

Система МИК Тест Стрип (MIC Test Strip)

для определения минимальной ингибирующей концентрации антибиотиков
для грам-негативных бактерий

РУ № РЗН 2012/11541 от 7 февраля 2012 года

Описание

Система МИК Тест Стрип (MIC Test Strip) представляет собой градиентный тест, используемый для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) отдельных микроорганизмов для определения надлежащего лечения пациента и выявления моделей резистентности (МИК - минимальная ингибирующая концентрация противомикробного препарата, которая подавляет рост микробов в стандартных условиях *in vitro*).

Процедура определения МИК методом разведения бульона или агара, основан на двукратных серийных разведениях антибиотиков и является эталонным, ожидаемая воспроизводимость которого находится в пределах ± 1 при двукратном разведении.

Содержание упаковки

Система МИК Тест Стрип (MIC Test Strip) поставляется в нескольких типах упаковки (без дополнительных реагентов):

- 10 тест (полосок), индивидуально упакованных в пакет с влагопоглотителем.
- 30 тестов (полосок), индивидуально упакованных в пакеты с влагопоглотителем.
- 100 тестов (полосок) в банке с влагопоглотителем, встроенным в крышку.

Необходимые материалы (не входят в состав тестов):

- Агаризованная среда, рекомендованная для использования при тестировании чувствительности к противомикробным препаратам (чашки диаметром 90 или 150 мм).
- Среда для подготовки суспензии
- Стандарт мутности по МакФарланду
- Пинцет
- Стерильные петли, тампоны (не слишком туго закрученные), пробирки, пипетки и ножницы
- Инкубатор ($35 \pm 2^\circ\text{C}$)
- Микроорганизмы контроля качества

ПРИМЕЧАНИЕ. Используемая среда, а также суспензия инокулята зависят от исследуемого микроорганизма. Конкретные рекомендации см. в Руководстве по применению.

Дополнительная техническая информация на сайте www.liofilchem.com

Принцип метода

МИК Тесты (полоски) изготовлены из специальной высококачественной бумаги, пропитанной предварительно заданным градиентом концентрации антибиотика в 15 двукратных разведениях, используемом при классическом методе определения МИК. Когда тест-полоска наносится на инокулированную поверхность агара, предварительно

сформированный экспоненциальный градиент противомикробного агента диффундирует в агар в течение более одного часа. После инкубации формируется симметричный эллипс ингибирования с центром вдоль полоски. МИК считывается непосредственно со шкалы в мкг/мл в точке, где край эллипса ингибирования пересекает полоску.

Для обнаружения механизмов резистентности бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз, двухсторонний градиент тест-полоски содержит соответствующие диагностические реагенты. Устойчивые бактерии идентифицируют, сравнивая ингибирование на обеих сторонах полоски.

Процедура теста

Перед использованием полосок, осмотрите упаковку, чтобы убедиться, что она не была повреждена. **Не используйте полоски, если упаковка повреждена!** При использовании тестов из банки, замените крышку и храните, как указано в разделе «ХРАНЕНИЕ».

- Извлечь упаковку или банку с тест-полосками из холодильника/морозильной камеры и позволить нагреться до комнатной температуры (~ 30 минут). Перед вскрытием упаковки влага, конденсирующаяся на внешней поверхности, должна полностью испариться. Для извлечения полоски из упаковки используйте пинцет.

Подготовка инокулята

- Внести хорошо изолированные колонии из чашек с агаром в среду для приготовления суспензии и оставить на ночь для достижения рекомендуемого стандарта МакФарланда. Если концентрация инокулята правильная, после инкубации будет получен равномерный газон. В случае недостаточного роста, повторить тестирование.
- Стандарты мутности по МакФарланду не гарантируют правильное количество жизнеспособных клеток в суспензии. Чтобы убедиться, что ваша процедура дает правильную плотность инокулята с точки зрения КОЕ/мл, рекомендуется проводить регулярный подсчет колоний. Приемлемая концентрация инокулята - приблизительно $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Инокуляция

