительный
Рост только в лунке с нижней пороговой концентрацией	не применимо	умеренно устойчивый
Рост в обеих лунках	не применимо	устойчивый
Рост только в лунке с верхней пороговой концентрацией	не применимо	недействительный результат; тест требуется повторить

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Частота проведения контроля качества определяется действующими стандартами. При проведении контроля качества **всегда** необходимо делать высеив 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.

На результат теста влияют такие факторы как чистота культуры, состояние культуры (следует использовать молодые культуры), плотность и гомогенность суспензии, температура культивирования, питательные качества бульона и прочее.

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 1. Ожидаемые МИК (µг/мл) через 18-24 часа инкубации

АМП	Контрольный штамм ATCC					
	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>E.faecalis</i> ATCC 51299
Азлоциллин	2-8	1-4	8-32	2-8	-	-
Азтреонам	-	-	0.06-0.25	2-8	-	-
Амикацин	-	-	0.5-4	1-4	-	-
Амоксициллин/ Клавулановая кислота	0.12/0.06- 0.5/0.25	0.25/0.12- 1/0.5	2/1-8/4	-	4/2-16/8	-
Ампициллин	0.25-1*	0.5-2	2-8	-	-	-
Ампициллин/ Сульбактам	-	-	2/1-8/4	-	8/4-32/16	-
Ванкомицин	0.5-2	1-4	-	-	-	-
Гатифлоксацин	0.03-0.12	0.12-1	0.008-0.03	0.5-2	-	-
Гемифлоксацин	0.008-0.03	0.015-0.12	0.004-0.015	0.25-1	-	-
Гентамицин	0.12-1	4-16	0.25-1	0.5-2	-	-
Гентамицин (ВУР) <sup>A</sup>	-	≤ 500	-	-	-	> 500
Даптомицин	0.25-1	1-4	-	-	-	-
Доксициклин	0.12-0.5 <sup>C</sup>	2-8	0.5-2	-	-	-
Дорипенем	-	-	0.015-0.06	0.12-0.5	-	-
Д-тест	Отрицат. (нет роста)	<i>S.aureus</i> ATCC ВАА-976 и <i>S.aureus</i> ATCC 25923 : Отрицательный (нет роста) // <i>S.aureus</i> ATCC ВАА-977 : Положительный (есть рост)				
Имипенем	0.015-0.06	0.5-2	0.06-0.25	1-4	-	-
Карбенициллин	2-8	16-64	4-16	16-64	-	-
Кларитромицин	0.12-0.5	-	-	-	-	-
Клиндамицин	0.06-0.25	4-16	-	-	-	-
Левифлоксацин	0.06-0.5	0.25-2	0.008-0.06	0.5-4	-	-
Линезолид	1-4	1-4	-	-	-	-
Ломефлоксацин	0.25-2	2-8	0.03-0.12	1-4	-	-
Мезлоциллин	1-4	1-4	2-8	16-64*	-	-
Меропенем	0.03-0.12	2-8	0.008-0.06	0.25-1	-	-
Миноциклин	0.06-0.5	1-4	0.25-1	-	-	-
Моксифлоксацин	0.015-0.12	0.06-0.5	0.008-0.06	1-8	-	-
Налидиксовая кислота	-	-	1-4	-	-	-
Нетилмицин	≤ 0.25	4-16	≤ 0.5-1	0.5-8	-	-
Нитрофурантоин	8-32	4-16	4-16	-	-	-
Норфлоксацин	0.5-2	2-8	0.03-0.12	1-4	-	-
Оксациллин + 2% NaCl	0.12-0.5	8-32	-	-	-	-
Офлоксацин	0.12-1	1-4	0.015-0.12	1-8	-	-
Пенициллин G	0.12-1	1-4	-	-	-	-
Пиперациллин	1-4	1-4	1-4	1-8	-	-
Пиперациллин/ Тазобактам	0.25/4-2/4	1/4-4/4	1/4-4/4	1/4-8/4	0.5/4-2/4	-
Рифампин	0.004-0.015	0.5-4	4-16	16-64	-	-
Спарфлоксацин	0.03-0.12	0.12-0.5	0.004-0.016	0.5-2	-	-



Таблица 1. Ожидаемые МИК (µг/мл) через 18-24 часа инкубации (продолжение)

