

Кат. No.: 10020282

Для микробиологии

Набор предназначен для определения чувствительности к антибиотикам грамположительных бактерий родов *Enterococcus* и *Streptococcus* (за исключением зеленящих стрептококков и *Streptococcus pneumoniae*) на основе определения бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика и рассчитан на 40 культур.

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

Мы рекомендуем использовать диско-диффузионный метод или E-тест для определения антибиотикочувствительности зеленящих стрептококков и *S. pneumoniae* ввиду их скудного роста при разведении в этой тест-системе.

ВНИМАНИЕ!

Процедура приготовления суспензии исследуемого штамма и интерпретация данных имеет некоторые различия в зависимости от того, работаете ли Вы со стрептококками или энтерококками.

Набор включает:

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

Хранение и срок годности набора:

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

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

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

Вскрытые пакеты следует хранить только при комнатной температуре.

Хранение и срок годности суспензионной среды:

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

Для дальнейшей работы суспензионную среду можно разлить в стерильные пробирки по 4,4 мл.

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

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

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

- флакон с завинчивающейся крышкой;
- шпатель для смешивания или мешалка;
- автоклав.

ВНИМАНИЕ: Набор предназначен только для профессионального использования!
Соблюдайте правила при работе с инфекционным материалом!

Методика исследования антибиотикочувствительности с применением СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ Г+

ВНИМАНИЕ: Перед началом исследования приготовьте суспензионную среду!

Приготовление суспензионной среды:

Из одного пакетика суспензионной среды готовят 0,5 л суспензионной среды. Во флакон с завинчивающейся крышкой высыпать один пакетик сухой суспензионной среды, добавить 0,5 л подогретой дистиллированной воды, перемешать, проавтоклавируют при температуре 121°C в течение 30 мин. Охладить до комнатной температуры, перемешать в стерильных условиях. Незначительный осадок в нижней части флакона не оказывает влияния на качество среды. Перед применением суспензионной среды измерить pH. Для применения пригодна среда с pH 7,5 (±0,1). При необходимости скорректировать pH.



Приготовление бактериальной суспензии:

1. Приготовить пробирки с 2 - 5 мл физиологического раствора pH 5,5–6,5.
2. Приготовить пробирки с 4,4 мл суспензионной среды с оптимальной для процедуры температурой 37°C.
3. Снять несколько колоний 18-24 часовой культуры с кровяного агара и в физиологическом растворе приготовить бактериальную суспензию плотностью:
 - 0,5 McF — для энтерококков,
 - 1,0 McF — для стрептококков

Приготовление суспензии более высокой степени мутности не так критично для получаемых результатов, чем менее густая суспензия.

- **Энтерококки** В пробирки с суспензионной средой 4,4 мл внести **40 мкл** бактериальной суспензии и тщательно перемешать.
- **Стрептококки** В пробирки с суспензионной средой 4,4 мл внести **80 мкл** бактериальной суспензии и тщательно перемешать.

Инокуляция:

Удалите алюминиевую упаковку с планшета. **Внимание! Не вскрывать упаковку планшета ранее, чем за 30 мин до начала инокуляции, чтобы предотвратить негативное влияние влажности на антибиотики.** Отломите необходимое для исследования количество стрипов. Неиспользуемые стрипы и осушитель сразу поместите в пакет для хранения и плотно закройте пластиковую застёжку. При перекалывании неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем. **Длительное хранение вскрытого планшета может привести к полной потере активности антибиотиков! После вскрытия упаковки используйте стрипы в течение 8 дней!** На стрипе напишите номер исследуемого штамма. Наряду с номером анализа на стрипе необходимо указать и название набора (например, Г-I или Г-II), чтобы избежать возможных ошибок при учете результатов после инкубации.

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

Инкубация:

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

Учет результатов:

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

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

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

ВНИМАНИЕ!

Для достоверной оценки чувствительности к антибиотику необходимо контролировать наличие бактериального роста в контрольной лунке.