- Смочить стерильный тампон в бульоне с культурой клеток или в его разведении. Прижать тампон к стенке пробирки для удаления лишней жидкости. По всей поверхности стерильного агара провести тампоном методом штриха. Для обеспечения равномерного распределения инокулята повторить эту процедуру еще 2 раза, поворачивая чашку Петри каждый раз примерно на 60 градусов. Перед размещением полоски на чашку, дайте лишней влаге впитаться.
- Использовать только специализированные высококачественные питательные среды, обеспечивающие хороший рост и предназначенные для AST. Выбранный бренд должен иметь хорошую воспроизводимость от партии к партии, чтобы обеспечить получение точных и надежных значений МИК.
- Агаровая среда должна иметь толщину $4,0 \pm 0,5$ мм, pH $7,3 \pm 0,1$. Все другие требования к качеству среды также должны выполняться. Дополнительную информацию см. в инструкциях производителя питательных сред.

Инокуляция

- Необходимо наносить полоску на поверхность агара шкалой вверх и кодом полоски к внешней стороне чашки, прижав ее стерильным пинцетом к поверхности агара. Убедиться, что вся длина градиента антибиотика полностью соприкасается с поверхностью агара.

После нанесения полоску не перемещать!

Инкубация

- Инкубировать чашки с агаром в перевернутом положении при соответствующей температуре, атмосфере и времени. Конкретные инструкции по инкубации см. в Руководстве по применению MTS™.

Условия тестирования MTS™ для наиболее распространенных организмов показаны ниже. Для получения дополнительной информации о конкретных применениях см. документы MTS™, доступные на сайте <https://www.liofilchem.com/mts>

Группа	Агар	Инокулят		Условия инкубирования		
		Суспензия	Мутность	Температура	Атмосфера ⁶	Время ⁸
Аэробы	Мюллера-Хинтона ^{2,3,4,5}	0.85% NaCl	0.5 ед. МакФарланда (1 мукоид)	35 ± 2°C	Окружающая среда	16-20 ч ⁹
ORSA/ORSE	Мюллера-Хинтона +2% NaCl (MTS™ Голько оксациллин)	0.85% NaCl	0.5 МакФарланда	35 ± 2°C	Окружающая среда	24 ч ORSA 48 ч ORSE
Анаэробы	Bruella Blood	Бульон для бруцелл или Бульон Мюллера-Хинтона	1 МакФарланда	35 ± 2°C	80-85% N ₂ / 5-10% CO ₂ / 10% H ₂ ⁷	24-48-72 ч в зависимости от вида
<i>Haemophilus influenzae</i>	HTM (CLSI) MH-F (EUCAST)	Бульон Мюллера-Хинтона или Бульон HTM	0.5 МакФарланда (1 мукоид)	35 ± 2°C	5% CO ₂	20-24 часа
<i>Streptococcus pneumoniae</i> и <i>Streptococci</i> ¹	Мюллера-Хинтона +5% кровь (CLSI) MH-F (EUCAST)	Бульон Мюллера-Хинтона	0.5 МакФарланда (1 мукоид)	35 ± 2°C	5% CO ₂	20-24 часа
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Основа агара GC + необходимые добавки	Бульон Мюллера-Хинтона	0.5 МакФарланда	36 ± 1°C	5% CO ₂	20-24 часа

1. Includes beta-haemolytic *Streptococci* groups A, B, C and G and Viridans group *S.mutant*, *S. mitis*, *S.sanguis*, *S.bovis*.
2. For trimethoprim and trimethoprim/sulfamethoxazole, ensure that the brand and batch of agar has a low thymine/thymidine content to minimise antagonism of the activity of trimethoprim and sulphonamides.