АМП	Контрольный штамм ATCC					
	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>E.faecalis</i> ATCC 51299
Стрептомицин (ВУР)	-	≤ 1000	-	-	-	> 1000
Сульфизоксазол <sup>В</sup>	32-128	-	8-32	-	-	-
Тайгециклин	0.03-0.25	0.03-0.12	0.03-0.25	-	-	-
Телитромицин	0.06-0.25	-	-	-	-	-
Тетрациклин	0.12-1	8-32	0.5-2	8-32	-	-
Тикарциллин	2-8	16-64	4-16	8-32	-	-
Тикарциллин/Клавулан овая кислота	0.5/2-2/2	16/2-24/2	4/2-16/2	8/2-32/2	8/2-32/2	-
Тобрамицин	0.12-1	8-32	0.25-1	0.25-1	-	-
Триметоприм/ Сульфаметоксазол	≤ 0.5/9.5	≤ 0.5/9.5	≤ 0.5/9.5	8/152-32/608	-	-
Хинупристин/ Дальфопристин	0.25-1	2-8	-	-	-	-
Хлорамфеникол	2-16	4-16	2-8	-	-	-
Цефазолин	0.25-1	-	1-4	-	-	-
Цефалотин	0.12-0.5	-	4-16	-	-	-
Цефамандол	0.25-1	-	0.25-1	-	-	-
Цефдинир	0.12-0.5	-	0.12-0.5	-	-	-
Цефепим	1-4	-	0.015-0.12	0.5-4	-	-
Цефокситин	1-4	-	2-8	-	-	-
Цефокситин скрининг	≤6 µг/мл (нет роста)	<i>S.aureus</i> ATCC ВАА-976 : > 6 µг/мл (есть рост, тест положителен)				
Цефоницид	1-4	-	0.25-1	-	-	-
Цефоперазон	1-4	-	0.12-0.5	2-8	-	-
Цефотаксим	1-4	-	0.03-0.12	8-32	-	-
Цефотетан	4-16	-	0.12-1*	-	-	-
Цефподоксим	1-8	-	0.25-1	-	-	-
Цефтазидим	4-16	-	0.06-0.5	1-4	-	-
Цефтизоксим	2-8	-	0.03-0.12	16-64	-	-
Цефтриаксон	1-8	-	0.03-0.12	8-64	-	-
Цефуросксим (натрия)	0.5-2	-	2-8	-	-	-
Ципрофлоксацин	0.12-0.5	0.25-2	0.004-0.015	0.25-1	-	-
Эритромицин	0.25-1	1-4	-	-	-	-
Эртапенем	0.06-0.25	4-16	0.004-0.015	2-8	-	-

<sup>А</sup> Для контроля качества лунки с гентамицином 500 можно использовать штамм *Enterococcus faecium* (ATCC 429244). Ожидаемый результат: > 500 µг/мл.

\* Нижнее подчеркивание = Диапазон МИК, отличный от указанного в таблице 3 стандарта CLSI M100.

<sup>В</sup> Результаты для сульфизоксазола сильно зависят от среды культивирования.

<sup>С</sup> Доксициклин не применяется для лечения стафилококковых инфекций.

<sup>Д</sup> Для заполнения планшетов для неприхотливых микроорганизмов используется суспензия в бульоне, не содержащем лизированную лошадиную кровь, поэтому штамм *S.pneumoniae* ATCC 49619 нельзя использовать для контроля качества. Рекомендованный контрольный штамм – *S.aureus* ATCC 29213.

Таблица 2. Тест, подтверждающий наличие БЛРС. Ожидаемые МИК (µг/мл) через 18-24 часа инкубации.