Если в ней роста нет, то результаты не должны учитываться!

Степень мутности в контрольной лунке не должна использоваться для сравнения с мутностью в лунках с антибиотиками.

Любое изменение полной прозрачности следует оценивать как рост, включая небольшие крупинки на дне лунок, легкую опалесценцию или частичный рост в части микролунки. Необходимо отличать пузырьки воздуха в среде от микрогранул. Запишите результаты.

H	G	F	E	D	C	B	A
Контроль роста	Хлорамфеникол	Моксифлоксацин		Линезолид		Ампициллин	
GC	СМР 8	МОХ 0,5	МОХ 1	LIZ 2	LIZ 4	AMP 4	AMP 8
Тигециклин		Левифлоксацин		Эритромицин		Пенициллин G	
TGC 0,25	TGC 0,5	LEV 1	LEV 2	ERY 0,25	ERY 0,5	PEN 0,25	PEN 2
Цефтриаксон		Тетрациклин		Клиндамицин	Гентамицин	Ванкомицин	
CRO 0,5	CRO 1	TET 1	TET 2	CLI 0,5	GEN 256	VAN 2	VAN 4

Таблица интерпретации:

Контроль роста	КР	Энтерококки										Стрептококки А,В,С,Г																	
Ампициллин	AMP	-	-	S	+	-	I	+	+	R	См. примечание ниже																		
Цефтриаксон	CRO	Не интерпретировать															-		S				+		R				
Клиндамицин	CLI																-	-	S	+	-	I	+	+	R				
Эритромицин	ERY	Не интерпретировать										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Гентамицин	GEN											-		S					+		R	Не интерпретировать							
Хлорамфеникол	CMP	Не интерпретировать										-		S				+		R									
Левифлоксацин	LEV											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Линезолид	LIZ	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Моксифлоксацин	MOX	Не интерпретировать										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Пенициллин G	PEN											-	-	S	+	-	R	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Тетрациклин	TET											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Тигециклин	TGC	-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Ванкомицин	VAN	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	R	+	+	R										

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

Интерпретация результатов:

Энтерококки

Ампициллин: результат тестирования может быть также использован для амоксициллина, амоксициллина/клавуланата, ампициллина/сульбактама, пиперациллина, пиперацина/сульбактама (эти антибиотики не входят в набор).

Гентамицин: результат следует оценивать только при инфекционном эндокардите.

Линезолид: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте), поскольку резистентные штаммы встречаются крайне редко.

Тигециклин: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте), поскольку резистентные штаммы встречаются крайне редко.

Ванкомицин: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте) или другими тестами (например, ПЦР).

Стрептококки групп А,В,С,Г

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

Эритромицин: результаты могут быть использованы также для азитромицина, кларитромицина, рокситромицина.

Левифлоксацин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Линезолид: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Моксифлоксацин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Пенициллин G: чувствительность к ампициллину, цефалоспорином (цефтриаксон) и карбапенемам (не входят в набор) совпадает с таковой к пенициллину. Поэтому ампициллин и цефтриаксон могут быть также контролями: в случае выделения штамма, чувствительного к пенициллину, в лунках с ампициллином и цефтриаксона роста быть не должно быть (при удовлетворительном контроле роста). Устойчивость к пенициллину практически не описана или отмечалась крайне редко, поэтому при обнаружении таких штаммов их необходимо отправлять в референс-центры для подтверждения результата.

Бета-гемолитические стрептококки не продуцируют бета-лактамазы, поэтому комбинации с ингибиторами не дают какого-либо превосходства при лечении.

Тигециклин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте). Устойчивые штаммы крайне редки.