3. The inherent calcium content in Mueller Hinton agar may vary between brands and batch to batch. Perform quality control of agar plates on a batch to batch basis to qualify it for use, particularly for testing of daptomycin.
4. The inherent manganese content in Mueller Hinton agar may vary between brands and batch to batch. Perform quality control of agar plates on a batch to batch basis to qualify it for use, particularly for testing of tigecycline.
5. The performances of macrolides and aminoglycosides MTS™ with aerobic microorganisms have been validated and are guaranteed with the Liofilchem and BBL/BD Mueller Hinton II Agar only.
6. The activity of macrolides, lincosamides, streptogramins, aminoglycosides, quinolones, penicillins and tetracyclines can be affected by the pH decrease consequent to the incubation in 5% CO₂ for fastidious organisms. Please be aware that differences in results can be obtained between systems that are incubated in ambient and in CO₂-enriched air.
7. Ensure that an efficient anaerobic system is used to achieve rapid anaerobiosis to avoid false resistant results with metronidazole.
8. Ensure the agar plate is incubated for the recommended period before reading, especially for delayed expression of resistance and slow growing and fastidious organisms.
9. MTS™ vancomycin results are interpreted at 24 hours of incubation for *Staphylococci* and *Enterococci*.

Определение МИС

После необходимого времени инкубации, и только, если отчетливо виден ровный газон роста, считают значение МИК точке, где вершина эллипса (зона ингибирования) пересекает тест полосу. Если культура кажется смешанной или газон роста очень небольшой или чрезмерно большой, анализ результатов не проводить!

Примечания

- Противомикробные препараты могут быть либо «статическими» (например, бактериостатическими, фунгистатическими), либо «цидными» при взаимодействии с целевыми организмами, и это необходимо учитывать для правильного определения конечной точки МИК. Для бактерицидных препаратов, например, бета-лактамы, считают МИК в случае полного ингибирования роста. Помутнение, рост макро-колоний или микро-колоний в пределах 3 мм от полоски следует рассматривать как рост. Для бактериостатических препаратов, например, триметоприм-сульфаметоксазол, результаты считают при 80% ингибировании, например, в первой точке значительного ингибирования, наблюдаемого невооруженным глазом.
- Рост по всему градиенту, т. е. отсутствие эллипса торможения, указывает, что значение больше или равно (\geq) самому высокому значению шкалы. Эллипс торможения, пересекающийся ниже конца шкалы с минимальным значением, читается как меньше ($<$), чем самое низкое значение. Если значение лежит между двух значений шкалы, его следует округлить в большую сторону. МИК 0,125 мкг/мл следует учитывать как 0,12 мкг/мл. См. соответствующие технические листы MTS или обратитесь к руководству MTS™ (фотографии).
- Нанесение инокулята на чрезмерно влажные чашки, тест полосок на недостаточно высохшую агаровую среду, а также неравномерное нанесение культуры методом штриха на поверхность агара может привести к несплошному росту или формированию неровных краев эллипса). В этом случае, тест следует повторить. Также необходимо проведение повторного теста, если конечную точку МИС трудно прочитать. В случае неравномерного пересечения МИС, следует считать большее значение. Если значение расхождения >1 разведения, повторить тест.

- Иногда определенные комбинации антимикробного агента/микроорганизма могут давать неоднозначные результаты, а оценка конечной точки МИК может быть затруднена для неопытного персонала. Для таких случаев, персонал должен быть дополнительно обучен правильной оценке результатов, используя контрольные штаммы, руководство по интерпретации результатов MTS™ и опыт интерпретации результатов более опытных сотрудников лаборатории.

Интерпретация результатов

- Для классификации результата: чувствительный, промежуточный или устойчивый, следуйте рекомендациям текущих пограничных значений МИК, опубликованных CLSI, EUCAST и/или национальной контрольной группе вашего региона. Обзор критериев интерпретации CLSI и EUCAST представлен в таблице 1 (онлайн). Поскольку MTS™ генерирует значения МИК, которые попадают в диапазон двукратных разведений для интерпретации, значение МИК MTS™, попадающее между стандартными двукратными разведениями необходимо округлить в большую сторону до следующего стандартного верхнего двукратного значения. Например, МИК ванкомицина *S. aureus* равный 1,5 мкг/мл, сообщается как 2 мкг/мл.
- Для тестов на определение резистентности, которые представляют собой методы подтверждения фенотипа, непредназначенные для стандартного определения МИК, считать результат в соответствии со специальными инструкциями в техническом паспорте продукта.