АМП	Контрольный штамм ATCC	
	<i>E.coli</i> ATCC 25922 #	<i>K.pneumoniae</i> 700603
Цефтазидим	0.06-0.5	≥ 2
Цефотаксим	0.03-0.12	≥ 2
Цефтазидим/ Клавулановая кислота	н.п.	Снижение МИК на ≥ 3 двойных разведений по сравнению с МИК цефтазидима
Цефотаксим/ Клавулановая кислота	н.п.	Снижение МИК на ≥ 3 двойных разведений по сравнению с МИК цефотаксима

# См. ограничения в стандарте CLSI M100, таблица 3.

## ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Интерпретацию результатов теста должен выполнять врач-бактериолог.
- Планшеты Sensititre предназначены для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП) **в лабораторных условиях**. Полученные результаты следует использовать для индивидуального назначения терапии с учетом таксономической принадлежности возбудителя, локализации инфекции, фармакологических данных, анамнеза и других факторов, влияющих на клиническую эффективность препарата.
- Данная инструкция описывает методику работы с планшетами, предназначенными для определения чувствительности к АМП неприхотливых грамотрицательных и грамположительных бактерий. Определение чувствительности к АМП прихотливых микроорганизмов выполняется специальными методами. Чувствительность *S.pneumoniae* и *H.influenzae* можно определять на соответствующих планшетах Sensititre для определения чувствительности к АМП прихотливых микроорганизмов, в соответствии с инструкцией к данным планшетами. Для получения дополнительной информации см. действующий стандарт CLSI M7.
- При определении рабочих характеристик системы Sensititre для распределения суспензий тестируемых штаммов использовался автоматический инокулятор Sensititre. При использовании других методов распределения суспензии следует предварительно валидировать их в Вашей лаборатории с помощью контрольных штаммов и проверки плотности конечной суспензии путем высева из лунки положительного контроля (в частности, для доксициклина).

## Грамотрицательные микроорганизмы

- Результаты для следующих сочетаний микроорганизм/АМП следует подтверждать альтернативными методами (либо исключать из отчетов) из-за возможных расхождений:  
- *C.freundii*: цефотетан.
- Результаты для следующих сочетаний микроорганизм/АМП следует подтверждать альтернативными методами (либо исключать из отчетов), поскольку определения рабочих характеристик не проводилось:  
- *Proteus* spp.: пиперациллин/тазобактам, цефепим.
- Результаты автоматического считывания с помощью модуля AutoReader для следующих сочетаний микроорганизм/АМП следует проверять визуально (либо исключать из отчетов), поскольку определение рабочих характеристик проводилось не в полном объеме:  
- *Klebsiella* spp.: пиперациллин/тазобактам,  
- Неферментирующие микроорганизмы: пиперациллин/ тазобактам.

- Результаты автоматического считывания с помощью модуля AutoReader для следующих сочетаний микроорганизм/АМП следует проверять визуально (либо исключать из отчетов), поскольку при определении рабочих характеристик был получен неприемлемый уровень ошибок считывания:
  - *Serratia* spp.: цефподоксим.
- Контрольный диапазон для следующих сочетаний микроорганизм/антимикробный препарат на планшетах Sensititre отличен от рекомендуемого стандартом CLSI:
  - *E.coli* ATCC 25922: цефотетан,
  - *P.aeruginosa* ATCC 27853: мезлоциллин.
- Внутрилабораторная сходимость результатов для амоксициллина/клавулановой кислоты на планшетах Sensititre и референтным методом CLSI при определении рабочих характеристик составила менее 95%. Поскольку значение МИК амоксициллина/клавулановой кислоты зависит от уровня продукции бета-лактамазы, вариабельность результатов может быть обусловлена вариабельностью уровня продукции бета-лактамазы. Внутрилабораторная сходимость результатов для цефотетана для грамотрицательных бактерий на планшетах Sensititre и референтным методом CLSI при определении рабочих характеристик также составила менее 95%.
- Возможность определения устойчивости для следующих сочетаний микроорганизм/АМП неизвестна, т.к. на момент сравнительного тестирования устойчивые штаммы не были доступны:
  - *C.freundii*: пиперациллин/тазобактам,
  - *Serratia* spp.: пиперациллин/тазобактам,
  - *Proteus* spp.: ломефлоксацин, цефподоксим,
  - Грамотрицательные микроорганизмы: меропенем,
  - Микроорганизмы, не относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae*: левофлоксацин.
- Возможность определения устойчивости к моксифлоксацину и гатифлоксацину неизвестна, т.к. на момент сравнительного тестирования устойчивые штаммы не были доступны.
- Тайгециклин *in vitro* имеет пониженную активность в отношении *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp.
- МИК гемифлоксацина *in vitro* составляет 0.25  $\mu\text{g}/\text{мл}$  или менее для большинства ( $\geq 90\%$ ) штаммов следующих видов: *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*. Тем не менее, клиническая эффективность гемифлоксацина в лечении инфекций, вызванных этими возбудителями, пока не подтверждена клиническими исследованиями.
- В настоящее время нет информации о штаммах, устойчивых к тайгециклину, гемифлоксацину и дорипенему. При получении любого результата, кроме "чувствительный", штамм следует отправить в референтную лабораторию для проверки.