Ванкомицин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте) или другими методами (ПЦР),

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

Контроль качества:

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

CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)							
GC +	CMP +/- 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ +/- 2	LIZ – 4	AMP – ¹ 4	AMP – ¹ 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY +/- 0,25	ERY +/- 0,5	PEN +/- 0,25	PEN – 2
CRO ² 0,5	CRO ² 1	TET – 1	TET – 2	CLI – 0,5	GEN – 256	VAN – 2	VAN – 4

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CMP – 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ ² 2	LIZ ² 4	AMP +/- 4	AMP +/- 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY ² 0,25	ERY ² 0,5	PEN ² 0,25	PEN ² 2
CRO – 0,5	CRO – 1	TET ² 1	TET ² 2	CLI ² 0,5	GEN – 256	VAN ² 2	VAN ² 4

1 Данных в рекомендациях EUCAST нет, результаты даны по итогам внутреннего контроля качества, проводимого в Erba Lachema s.r.o.

2 Данных в рекомендациях EUCAST нет

+ Наличие роста

– Отсутствие роста

ATCC – American Type Culture Collection (Американская коллекция микроорганизмов)

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов

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

Меры предосторожности: Компоненты набора не содержат опасных веществ.

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

Дата проведения последнего контроля: 7.9.2011

Nr. kat: 10020282

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw przeznaczony jest do oznaczenia wrażliwości na antybiotyki gram-dodatnich bakterii rodzaju *Enterococcus* i dla β -hemolizujących paciorkowców A, B, C, G na podstawie wzrostu bakterii w przypadku stężeń break-pointowych (wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących). Zestaw umożliwia przeprowadzenie 40 badań. Stężenia break-pointowe i interpretacje wrażliwości powstały na podstawie europejskiego standardu Eucast (www.eucast.org) z dnia 05.01.2011. Test oparty jest na zasadzie ponownego nawodnienia antybiotyków w studzienkach za pomocą Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST i dodaniu zawiesiny bakterii. Po 18-24 godzinach inkubacji wyniki odczytywane są wizualnie.

Zestaw nie jest przeznaczony dla paciorkowców z grupy „viridans” i dla *Streptococcus pneumoniae* ze względu na ich niską aktywność wzrostową w studzienkach. W tych przypadkach dla oznaczania lekkowrażliwości na antybiotyki zalecamy testy krążkowe lub gradientowe.

Prosimy o zwracanie uwagi na różnice w przygotowaniu inokulum i w interpretacjach dla rodzajów enterococcus i streptococcus !!!

Zestaw zawiera:

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

Przechowywanie i data ważności zestawu:

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

Przechowywanie i data ważności Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST:

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

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

- Sterylny roztwór soli fizjologicznej
- Probówki sterylne
- Pipeta dozująca na 100 μ l
- Pipeta na 40 i 80 μ l
- Densytometr (np. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Ciepłarka 37 °C
- Podstawowe wyposażenie laboratoryjne (ezy, markery, palnik, itd.)

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

- Butelka z zakręcanym korkiem
- Pałeczka do mieszania lub mieszadło
- Autoklaw

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

Sposób postępowania

Ostrzeżenie: Przed rozpoczęciem pracy należy przygotować Nośnik zawiesiny dla SENSILATEST !

Przygotowanie Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST:

1 torebka wystarcza dla przygotowania 0,5 l nośnika zawiesiny. Wsypać zawartość torebki do butelki z zakręcanym korkiem. Dodać 0,5 l uprzednio ogrzanej wody destylowanej i zamieszać. Powstałą zawiesinę autoklawować przez 30 minut w 121 °C. Następnie doprowadzić do temperatury pokojowej i ponownie sterylnie wymieszać. Drobną osad na dnie nie ma wpływu na funkcyjność nośnika. Przed zastosowaniem należy sprawdzić pH nośnika. pH nośnika powinno być w granicach 7,5 (\pm 0,1). W razie potrzeby dostosować pH.