Примечания

- Как и все данные AST, результаты MTS™ представляют собой только значения *in Vitro* и могут указывать на потенциальную чувствительность организма *in Vivo*. Использование результатов для выбора терапии должно быть исключительным решением и ответственностью лечащего врача. Решение должно быть основано на истории болезни и знаниях анамнеза пациента, фармакокинетики / фармакодинамике противомикробного агента и клиническом опыте лечения инфекций, вызванных конкретным микробным патогеном. Необходимо также учитывать препарат, дозу и режим дозирования.
- Подробную информацию о конкретных ограничениях интерпретации результата и/или ограничениях клинического применения противомикробного препарата в различных терапевтических ситуациях см. в таблицах и сносках к стандартам интерпретации результатов МИК в последних документах CLSI и EUCAST.

Ожидаемые значения

Ожидаемые результаты тестов на чувствительность будут различаться в зависимости от местоположения и учреждения. Модели устойчивости организмов будут напрямую связаны с конкретной популяцией.

Контроль качества

Чтобы проверить качество полученных результатов тестирования, используйте контрольные штаммы, как показано в таблице 1 (онлайн). Результаты считаются удовлетворительными, если контроль качества попадают в ожидаемые диапазоны. Результаты пациентов не должны сообщаться, если результаты контроля качества выходят за пределы указанного диапазона

контроля качества. Результаты МИС для штамма QC, которые на половину разведения ниже нижнего предела QC, должны быть округлены в большую сторону до следующего верхнего двукратного значения, которое установит соответствие QC. Результаты МИК, которые наполовину превышают верхний предел, будут округлены до следующего верхнего двукратного значения, что приведет к несоблюдению требований контроля качества.

Меры предосторожности

См. Технический лист MTS™ для конкретного реагента.

Хранение

- Невскрытые пакеты из фольги и емкости (банки): после получения храните **Систему МИК Тест Стрип (MIC Test Strip)** при температуре от $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ до указанного срока годности. Некоторые **МИК Тест Стрип** (например, карбапенемы) следует хранить в замороженном виде при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- **Ознакомьтесь с информацией о температуре хранения конкретного реагента на этикетке упаковки!**
- Открытые банки: **МИС Test Strip** в банке можно использовать до 2 месяцев с момента первого открытия при условии хранения при температуре или как указано на этикетке (необходимо записать дату открытия банки). Перед использованием оставшихся полосок необходимо проверить срок годности, указанный на упаковке. Не хранить вблизи источников тепла и не подвергать чрезмерным перепадам температуры. Всегда защищайте полоски от влаги, тепла и прямого воздействия яркого света.








Утилизация

После использования тест-полосок и материалов, соприкасающихся с образцом, они должны быть обеззаражены и утилизированы в соответствии с действующими лабораторными методами обеззараживания и утилизации потенциально зараженного материала.

Меры предосторожности

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; latest edition. CLSI supplement M100.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; latest edition. CLSI standard M07.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard, latest edition. CLSI document M11.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, latest edition. CLSI supplement M60.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; latest edition. CLSI standard M27.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; latest edition. CLSI supplement M61.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; latest edition. CLSI standard M38.
8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters; latest version.
9. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antifungal Agents. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs; latest version.
10. EUCAST documents available at <https://www.eucast.org/>.

Термины

	Не использовать повторно	LOT	Номер партии		Производитель	IVD	<i>in vitro</i> диагностика Мед. устройство		Верхний предел, °C
	Использовать в	REF	Кат. номер		Содержит достаточно для <n> тестов		Нижний предел, °C		Ознакомьтесь и Инструкцией

Для получения дополнительной информации о конкретных применениях, препаратах и комбинациях лекарство-организм посетите: liofilchem.com/MTS