#### **Грамположительные микроорганизмы**

- Результаты для следующих сочетаний микроорганизм/АМП следует подтверждать альтернативными методами (либо исключать из отчетов) из-за возможных расхождений:
  - Чувствительные к оксациллину коагулазоотрицательные стафилококки: кларитромицин.
- Результаты для следующих сочетаний микроорганизм/АМП не следует считывать автоматически с помощью модуля AutoReader (считывайте их визуально):
  - *Enterococcus* spp.: нитрофурантоин,
  - Коагулазоотрицательные стафилококки: триметоприм/сульфаметоксазол.
- Контрольный диапазон для следующих сочетаний микроорганизм/антимикробный препарат на планшетах Sensititre отличен от рекомендуемого стандартом CLSI:
  - *S.aureus* ATCC 29213: ампициллин, пенициллин.

- Возможность определения устойчивости для следующих сочетаний микроорганизм/АМП неизвестна, т.к. на момент сравнительного тестирования устойчивые штаммы не были доступны:
  - *Enterococcus* spp.: амоксициллин/клавулановая кислота, даптомицин,
  - *Staphylococcus* spp.: ампициллин/сульбактам, даптомицин,
  - *Streptococcus* spp.: даптомицин,
  - Грамположительные микроорганизмы: линезолид, моксифлоксацин, гатифлоксацин, тайгециклин, гемифлоксацин.
- Была показана способность системы Sensititre определять устойчивость *S. aureus* к ванкомицину при 18 и при 24 часах культивирования на ванкомицинрезистентных штаммах *S. aureus*, доступных на момент проведения исследования. Тем не менее, количество этих штаммов было ограниченным.
- Используйте альтернативные методы определения чувствительности *S. pyogenes* и других видов рода *Streptococcus* (бульон с лизированной лошадиной кровью) при отсутствии роста или плохом росте в лунках положительного контроля.
- Для определения выработки бета-лактамазы у стафилококков и энтерококков следует выполнять внеприборный нитроцефиновый тест.
- Планшеты Sensititre соответствуют рекомендациям стандарта CLSI по определению оксациллинрезистентных стафилококков. В лунке с оксациллином содержится также 2% NaCl. Для приготовления суспензии следует использовать молодую культуру с агара, но не из бульона. Большинство оксациллинрезистентных штаммов стафилококков являются полирезистентными и устойчивы не только ко всем бета-лактамам антибиотикам, но и к аминогликозидам, макролидам, клиндамицину, хлорамфениколу и тетрациклину.
- Штаммы стрептококков могут давать плохой рост в бульоне Мюллер-Хинтон без добавления лизированной крови, что может приводить к получению неадекватных результатов для аминогликозидов.
- МИК гемифлоксацина *in vitro* составляет 0.25  $\mu\text{g}/\text{мл}$  или менее для большинства ( $\geq 90\%$ ) штаммов следующих видов: *Staphylococcus aureus* (только метициллиночувствительные штаммы), *Streptococcus pyogenes*. Тем не менее, клиническая эффективность гемифлоксацина в лечении инфекций, вызванных этими возбудителями, пока не подтверждена клиническими исследованиями.
- В настоящее время нет информации о штаммах, устойчивых к тайгециклину и гемифлоксацину, штаммах грамположительных бактерий, устойчивых к моксифлоксацину и гатифлоксацину, чувствительных к метициллину и эритромицину штаммах *Staphylococcus aureus*, устойчивых к телитромицину, штаммах *Streptococcus* spp., устойчивых к эртапенему. При получении любого результата, кроме "чувствительный", штамм следует отправить в референтную лабораторию для проверки.