Sposób postępowania z zestawem:

- 1) Przygotować probówkę z 5 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej pH 5,5 – 6,5.
- 2) Przygotować probówkę z Nośnikiem zawiesiny dla SENSILATEST optymalnie ogrzanym do temp. 37 °C
- 3) Z 18 – 24 godzinnej kultury na agarze krwawym pobrać kilka kolonii i przygotować w roztworze soli fizjologicznej zawiesinę bakteryjną o gęstości
 - 0,5 McF dla rodzaju *Enterococcus*
 - 1 McF dla rodzaju *Streptococcus*(Uwaga: Zastosowanie zawiesiny z wyższą gęstością jest mniejszym błędem niż zastosowanie inokulum, którego gęstość jest niewystarzająca.)



Inokulacja:

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

Enterococcus:

Pipetować **40 µl** zawiesiny bakteryjnej do 4,4 ml Nośnika zawiesiny dla SENSILAtest i dobrze zhomogenizować. Inokulować 100 µl zawiesiny przygotowanej w Nośniku zawiesiny dla SENSILATEST do każdej studzienki paska, najlepiej za pomocą pipety dozującej.

Streptococcus:

Pipetować **80 µl** zawiesiny bakteryjnej do 4,4 ml Nośnika zawiesiny dla SENSILAtest i dobrze zhomogenizować. Inokulować 100 µl zawiesiny przygotowanej w Nośniku zawiesiny dla SENSILATEST do każdej studzienki paska, najlepiej za pomocą pipety dozującej.

Inkubacja:

Płytkę po inokulacji włożyć do PE torebki, zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby zapobiec wysychaniu inokulum.
Płytkę włożyć do ciepłarki w temp. 37 °C na 18 – 24 godz.

Ocena:

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

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

Prosimy o zwrócenie uwagi:

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

H	G	F	E	D	C	B	A
Kontrola wzrostu	Chloramfenikol	Moksifloksacyna		Linezolid		Ampicylina	
GC	CMP 8	MOX 0,5	MOX 1	LIZ 2	LIZ 4	AMP 4	AMP 8
Tigecyklina		Levofloksacyna		Erytromycyna		Penicylina G	
TGC 0,25	TGC 0,5	LEV 1	LEV 2	ERY 0,25	ERY 0,5	PEN 0,25	PEN 2
Ceftriakson		Tetracyklina		Klindamycyna	Gentamycyna	Wankomycyna	
CRO 0,5	CRO 1	TET 1	TET 2	CLI 0,5	GEN 256	VAN 2	VAN 4

Interpretacja:

Kontrola wzrostu	GC	Enterococcus										Streptococcus A,B,C,G									
Ampicylina	AMP	-	-	S	+	-	I	+	+	R	Patrz poniżej										
Ceftriakson	CRO	Nie interpretować																			
Klindamycyna	CLI																				-
Erytromycyna	ERY	-	-	S	+	-	I	+	+	R	Nie interpretować										
Gentamycyna	GEN	-		S					+												R
Chloramfenikol	CMP	Nie interpretować										-		S				+		R	
Levofloksacyna	LEV											-	-	S	+	-	I	+	+	R	
Linezolid	LIZ	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
Moksifloksacyna	MOX	Nie interpretować										-	-	S	+	-	I	+	+	R	
Penicylina G	PEN											-	-	S	+	-	R	+	+	R	
Tetracyklina	TET											-	-	S	+	-	I	+	+	R	
Tigecyklina	TGC	-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
Wankomycyna	VAN	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	R	+	+	R		

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

Interpretacja dla rodzaju Enterococcus:

Ocenia się wyłącznie ampicylina, gentamycyna, linezolid, tigecyklina, wankomycyna.

Ampicylina - wynik obowiązuje także dla amoksycyliny, amoksycyliny-klawulanatu, ampicyliny-sulbaktamu, piperacyliny i piperacyliny-tazobaktamu (te antybiotyki nie są w zestawie ujęte).

Wankomycyna - stwierdzoną oporność należy następnie weryfikować za pomocą gradientu MIC (np. E-test).

Gentamycyna - oceniać wyłącznie w przypadku zakaźnego zapalenia wsierdza.

Tigecyklina - stwierdzoną oporność powinno się następnie weryfikować za pomocą gradientu MIC. Oporne szczepy pojawiają się rzadko.

Interpretacja dla β-hemolizujących paciorkowców (A,B,C,G):

Ocenia się wszystkie antybiotyki w zestawie, z wyjątkiem gentamycyny.

Penicylina - wynik obowiązuje także dla **ampicyliny**, cefalosporyny (**ceftriakson**) i karbapenemów (nie są objęte tym zestawem). Ampicylinę i ceftriakson użyto jako kontrolę.

W przypadku jeżeli szczep jest wrażliwy na penicylinę, wyniki ampicyliny i ceftriaksonu powinny być w obydwu zastosowanych stężeniach ujemne. W przeciwnym przypadku pokazuje to na błąd. Szczepy odporne na penicylinę nie są na razie opisane lub ich pojawianie się jest bardzo rzadkie, takie szczepy powinny zostać wysłane do laboratorium referencyjnego do sprawdzenia.

Betahemolizujące paciorkowce nie wytwarzają betalaktamazę - kombinacja z inhibitorami nie wnosi do leczenia żadną korzyść.

Wankomycyna - stwierdzoną oporność należy następnie weryfikować za pomocą gradientu MIC.

Erytromycyna - oznacza wrażliwość dla całej grupy makrolidów - azitromycyna, klaritromycyna i roksitromycyna.

Klindamycyna - w przypadku stwierdzonej oporności na erytromycynę i wrażliwości na klindamycynę należy za pomocą krążkowo-dyfuzyjnego testu (D-test) z krążkami erytromycyna i klindamycyna oznaczyć „indukcję” MLSB oporności i w przypadku dodatniego wyniku następnie wynik testu na wrażliwość CLI korygować na „oporny”.

Tigecyklina - stwierdzona oporność powinna następnie zostać zweryfikowana za pomocą gradientu MIC. Oporne szczepy pojawiają się rzadko (jako rarytas).

Kontrola jakości:

Dla kontroli jakości zestawu zalecamy poniżej wymienione szczepy kontrolne. Podczas oceny wyników testowania szczepami kontrolnymi należy kierować się standardem EUCAST.

CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)							
GC +	CMP +/- 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ +/- 2	LIZ – 4	AMP – ¹ 4	AMP – ¹ 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY +/- 0,25	ERY +/- 0,5	PEN +/- 0,25	PEN – 2
CRO ² 0,5	CRO ² 1	TET – 1	TET – 2	CLI – 0,5	GEN – 256	VAN – 2	VAN – 4

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CMP – 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ ² 2	LIZ ² 4	AMP +/- 4	AMP +/- 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY ² 0,25	ERY ² 0,5	PEN ² 0,25	PEN ² 2
CRO – 0,5	CRO – 1	TET ² 1	TET ² 2	CLI ² 0,5	GEN – 256	VAN ² 2	VAN ² 4

1 dla tych antybiotyków wyniki w EUCAST nie są wymienione, wynik odpowiada wyniku wewnętrznej oceny Erba Lachema s.r.o.

2 dla tych antybiotyków wyniki w EUCAST nie są wymienione

+ wzrost

– brak wzrostu

Likwidacja zużytego materiału:

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

Data ostatniej rewizji: 7.9.2011

Cat. No.: 10020282

For microbiology

The kit is designed to test antimicrobial susceptibility of Gram positive bacteria enterococci and A,B,C,G streptococci on the basis of bacterial growth at breakpoint concentrations. The kit contains 40 detection strips.

Breakpoint concentrations and interpretation of sensitivities were determined on the basis of the European standard EUCAST (www.eucast.org) dated from 5.1.2011. The test is based on the rehydration of antibiotics in the wells with Suspension medium for SENSILATEST and addition of bacterial suspension. The results are read visually after 18-24 hours of incubation. We recommend to use disk or gradient tests for antibiotic susceptibility testing of viridans streptococci and *Streptococcus pneumoniae*, due to its poor growth in dilution systems.