## 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.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ПРОВЕРКА ЧИСТОТЫ И ПЛОТНОСТИ КОНЕЧНОЙ СУСПЕНЗИИ ТЕСТИРУЕМОГО ШТАММА

При выполнении теста необходимо проверять плотность и чистоту конечной суспензии тестируемого микроорганизма. **Для неприхотливых грамотрицательных палочек и грамположительных кокков (*Enterobacteriaceae*, неферментирующие палочки, *Staphylococcus*, *Enterococcus*)** это необходимо делать **периодически** (с частотой, соответствующей требованиям проведения контроля качества в Вашем учреждении), **либо при получении неудовлетворительных результатов**, а именно:

- При получении сомнительного или неудовлетворительного результата идентификации (в том числе ответы "низкая дифференциация", "идентификация невозможна")
- При получении нехарактерных профилей резистентности (в том числе резистентность ко ВСЕМ АМП в планшете или нехарактерная резистентность, например, резистентность *S. aureus* к ванкомицину).

**Для *Streptococcus spp.*** это необходимо делать **постоянно**, для каждой исследуемой культуры, поскольку для *Streptococcus spp.* плотность суспензии сильно зависит от условий культивирования первичной чашки.







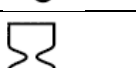

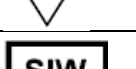
- **Для проверки плотности и чистоты конечной суспензии неприхотливых микроорганизмов:**
  - Сразу после инокуляции планшета для определения чувствительности перенесите 10  $\mu$ л суспензии из одной из лунок положительного контроля в микропробирку с 200  $\mu$ л стерильной дистиллированной воды (кроме *Vibrio spp.*: для *Vibrio spp.* следует использовать стерильный физиологический раствор). Тщательно гомогенизируйте.
  - Из полученной суспензии **ЧИСТЫМ НАКОНЕЧНИКОМ** перенесите 10  $\mu$ л суспензии в микропробирку с 100  $\mu$ л стерильной дистиллированной воды (кроме *Vibrio spp.*: для *Vibrio spp.* следует использовать стерильный физиологический раствор). Тщательно гомогенизируйте.
  - **ЧИСТЫМ НАКОНЕЧНИКОМ** произведите высев 10  $\mu$ л из первой микропробирки на чашку с кровяным агаром и **ДРУГИМ, ЧИСТЫМ НАКОНЕЧНИКОМ** произведите высев 10  $\mu$ л из второй микропробирки на другую чашку с кровяным агаром. Распределите суспензию по агару. Инкубируйте чашки 12-24 часа при 34-36°C в аэробных условиях дном вверх.
  - После окончания инкубации произведите подсчет колоний (см. таблицу ниже).
- **Для проверки плотности и чистоты конечной суспензии *Streptococcus spp.*:**
  - Сразу после инокуляции планшета для определения чувствительности перенесите 5  $\mu$ л суспензии из одной из лунок положительного контроля в микропробирку с 200  $\mu$ л стерильной дистиллированной воды. Тщательно гомогенизируйте.
  - **ЧИСТЫМ НАКОНЕЧНИКОМ** произведите высев 5  $\mu$ л из микропробирки на чашку с кровяным агаром. Распределите суспензию по агару. Инкубируйте чашки 12-24 часа при 34-36°C в 5% CO<sub>2</sub> дном вверх.
  - После окончания инкубации произведите подсчет колоний (см. таблицу ниже).

Тестируемая культура	Допустимая плотность суспензии	КОЕ на чашку, высев из 1 микропробирки	КОЕ на чашку, высев из 2 микропробирки
Все неприхотливые, кроме <i>Proteus spp.</i>	$1 \times 10^5$ [ $5 \times 10^4$ - $5 \times 10^5$ ]	48 [24-238]	5 [2-24]
<i>Proteus spp.</i>	$1 \times 10^5$ [ $5 \times 10^4$ - $5 \times 10^5$ ]	5 [2-24]	0 [0-2]
<i>Streptococcus spp.</i>	$5 \times 10^5$ [ $2 \times 10^5$ - $7 \times 10^5$ ]	60 [25-85]	--

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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.