Please be aware, that inoculum preparation and interpretation differs for enterococci and streptococci!

The kit contains:

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

Storage and expiration of the kit:

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

Storage and expiration of Suspension medium for SENSILATEST:

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

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

- Sterile physiological solution
- Sterile tubes
- An stepper pippete for dosage of 100 µl
- A pippete for dosage of 40 µl and 80 µl
- Densitometer (e.g. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Incubator 37 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, marker, burner, etc.)

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

- A screw top bottle
- A mixing stick or a stirrer
- Autoclave

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

Instructions for Use

Caution: *Prepare the Suspension medium before you start testing!*

Preparation of Suspension medium:

One bag is sufficient to prepare 0.5 L of Suspension medium for SENSILATEST. Pour the bag content in to a screw top bottle. Add 0.5 L of preheated distilled water and stir it. Autoclave the prepared suspension for 30 minutes at 121 °C. Cool it to room temperature and stir it again under sterile conditions. A small precipitate at the bottom does not influence the function of the medium. Check the pH of the medium before the use. pH of the medium must be 7,5 (± 0,1). Adjust pH if necessary.

Instructions to use the kit:

- 1) Prepare a tube with 2 - 5 ml of physiological solution of pH 5,5 – 6,5.
- 2) Prepare a tube with Suspension medium for SENSILATEST optimally preheated to 37 °C
- 3) Remove few colonies from 18 – 24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension in physiological solution of density:

for enterococci:

0,5 on McF scale

for streptococci:

1 on McF scale

Overestimation of suspension density is smaller error than its underestimation.



Inoculation:

Remove a plate from aluminium bag. Remove required number of strips for examination. Do not remove the strips from the package earlier than 30 minutes before you start the work.

Insert any unused strips into a ZIP log bag. Transfer a desiccant bag from the original package into a ZIP log bag and close it for later use. Use the strips stored in this way within 8 days! Mark the storage bag with a type of stored strips (e.g. G-I, G-II etc.) to avoid mistake in their further usage.

Any longer exposition to open air leads to antibiotic activity failure!!!

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

Enterococcus:

Inoculate **40 µl** of bacterial suspension into 4.4 ml of Suspension medium for SENSILATEST and homogenise well. Inoculate 100 µl of suspension in suspension medium into each well of the strip with the help of automatic stepper pipette.

Streptococcus:

Inoculate **80 µl** of bacterial suspension into 4.4 ml of Suspension medium for SENSILATEST and homogenise well. Inoculate 100 µl of suspension in suspension medium into each well of the strip with the help of automatic stepper pipette.

Incubation:

Insert the inoculated plate into a PE bag. Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation.

Incubate the plate at 37 °C for 18 – 24 hours.

Evaluation:

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

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

Please read with attention:

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

H	G	F	E	D	C	B	A
Growth control	Chloramphenicol	Moxifloxacin		Linezolid		Ampicillin	
GC	CMP 8	MOX 0.5	MOX 1	LIZ 2	LIZ 4	AMP 4	AMP 8
Tigecycline		Levofloxacin		Erythromycin		Penicilin G	
TGC 0.25	TGC 0.5	LEV 1	LEV 2	ERY 0.25	ERY 0.5	PEN 0.25	PEN 2
Ceftriaxon		Tetracycline		Clindamycin	Gentamicin	Vancomycin	
CRO 0.5	CRO 1	TET 1	TET 2	CLI 0.5	GEN 256	VAN 2	VAN 4

Interpretation:

Growth control	GC	Enterococcus										Streptococcus A,B,C,G																	
Ampicillin	AMP	-	-	S	+	-	I	+	+	R	See note below																		
Ceftriaxon	CRO	Don't interpret															-		S				+		R				
Clindamycin	CLI																-	-	S	+	-	I	+	+	R				
Erythromycin	ERY	Don't interpret										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Gentamicin	GEN											-		S				+		R	Don't interpret								
Chloramphenicol	CMP	Don't interpret										-		S				+		R									
Levofloxacin	LEV											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Linezolid	LIZ	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Moxifloxacin	MOX	Don't interpret										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Penicilin G	PEN											-	-	S	+	-	R	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Tetracycline	TET											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Tigecycline	TGC	-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Vancomycin	VAN	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	R	+	+	R										

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

Enterococci:

- Ampicillin:** result can be used also for AMO, AMO/CLA, AMP/SUL, PIP, PIP/TAZ (these antibiotics are not included in the set)
- Gentamicin:** evaluate in infectious endocarditis only
- Linezolid:** if resistance found confirme by MIC gradient (e.g. E-test). Resistant strains are rare
- Tigecycline:** if resistance found confirme by MIC gradient (e.g. E-test). Resistant strains are rare
- Vancomycin:** if resistance found confirme by MIC bradient (e.g. E-test) or other method (PCR)

Streptococci A,B,C,G:

- Clindamycin:** in case of ERY resistant along with CLI sensitive or intermediate, it is necessary to determinate „induction“ of MLSb (macrolides-lincosamides-streptogramins B) resistance with discs ERY and CLI and correct the result for CLI.
- Erythromycin:** results can be used also for azithromycin, clarithromycin, roxithromycin
- Levofloxacin:** resistance is necessary to be confirmed by disk diffusion test or by gradient MIC (e.g. E-test)
- Linezolid:** resistance is necessary to be confirmed by disk diffusion test or by gradient MIC (e.g. E-test)
- Moxifloxacin:** resistance is necessary to be confirmed by disk diffusion test or by gradient MIC (e.g. E-test)
- Penicilin:** Susceptibility to ampicillin ,cephalosporins (ceftriaxon) and carbapenems (not included in this kit) are inferred from the penicilin. Ampicillin and ceftriaxon can be used however as a control: in case that strain is susceptible to penicilin, results in ampicillin and ceftriaxon should be - -, if not error is indicated. Strains resistant to penicilin are not described so far or are very rare – these strains should be sent to reference laboratory for confirmation. Betahemolytic streptococci don't produce betalactamases – combination with inhibitors thus not provide any benefit.
- Tigecycline:** if resistance found confirme by MIC gradient . Resistant strains are rare
- Vancomycin:** if resistance found confirme by MIC gradient or other method (PCR)

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

Quality control:

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

CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)							
GC +	CMP +/- 8	MOX - 0,5	MOX - 1	LIZ +/- 2	LIZ - 4	AMP - ¹ 4	AMP - ¹ 8
TGC - 0,25	TGC - 0,5	LEV - 1	LEV - 2	ERY +/- 0,25	ERY +/- 0,5	PEN +/- 0,25	PEN - 2
CRO ² 0,5	CRO ² 1	TET - 1	TET - 2	CLI - 0,5	GEN - 256	VAN - 2	VAN - 4

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CMP - 8	MOX - 0,5	MOX - 1	LIZ ² 2	LIZ ² 4	AMP +/- 4	AMP +/- 8
TGC - 0,25	TGC - 0,5	LEV - 1	LEV - 2	ERY ² 0,25	ERY ² 0,5	PEN ² 0,25	PEN ² 2
CRO - 0,5	CRO - 1	TET ² 1	TET ² 2	CLI ² 0,5	GEN - 256	VAN ² 2	VAN ² 4

1 no result stated in EUCAST, result stated by internal quality control Erba Lachema

2 no result stated in EUCAST

+ growth

- no growth

ATCC – American Type Culture Collection
CCM – Czech Collection of Microorganisms

Health protection:

Components of the kit do not contain any dangerous substances.

Disposal of the used material:

Insert the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.
Put paper packaging waste to recycling.

Date of last revision: 7.9.2011