## 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: 21 июня 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/](http://www.trekds.com/)



## СОСТАВ ПЛАНШЕТОВ SENSITITRE \*

## ENTEROBACTERIACEAE, НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Антимикробный препарат	№ планшета по каталогу					
	GN2F	GN4F	GNX2F	NF	GNUR2F	ESB1F
	Диапазон разведений, мкг/мл					
Ампициллин	4-32	8-16			8-32	8-16
Ампициллин/ Сульбактам	4/2-32/16	4/2-16/8		2/1-16/8		
Амоксициллин/ Клавуланат					8/4-32/16	
Карбенициллин				32-256	16-64	
Тикарциллин				8-64		
Тикарциллин/ Клавулановая кислота	16/2-64/2	8/2-64/2	16/2-128/2	16/2-128/2		
Пиперациллин	16-128	16-64		8-64		
Пиперациллин/ Тазобактам	16/4-128/4	8/4-128/4	8/4-64/4	8/4-64/4		4/4-64/4
Цефазолин	4-32	1-16				8-16
Цефалотин						8-16
Цефуроксим	4-32					
Цефоперазон				4-32		
Цефотаксим			1-32	4-32		0.25-64
Цефотаксим/ Клавуланат						0.12/4-64/4
Цефподоксим	2-16					
Цефтазидим	1-32	1-16	1-16	1-16		0.25-128
Цефтазидим/ Клавуланат						0.12/4-128/4
Цефтриаксон	1-64	0.5-32		4-32	8-64	
Цефепим	4-32	4-32	2-16	2-16	4-32	1-16
Цефокситин	4-32					4-64
Цефотетан	8-32					
Азтреонам	8-32	1-16	2-16	2-16		
Имипенем	2-16	0.5-8	1-8	1-8		0.5-16
Дорипенем		0.5-4	0.12-2			
Меропенем	1-8	0.5-16	1-8			1-8
Эртапенем		0.25-4	0.25-4			
Гентамицин	2-16	2-8	1-8	1-8	4-8	4-16
Тобрамицин	4-8	2-8	1-8	1-8		
Амикацин	8-64	8-32	4-32	4-32		
Ципрофлоксацин	0.5-4	0.5-2	0.25-2	0.25-2	1-4	1-2
Ломефлоксацин				0.5-4		
Левифлоксацин		1-8	1-8	0.12-4		
Гатифлоксацин	1-8					
Колистин			0.25-4			
Полимиксин В			0.25-4			
Тайгециклин		1-8	0.25-8			
Сульфизоксазол				256		
Триметопр./ Сульфаметокс.	0.5/9.5-4/76	2/38-4/76	0.5/9.5-4/76	0.5/9.5-4/76	0.5/9.5-4/76	0.5/9.5-4/76
Тетрациклин		4-8		1-8		
Доксициклин			2-16			
Нитрофурантоин	16-128	32-64			32-128	
Хлорамфеникол				2-16		

**СОСТАВ ПАНЕЛЕЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АМП ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОККОВ**

Антимикробный препарат	№ планшета по каталогу	
	GPALL1F	GN3F
	Диапазон разведений, мкг/мл	
Пенициллин	0,06-8	0,06-8
Ампициллин	0,12-8	0,12-16
Амоксициллин/ Клавуланат		
Оксациллин + 2% NaCl, скрининг	0,25-4	0,25-8
Цефуроксим		
Цефотаксим		
Цефтриаксон		8-64
Цефепим		
Цефокситин, скрининг	6	
Меропенем		
Эртапенем		
Стрептомицин (ВУР)	1000	1000
Гентамицин	2-16	2-16
Гентамицин (ВУР)	500	500
Ципрофлоксацин	1-2	0,5-2
Левифлоксацин	0,25-4	0,25-8
Гатифлоксацин		1-8
Моксифлоксацин	0,25-4	
Эритромицин	0,25-4	0,25-4
Азитромицин		
Клиндамицин	0,5-2	0,12-2
D-тест (Эритромицин/ Клиндамицин)	4/0,5 ; 8/1,5	
Хинупристин/ Дальфопристин	0,5-4	0,12-4
Линезолид	1-8	0,5-8
Даптомицин	0,5-4	0,25-8
Ванкомицин	0,25-32	1-128
Тайгециклин	0,03-0,5	
Триметоприм/ Сульфаметоксазол	0,5/9,5-4/76	0,5/9,5-4/76
Нитрофурантоин	32-64	
Тетрациклин	2-16	2-16
Рифампицин	0,5-4	0,5-4
Хлорамфеникол	2-16	

*\* Вы можете заказать адаптированный планшет для определения чувствительности, включающий панель из АМП, используемых в Вашем ЛПУ.*